

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, ISOENZIMÁTICA Y
MOLECULAR DE VARIETADES DE CEREZO (*Prunus avium* L.) Y
DE GUINDO (*Prunus cerasus* L.) PORTUGUESAS**

TESIS DOCTORAL

Presentada por

LUCIANO CORDEIRO RODRIGUES

Ingeniero Agrónomo

Para optar al Título de

DOCTOR INGENIERO AGRÓNOMO

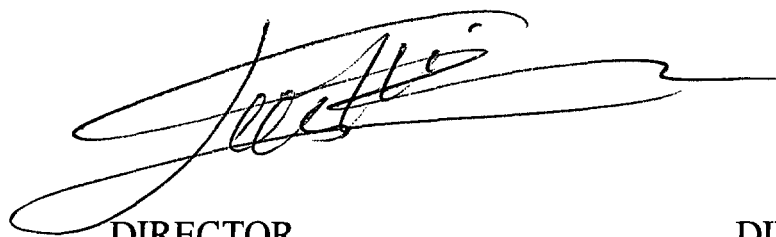
Madrid 2003

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL

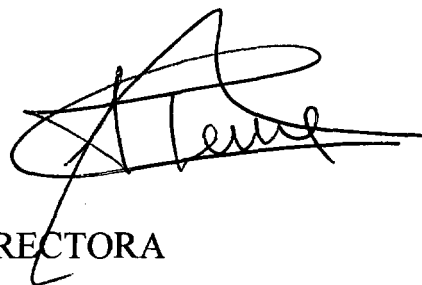
**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, ISOENZIMÁTICA Y
MOLECULAR DE VARIEDADES DE CEREZO (*Prunus avium* L.) Y
DE GUINDO (*Prunus cerasus* L.) PORTUGUESAS**


DOCTORANDO

LUCIANO CORDEIRO RODRIGUES
INGENIERO AGRÓNOMO



DIRECTOR
JESUS MARÍA ORTIZ MARCIDE
DR. INGENIERO AGRÓNOMO



DIRECTORA
REMEDIOS MORALES CORTS
DR. INGENIERO AGRÓNOMO

D. Jesús M^a. Ortiz Marcide, Catedrático de Universidad del Departamento de Biología Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid y D^a. Remedios Morales Corts, Titular de Universidad de la Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales de la Universidad de Salamanca, como Directores de la Tesis Doctoral

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, ISOENZIMÁTICA Y MOLECULAR DE VARIEDADES DE CEREZO (*Prunus avium* L.) Y DE GUINDO (*Prunus cerasus* L.) PORTUGUESAS


CERTIFICAN

Que dicha Tesis Doctoral ha sido realizada bajo su dirección por el Ingeniero Agrónomo **Luciano Cordeiro Rodrigues**.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, emiten el presente certificado en Madrid, a 25 de Septiembre de 2003.



JESÚS MARÍA ORTIZ MARCIDE



REMEDIOS MORALES CORTS

A mi família

INDICE

1-INTRODUCCIÓN.....	4
1.1. Origen	5
1.2. Interés del cultivo.....	5
1.3. Taxonomía y Morfología	6
1.3.1. Taxonomía.....	6
1.3.2. Morfología.....	7
1.4. Condicionantes del cultivo.....	8
1.4.1. Condicionantes climáticos.....	8
1.4.2. Rajado de los frutos.....	9
1.4.3. Condicionantes edáficos.....	13
1.4.4. Exceso de vigor.....	14
1.4.5. Incidencia de enfermedades y plagas.....	16
1.5. Zonas de cultivo. Superficies y Producciones	19
1.6. Variedades	24
1.6.1. Principales variedades cultivadas en el mundo.....	24
1.6.2. Variedades de cerezo y guindo incluidas en este estudio.....	29
1.7. Problemática varietal e interés de las variedades locales	30
1.8. Caracterización de cultivares.....	34
1.8.1. Caracterización morfológica.....	34
1.8.2. Caracterización isoenzimática.....	35
1.8.3. Caracterización molecular	39
2-OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	45
2.1. Objetivos	46
2.2. Plan de trabajo	46
3-MATERIAL Y MÉTODOS.....	48
3.1. Localización de la colección.....	49
3.1.1- Suelo de la colección.....	49
3.1.2- Clima de la región.....	49
3.2. Material Vegetal	54
3.3. Métodos.....	55
3.3.1. Muestréos	55
3.3.2. Caracterización agronómica y morfológica	56
3.3.3. Análisis isoenzimático.....	60
3.3.4. Análisis de RAPD	63
4. RESULTADOS.....	66
4.1. Morfología de la flor.....	67
4.1.1. Cerezos.....	67
4.1.2. Guindos	74
4.2. Morfología de la hoja.....	81
4.2.1. Cerezos.....	81
4.2.2. Guindos	89
4.3. Características cuantitativas del fruto	97
4.3.1. Cerezos.....	97
4.3.2. Guindos	105
4.4. Dendrograma basado en caracteres cuantitativos.....	113
4.5. Características cualitativas del fruto	114

4.5.1. Cerezo	114
4.5.2. Guindo.....	115
4.6. Características del árbol.....	116
4.6.1. Cerezo	116
4.6.2. Guindo.....	117
4.7. Fenología.....	119
4.7.1. Cerezo	119
4.7.2. Guindo.....	121
4.8. Caracterización isoenzimática.....	125
4.8.1. Isocitrato deshidrogenasa (IDH)	125
4.8.2. Fosfogluoisomerasa (PGI)	125
4.8.3. Shikimato deshidrogenasa (SKDH)	126
4.8.4. Fosfogluconato deshidrogenasa (6 – PGD)	126
4.8.5. Fosfoglucomutasa (PGM).....	127
4.8.6. Agrupaciones de variedades de cerezo	128
4.9. Caracterización molecular mediante RAPD.....	130
5. DISCUSIÓN.....	138
6-CONCLUSIONES.....	145
7-BIBLIOGRAFIA.....	148
ANEJO: Fichas varietales.....	159

INDICE DE TABLAS

Tabla nº 1	Producción de cerezos en los principales países (en tm).....	20
Tabla nº 2	Superficie de cerezos en los principales países productores (ha).....	20
Tabla nº 3	Producción de guindos en los principales Países (en tm).....	21
Tabla nº 4	Superficie de guindos en los principales países productores (ha).....	22
Tabla nº 5	Producción de cerezos y guindos en las principales zonas productoras portuguesas (en tm).....	23
Tabla nº 6	Superficie de cerezos y guindos en las principales zonas productoras portuguesas (ha).....	23
Tabla nº 7	Precios medios anuales de cerezo (euros).....	23
Tabla nº 8	Temperatura y precipitación en Fundão en el año 1999.....	50
Tabla nº 9	Temperatura y precipitación en Fundão en el año 2000.....	51
Tabla nº 10	Temperatura y precipitación en Fundão en el año 2001.....	52
Tabla nº 11	Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 1999). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	70
Tabla nº 12	Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 2000).Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	71
Tabla nº 13	Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 2001) Entre paréntesis, desviaciones típicas, σ	72
Tabla nº 14	Parámetros morfológicos de flor de cerezo (años 1999-2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	73
Tabla nº 15	Parámetros morfológicos de flor de guindo (año 1999). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	77
Tabla nº 16	Parámetros morfológicos de flor de guindo (año 2000). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	78
Tabla nº 17	Parámetros morfológicos de flor de guindo (año 2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	79
Tabla nº 18	Parámetros morfológicos de flor de guindo (año 1999-2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	80

Tabla nº 19	Parámetros morfológicos de hojas cerezo en el año 1999. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	85
Tabla nº 20	Parámetros morfológicos de hojas cerezo en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	86
Tabla nº 21	Parámetros morfológicos de hojas cerezo en el año 2001. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	87
Tabla nº 22	Parámetros morfológicos de hojas de cerezo en los años (99-00-01). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	88
Tabla nº 23	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en el año 1999. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	93
Tabla nº 24	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	94
Tabla nº 25	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en el año 2001. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	95
Tabla nº 26	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en los años (99-00-01) . Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	96
Tabla nº 27	Parámetros morfológicos en cerezo referentes a fruto en el año 1999. Entre paréntesis desviaciones típicas σ	101
Tabla nº 28	Parámetros morfológicos en cerezo referentes a fruto en el año 2000. Entre paréntesis desviaciones típicas σ	102
Tabla nº 29	Parámetros morfológicos en cerezo referentes a frutos en el año 2001. Entre paréntesis desviaciones típicas σ	103
Tabla nº 30	Parámetros morfológicos en cerezo referentes a frutos en los años (99-00-01). Entre paréntesis desviaciones típicas σ	104
Tabla nº 31	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en el año 1999. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ	109
Tabla nº 32	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas, σ	110
Tabla nº 33	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en el año 2001. Entre paréntesis, desviaciones típicas, σ	111
Tabla nº 34	Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en los años (99-00-01). Entre paréntesis, desviaciones típicas, σ	112

Tabla nº 35	Características cualitativas del fruto del cerezo.....	114
Tabla nº 36	Características cualitativas de guindo.....	115
Tabla nº 37	Características de los árboles de cerezo.....	117
Tabla nº 38	Características de los árboles de guindo.....	117
Tabla nº 39	Estados fenológicos de cerezos en el año 1999.....	119
Tabla nº 40	Estados fenológicos de cerezos en el año 2000.....	120
Tabla nº 41	Estados fenológicos de cerezos en el año 2001.....	121
Tabla nº 42	Estados fenológicos de guindos en el año 1999.....	122
Tabla nº 43	Estados fenológicos de guindos en el año 2000.....	123
Tabla nº 44	Estados fenológicos de guindos en el año 2001.....	123
Tabla nº 45	Modelos de patrones de bandas para 5 sistemas isoenzimáticos de cerezo y guindo.....	128
Tabla nº 46	Cebadores de la série O.....	130
Tabla nº 47	Cebadores de la série P.....	131
Tabla nº 48	Cebadores de la série R.....	131

INDICE DE FIGURAS

Figura nº 1:	Diagrama ombrotérmico de Fundão en el año 1999.....	51
Figura nº 2	Diagrama ombrotérmico de Fundão en el año 2000.....	52
Figura nº 3	Diagrama ombrotérmico de Fundão en el año 2001.....	53
Figura nº4:	Valor medio del número del diámetro de flor abierta.....	67
Figura nº5:	Valor medio del número de estambres de la flor.....	68
Figura nº6:	Valor medio de la longitud del pistilo.....	68
Figura nº 7:	Valor medio de la longitud de los pétalos.....	69
Figura nº 8	Valor medio de la anchura de los pétalos.....	69
Figura nº 9	Valor medio del diámetro de la flor abierta de guindos.....	74
Figura nº 10	Valor medio del número de estambres de la flor de guindos.....	74
Figura nº 11	Valor medio de la longitud del pistilo de guindos.....	75
Figura nº 12	Valor medio de la longitud de los pétalos de guindos.....	75
Figura nº 13	Valor medio de la anchura de los pétalos de guindos.....	76
Figura nº 14	Angulo de la base de la hoja de cerezo.....	81
Figura nº 15	Angulo del ápice de la hoja de cerezo.....	82
Figura nº 16	Longitud del pecíolo en hojas de cerezo.....	82
Figura nº 17	Longitud del limbo de hoja de cerezo.....	83
Figura nº 18	Anchura del limbo de hojas de cerezo.....	83
Figura nº 19	Relación longitud / anchura del limbo en cerezo.....	84
Figura nº 20	Relación longitud del pecíolo / longitud del limbo de cerezo.....	84
Figura nº 21	Angulo de la base de la hoja en guindo.....	89
Figura nº 22	Angulo del ápice de la hoja de guindo.....	90
Figura nº 23	Longitud del pecíolo en hojas de guindo.....	90
Figura nº 24	Longitud del limbo en hojas de guindo.....	91

Figura nº 25	Anchura del limbo de hojas de guindo.....	91
Figura nº 26	Relación longitud del limbo / anchura del limbo en guindo.....	92
Figura nº 27	Relación longitud del pecíolo / longitud del limbo.....	92
Figura nº 28	Longitud media del pedúnculo del fruto de cerezo.....	97
Figura nº 29	Porcentaje del rajado en cerezos.....	98
Figura nº 30	Peso de 100 frutos de cerezo en gramos.....	98
Figura nº 31	Volumen del fruto de cerezo.....	99
Figura nº 32	Volumen del endocarpio de cerezo.....	99
Figura nº 33	Ácidos totales (gramos de ácido málico/ litro de zumo).....	100
Figura nº 34	Contenido de azúcares en variedades de cerezo.....	100
Figura nº 35	Longitud media del pedúnculo del fruto de guindo (cm).....	105
Figura nº 36	Porcentaje de rajado en guindo.....	106
Figura nº 37	Peso medio de 100 frutos de guindos (gramos).....	106
Figura nº 38	Volumen del fruto de guindos (cm ³).....	107
Figura nº 39	Volumen del endocarpio de guindos (cm ³).....	107
Figura nº 40	Ácidos totales en guindo(gramos de ácido málico /litro de zumo.....	108
Figura nº 41	Azúcares totales en guindo (° Brix).....	109
Figura nº 42	Dendrograma de cerezos y guindos basado en los caracteres morfológicos cuantitativos.....	113
Figura nº 43	Fenología de variedades de cerezo en el año 1999.....	119
Figura nº 44	Fenología de variedades de cerezo en el año 2000.....	120
Figura nº 45	Fenología de variedades de cerezo en el año 2001.....	121
Figura nº 46	Fenología de variedades de guindo en el año 1999.....	122
Figura nº 47	Fenología de variedades de guindo en el año 2000.....	123
Figura nº 48	Fenología de variedades de guindo en el año 2001.....	124

Figura nº 49	Zimograma para IDH en cerezo y guindo.....	125
Figura nº 50	Zimograma para PGI en cerezo y guindo.....	126
Figura nº 51	Zimograma para SkDH en cerezo y guindo.....	126
Figura nº 52	Zimograma para 6-PGD en cerezo y guindo.....	127
Figura nº 53	Zimograma para PGM en cerezo y guindo.....	127
Figura nº 54	Dendrograma de variedades de cerezo basado en isoenzimas	129
Figura nº 55	Dendrograma de variedades de guindo basado en isoenzimas.....	129
Figura nº 56	Gel de RAPDs de cerezo y guindo con el cebador Operón O-02.....	132
Figura nº 57	Gel de cerezo RAPDs de y guindo con el cebador Operón ^{O-12} R-08	133
Figura nº 58	Gel de RAPDs de cerezo y guindo con el cebador Operón ^{O-20} R-13	133
Figura nº 59	Gel de RAPDs de cerezo y guindo con el cebador Operón ^{P-02} R-14	134
Figura nº 60	Gel de RAPDs de cerezo y guindo con el cebador Operón ^{R-08} O-02	134
Figura nº 61	Gel de RAPDs de cerezo y guindo con el cebador Operón ^{R-13} O-12	135
Figura nº 62	Gel de RAPDs de cerezo y guindo con el cebador Operón ^{R-14} O-20	135.

RESUMEN

Resumen

Los cerezos y guindos son cultivos de zona templada, de interés creciente en la actualidad debido a sus calidades nutricionales y de uso industrial. Hoy en día, la gran mayoría de las variedades cultivadas son fruto de planes de mejora llevados a cabo en países con tradición en estos cultivos. La utilización de estas variedades ha llevado al abandono de las variedades tradicionales, que son un repositorio de genes de interés inmediato o futuro, por lo que su estudio es de importancia vital.

En este trabajo se han caracterizado las siguientes variedades de cerezo (*P. avium* L): "Precoce Bernard", "Burlat", "Lisboeta", "Francesa de Alenquer", "Saco 1", "Saco 2", "Tardif de Vignole", "Maringa" y "Morangão". Se estudiaron también ocho variedades de guindo (*P. cerasus* L): "Pedro Miguel D'Óbidos", "Sobral D'Óbidos", "Martinho D'Óbidos", "Galega", "Garrafal Rosa", "Seixas", "Garrafal" y "Garrafal Negra", de una colección ubicada en la cara norte de la sierra de Gardunha, en Alcongosta, (Fundão), en la zona interior del centro de Portugal. Los métodos que se han empleado para conseguir este objetivo han sido: la descripción morfológica, el estudio isoenzimático, y el análisis del ADN mediante RAPDs, así como la observación de los distintos estadios fenológicos durante un período de tres años consecutivos. Entre las variedades estudiadas se han detectado algunos casos de homonimias, como en los cerezos "Saco 1" y "Saco 2", que se ha concluido que se trata de variedades diferentes, y otros casos de sinonimias, como los guindos "Galega" y "Garrafal Rosa", que son la misma variedad, y lo mismo sucede con las tres variedades, "Pedro Miguel D'Óbidos", "Martinho D'Óbidos" y "Sobral D'Óbidos", que corresponden a sinonimias de la misma variedad.

El estudio morfológico realizado, además de facilitar una adecuada caracterización, permitió una distinción de las variedades estudiadas.

El análisis isoenzimático, cuyo sistema más discriminante ha sido el de la fosfoglucomutasa, permitió complementar los resultados obtenidos con los descriptores morfológicos.

Estos estudios se completaron con los marcadores RAPDs, si bien los resultados obtenidos no son del todo concluyentes y presentan algunas dificultades reproducibilidad, aportando sin embargo una primera información con vistas a la caracterización molecular de estas variedades.

El seguimiento fenológico realizado también ha permitido sacar algunas conclusiones y datos comparativos de las variedades estudiadas, en particular en lo que se refiere a la mayor o menor precocidad de cada una de ellas.

ABSTRACT

Sweet Cherries and sour cherries are cultures from mild climate zones with a high economic interest due to their nutritional and industrial qualities. Nowadays, the great majority of their cultivated varieties are result of improvement projects carried out in countries with old traditions on these cultures. The utilization of these varieties lead to the abandonment of the traditional ones, which are a repository of genes with an immediate or future interest, so their study was of a vital importance.

In this work have been featured the following nine sweet cherry varieties (*P. avium* L): "Precoce Bernard", "Burlat", "Lisboeta", "Francesca de Alenquer", "Saco 1", "Saco 2", "Tardif de Vignole", "Maringa" and "Morangão". Eight varieties of sour cherries (*P. cerasus* L.) have also been studied: "Martinho D'Óbidos", "Pedro Miguel D'Óbidos", "Sobral D'Óbidos", "Galega", "Garrafal Rosa", "Seixas", "Garrafal", and "Garrafal Negra", from a collection located on the North face of the Serra da Gardunha, Alcongosta, Fundão (inland centre zone of Portugal). The methods applied to reach this goal were: morphologic description, isoenzymatic study, DNA analysis by RAPDs and observation of the different phenological periods during three years. Among the varieties, some homonymical and synonymical problems have been detected. So, the "Saco 1" and "Saco 2" cherries are different varieties. Among the sour cherries, "Galega" and "Garrafal Rosa" are the same variety, as are "Pedro Miguel D'Óbidos", "Martinho D'Óbidos" and "Sobral D'Óbidos" varieties.

The morphological study made easy an adequate characterization, and also allowed a differentiation of varieties.

The isoenzymatic analysis, whose most discriminating system has been PGM (Phosfoglucomutasa), allowed completing the results with morphological describers.

The phenological study allowed the confirmation that environment conditions influence the sprouting, the blooming, the petal fall and the fruit set.

RESUMÉ

Les cerisiers et griottiers sont des cultures avec intérêts croissants actuellement à cause de leurs qualités nutritionnelles et utilisation industrielle. La majeure partie des variétés cultivées est le résultat de plans d'amélioration menés à bien dans les pays où leurs cultures existent avec tradition. L'utilisation de ces variétés a mené à l'abandon des autres qui sont importantes car elles représentent une réserve de gènes avec intérêts immédiats ou futur et par conséquent l'importance vitale de leurs études.

Dans ce travail, les variétés de cerisiers (*Prunus avium* L.) qui ont été caractérisées sont les suivantes : "Precoce Bernard", "Burlat", "Lisboeta", "Francesca de Alenquer", "Saco 1", "Saco 2", "Tardif de Vignole", " et "Maringa" et Morangão" . Les huit variétés de griottiers (*Prunus cerasus* L.) qui ont été étudiés sont : "Martinho D'Óbidos", "Pedro Miguel D'Óbidos", "Sobral D'Óbidos", "Galega", "Garrafal Rosa", "Seixas", "Garrafal" e "Garrafal Negra". Ces variétés sont issues d'un échantillonnage du Nord de la chaîne montagneuse de Gardunha, Alcongosta, Fundão (région située au centre du Portugal). Les méthodes utilisées pour arriver à cet objectif ont été : description morphologique, étude isoenzymatique, analyse de l'ADN à l'aide des RAPDs et observation des différentes phases phénologiques durant une période de trois ans. Entre les variétés, ont été détectés des problèmes d'homonymies et synonymies. Comme résultat, on peut dire que les variétés "Saco 1" et "Saco 2" sont différentes ; les griottiers "Galega" et "Garrafal Rosa" font partie de la même variété tout comme "Pedro Miguel D'Óbidos", "Sobral D'Óbidos", "Martinho D'Óbidos".

L'étude morphologique réalisée, en plus d'avoir facilité une caractérisation adéquate a permis la distinction des variétés.

L'analyse isoenzymatique, dont le système le plus discriminant a été PGM (phosphoglucosylase), a permis de compléter les résultats avec les descripteurs morphologiques.

Finalment, l'étude phénologique réalisée a aussi permis d'observer que l'environnement a de l'influence sur le bourgeonnement, la floraison, la chute des pétales et nouaison.

1-INTRODUCCIÓN

1.1. Origen

Cerezos y guindos se consideran originarios del centro del cercano Oriente que incluye Asia Menor, Irán, Irak y Siria. Watkins (1976) sugiere que la primera especie del género *Prunus* surgió en Asia Central y que cerezo y guindo derivan de esa primera especie ancestral.

A través de restos encontrados en excavaciones de cuevas en distintos lugares de Europa, se piensa que los cerezos silvestres fueron una fuente de comida para poblaciones prehistóricas (Hedrick *et al.*, 1915; Marshall, 1954). La primera mención al cerezo por el valor de sus frutos la recoge Teofrasto hacia el año 300 a.C. considerando que fue en Grecia donde se inició el cultivo de esta especie que probablemente fue también aprovechada por el valor de su madera y por sus gomas como aliviadoras de la tos (Webster, 1996). Los romanos llevaron el cerezo a distintos lugares de Europa en el siglo I, pero su cultivo casi desapareció entre los siglos IX y XVI.

La presencia del cerezo en la península Ibérica está documentada desde principios del siglo XIV, en la zona del Valle del Jerte y se cree que fueron los árabes quienes la introdujeron en esta zona junto con otros frutales (Flores, 1985).

1.2. Interés del cultivo

Los cerezos y guindos han sido apreciados como fuente de alimentación por sus frutos, desde civilizaciones prehistóricas. Se valoran principalmente por su frescura, gran palatabilidad y por el atractivo de su coloración. Los frutos del cerezo son consumidos fundamentalmente en fresco y los del guindo son aprovechados mayoritariamente en mermeladas y en aguardientes. Entre sus cualidades nutritivas destaca su acción antioxidante. Cabe destacar que en la variedad de guindo “Montmorency” se citan más de 17 compuestos antioxidantes según estudios de la “Michigan State University” (MSU) plasmados en la página web <http://www.cherrymkt.health>. Los guindos tienen también una cantidad considerable de melatonina, sustancia producida por la glándula pineal que controla los ritmos circadianos diarios (Burkhart *et al.*, 2001). La melatonina ayuda a controlar el sueño.

Otra utilidad de los cerezos y guindos es su acción en disminuir la enfermedad de “gota” resultante de la acumulación de ácido úrico en las articulaciones. Además de por sus frutos, estas especies pueden tener importancia por el pedúnculo del fruto ya que según Blazso y Gabor (1994) pueden tener una acción benéfica para la salud, puesto que la infusión de estos productos tiene efectos antiinflamatorios y efectos benéficos sobre las enfermedades cardiovasculares (Hetenyi y Valyi-Nagy, 1969). El cerezo es además muy apreciado por la calidad de su madera, existiendo en todo el mundo una demanda cada vez más importante de mobiliario a partir de esta especie. Con el creciente interés por cerezos y guindos ha surgido una industria asociada que sorprende por su originalidad en la confección de productos tales como tartas, aguardientes, licores, zumos, pastillas y cremas antiinflamatorias.

1.3. Taxonomía y Morfología

1.3.1. Taxonomía

Cerezo y guindo pertenecen a la familia de las Rosáceas y desde el punto de vista pomológico corresponden al género *Prunus* subgénero *Cerasus* (Linnaeus, 1753). Ingram (1948) divide el subgénero *Cerasus* en ocho secciones que separa en función de la forma del tubo calicino, la pubescencia del estilo y el recorte de la hoja madura. La sección más relevante es la número 1, denominada *Eucerasus* a la cual pertenecen las especies cerezo dulce (*Prunus avium* L.), guindo (*Prunus cerasus* L.) y cerezo de Mongolia (*Prunus fruticosa* L.).

Aunque esta clasificación es aceptada por la mayor parte de los botánicos, aún encontramos muchas referencias en las que se clasifica a estas especies dentro del género *Cerasus*. Webster (1996) considera que sólo los sistemas de clasificación basados en el fruto y/o en el hueso son los que incluyen a cerezos y guindos en el género *Cerasus*.

Olden y Nybom (1968) efectuaron cruces entre *Prunus fruticosa* y *Prunus avium* y el híbrido resultante se asemejó notablemente a *Prunus cerasus* por lo que dedujeron que las dos especies cruzadas serían los parentales de los guindos, que fueron considerados como alotetraploides con herencia disómica (Beaver y Iezzoni, 1993). La parte de *Prunus fruticosa* quedó comprobada a partir de algunos fragmentos de restricción de polimorfismos de cloroplastos encontrados en guindos,

en los que apenas aparecieron polimorfismos de cloroplastos similares a *Prunus avium* (Iezzoni, 1986). Debemos referir que el *P. avium* no es el parental femenino según lo que afirman Panda *et al.*, (2003) El intercambio de genes entre el guindo y sus progenitores puede ser un factor evolutivo significativo (Hillig y Iezzoni, 1988).

1.3.2. Morfología

El cerezo (*Prunus avium*) es un árbol de hoja caduca, de gran tamaño, que ocasionalmente puede alcanzar los 20 metros de altura. La corteza es lisa y anillada, de color marrón rojizo y se desprende en anchas bandas transversales. Esta especie presenta problemas importantes de conducción debido a la dominancia apical, ramifica muy poco, por lo que suele alcanzar grandes dimensiones que dificultan los trabajos en altura como podas, recolección y tratamientos fitosanitarios. Las hojas son largas (7,5 - 12,5 cm) y tienen una anchura aproximada de la mitad de su longitud. El pecíolo es largo, en la base se sitúan los nectarios, que tienen una coloración rojiza procedente de las antocianinas. Las flores son blancas, de diámetro alrededor de 2,5 cm. Los frutos son drupas de formas redondeadas y acorazonadas, de colores variables entre cremas, rojos y negros. Las dimensiones del fruto son variables, oscilando alrededor de 2,0 cm. El endocarpo tiene una forma más o menos globosa y casi lisa.

Webster (1996) hace una división de los cerezos en tres grupos: los “Mazzards”, especies salvajes con frutos pequeños y formas y colores variados; los “Geants” o “Guignes”, que engloban los frutos acorazonados de carne blanda; y un tercer grupo que correspondería a los “Bigarreux”, que son cerezos con carne firme, forma acorazonada y frutos con poco color.

Linnaeus (1753) asignó a los “Geants” la denominación de “Juliana” y De Candolle les asignó el nombre de *Cerasus julian*. Los “Bigarreux” eran para Linnaeus *P. avium duracina* y para De Candolle *Cerasus duracina*.

Además de los tres grupos citados, podemos encontrar otro tipo de cerezos denominado “Duke cherries” que son considerados un híbrido entre cerezos y guindos. Probablemente surgieron de la polinización de *Prunus cerasus* por células madre del polen de *Prunus avium*. Este grupo tiene como variedad de referencia la “Reine” hortense.

El guindo (*Prunus cerasus*) es un árbol de porte bajo con tendencia a formas arbustivas densas, debido a la gran cantidad de chupones que se forman en la base. Las hojas son más pequeñas que las de cerezo (4-7 cm de longitud), son ovales u ovaladas y tienen un ápice pronunciado. Las flores, que se forman en ramos de un año, son blancas con diámetro de 1,75 a 2,5 cm. Los frutos son rojos o negros, redondeados, de sabor bastante ácido. Las principales características que distinguen los guindos de los cerezos son el tamaño de las hojas, la acidez o sabor amargo del fruto y la forma acampanulada del tubo calicino en las flores de los guindos (Webster, 1996).

Para los guindos se adopta una clasificación más simple que para cerezos dividiéndose solamente en dos grupos: Los “Amarelos” y los “Morelos”. Los primeros son cultivares con frutos rojo pálido y zumo no coloreado. Según Webster (1996) el nombre “Amarelo” deriva de una palabra latina similar que significa amargo. Los “Morelos” presentan frutos con zumo oscuro y deben su nombre a la palabra latina cuyo significado es negro. Linnaeus (1753) refiere los dos grupos mencionados como *P. cerasus capronia* y *P. cerasus austera* respectivamente. Además de estos dos grupos principales se puede considerar otro tipo de guindos que englobaría los de fruto más pequeño con zumo muy aromático.

1.4. Condicionantes del cultivo.

1.4.1. Condicionantes climáticos.

Cerezo y guindo son árboles de hoja caduca que crecen en áreas con un clima de tipo templado o mediterráneo. Las condiciones térmicas marcan las limitaciones más importantes en la producción de estas especies. Necesitan un periodo de latencia o de reposo que comienza en otoño iniciándose con un movimiento de asimilados hacia los órganos de reserva (raíces y leño) y una posterior defoliación. El crecimiento se renueva después de satisfacer unas determinadas necesidades en frío. Esta necesidad de frío impide el cultivo en zonas subtropicales y tropicales ya que la temperatura no desciende a valores suficientes como para estimular el reposo y defoliación. En el plano experimental se ha demostrado que la entrada en reposo puede ser inducida por productos químicos (Webster y Looney, 1996) aunque en condiciones de campo raras veces se lleva a la práctica.

Los fríos severos de invierno son también un condicionante importante para la producción de estas dos especies, en particular los cerezos. En el estado de Washington el frío severo provoca pérdidas irreparables en los árboles (Webster y Looney, 1996) y en Europa el frío parece ser la razón que marca la distribución de las dos especies. Así, en Europa occidental la especie predominante es el cerezo debido a que el Océano Atlántico ocasiona una moderación en las temperaturas y en Europa del Este predomina el guindo, que tiene mayor resistencia al frío que el cerezo. La región del Este europeo está influenciada por el frío siberiano y al no estar protegida por la acción del Océano Atlántico los fríos invernales son muy rigurosos.

La necesidad de un frío moderado sin llegar a temperaturas extremas son las principales razones que determinan que el cultivo de estas especies se ubique esencialmente en zonas templadas.

Estas especies requieren frecuentes aportes de agua de riego o de la lluvia durante la estación de crecimiento siempre que las lluvias no se produzcan en floración y/o maduración. En estos periodos la lluvia puede comprometer seriamente la producción. En el primer caso por la falta de cuajado y en maduración los frutos se pueden dañar seriamente por efecto del rajado.

1.4.2. Rajado de los frutos

Los frutos de muchas especies son sensibles al rajado durante o después de la lluvia, pero ninguno parece ser tan sensible a este accidente como los cerezos. La susceptibilidad al rajado puede llegar a ser el factor más limitante de la adaptación de esta especie a una determinada zona (Christensen, 1996; Pennel y Webster, 1996; Sekse, 1998), pudiendo en algunos años y algunos cultivares alcanzar el valor de 90% de frutos rajados. En algunos casos, valores del 25% pueden ser responsables de una cosecha antieconómica (Looney, 1985). La sensibilidad al rajado es variable, dependiendo de los diferentes cultivares, pero aún en los que se consideran resistentes, un exceso de lluvias en maduración puede provocar rajados importantes. Los frutos rajados no tienen comercialización y por tanto afectan a la rentabilidad de las plantaciones, además tienen el problema adicional de ser susceptibles a diferentes hongos como la *Botrytis*.

El rajado de los cerezos y guindos ha sido investigado desde 1930 (Verner, 1938). La explicación del fenómeno viene dada por la alta absorción de agua a través

de la epidermis del fruto que no es compensada con un crecimiento o estiramiento proporcional del epicarpo produciéndose el rajado de éste (Opara *et al.*, 1997). Los cerezos exhiben tres diferentes y bien definidos tipos de rajado: el circular o semicircular, que se produce en la zona del pedúnculo, el que se produce en la parte apical, que es un rajado más fino, y el más problemático, que es irregular, alargado y puede llegar a ser bastante profundo (Christensen, 1996). Las dos primeras lesiones, raramente referenciadas, deprecian los frutos para la comercialización ya que llevan a una suberificación de la epidermis. La tercera lesión no suele cicatrizar y conduce a severos ataques de *Botrytis*

Verner (1938) advirtió que dividiendo el fruto de cerezo en diferentes secciones existía un gradiente en la concentración de azúcares desde la zona del ápice hacia la zona peduncular. Este autor indica que el ápice es la primera zona que se afecta por rajado, ya que el tener una elevada concentración osmótica conlleva una mayor absorción a través de la epidermis en esta zona.

El alto valor de los cerezos y guindos en el mercado mundial y las pérdidas importantes debidas al rajado en maduración, incentivaron a los investigadores a resolver el problema. La elección de regiones con poca precipitación en la época de cosecha es una de las mejores soluciones, pero esas zonas son escasas. Otra alternativa es utilizar variedades resistentes y la utilización de métodos de prevención.

Medida del rajado:

Medición en la plantación:

El método más obvio para valorar la tendencia al rajado es determinar el porcentaje de frutos rajados bajo las condiciones de campo. El problema es que esta determinación no permite hacer comparaciones entre especies y variedades ya que para ello el periodo de maduración debería ser el mismo (Christensen, 1975, 1996). Para hacer una adecuada estimación de la susceptibilidad al rajado la valoración debe ser realizada durante algunos años con diferentes condiciones climáticas. El método puede ser apropiado para estudiar la eficacia de los medios de prevención.

Estimación por inmersión en agua:

El método consiste en sumergir los frutos en agua y medir el porcentaje de rajados después de un intervalo de tiempo determinado. Este puede variar de acuerdo con la resistencia al rajado y de los objetivos del experimento. Christensen (1975,1996) sugiere un intervalo de tiempo de seis horas. El método tiene el inconveniente de no igualar las condiciones naturales de lluvia.

Métodos de prevención:

Químicos:

Consisten en la aplicación de productos químicos directamente a los frutos. Hay muchas referencias en la literatura, que indican que la aspersión con sales minerales, fungicidas y otros productos químicos reducen el rajado, pero pueden tener efectos secundarios perjudiciales por dejar residuos en los frutos y hojas (Bullock, 1952; Cation y Friday, 1859; Christensen, 1972b). Los productos químicos que reducen el rajado deben tener por lo menos una de las siguientes características: reducir la absorción de agua, incrementar la transpiración del agua de la superficie del fruto o mejorar la epidermis de los frutos (Christensen, 1996).

Uno de los tratamientos más indicados para reducir el rajado, es la aplicación de calcio (Kertesz y Nebel, 1935; Verner, 1938). Se constató que la aplicación de caldo bordelés (mezcla de sulfato de cobre, cal y agua) disminuía los frutos rajados, lo que llevó a pensar que el calcio tendría un papel favorable frente al rajado (Christensen, 1972a, 1975, 1996). El calcio actúa sobre la pared de las células reduciendo la diferencia de potencial osmótico de la pared del fruto y del soluto dentro del fruto (Sekse, 1998); este efecto hace que la pared de los frutos quede más firme. El calcio es un elemento que forma parte de la lámina media de las paredes celulares que está constituida principalmente por pectato de calcio y magnesio (Mcready y McComb, 1954; Salisbury y Ross, 1991). El déficit de calcio en los cerezos ocasiona menor firmeza de los frutos (Curvin *et al.*, 1978) por la disminución de la permeabilidad de la membrana y reducción del fortalecimiento de las pectinas (Bullock, 1952; Webster y Cline, 1994). La efectividad de este elemento contra el rajado fue estudiada por diversos investigadores (Demirsoy y Bilgener, 1998; Fernandez y Flore, 1998; Sekse, 1998), pero Bangert (1968) y Hermann y Feucht (1984) no encontraron correlación entre el calcio del fruto de ocho variedades y el índice de rajado. Hermann y Feucht (1984) advirtieron que el incremento en

Ca(OH)₂ por aspersión en el campo no fue efectivo contra el rajado. Otros autores consideran que los compuestos más efectivos son CaCl₂, Ca(OH)₂, Ca(NO₃) y el acetato de calcio (Bullock, 1952; Christensen, 1972a; Verner, 1938). Los efectos del calcio se hacen notar si se aplica de 2 a 4 semanas antes de la cosecha, pero los mejores resultados se alcanzan si se aplica durante la lluvia (Christensen, 1996).

Otros elementos químicos como el aluminio, el cobre y el boro se ensayaron para determinar su incidencia sobre el rajado. Bullock (1952) mostró que el aluminio tiene un fuerte efecto sobre la reducción del rajado. Christensen (1996) afirma que el sulfato de cobre es también un agente anti-rajado y apunta al cobre como el principal agente del efecto positivo del caldo bordelés. En algunos ensayos el boro llegó a disminuir en un 50% el rajado en frutos (Powers y Bolden, 1947).

Se considera que los tratamientos al fruto con fungicidas y con agentes humidificantes pueden ser también eficaces frente al rajado. Christensen (1972 a, 1975, 1976) afirma que la aplicación de agentes humidificantes una hora después de la lluvia disminuye considerablemente el rajado.

Físicos:

Los primeros ensayos se realizaron en Suiza, país donde la lluvia en maduración constituye un problema serio para la rentabilidad de los cerezos y guindos (Pennel y Webster, 1996). En los países nórdicos, en Noruega principalmente, la protección con plásticos es una práctica muy frecuente (Borve y Meland, 1998). El sistema de protección se forma con una estructura fuerte de madera o tubos galvanizados de altura adecuada, cubiertos con polietileno (Pennel and Webster 1996). La cobertura se cierra 3 semanas antes de la cosecha o cuando los frutos cambian de color (Meland y Skjervheim, 1998). Inicialmente de una cobertura de plantas aisladas se pasó a cubrir hileras completas (Borve and Meland 1998). Alturas de 3 m son referidas por Meland y Skjervheim (1998). Por debajo de la cobertura, la temperatura puede ser excesivamente alta y causar daños en los árboles y atrasar la cosecha de los frutos. Para evitar el problema debe promoverse la ventilación en el interior (Meland y Skjervheim, 1998). El sistema de protección es caro pero el elevado valor de los cerezos y guindos en el mercado mundial puede compensar la inversión en zonas de frecuentes lluvias en maduración. (Meland y Skjervheim, 1998)

1.4.3. Condicionantes edáficos

Otros factores determinantes en el cultivo de cerezos y guindos son las condiciones del suelo.

Los suelos idóneos para el cultivo del cerezo deben tener por lo menos un metro de profundidad, una buena capacidad de retención de agua y al mismo tiempo buena permeabilidad y drenaje. El pH adecuado para este cultivo varía entre 6 y 7 (Longstroth y Perry, 1996). Suelos con pH menor que 6 no son adecuados pues los macro y micronutrientes están menos accesibles; los que tienen pH superior a 8 plantean problemas porque elevadas concentraciones de calcio activo pueden ocasionar clorosis (Lichou *et al.*, 1990). En suelos húmedos y arcillosos el cerezo puede presentar problemas puesto que su sistema radicular es muy sensible al encharcamiento produciéndose fácilmente asfixia radicular (Day, 1951; Rowe y Beardsel, 1973). Según Lichou *et al.*, (1990) los suelos que presenten capa freática a menos de 60 cm deben ser rechazados para el cultivo de cerezo.

Dependiendo del tipo de suelo serán recomendables distintos patrones y su elección está basada fundamentalmente en: resistencia a asfixia radicular, resistencia a la sequía y sensibilidad a clorosis (Lichou *et al.*, 1990).

En áreas con deficiente drenaje son recomendable los patrones de *P. avium* pues son muy vigorosos y generan raíces de forma muy rápida (Beckman y Perry, 1987; Perry, 1987; Roth y Grupp, 1985). Los patrones de guindo (*P. cerasus*) son bastante tolerantes a la humedad y se adaptan a los suelos con mal drenaje, pero la profundidad de enraizamiento de estos patrones es muy reducida. Cerezos injertados en guindos en suelos arenosos son siempre excesivamente enanos y poco productivos (Webster y Schmidt, 1996).

Los patrones de *P. mahaleb* son muy sensibles a los suelos húmedos y condiciones anaeróbicas durante el período invernal, de forma que puede producirse la muerte de los árboles (Webster y Schmidt, 1996). En suelos arenosos los patrones de *P. mahaleb* son más aconsejables que los de *P. avium* (Larsen, 1972; Longstroth y Perry, 1996). Los patrones de *P. mahaleb* son también recomendables para suelos calcáreos y en general para los que tienen pH elevado.

En general, los patrones procedentes de híbridos entre *P. avium* y *P. mahaleb* son los más utilizados en todo el mundo (Lichou *et al.*, 1990)

Respecto a la adaptabilidad de las nuevas selecciones de patrones a las condiciones edáficas, se considera que el híbrido Colt (*P. avium* x *P. pseudocerasus*) es tolerante a suelos con débil drenaje pero no soporta suelos secos (Parnia *et al.*, 1985); el *Prunus canescens* y sus híbridos son muy sensibles a condiciones anaeróbicas (Lichou *et al.*, 1990); los híbridos Gisela 1 (*P. fruticosa* x *P. avium*) y Gisela 10 (*P. fruticosa* x *P. cerasus*) muestran tolerancia a los suelos encharcados (Roth, 1986, citado por Webster y Schmidt, 1996; (Lichou *et al.*, 1990). Por último, algunos estudios realizados en Alemania mostraron que los clones Giessen fueron tolerantes a drenajes deficientes (Gruppe, 1985), los patrones GM 8 fueron extremadamente sensibles y los patrones enanizantes Edabriz, Damil e Inmil mostraron una sensibilidad media a altos contenidos en calcio (Edin, 1989; Lichou *et al.*, 1990).

Otro problema para los cultivos de cerezo y guindo que se puede presentar en algunos suelos es la presencia de nematodos de los géneros *Pratylenchus*, *Xiphinema* y *Melodogyne*. Para su control Longstroth y Perry (1996) y Webster (1984) aconsejan la aplicación de nematicidas aunque según Miller *et al.*, (1990) su efectividad es bastante dudosa en el caso de plantaciones de cerezo. Los tratamientos químicos contra nematodos parecen ser más efectivos en las replantaciones de los mismos árboles (Longstroth y Perry, 1996).

Las enfermedades causadas por hongos del suelo de los géneros *Armillaria*, *Phytophthora* y *Verticillium* así como por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* pueden atacar al sistema radicular. Estas enfermedades causan daños y bajas importantes en los cultivos de cerezos y guindos. *Armillaria mellea* es particularmente peligrosa en los árboles injertados en *P. mahaleb*.

1.4.4. Exceso de vigor

La inmensa mayoría de los cerezos muestran de forma inherente un gran vigor, llegando en plena producción a ser árboles muy grandes, con exceso de altura para la realización de trabajos en él.

En plantaciones comerciales de cerezo, en las que se usan sistemas de conducción para formar árboles pequeños que faciliten los trabajos de recolección y

tratamientos fitosanitarios, se hace necesario controlar el vigor de los árboles (Edin, 1989; Edin *et al.*, 1996; Webster, 1998). La utilización de árboles pequeños posibilita además el uso de la cobertura plástica para la protección de la lluvia.

El control del vigor en plantaciones comerciales se puede conseguir por los siguientes métodos: utilización de variedades tipo “spur”; injerto en patrones de poco vigor; utilización de madera intermedia; altura del injerto; y por último, a través de la utilización de productos químicos reguladores del crecimiento.

Algunas variedades enanas de cerezo, denominadas tipo “spur” han aparecido a partir de programas de mejora de cultivares utilizando radiaciones (Lapins, 1983; Spiegel-Roy, 1990). Así han surgido mutantes compactos de alto interés como Van, Stella y Lambert en Canadá y Durone Nero II y Mora di Cazzano en Italia (Fideghelli *et al.*, 1983; Lapins, 1983).

En general se considera que los patrones ofrecen el método más efectivo para controlar el vigor de los cerezos y guindos. Algunos clones de *Prunus cerasus* seleccionados en Alemania y Francia (clones Weist y Edabriz) se han mostrado muy eficaces en el control del vigor en variedades de cerezo, pero otros patrones enanizantes tienen el problema de no permitir la propagación clonal y ser muy improproductivos (Webster y Schmidt, 1996). El vigor alcanzado por los árboles depende en gran medida de las condiciones edafoclimáticas; así cerezos injertados en *Prunus mahaleb* en Burdeos con suelos ligeros, arenosos y veranos cálidos muestran tamaños pequeños mientras que en la zona de Bretaña, con suelos pesados, alcanzan tamaños mucho mayores (Webster y Schmidt, 1996). Los cerezos injertados sobre patrones de guindo son generalmente más pequeños que los injertados en *Prunus avium*.

La altura del injerto es otro de los métodos estudiados para controlar el vigor en especies frutales. En manzanos se ha comprobado que los injertos altos muestran reducciones frente a los bajos (Parry, 1986). Resultados similares se han conseguido en perales sobre membrilleros (Webster, 1998; Webster y Looney, 1996; Webster y Schmidt, 1996). En cerezo se han hecho ensayos para reducir el vigor injertando alto sobre el patrón Colt pero no se han obtenido resultados claros (Webster, 1998). También el mismo autor injertó Merton Gloria a diferentes alturas (25, 30, 45 y 60 cm) del suelo y no detectó diferencias significativas. Sin embargo, Parry (1986) muestra un estudio con resultados contundentes en que se incrementó el enanismo de los árboles por el injerto alto en patrones de *Prunus mahaleb*. Otros autores indican

que el vigor aumenta con la altura del injerto en patrones de *Prunus avium* (Sadowski *et al.*, 1996).

1.4.5. Incidencia de enfermedades y plagas.

El control de enfermedades y plagas es necesario para obtener rentabilidad en las plantaciones de cerezo y guindo ya que algunos agentes pueden reducir notablemente las producciones. Las enfermedades y plagas más importantes se citan a continuación:

1.4.5.1. Enfermedades

Dependiendo de los agentes causantes consideramos enfermedades producidas por virus, micoplasmas y afines, causadas por bacterias y causadas por hongos.

1.4.5.1.1. Enfermedades producidas por virus

- Virosis diseminadas vía polen:

Las virosis más comunes que infectan los cerezos en todo el mundo son las que utilizan las semillas y el polen como principal medio de propagación. Están englobadas en los grupos PNRSV, *Prunus necrotic ringspot virus*, (virus de los anillos necróticos de los *Prunus*) y PDV, *Prunus dwarf virus*, (virus del enanismo de los *Prunus*). Ambas son clasificadas como ilarvirosis y aunque sean serológicamente y bioquímicamente distintas, sus propiedades biológicas son muy similares y es habitual encontrar la misma plantación y el mismo árbol afectado al mismo tiempo por PNRSV y PDV. Una vez establecidas en la plantación son transmitidas por el polen. La diseminación a grandes distancias de estas enfermedades puede ser ayudada por las colmenas utilizadas en las polinizaciones de frutales (Mink y Jones, 1996).

Tanto en cerezo como en guindo, PNRSV y PVD causan una variedad de síntomas. La mayoría de las enfermedades derivan su nombre de los síntomas. Como ejemplos pueden referirse el *necrotic leaf spot* (punto necrótico en hoja), *narrow leaf* (hoja estrecha), etc.

- Virosis transmitidas por agentes vectores aéreos:

Se dividen en cinco tipos:

- Little cherry disease* (LCD)—virus de la cereza pequeña
- Mottled leaf disease* (MLD)—virus del moteado de la hoja
- Rusty mottled disease* (RMD)—virus del moteado pardo
- Twisted leaf disease* (TLD)—virus del enrollado de la hoja
- X disease* (micoplasma)

- Virosis diseminadas por nematodos y otros agentes vectores del suelo:

Todas las enfermedades incluidas en esta sección son causadas por virosis pertenecientes al grupo de los nepovirus. En este grupo están incluidos los virus *Arabic mosaic*, AMV (virus del mosaico de Arabia), el *cherry leaf roll virus* CLRV (virus del enrollado del cerezo), el *raspberry ringspot virus* RRSV (virus de los anillos de la frambuesa), el *strawberry latent ringspot virus*, SLRV (virus de los anillos de la fresa) y el *tomato black ring virus*, TBRV (virus de los anillos negros del tomate) (Mink y Jones, 1996).

- Virosis transmitidas por injerto:

Estas forman un grupo heterogéneo. El agente causal principal es el *green ring mottle virus*, GRMV (virus del moteado verde).

1.4.5.1.2. Enfermedades causadas por hongos.

Enfermedad de la mancha de las hojas:

Es la principal enfermedad en Europa. Los síntomas aparecen en principio en el haz de las hojas con la forma de manchas pequeñas, circulares y color de rosa que después se vuelven marrones. Es causada por el hongo *Blumeriella jaapi* (Rehm) Ars.

Moniliosis:

Es una de las enfermedades más frecuentes en cerezo mientras que los guindos muestran una mayor resistencia. Ataca flores y frutos, siendo la lesión en

estos últimos lo más problemático pues pueden pudrirse antes de la cosecha. Es causada por *Monilia fructigena*.

Otras enfermedades:

Monilia laxa, *Alternaria*, *Phytophthora*, *Armillaria*, Verticilosis y Oídio son otras enfermedades causadas por hongos que atacan cerezos y guindos.

1.4.5.1.3. Enfermedades causadas por bacterias (Mink y Jones, 1996).

Chancro bacteriano:

Ataca a cerezos y guindos siendo particularmente severo en cerezos. Es también problemático en otros *Prunus*. Causa chancros en las ramas y en ramos del año y en años muy húmedos pueden producirse infecciones en hojas y frutos. Es causada por la bacteria *Pseudomonas syringae* fsp. *Syringae* y *P. syringae* fsp. *Morsprunorum*. La bacteria sobrevive en los chancros, en yemas aparentemente normales y en el tejido vascular de los árboles. El método de lucha se basa en la utilización de productos cúpricos, pero al ser las hojas sensibles a estos productos, se restringe su aplicación a la época otoñal.

Agrobacterium tumefaciens:

Esta bacteria se desarrolla en las raíces tanto de cerezo como de guindo. Es particularmente severa en viveros. El síntoma es la formación de agallas en las raíces que pueden variar su tamaño de 3,5 a 10 cm de diámetro.

1.4.5.2. Plagas.

Si las enfermedades pueden reducir las producciones, en general no afectan en gran medida al producto final; sin embargo no pasa lo mismo con algunas plagas en que la presencia física de las larvas dentro del fruto desvaloriza o limita el consumo. Podemos clasificar las plagas en clave y secundarias. Las clave son aquellas de las que el control es clave para una producción con éxito, mientras que para las secundarias el control es menos crítico. Como plagas clave debemos referir

la mosca de la cereza cuya simple presencia limita el consumo (Edson *et al.*, 1998). Como plagas secundarias podemos referir los ácaros, áfidos, lagartas, minadoras, escarabajos, etc., (Brunner, 1996). Para combatir tanto las plagas clave como las secundarias se usa el control químico y el control biológico. La mosca que ataca los cerezos y guindos en Europa es la *Rhagoletis cerasi*. En el este de Norte América y Canadá las moscas clave son la *R. cingulata* y la *R. fausta* y en el oeste de estos mismos países la predominante es la *R. indifferens* (Brunner, 1996).

1.5. Zonas de cultivo. Superficies y Producciones

La producción de cerezos en el mundo se centra en la zona templada del hemisferio norte. El mayor productor mundial en 2001 fue Irán con una producción de 218.000 toneladas, cifra que venía alcanzándose desde 1997. El segundo país productor es Estados Unidos de América con una producción alrededor de las 208.000 toneladas. Desde 1997, U.S.A. mantiene constante su producción en valores alrededor de las 200.000 toneladas. El tercer país que junto con los anteriores forma el grupo de las 200.000 toneladas es Turquía; también estabilizó este valor desde 1996. Las 100.000 toneladas son también sobrepasadas por Alemania y Italia. España ocupa el 6º lugar mundial con producciones alrededor de las 100.000 toneladas alcanzadas a partir de 1999. Rumania tiene un máximo de producción de 95.000 toneladas conseguidas en 2001. El grupo de los diez principales productores se completa con Francia, Siria y Grecia (Tabla 1)

Contrastando la tabla 1 con la tabla 2 podemos afirmar que Estados Unidos, Irán y Turquía, países mayoritarios en producción, tienen un buen rendimiento unitario pues ocupan el 4º, 5º y 6º respectivamente en área cultivada con esta especie. Alemania, España y Italia aunque no sean los mayores productores ocupan la mayor superficie cultivada por lo que muestran rendimientos unitarios bajos. Bulgaria ocupa el 7º lugar en área y esta importante superficie augura buen futuro para la especie en este país. Rumania y Francia ocupan 12.000 ha con cultivo de cerezo. Siria y Grecia con 10.000 ha completan el grupo de los diez países más importantes.

Tabla 1: Producción de cerezos en los principales países (en tm).

Año	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Irán	156.755	173.280	228.195	229.079	229.079	228.056	218.000
USA	150.140	139.800	204.800	190.200	190.200	203.600	208.740
Turquía	186.000	200.000	215.000	195.000	195.000	200.000	200.000
Alemania	141.600	155.700	64300	122.053	136.800	133.000	133.000
Italia	120.167	136.933	114.232	117.105	147.757	147.608	118.667
España	55.500	74.500	64.400	52.900	90.800	111.600	96.900
Rumania	60.500	89.274	73.837	77.920	63.373	76.000	95.000
Francia	62.994	76.779	66.000	34.605	68.004	69.576	58.500
Siria	40.800	39.973	41.315	42.000	42.500	55.000	50.795
Grecia	48.772	52.776	43.084	47.284	48000	50.000	50.000
Portugal	7.831	9.438	9.362	3.155	12.765	7.421	12.000
Total mundial	1.647.890	1.808.915	1.642.683	1.631.484	1.812.282	1.898.014	1.851.340

Fuente: *FAO.org (on line)*.

Tabla 2: Superficie de cerezos en los principales países productores (ha).

Año:	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Alemania	24.710	23.500	24.350	30.000	33.000	33.000	33.000
España	24.800	24.900	29.475	30.000	30.000	30.000	30.000
Italia	24.771	27.121	25.321	26.954	26.855	28.290	27.320
USA	21.075	22.170	22.920	23.180	23.180	23.900	25.585
Irán	17.000	20.364	23.552	23.937	23.937	24.288	24.288
Turquía	20.167	20.767	21.227	21.300	21.300	22.811	22.811
Bulgaria	8.348	8.275	8.018	8.259	8.000	8.000	16.000
Romanea	13.375	12.995	12.302	11.955	12.000	12.500	13.000
Francia	14.650	14.770	14.000	11.980	12.087	12.138	12.000
Siria	8.000	8.000	8.000	8.300	8.400	11.000	11.000
Grecia	9.750	9.800	9.800	9.800	9.800	9.800	9.800
Portugal	3.334	3.573	3.672	3.827	3.900	3.900	3.900
Total mundial	334.248	337.794	345.711	346.953	351.961	361.035	362.383

Fuente: *FAO.org (on line)*.

Los tres países principales productores de guindo en el mundo son la Federación Rusa, Polonia y Estados Unidos de América con producciones medias alrededor de las 175.000 toneladas cada uno (Tabla 3). Aunque pueden variar las producciones año tras año siguen ocupando los tres primeras posiciones. Alemania ocupa también un lugar destacado con 90.000 toneladas en 2001, seguido de Yugoslavia con producciones alrededor de las 60.000 toneladas. A partir de un análisis pormenorizado de la Tabla 3 vemos que los guindos tienen su nicho de producción en Europa del Este.

La Federación Rusa mantiene la superficie de cultivo de guindo estable desde 1995 con cerca de 60.000 ha (Tabla 4). Algo semejante sucede con los demás países de Europa del Este: Polonia, Yugoslavia, Hungría, Bielorrusia y Georgia. Esta constancia puede ser debida a la inestabilidad política vivida en esos países durante ese período, con la consecuente crisis de plantación. Estados Unidos, Turquía, Irán y Portugal tampoco han sufrido cambios significativos en la superficie. Debido a las cualidades que manifiestan estudios recientes, ya referenciados, sobre las propiedades nutritivas, dietéticas y medicinales de los guindos, se prevén aumentos de superficie en los principales países productores.

Tabla 3: Producción de guindos en los principales países (en tm).

Año	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Federación Rusa	109.000	180.000	200.000	130.000	130.000	170.000	183.000
Polonia	144.382	149.384	136.012	156.258	144.539	139.595	176.693
USA	179.440	123.300	132.900	157.400	157.400	111.300	167.556
Turquía	92.000	110.000	120.000	130.000	130.000	100.000	100.000
Alemania	110.000	112.400	47.500	69.100	65.000	66.000	90.000
Yugoslavia	61.329	85.869	62.512	69.000	65.000	58.782	58.782
Hungría	47.600	65.823	64.513	49.228	49.228	40.000	45.000
Irán	32.000	38.282	45.422	42.274	42.274	42.055	39.000
Bielorrusia	40.000	40.000	35.000	18.000	26.000	28.000	30.000
Georgia	14.000	20.000	18.500	22.912	27.000	28.000	22.000
Portugal	580	597	600	600	600	600	600
Total mundial	913.896	1.002.183	935.793	891.728	884.684	932.629	1.012.323

Fuente: *FAO.org (on line).*

Tabla 4: Superficie de guindos en los principales países productores (ha).

Año	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Federación Rusa	56.000	56.000	55.500	56.500	56.500	58.000	60.000
Polonia	34.800	38.000	38.000	38.000	38.930	39.316	39.404
Yugoslavia	21.000	21.000	21.200	21.200	21.200	21.200	21.200
Hungría	15.000	13.800	12.900	17.400	17.400	17.400	17.500
USA	18.080	17.220	16.320	16.317	16.317	15.000	15.690
Turquía	12.033	12.333	12.300	12.700	12.700	12.700	12.700
Alemania	13.970	12.930	12.230	12.210	12.210	12.000	12.000
Bielorrusia	10.000	10.000	10.000	7.000	8.000	9.000	9.000
Irán	5.500	6.797	7.672	7.833	7.833	7.916	7.916
Georgia	4.500	4.500	4.500	5.000	5.000	4.800	4.500
Portugal	400	395	400	400	400	400	400
Total mundial	211.668	216.400	206.706	213.057	208.640	217.923	226.648

Fuente: *FAO.org (on line)*.

Portugal es un país de buenas aptitudes para la producción de cerezos y guindos. A partir del análisis de las tablas 1 y 5 observamos que la producción de cerezos y guindos está alrededor de 9.500 toneladas entre 1996 y 1997. Descendió notablemente en el año de 1998, que resultó pésimo para estos cultivos, cifrándose sólo en 3.155 toneladas. En 1999 mejoraron notablemente las producciones considerándose como un año bueno y en 2000, debido a las lluvias en maduración, volvieron a descender. El año 2001 fue un año bastante bueno con producciones alrededor de las 12.000 toneladas. El área de cultivo ha sufrido un ligero aumento pasando de 3.334 ha en 1995 hasta las 3.900 ha en 2001 (Tablas 2 y 6).

La principal zona de producción de cerezo es la zona de Beira interior, denominada Cova da Beira, con centro en Fundão y limitada por las sierras de Estrela, Gardunha y Malcata. Las producciones siguen la tendencia nacional. Las áreas de cerezo y guindo en esta zona aumentaron paulatinamente desde 1994 hasta 2000 (Tabla 6).

Otras zonas de impacto en la producción de cerezo son Trás-Os-Montes y Entre Douro y Minho que tienen la cuna en Alfandega da Fé y Resende respectivamente. Webster y Looney (1996) refieren también la de zona de Alenquer, que conjuntamente con otras más minoritarias tienen una producción del 2% del

total nacional. Las producciones y áreas en estas regiones siguen la tendencia nacional (tablas 1, 5 y 6)

Tabla 5: Producciones de cerezos y guindos en las principales zonas productoras de Portugal (en tm).

Año	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Entre Douro e Minho	1.740	1.108	1.199	1.439	785	1.868	1.058
Trás-Os-Montes	1.755	1.374	1.800	1.460	640	4.488	2.723
Beira interior	5.955	4.925	6.100	6.100	1.474	10.025	3.547

Fuentes: INE (Estadísticas agrícolas de Portugal).

Los precios traducidos en € /100 kg llegaron a un máximo en 1998 de 178,9 lo que pudo deberse a la escasez de producción en ese año. Como cabía esperar 1999 presentó los precios más bajos debido a las grandes producciones (Tabla 7). En 2000 y 2001 fueron comercializados estos frutos a 152,31 y 163,8 € /100 kg respectivamente.

Tabla 6: Superficie de cerezos y guindos en las principales zonas productoras portuguesas (ha).

Región	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Entre Douro e Minho	650	667	682	712	775	793	793
Trás-Os-Montes	1.015	1.028	1.032	1.046	1.074	2.439	2.507
Beira interior	1.466	1.496	1.716	1.744	1.841	2.289	2.289

Fuentes : INE (Estadísticas agrícolas de Portugal).

Tabla 7: Precios medios anuales de cerezo (en € /100 kg).

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
	122,2	132,3	141,7	179,5	178,9	92,29	152,31	163,81

Fuentes: INE (Estadísticas agrícolas de Portugal).

1.6. Variedades

1.6.1. Principales variedades cultivadas en el mundo

La mayor parte de las variedades comerciales utilizadas han sido obtenidas a partir de cruces entre variedades tradicionales. Según Iezzoni *et al.*, (1990) muchos de los cerezos de Europa tienen por lo menos un parental que es una variedad local. Casi todas las variedades son diploides ($2n=16$) aunque podemos encontrar algunos cultivares triploides y tetraploides ($2n=24$ ó 32) (Fogle, 1975).

La característica más notable de los cerezos es su incompatibilidad; la mayoría son autoincompatibles y además incompatibles con otras variedades. A pesar de este hecho, muchas variedades son polinizadoras de otras. Esta circunstancia ha de tenerse en cuenta en la selección de los cultivares a establecer ya que se requerirá compatibilidad y coincidencia de la floración.

Los criterios fundamentales de elección de una variedad son según Lichou *et al.*, (1990), el calibre, la firmeza de la carne, la resistencia al rajado, la época de maduración, la entrada en producción, la época de floración y el vigor del árbol. La calidad gustativa y la presentación del fruto son también caracteres a tener en cuenta a la hora de elegir la variedad. Para los guindos los dos criterios principales en la elección de la variedad son su calidad para el procesado y su aptitud para la cosecha mecánica.

Lichou *et al.*, (1990) dividen las variedades de cerezo en muy importantes y de interés limitado. En el primer grupo, estos autores enumeran la “Burlat”, la “Hedelfinger”, la “Summit”, la “Sunburst”, la “Tardif de Vignole” y la “Van”: Como variedades de interés limitado consideran la “Bing” y la “Precoce Bernard”, aunque Bargioni (1996) presenta la Bing como una de las variedades más cultivadas en el mundo

Actualmente existe una amplia gama de variedades disponibles para el agricultor de las cuales describimos las más interesantes:

Las principales variedades autoestériles que se utilizan en cultivo son por orden alfabético las mencionadas por Bargioni (1996) y Lichou *et al.*, (1990).

- **Ambrunés-** variedad española que se cultiva en la región de Valle del Jerte. Es una variedad de medio vigor. La floración es temprana pero el período de floración es largo. El fruto es de buena aptitud al transporte. Es un fruto

grande y su forma es ovalada. Es de color púrpura y la pulpa es de color vinosa. En maduración el pedúnculo se desprende del fruto por lo que son cosechadas y vendidas sin él. Madura cerca de 30 días después de “Burlat”. Es polinizada por “Hedelfinger”, “Moreau” y “Napoleón”.

- **Bing-** es la variedad más popular y la más importante en América del Norte. Es una variedad vigorosa. Su floración es entre temprana y media. El fruto es muy sensible al rajado. Es de coloración púrpura y la pulpa es rojo vinosa, de consistencia firme. Debido a esta última característica es de una buena aptitud al transporte y como tal apta a la exportación. Su maduración es cerca de 20-25 días después de “Burlat”. Es polinizada por ésta así como por “Rainier” y “Chinook”.
- **Burlat-** es una variedad muy popular en todo el mundo debido a su buena producción y a la precocidad de su cosecha. Es considerada la variedad de referencia en muchas colecciones. Fue seleccionada por M. Burlat en Francia. Es una variedad vigorosa. La floración es de media estación. Su fruto es grande y de forma acorazonada. La coloración de la epidermis es púrpura y la pulpa es también del mismo color. El fruto presenta una firmeza media y es sensible al rajado. La fecha de maduración es próxima al final mayo en la región de Fundão. Es polinizada por “Durone Nero 1”, “Durone Nero 2”, “Bing”, “Rainier”, “Starking Hardy Giant”, “Hedelfinger”, “Napoleón” y “Van”.
- **Durone Nero 1-** variedad italiana típica de la región de Vignole. Es considerada por muchos fruticultores como la cereza más sabrosa del mundo. Es una variedad vigorosa. El fruto es grande y de forma acorazonada. Su color es rojo a rojo oscuro casi negro. La pulpa es de color rojo a rojo negro. Es sensible al rajado. La época de maduración es 12 a 14 días después de la “Burlat”. Es polinizada por “Adriana”, “Burlat” y “Durone Nero 2”.
- **Germersdorfer-** es una variedad húngara de gran importancia en este país y a veces confundida con “Schneiders Spate Knolpelkirsche”. Hay mucha variabilidad en las variedades “Germersdorfer” en diferentes países de Europa. El árbol es vigoroso, con un porte piramidal. Es de floración tardía y bastante sensible al frío. El fruto es grande con coloración rojo a rojo oscuro. La pulpa es color de rosa, de consistencia firme y sensible al rajado. La

maduración es 30 a 35 días después de “Burlat”. Es polinizada por “Hedelfinger” e incompatible con “Napoleón” y “Bing”.

- **Hedelfinger**- es uno de los cerezos más cultivados en el mundo, en especial en Europa central. La variedad “Bradbourne Black”, posiblemente una sinonimia de “Hedelfinger”, está muy extendida en Inglaterra. El árbol es de medio vigor. Su floración es tardía y resistente a los fríos primaverales. El fruto es grande, ovoide-acorazonado y de coloración rojo marrón. La pulpa es firme, de color vinosa y de sabor a almendras. Presenta buena resistencia al rajado. Madura 25 días después de “Burlat”. Es polinizada por “Kordia”, “Germersdorfer”, “Star” y “Vitoria”.
- **Summit**- variedad obtenida en la estación canadiense de Summerland por cruce entre “Van” x “Sam”. El árbol es bastante vigoroso. La floración es tardía. El fruto es muy grande, de forma acorazonada y con sensibilidad media al rajado. La epidermis tiene color rojo brillante. La pulpa es de color rosa pálido y de firmeza media. Madura 16-18 días después de “Burlat”. Es polinizada por “Hedelfinger” y “Van”.
- **Van**- variedad obtenida en la estación canadiense de Summerland. Es cultivada en todo el mundo. El árbol es de medio vigor y floración media. Su fruto es grande, con una epidermis rojo brillante, es de consistencia firme y la pulpa de color rojo pálido. Es sensible al rajado. Madura 20 días después de “Burlat”. Esta variedad es polinizada por “Bing”, “Burlat”, “Hedelfinger” y “Napoleón”.
- **Napoleón o Royal Ann**- es una de las variedades más antiguas de Europa y tuvo su primera referencia en la segunda mitad del siglo XVIII en Alemania con el nombre de “Lauerman”. Fue rebautizada con el nombre de “Napoleón” en honor al emperador con el mismo nombre. Posteriormente fue distribuida en Estados Unidos y Canadá con el nombre de “Royal Ann”. Debido a sus buenas características para el procesado es uno de los cultivares más importantes en el mundo. El árbol es vigoroso y tiene floración tardía. El fruto es de tamaño medio, largo y de forma acorazonada. Su epidermis es amarilla pálida. La pulpa es firme, presenta una moderada sensibilidad al rajado y es también de color amarillo pálido. Madura 18-22 días después de “Burlat”. Es polinizada por “Burlat”, “Rainier” y “Van”. Cabe destacar su incompatibilidad con “Bing”, “Star” y “Lambert”.

Las principales variedades autocompatibles son las enunciadas también por Bargioni (1996):

- **Stella-** fue la primera variedad autofértil resultante del programa de mejora genética llevado a cabo por la estación de Summerland por cruce entre “Lambert” x “Jonh Innes 2420”. Es un árbol vigoroso. Su fruto es grande, de forma acorazonada, color rojo oscuro y de aspecto muy atractivo. Madura 15 días después de “Burlat”.
- **New Star-** variedad seleccionada por W.D. Lane en la estación canadiense de Summerland y por Sansavini en la Universidad de Bolonia, en Italia. Procede de un cruce de “Van” x “Stella”. El árbol es de medio vigor. Su fruto es grande, de forma esférica, similar a “Van” y más susceptible que ella al rajado. La epidermis es de color rojo oscuro y la pulpa es del mismo color y de consistencia firme. Madura 13-15 días después de “Burlat”.
- **Celeste-** seleccionada en la estación canadiense de Summerland por W. D. Lane. Procede del cruce “Van” x “New Star”. Es un árbol vigoroso, de entrada en producción lenta. El fruto es largo y con pedúnculos cortos. La coloración es oscura, de firmeza media y muy buen sabor. Es rica en sólidos solubles. Madura 6 días después de “Burlat”.
- **Lapins-** seleccionada en la estación de Summerland de un cruce de “Van” x “Stella” efectuado por Lapins. El árbol es vigoroso. Su fruto es grande, redondeado o acorazonado. Es resistente al rajado, de coloración rojo púrpura y muy firme. Madura 25-28 días después de “Burlat”.
- **Sunburst-** seleccionada por W. D. Lane de un cruce de “Van” x “Stella”. El árbol es vigoroso. Su fruto es largo, esférico y de media sensibilidad al rajado. La coloración es roja y su pulpa es también roja. Tiene buen sabor. Madura 18-20 días después de Burlat.

El guindo es un alotetraploide ($2n=32$) resultante del cruce *P. fruticosa* x *P. avium* (Olden y Nybom, 1968). Existen muchas variedades en cultivo pero las variedades comerciales más importantes son según Iezzoni (1996) por orden alfabético las siguientes:

- **Érdi Bôtermô-** variedad oriunda de un cruce entre “Pandy” x “Augy Angel”. El árbol fructifica en “spurs” aunque los ejemplares viejos lo hagan en

madera de un año. El fruto es de media estación, pesa aproximadamente 5,5 g y la coloración es rojo oscuro. La floración es precoz y es autocompatible.

- **Meteor-** Es una variedad que tiene origen en un cruce de “Montmorency” x “Vladimir”. El árbol es de vigor medio y fructifica en “spurs”. El fruto es de maduración tardía, rojo y de zumo rojo pálido. La época de floración es tardía. Es una variedad autocompatible.
- **Montmorency-** variedad con origen en Francia hace más de 400 años. El árbol es de vigor medio. El fruto es de maduración media, pesa aproximadamente 4 gramos y es de color rojo. La época de floración es de media estación. Variedad autocompatible. Es la variedad más utilizada en América del Norte, zona que centra la producción de guindos exclusivamente en ella.
- **Oblacinska-** variedad originaria de la antigua Yugoslavia. Es un árbol de poco vigor y que fructifica en “spurs”. El fruto pesa entre 2,8 – 3,6 g. El zumo es rojo oscuro. Es una variedad de floración media. Variedad autocompatible.
- **Pandy-** sinonimia de “Crisana”, “Koros” y “Koroser Weichsel”. La variedad “Pandy” es originaria de Hungría y en Rumania se le da el nombre de “Crisana”. Es un árbol de medio vigor a vigoroso. El fruto es de media estación y pesa aproximadamente 6 g. La coloración es rojo-pálido. Variedad autocompatible.
- **Schattenmorello-** sinonimia de “English Morello” (América del Norte e Inglaterra), “Griotte du Nord” (Francia y Bélgica), “Morel” (Holanda) y “Lutowka” (Polonia). Variedad antigua originaria de Alemania. El árbol fructifica en ramos de un año. Su fruto pesa aproximadamente 5 g. Es una variedad de floración media y es autocompatible.
- **Tshernokorka-** variedad originaria de la antigua URSS. El árbol fructifica en ramos de un año. El fruto pesa aproximadamente 5 g y es de color rojo a púrpura. Es una variedad autoincompatible.
- **Ujfhertoi Frutos-** variedad originaria de Hungría. El árbol fructifica en ramos de un año. Su fruto pesa 7 g y el zumo es de color rojo. Variedad autocompatible.

1.6.2. Variedades de cerezo y guindo incluidas en este estudio

En cerezo distinguimos dos grupos:

- Variedades tomadas como referencia.
- Variedades consideradas inicialmente como locales.

Variedades tomadas como referencia:

- **Precoce Bernard**- es una variedad que fue introducida en la colección de Fundão como variedad de gran interés por su floración y maduración precoz. Se ha incluido como referencia de variedad temprana en el presente trabajo.
- **Burlat**- es la variedad más cultivada en el mundo y se emplea como variedad de referencia en muchos estudios de cerezo. En el presente estudio también se la ha tomado como tal en las comparaciones fenológicas y en algunos caracteres morfológicos.
- **Tardif de Vignole**- fue introducida en la colección de Fundão por su interés como variedad de floración y maduración tardía. En este trabajo se ha considerado como referencia para el estudio fenológico.

Variedades consideradas inicialmente como locales:

Respecto a las variedades consideradas en la colección de Fundão como portuguesas, es preciso referenciar que según estudios llevados a cabo en la Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (Ferreira, T., comunicación personal) se ha producido en Portugal un “aportuguesamiento” de variedades de origen francés. Variedades como “**Lisboeta**”, “**Francesa de Alenquer**” y “**Morangão**” parecen proceder de clones de variedades francesas, muy bien adaptados a zonas portuguesas, cuyos nombres fueron aportuguesados e incluso en muchos artículos de divulgación se citan como portuguesas.

Otra variedad que inicialmente era considerada en la colección como portuguesa es “**Maringa**” pero a partir de conversaciones con algunos experimentados fruticultores parece que su origen es italiano y que, como las anteriores, fue denominada con este nombre portugués.

Los árboles catalogados como “Saco” en la colección de Fundão, y separados por nosotros como “**Saco 1**” y “**Saco 2**” tienen dos orígenes diferentes.

“Saco 1”— Procede de multiplicación de un clon existente en el norte de Portugal (Montalegre). Fue introducida en la colección por ser más tardía que el resto de las variedades (Olimpio, J., comunicación personal) y se catalogó como variedad “Saco”.

“Saco 2”— Es la verdadera variedad denominada “De Saco” de Cova da Beira. Es la principal variedad de cerezo cultivada en esta región que a su vez es la principal zona productora de Portugal. Se cultiva desde hace más de cien años. Fue adquirida a agricultores de la zona.

En guindos las variedades presentes en la colección se citan a continuación: “Galega”, “Garrafal Rosa”, “Pedro Miguel D’Óbidos”, “Martinho D’Óbidos”, “Sobral D’Óbidos”, “Seixas”, “Garrafal” y “Garrafal Negra”. Se adoptó como variedad de referencia la “Garrafal”.

“Galega”, “Garrafal”, “Garrafal Rosa”, y “Garrafal Negra” fueron adquiridas en los viveros Moreira da Silva y éstas descritas como portuguesas.

“Seixas” y las “Óbidos”, “Sobral”, “Pedro Miguel” y “Martinho D’Óbidos” fueron seleccionadas por técnicos de la ENFVN (Estação Nacional de Fruticultura Vieira da Natividade) por prospección en los nichos de producción. Las “Óbidos”, aunque de nombre diferente, pueden ser selecciones de una misma variedad, determinar si lo son o no se plantea como uno de los objetivos de este estudio. Son las variedades de las que se extrae la famosa “Ginja de Alcobaça” (Olimpio, J., comunicación personal).

1.7. Problemática varietal e interés de las variedades locales

La actividad agrícola del hombre comenzó con la utilización de las plantas tal y como existían en la naturaleza, pero pronto debió iniciar una domesticación de las mismas para que éstas le resultaran más útiles. Las barreras geográficas naturales aislaron variantes genéticas que evolucionaron libre y independientemente originando poblaciones capaces de tolerar condiciones extremas de frío, sequía, plagas y enfermedades (Esquinas, 1983).

La movilidad de las poblaciones humanas fue acompañada del correspondiente transporte de las principales especies recién domesticadas. A medida que los primeros cultivos se extendían a nuevas regiones de diferentes suelos y climas iban diferenciándose en los nuevos lugares nuevas poblaciones agrícolas. De esta forma, las condiciones edafoclimáticas junto con las barreras geográficas naturales originaron variantes genéticas que evolucionaron de forma libre y numerosa. Así pues, miles de años de selección por los agentes, hombre y naturaleza, han producido variedades locales adaptadas a distintos lugares y prácticas culturales.

Las primeras descripciones de poblaciones locales se recogen hacia el año 1600; estas poblaciones fueron identificadas en las regiones concretas donde se localizaban y se valoraban. Los trabajos de mejora en Europa empezaron por selección dentro de las poblaciones locales utilizándolas como parentales (Iezzoni, 1984).

La variabilidad de las especies utilizadas por las poblaciones pre-agrícolas se vio reducida debido a la domesticación, mientras que la variabilidad o diversidad intra específica se vio en gran medida aumentada como consecuencia de la expansión de los cultivos por todo el mundo (Veyrat, 1983). Durante miles de años estas variedades locales no tuvieron problemas de extinción debido al equilibrio del binomio hombre-naturaleza. Sin embargo, en los últimos años han sufrido un duro revés debido fundamentalmente a que la especialización y estructuración de la sociedad ha separado la producción y el consumo de los productos agrícolas determinando que se exijan variedades homogenizadas y normalizadas y con mecanización de los procesos de postcosecha. A esta exigencia se ha dado una respuesta por parte de las estaciones de mejora seleccionando variedades con nuevas características, más productivas y más uniformes. Se ha pasado a producir más intensamente y con elevados "inputs" lo que ha llevado al abandono de las variedades tradicionales que siendo más heterogéneas no rendían tanto como las obtenidas de programas de mejora. La utilización masiva de nuevas variedades ha hecho que los agricultores dejen de cultivar las variedades tradicionales. A principios del siglo XX la mayor parte de las zonas cultivadas de las industrializadas Europa y América del Norte estaban ya ocupadas por variedades que habían sido obtenidas o seleccionadas por fitomejoradores (Esquinas, 1983).

Pero no podemos olvidar que el punto de partida del fitomejorador son las variedades tradicionales, por lo que su pérdida significa un retroceso en las

posibilidades de la mejora de especies ya que se limitarían las posibilidades de encontrar para un cultivo resistencias a plagas y enfermedades y adaptación ambiental.

A partir de los años 60, la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación) toma conciencia de que millones de hectáreas en Asia y Cercano Oriente, lugares donde se encuentran los centros de diversidad de los cultivos más importantes, son sistemáticamente sembrados con variedades semienanas de trigo, que en el sudoeste asiático se han introducido nuevas variedades de arroz y que la 2ª revolución verde había llegado a América del Sur y África. Es entonces cuando, en general, se empieza a pensar en la necesidad de preservar la diversidad genética.

Si no hay duda de que es necesario utilizar nuevas variedades mejoradas para cubrir las deficiencias alimentarias, no es menos verdad que la conservación de las existentes es un reto que se pone a la humanidad. El valor potencial de las variedades tradicionales ahora y en el futuro, radica fundamentalmente en los genes que contienen, de los cuales ya se conoce la utilidad de algunos pero también hay que pensar en los que no se conocen aún que podrían tener un valor incuestionable algún día. La pérdida de una variedad primitiva significa la eliminación de modo irreversible de la diversidad genética contenida en ella.

Así, en el año 1961, la FAO convocó una reunión técnica que condujo a la creación en 1965 de un cuadro de expertos en prospección e introducción de plantas. Este grupo coordinó las actividades de la FAO en materia de germoplasma durante varios años y dio lugar en 1974 al Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos, CIRF (IBPGR en terminología inglesa y hoy denominado IPGRI- "International Plant Genetic Resources Institute"). El IPGRI trabaja en estrecha colaboración con la FAO y es una de las organizaciones del grupo consultivo sobre investigaciones agrícolas internacionales que supervisan la conservación de recursos genéticos de interés agrícola (Esquinas, 1983).

Todo este movimiento en las instancias internacionales ha tenido repercusión en numerosos países que han creado en su seno centros o unidades de recursos genéticos con el objetivo de conservar y utilizar la diversidad existente en las especies agrícolas más importantes dentro de su jurisdicción. La conservación de los recursos fitogenéticos como patrimonio de la humanidad por medio de bancos de

germoplasma ha sido defendida por numerosos autores como Esquinas (1983) y Sánchez-Monge (1985).

En cerezo y guindo también se ha producido el problema planteado. Las variedades mejoradas, que responden a exigencias del mercado, han ido desalojando a las tradicionales, algunas de las cuales se han perdido irreversiblemente. Por ello, la conservación de las variedades tradicionales existentes se plantea como un imperativo.

Al igual que en otros cultivos, también en cerezo y guindo se instalaron, en países con tradición en su cultivo, colecciones de campo de distintas variedades, como medio para conservar estos recursos genéticos. Como especies de reproducción vegetativa que son, la naturaleza y el agricultor han seleccionado durante siglos no sólo genes sino también las combinaciones alélicas más convenientes en genótipos muy heterocigóticos, que se mantienen por este tipo de propagación.

En Portugal, la Direcção Regional de Agricultura da Beira Interior (DRABI) a través de la Zona Agrária do Fundão, instaló en 1991 en la cara norte de la sierra de la Gardunha una colección de cerezos y guindos con objetivos conservacionistas y de extensión rural.

En España se instaló en 1993, en el valle del Jerte, un banco de germoplasma de cerezos y guindos con 46 variedades tradicionales, lo cual hace que sea de interés incuestionable (Moreno *et al.*, 2001).

La conservación de la diversidad varietal requiere el estudio y catalogación de las variedades existentes y sólo puede realizarse si éstas han sido previamente caracterizadas. Debido a la erosión genética el plazo para las prospecciones y recolección de material es mínimo, mientras que el plazo para caracterizar puede ser más flexible (Esquinas 1983). La caracterización puede abarcar uno o varios de los muchos aspectos que definen una variedad: agronómico, morfológico, bioquímico y molecular.

El término descriptor se emplea cada vez con más frecuencia al referirse a cada uno de aquellos caracteres considerados importantes en la descripción de un cultivar. Los descriptores varían con la especie y pueden también ser diferentes según sean utilizados por fitomejoradores, botánicos, genetistas, etc. Los utilizados en este trabajo de caracterización son los elaborados por el el IPGRI (1985). En complementariedad se utilizan otros descriptores denominados descriptores UPOV (Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales). La razón que impulsó la

introducción de la legislación UPOV fue estimular las inversiones en mejora de plantas y el desarrollo de nuevas variedades superiores (Badenes,1991).

Cabe destacar que la UPOV protege una variedad cuando esta satisface las exigencias de:

- 1) Distinguibilidad—una variedad es distinta si se comprueba que se diferencia por uno o más caracteres importantes de tipo morfológico, fisiológico, químico o agronómico del resto de las variedades.
- 2) Uniformidad—todos los individuos de dicha variedad deben presentar las características básicas de la misma.
- 3) Estabilidad—la variedad debe mantener sus características esenciales al ser reproducida (USDA, 1973).

Los criterios de estabilidad y uniformidad se consiguen durante el proceso de mejora de una variedad. En cambio, el criterio de distinguibilidad es difícil de establecer; por eso, es necesario disponer de un método rápido y fiable de identificación que distinga los cultivares y facilite los derechos del obtentor. Para demostrar que una variedad es distinta de las demás es necesario analizar distintos tipos de caracteres y que estos cumplan los requisitos de (Badenes, 1991):

- Alta heredabilidad, es decir, que la expresión de los caracteres diferenciales no esté influida por las condiciones ambientales.
- Sencillos y económicos de analizar.
- De detección precoz.
- Reproducibles en cualquier laboratorio.
- Polimórficos.

1.8. Caracterización de cultivares

Para la caracterización pueden utilizarse distintos tipos de caracteres. Los morfológicos, isoenzimáticos y moleculares son los más importantes.

1.8.1. Caracterización morfológica

La identificación de cerezos y guindos convencional está basada en caracteres pomológicos y en la descripción de caracteres morfológicos y agronómicos (Boritzki *et al.*, 2000).

Estos caracteres están fuertemente influidos por las condiciones ambientales y agronómicas y muchos de ellos son bastante subjetivos en su valoración (Badenes, 1991; Boritzki *et al.*, 2000). Por ejemplo, en el análisis de morfología del fruto, las prácticas de fertilización y aclareo influyen notablemente en el tamaño (Zaragoza *et al.*, 1990) y en el análisis de los estadios fenológicos las fechas están marcadas por las condiciones climatológicas (Smykov, 1988).

En la caracterización morfológica es frecuente realizar complejas mediciones durante varios años para asegurar la fiabilidad de los resultados (Badenes, 1991). Debido al gran número de caracteres a analizar, a veces puede ser de difícil ejecución e incluso puede resultar inoperante cuando se quieren obtener resultados a corto plazo (Arús, 1983).

Para disminuir el efecto que tiene el ambiente sobre estos caracteres, el número mínimo de ciclos de cultivo que se suele seguir en la determinación es de tres (Ortiz, comunicación personal). Así pues se convierte en un proceso meticuloso y largo. El número de caracteres a estudiar puede ser determinante para encontrar suficientes diferencias entre variedades. A pesar de estos problemas, es una metodología necesaria para conocer y para caracterizar variedades y es empleada en todo tipo de cultivos (Gonzalez -Andrés *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*, 1997; Strada *et al.*, 1989).

Los primeros trabajos de caracterización en cerezo fueron los de Christensen (1969, 1970, 1974, 1985) que evaluó morfológicamente diversas variedades de cerezo y propuso una clave para identificación de cultivares. Otros autores que han estudiado la morfología de cerezos y guindos han sido Fogle (1961), Herrero *et al.*, (1964) y Hillig y Iezzoni (1988). Moreno *et al.*, (2001) estudiaron diversas variedades locales del Valle del Jerte. Como consecuencia de los esfuerzos de los especialistas se elaboraron los descriptores de estas variedades recogidos por la UPOV (1976) y el IPGRI (1985) que sirven de guía para la caracterización cuantitativa y cualitativa de las variedades de cerezo y de guindo.

1.8.2. Caracterización isoenzimática

Desde su descubrimiento por Hunter y Markert en 1957 las isoenzimas han jugado un papel clave en muchos campos de la biología (Stebbins, 1990). El término, isoenzima, fue propuesto para denominar múltiples formas de enzimas dentro de un

organismo que compartan un sustrato común pero difieren en la movilidad electroforética (Market, 1959).

Como proteínas se pueden separar por su movimiento relativo a través de un medio polarizado atendiendo a su carga, su peso molecular y al pH del medio. A continuación son sumergidas en soluciones que contienen tinciones específicas de enzimas (Weden y Gottlieb, 1979). La base de la tinción es la formación de un precipitado coloreado a partir de un producto generado en la reacción que cataliza el enzima (Morales, 1998). Así, cuando una planta presenta varios isoenzimas, éstos se observarán tras un proceso de electroforesis y tinción de bandas.

Brewer y Singh (1971), propusieron una definición de carácter operativo definiendo los isoenzimas como aquellas formas moleculares de un enzima separables mediante electroforesis.

La formación de las isoenzimas puede ser debida a dos tipos de mecanismos no excluyentes entre sí:

1) mecanismos que operan a nivel del genoma, produciéndose diferentes polipéptidos que pueden ser el final de unidades estructurales funcionales o pueden unirse como subunidades para formar multímeros funcionales.

2) mecanismos epigenéticos que operan a nivel trasduccional o post trasduccional en la modificación de polipéptidos (alteraciones conformacionales, modificación polivalente, desaminación, adenilación, fosforilación, degradación selectiva, ruptura selectiva o parcial (Scandalios 1977).

Para efectos prácticos la nomenclatura de los isoenzimas sigue las recomendaciones del Comité Internacional de la Unión de los Bioquímicos (I.U.B., 1984). Cada enzima se designa por el nombre coloquial recomendado, el nombre sistemático (I.U.B.) y el número de la comisión de enzimas (E.C.). Esta designación es dada conforme al siguiente ejemplo:

Shikimato deshidrogenasa (SkD), I.U.B.: Shikimato NADP⁺ 3-oxireductasa. E.C. 1.1.1.25.

Las isoenzimas no han tenido un papel relevante hasta 1966, año en que Hubby, en *Drosophila*, y Harris, en humanos, detectaron polimorfismos genéticos para isoenzimas dentro de una misma población. A partir de esa fecha tuvieron un papel relevante en importantes áreas de la biología de las plantas incluyendo la mejora genética, genética de las poblaciones, sistemática, genética evolutiva y genética de células somáticas (Arulsekhar y Parfitt, 1986). Las aplicaciones de los

análisis de isoenzimas a frutales fueron descritas pormenorizadamente por Torres (1990).

Se considera que tienen un papel importante en la caracterización de plantas, especialmente para cultivos cuya propagación ha sido fundamentalmente asexual, pues los cultivares son de origen clonal, sus patrones isoenzimáticos son bastante uniformes y la variación intravarietal (Badenes, 1991)

Pueden aplicarse también al registro de nuevas variedades y certificación de semillas mediante comprobación de la pureza específica de los lotes (Loos, 1993; Nielsen y Johansen, 1986; Smith y Wich, 1986) y reconocimiento de híbridos. Estandarizando las condiciones de laboratorio y material puede inferirse que diferencias en los zimogramas procedentes de variedades distintas, son debidas a diferencias genotípicas entre las variedades ensayadas y por tanto las movilidades electroforéticas son, en general, el resultado de diferencias genéticas, sin influencia de efectos ambientales (Crawford, 1983). Es importante la estandarización de las condiciones para cada especie y cada sistema isoenzimático. Así, el medio de extracción, composición del gel, substrato enzimático y tejido utilizado, deberán ser optimizados para conseguir reproducibilidad en los análisis.

Las isoenzimas tienen algunos problemas en árboles frutales fundamentalmente por cierta complejidad asociada a la extracción de enzimas de los tejidos de las plantas así como inadecuados procesos de análisis. La presencia de compuestos fenólicos dentro de los tejidos de especies perennes interfieren con el proceso de extracción (Arulsekhar y Parfitt, 1986).

Los órganos más frecuentemente utilizados para estos análisis son hojas en crecimiento activo, pero otros tejidos como cotiledones, tejidos jóvenes, hojas adultas, yemas y/o fruto también pueden ser usados (Arulsekhar y Parfitt, 1986).

Su utilización como medio de caracterización de germoplasma se debe a que son la expresión directa del gen, tienen un alto número de locus y son reproducibles una vez estandarizadas las condiciones de extracción. Por ser la expresión directa del gen no son afectadas por las condiciones ambientales, lo cual hace que sean una herramienta muy interesante que complementa a la caracterización morfológica. El problema de la electroforesis de isoenzimas es que no detecta las diferencias entre intrones (regiones no codificadoras) y al revelar solamente las proteínas solubles deja por estudiar las proteínas insolubles o de reserva (Pasteur *et al.*, 1987).

Es preciso citar algunas ventajas importantes que presentan frente a los marcadores tradicionales, puesto que permiten una identificación precoz, proporcionan un considerable ahorro de espacio y su expresión no se ve afectada por las condiciones medioambientales (Carepetian *et al.*, 1994). Es una técnica no destructiva cuyos resultados se pueden observar en pocas horas.

Los marcadores isoenzimáticos han tenido gran repercusión en la caracterización de plantas de interés agrícola siendo empleadas en cereales (Liu *et al.*, 2000), leguminosas (Vargas *et al.*, 2001) y numerosas hortícolas (Tanksley y Orton, 1983) y frutales (Sanchez-Escribano *et al.*, 1998; Torres y Bergh, 1980; Torres *et al.*, 1978; Torres y Tisserat, 1980; Torres, 1990). La variación isoenzimática ha permitido separar cultivares de gran importancia (Bringham *et al.*, 1981). En olivo (*Olea europaea*) Pontikis (1980), identificó cultivares por medio de isoenzimas en polen. La utilización de isoenzimas en la identificación de híbridos de castaño (*Castanea sativa x Castanea crenata*) fue propuesta por Fernandez (1992) y Frascaria (1993), los cuales diferenciaron genéticamente mediante este sistema numerosas poblaciones de castaño. En aguacate (*Persea americana* Mill) se han identificado numerosos cultivares (García y Tsunewaki, 1977). Torres *et al.*, (1978) sugirieron el uso de los isoenzimas de hoja como marcadores genéticos en el género *Citrus*, aunque como sugirió Badenes (1991) la identificación de embriones nucelares y cigóticos fue su principal aplicación en este género. La combinación de los métodos morfológicos e isoenzimáticos permitió la identificación de patrones en cítricos (Ashari *et al.*, 1988).

En la especie *Vitis vinifera* hay numerosos trabajos sobre caracterización isoenzimática. De entre ellos son de destacar los trabajos de Arulsekar y Parfit (1986) que estudiaron 13 sistemas isoenzimáticos en hoja y los mismos autores analizaron 145 cultivares de *Vitis* con los sistemas PGI y PGM (Parfitt y Arulsekar, 1989). También Asensio (2000) y Sánchez-Escribano *et al.*, (1998) caracterizaron variedades de vid mediante isoenzimas. Los trabajos sobre isoenzimas en vid fueron revisados por Ortiz (1999).

En Prunoideas los resultados de los estudios han sido diferentes según las especies analizadas. En *Prunus persica* (melocotonero) no se han realizado muchos estudios de isoenzimas debido a la baja variabilidad (Chaparro *et al.*, 1987; Durham *et al.*, 1987; Messenger *et al.*, 1987; Stamper, 1992) y se considera que la identificación por este método es poco relevante, aunque como señalaron Messenger

et al., (1987) los caracteres morfológicos pueden ayudar a paliar posibles deficiencias de las isoenzimas. Se logró identificar en *Prunus salicina* (ciruelo japonés) un 38% de los clones con 6 sistemas enzimáticos y con la ayuda de caracteres morfológicos los restantes. En *Prunus dulcis* (almendro) Cerezo *et al.*, (1989) lograron identificar 42 cultivares con 9 sistemas isoenzimáticos y se utilizaron isoenzimas en la identificación de híbridos de melocotonero x almendro (Chaparro *et al.*, 1987). En albaricoquero (*Prunus armeniaca*), Byrne (1989 a, b), Badenes (1991) y Stamper (1992) identificaron variedades en función de polimorfismos enzimáticos.

La utilización de las isoenzimas en cerezo y guindo ha tenido una gran aplicación que queda recogida en trabajos como los de Granger *et al.*, (1993) que utilizando los sistemas 6-PGD, G6-PGD, GPI, IDH, PGM, SKDH y PER en hojas lograron identificar 78 variedades de cerezo y determinaron que algunas variedades con idénticos caracteres morfológicos, previamente consideradas la misma, pueden ser separadas por el genotipo isoenzimático.

Santi y Lemoine (1990a) estudiaron 198 cerezos silvestres utilizando diversos sistemas enzimáticos (ACP, AMY, GOT, IDH, LAP, MDH, PGM y SKDH). Los mismos autores (Santi y Lemoine, 1990) estudiaron 286 cerezos silvestres con 10 sistemas isoenzimáticos usando en tres de ellos (AMY, GOT y ME) geles verticales de poliacrilamida y en los restantes electroforesis por el método del isoelectroenfoque. Beaver y Iezzoni (1990) y Beaver *et al.*, (1995) estudiaron guindos, cerezos y *Physalis angulata* con 7 sistemas enzimáticos en hoja y los agruparon siguiendo un análisis de componentes principales. Los sistemas ensayados fueron PGI, IDH, PGM, 6-PGD, LAP, SKDH y MDH. La primera coordenada principal (41%) permitió separar los cerezos diploides de los tetraploides y de *Physalis angulata*.

Hancock y Iezzoni (1988) estudiaron cultivares de cerezo, guindo y *Physalis angulata* con el sistema MDH en hoja y los resultados fueron tales que los cultivares de guindo “Cygany Meggy” y “Pitic de Iasi” fueron caracterizados con las mismas bandas. Este mismo sistema (MDH) fue también estudiado por Vial (1998) el cual encontró diferencias en los patrones de distintas variedades de cerezo.

1.8.3. Caracterización molecular

1.8.3.1. Marcadores basados en la PCR

En 1984 un grupo de investigadores desarrolló un método para la amplificación del ADN *in vitro*, que permite producir fácilmente grandes cantidades de uno o más fragmentos específicos a partir de un ADN molde de gran complejidad, denominando el sistema de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR-“*Polymerase Chain Reaction*”) (Mullis, 1990; Saiki *et al.*, 1988).

Para la amplificación del ADN se requiere una ADN polimerasa y dos cebadores oligonucleotídicos, nucleótidos, el ADN que se quiere amplificar y un tampón para que actúe la enzima. En la técnica descrita en Saiki *et al.*, (1988) no es necesario conocer la secuencia del ADN molde, bastando conocer la secuencia del ADN que lo flanquea para que se diseñen dos cebadores que hibridarán con el ADN. En esta técnica, la longitud de los cebadores deberá ser mayor de 20 pares de bases (pb) para evitar que la secuencia de los mismos aparezca por azar en otro ADN diferente del diana (Moreno, 1996; Moreno *et al.*, 1995).

La reacción consiste básicamente en la repetición de un ciclo compuesto por una etapa de desnaturalización del ADN molde, otra de unión de los cebadores y una final de elongación. En las etapas iniciales de la reacción se generan tanto productos largos como cortos, pero sólo el fragmento corto flanqueado por ambos cebadores es amplificado exponencialmente y por tanto será el que al final predominará. La enzima utilizada en la PCR es una enzima termo resistente de nombre *Taq polimerasa* aislada de la bacteria *Thermus aquaticus* que habita las fuentes termales. Esta característica permite que tanto el anillamiento como la extensión se realicen a temperaturas elevadas disminuyendo los riesgos de apareamientos erróneos. La técnica se realiza en máquinas que alternan temperaturas en función del tiempo. Una vez terminada la amplificación, los fragmentos amplificados se separan en geles de agarosa, tiñéndose posteriormente con bromuro de etidio que se une al ADN permitiendo la visualización de los fragmentos utilizando luz ultravioleta. Cada producto de amplificación deriva de regiones del genoma cuyos extremos son segmentos de ADN complementarios de la secuencia del cebador utilizado. Con el desarrollo de la PCR se ha adaptado esta técnica a nuevas aplicaciones.

RAPDs:

Una de las aplicaciones más importantes de la PCR es la consecución de RAPD (“Random Amplified Polimorphic DNA”). La técnica se desarrolló en 1990 (Williams *et al.*, 1990) y fue aplicada en diferentes organismos. Debido a su sencillez es la técnica resultante más utilizada (Welsh y McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990).

La técnica es una PCR con cebadores decámeros que cuando amplifican en sentido inverso sobre el mismo tramo de ADN originan grandes cantidades de trozos de ADN. En cada reacción se utiliza un único cebador que es de secuencia arbitraria. Varias son las firmas comerciales que ofrecen series de cebadores preparados para la técnica RAPD. Los programas son de 40-45 ciclos. La temperatura de anillamiento debe estar entre 35-36° C ya que por encima el cebador no permanecerá unido con el molde y por debajo habrá un porcentaje alto de uniones inespecíficas (Moreno *et al.*, 1995).

La técnica RAPD soluciona algunas de las deficiencias de los marcadores morfológicos y de las isoenzimas. Es una técnica rápida, de coste unitario bajo, alto nivel de polimorfismo y no requiere conocimiento previo del genoma del organismo a estudiar. El principal problema que plantea es la reproducibilidad en diferentes laboratorios (Williams *et al.*, 1990).

La técnica de RAPDs tiene muchas aplicaciones; en frutales, se puede utilizar para identificación de patrones y variedades permitiendo la clarificación de sinonimias y homonimias bastante frecuentes en los cultivares de estas especies (Badenes *et al.*, 2003; Monte-Corvo *et al.*, 2000). Pueden ser útiles en la protección de los derechos del mejorador (Hormaza, 1995). Son interesantes en la confirmación de relaciones previamente establecidas entre especies y variedades basadas en el origen geográfico o en marcadores morfológicos, con la ventaja de que la fiabilidad es mayor (Duneman, 1994; Zhou y Li, 2000). Otra aplicación de la técnica RAPD es asistir en los procesos de mejora utilizándolos como marcadores. Como ejemplo cabe citar su uso en pistachero con un marcador ligado al sexo (Hormaza, 1995) o la localización a través de un marcador RAPD de un segmento cromosómico introducido en mejora de manzano a partir de una especie silvestre (Duneman, 1994). Por último hay que citar el interés de esta técnica para la construcción de mapas genéticos como los del manzano (Hemmat *et al.*, 1994) y cerezo (Stockinger *et al.*, 1996).

Respecto a su uso en la identificación de variedades, esta técnica se utiliza con mucha frecuencia en variedades de vid (Moreno *et al.*, 1995). En manzano, Mulcahy *et al.*, (1993) analizaron 25 entradas caracterizando 8 cultivares por esta técnica. También en judías se utilizó la técnica RAPD para evaluar la diversidad genética (Link *et al.*, 1995). Fabri *et al.*, (1995) analizaron 17 variedades de olivo de mesa y de aceite cultivadas en la cuenca mediterránea y los resultados indicaron un elevado grado de polimorfismo que permitió separarlas en dos grupos, uno de mesa y otro de aceite.

La necesidad de los RAPDs para la identificación y caracterización varietal fue puesta de manifiesto por Newbury y Fort Lloyd (1993). Estos autores revelan que variedades de cebada fueron identificadas usando combinaciones de cebadores arbitrarios. En plátano, señalaron que se encuentran variaciones entre variedades cuando se realiza la caracterización con RAPDs. Se ha utilizado en el análisis de la variabilidad en *Agave tequilana* var. Azul (Vega *et al.*, 2001) y en *Pistacia Vera* L. (Barazani *et al.*, 2003)

En cerezo, Gerlach y Stosser (1997) han identificado 18 variedades de cerezo. Shimada *et al.*, (1999) caracterizaron las variaciones y relaciones genéticas de 56 variedades de cerezo por la técnica de RAPDs. Ya se había confirmado la heterocigosidad de *Prunus mume* por los numerosos polimorfismos de ADN que fueron detectados a través de los RAPDs (Shimada *et al.*, 1994). Más ejemplos de aplicaciones y estudios de los RAPDs se recogen en otros trabajos (Newbury y Ford-Lloyd, 1993; Williams *et al.*, 1990).

Microsatélites:

En los últimos años se han desarrollado, además de los RAPDs, un gran número de marcadores basados en la PCR, que presentan un mayor poder discriminatorio. Una de esas técnicas, capaz de desvelar gran cantidad de polimorfismos, se basa en la detección de microsatélites o secuencias repetitivas simples (SSR- "Simple Sequence Repeats") que son también conocidos con el nombre de STMS ("Sequence Tagged Microsatelite Site"). Son secuencias cortas de 1-10 pares de bases muy abundantes y con un grado de repetición bajo, distribuidas de forma dispersa en muchos loci del genoma (Ortiz, 1999). Para este análisis se utilizan parejas de cebadores que son complementarios de las regiones que flanquean un determinado microsatélite. El polimorfismo resulta de diferencias en el nivel de

repetición de la unidad repetida del microsatélite, obteniéndose numerosas variantes alélicas. Fueron utilizados, para caracterización e identificación de cultivares, conjuntamente con los marcadores RAPDs en lúpulo (Rajora y Rabman, 2003) y en castaño (Goulão *et al.*, 2001). En albaricoque se usó esta técnica para evaluar la variabilidad genética (Zhebentyayeva *et al.*, 2003). Fue hecha una base de cebadores que cubren el genoma de *Prunus* (Aranzana *et al.*, 2003) y fueron identificadas variedades de melocotonero por esta técnica (Aranzana *et al.*, 2002). Es un método sencillo, rápido, reproducible y los resultados son fácilmente transferibles entre usuarios (Scott y Thomas, 1994) y puede ser aplicado a cerezos debido a su alta especificidad y variabilidad (Boritzki *et al.*, 2000; Dirlewanger *et al.*, 2002; Schueler *et al.*, 2003; Wunsh y Hormaza, 2002).

AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphism):

Es el primer marcador molecular bajo patente (Zabeau y Vos, 1993). Esta técnica parece ser poderosa para detectar polimorfismos entre plantas que no son distinguibles con otras técnicas. Sharma *et al.*, (1996) demostraron que los AFLPs detectan polimorfismos entre plantas de *Lens culinaria* que no eran distinguibles con marcadores RAPDs.

El método consiste en una combinación de RFLPs y PCR ya que se basan en la amplificación por PCR de fragmentos específicos obtenidos tras la digestión del ADN genómico (Avisé, 1994; Rafalski y Tingey, 1993). La técnica se lleva a cabo del siguiente modo: el ADN molde se somete primero a un tratamiento de restricción y posteriormente a una ligación a pequeños oligonucleótidos de secuencia conocida denominados adaptadores. La amplificación se realiza utilizando cebadores que constan de dos partes, una secuencia complementaria al adaptador y que contiene completa la diana de restricción y una secuencia selectiva que tiene por objetivo que solo amplifique una fracción del conjunto de fragmentos de restricción generados. El polimorfismo deriva de la presencia/ausencia y no de su longitud. La técnica AFLP puede ser aplicada en la diferenciación de cerezos en los que revela una gran cantidad de polimorfismos (Boritzki *et al.*, 2000)

1.8.3.2. Otros marcadores

Caetano Anollés (1993) sugiere que el mejor sistema sería aquel basado en la eficiente generación de marcadores de ADN y la determinación de su secuencia completa. Una de esas aplicaciones es la denominada SCARs (“Sequence Characterized Amplified Regions”) que se obtienen utilizando cebadores a partir de marcadores RAPDs (Paran y Michelmore, 1993). Para ello se secuencian los extremos de un fragmento RAPD de interés y se sintetizan cebadores de más de 20 pares de bases a partir de esos extremos. Estos mismos cebadores se utilizan para aplicaciones ADN en condiciones de reacción específica. El problema de la obtención de SCARs es que no es una técnica tan rápida como la de los RAPDs (Hormaza, 1995).

2-OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1. Objetivos

El objetivo que se pretende con este trabajo es caracterizar una colección de cerezos y guindos ubicada en Fundão, zona interior del centro de Portugal.

Parte de la caracterización que se ha hecho es la basada en métodos morfológicos y consiste en la medición de flores, frutos y hojas, así como los estados fenológicos, con el objetivo de distinguir variedades y elaborar fichas varietales.

Otra caracterización que se ha utilizado es la isoenzimática. Con esta se pretende encontrar patrones isoenzimáticos que distingan las variedades y que ayuden a resolver los problemas no aclarados por el método anterior.

El tercer método de caracterización utilizado ha consistido en la extracción de ADN y la búsqueda de polimorfismos asociados a cada variedad. Con este método pretendemos resolver los problemas que puedan surgir con los dos anteriores.

Este estudio pretende aclarar posibles sinonimias y homonimias que puedan estar presentes en la colección.

El objetivo último será encontrar variedades portuguesas mejorables por selección clonal y utilizables en futuros programas de mejora de cerezos y guindos en Portugal.

2.2. Plan de trabajo

Para la consecución de los objetivos se plantea el siguiente plan de trabajo:

- Caracterización morfológica de la colección de cerezos y guindos. Para ello se realiza el seguimiento de los estados fenológicos y muestreo de flores, frutos y hojas. Se realizan las medidas propuestas por los descriptores UPOV e IPGRI relativos a estas dos especies. Estas observaciones se llevaron a cabo durante los tres años (1999, 2000 e 2001)

- Caracterización isoenzimática de las variedades. Para tal se tomaron hojas jóvenes con las cuales se realizaron los análisis enzimáticos. Estos análisis se realizaron durante el año 2000.

- Caracterización molecular por la técnica PCR-RAPDs para obtener marcadores que distingan las variedades en estudio. Al igual que en las isoenzimas también se

recogen hojas jóvenes para proceder a los análisis que se realizaron durante el año 2001. También se ha hecho extracción de ADN a partir de yemas.

- Análisis estadístico de los resultados obtenidos por los métodos morfológicos, isoenzimáticos y PCR-RAPDs.

- Comparación de los diferentes métodos de caracterización varietal realizados y análisis de los resultados

- Elaboración de fichas varietales de las distintas variedades estudiadas.

3-MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Localización de la colección.

La colección de cerezos y guindos se ubica en la cara norte de la Sierra de Gardunha. Dicha Sierra se encuentra localizada en el interior-centro de Portugal y tiene como principales localidades próximas Fundão y algo más distantes Covilhã al norte y Castelo Branco al sur.

3.1.1- Suelo de la colección

Según el mapa litológico del Instituto hidrográfico portugués de 1982, la zona de Fundão (Cova da Beira) está formada por rocas plutónicas, granitos y afines (Ambiente, 1983). En el mismo mapa se observa que la Sierra de Gardunha está formada por esquistos y grauvacas.

La capacidad de uso según el mapa del SROA ("*Serviço de Reordenamento e Organização Agraria*") para Fundão, pertenece a los suelos de clase B: "limitaciones moderadas" y para la Sierra presenta una capacidad de uso C: "condicionada por limitaciones acentuadas" (Ambiente, 1982).

En el mapa agrícola y forestal del mismo Instituto referenciado anteriormente, la utilización del suelo en la región es para cultivos arbustivos y arbóreos (Cova da Beira) y en la Sierra, utilización forestal representada por repoblaciones de frondosas (Ambiente, 1985).

En el análisis del mapa de suelos elaborado por Carvalho *et. al.*, (1978) observamos que los suelos de Fundão (Cova da Beira) son cambisoles dístricos y en la Sierra predominan los cambisoles húmicos derivados de esquistos (Ambiente, 1978).

3.1.2- Clima de la región

Después de obtenidos los valores del índice de Thornthwaite y consultando las tablas (índices climáticos resultantes del balance hídrico, CT4; tipos climáticos indicadores de la eficiencia térmica, CT5; tipos climáticos indicadores del régimen estacional de humedad, CT6; y tipos climáticos individuales de la eficiencia térmica en la estación caliente, CT7) podemos clasificar el clima de Fundão como:

Húmedo B₂

Mesotérmico B'₂

Gran deficiencia de agua en verano s₂

Gran exceso de agua en invierno S₂

Concentración de la eficiencia térmica en la estación caliente moderada b'₄

Formula del clima: B₂ , B'₂, s₂, S₂, b'₄

Los datos de precipitación y temperatura de los años en que se ha desarrollado el trabajo se recogen en las tablas 8, 9, y 10 y se representan en las figuras 1, 2 y 3.

Tabla 8: Temperatura y precipitación en Fundão en el año 1999.

Meses	Precipitación (mm)	Temperatura media (°C)
Enero	149,0	7,2
Febrero	13,0	9,0
Marzo	147,0	10,2
Abril	86,0	13,3
Mayo	68,0	15,6
Junio	8,0	20,4
Julio	28,0	24,4
Agosto	28,0	22,5
Septiembre	95,5	18,9
Octubre	261,5	14,3
Noviembre	28,5	9,3
Diciembre	35,0	8,4

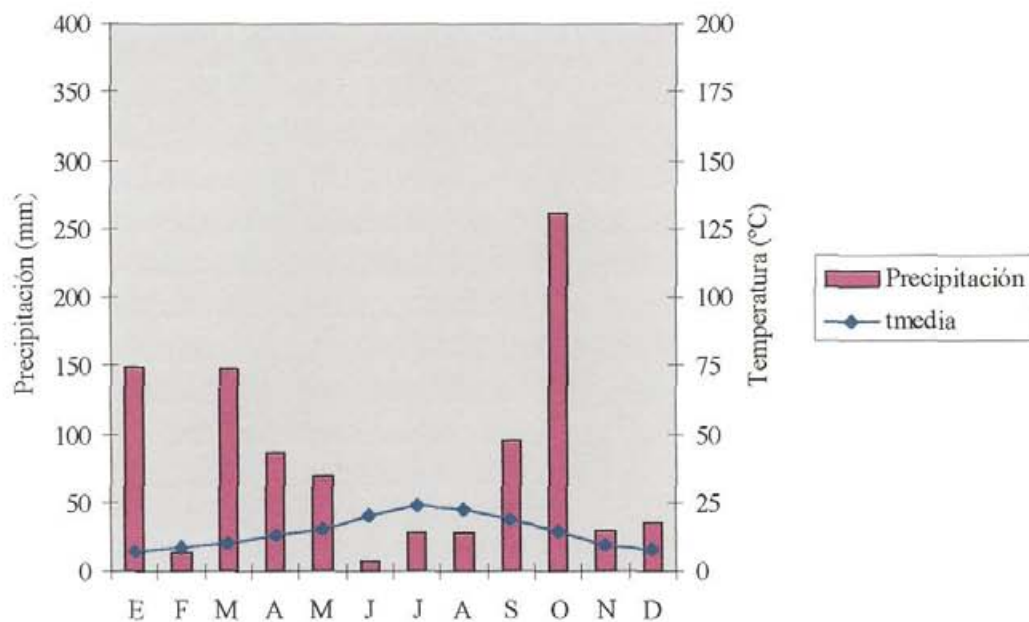


Fig 1: Diagrama ombrotérmico de Fundão en el año 1999.

Tabla 9: Temperatura y precipitación de Fundão en el año 2000.

Meses	Precipitación (mm)	Temperatura media (°C)
Enero	18,0	5,6
Febrero	36,0	11,9
Marzo	33,0	12,0
Abril	348,9	9,1
Mayo	273,7	16,2
Junio	0,0	21,2
Julio	7,4	21,6
Agosto	4,65	22,5
Septiembre	16,5	20,9
Octubre	66,7	15,4
Noviembre	146,4	9,4
Diciembre	848,5	8,0

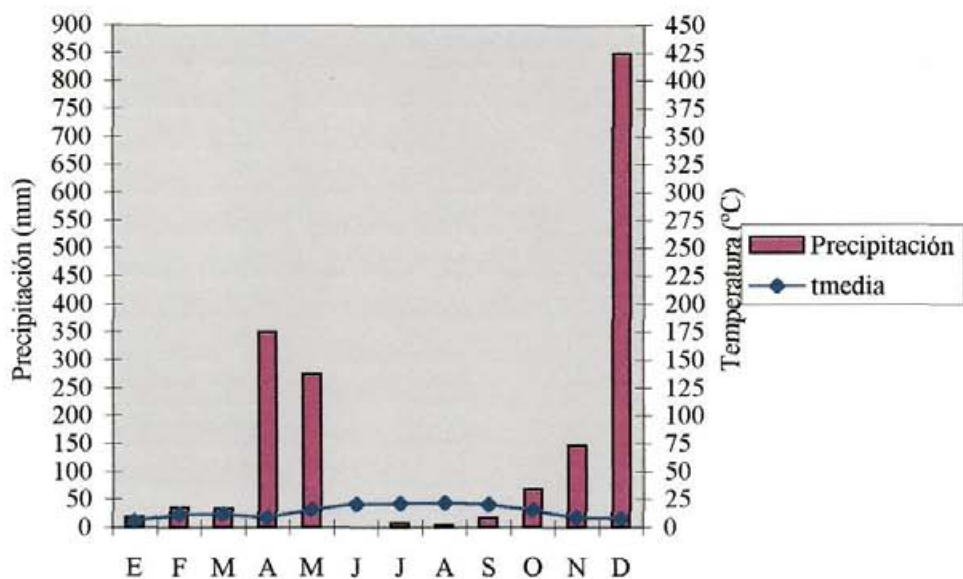


Fig. 2: Diagrama ombrotérmico de Fundão en el año 2000.

Tabla 10: Temperatura y precipitación de Fundão en el año 2001.

Meses	Precipitación (mm)	Temperatura media (°C)
Enero	233,5	7,9
Febrero	176,5	9,1
Marzo	318,5	15,3
Abril	13,0	13,0
Mayo	76,0	16,2
Junio	2,0	21,5
Julio	6,0	21,7
Agosto	0,0	23,0
Septiembre	67,0	20,1
Octubre	194,0	14,9
Noviembre	46,0	9,2
Diciembre	13,0	6,5

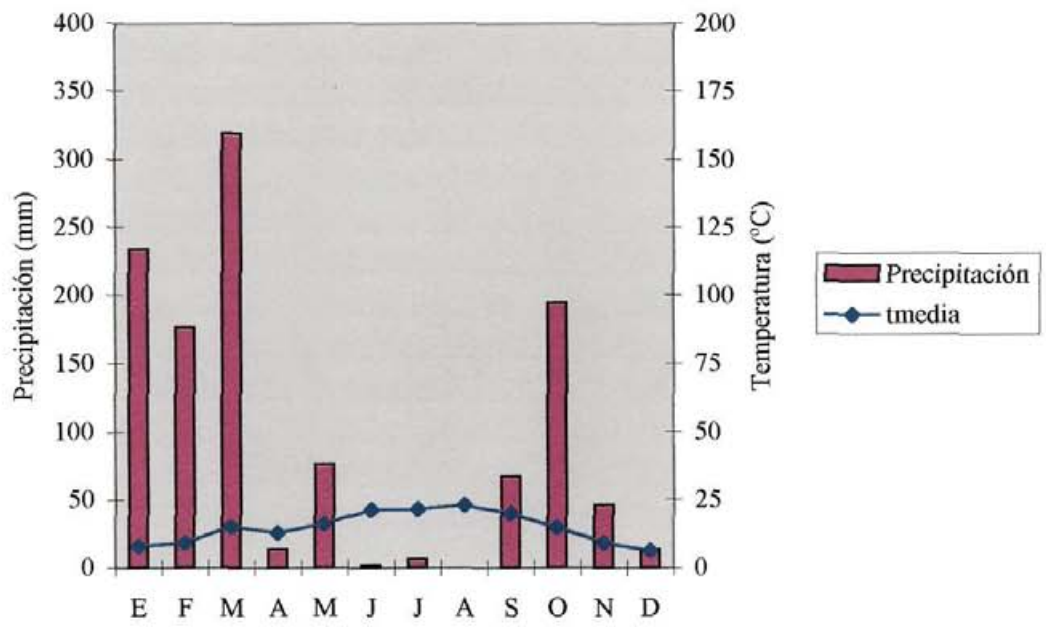


Fig. nº 3: Diagrama ombrotérmico de Fundão en año 2001.

3.2. Material Vegetal

El criterio de elección del material vegetal estudiado en este trabajo fue la necesidad de caracterizar germoplasma de cerezos y guindos Portugueses que habían sido recolectados y mantenidos en la colección de Fundão por la "Direcção Geral de Agricultura da Beira Interior". Inicialmente se pensaba que todas las accesiones eran de origen portugués, pero posteriormente se comprobó que no era así, ya que algunas variedades con nombre portugués tienen otros orígenes, como se ha indicado anteriormente.

Las plantas están dispuestas en bancales a una distancia de 6 m en la línea e injertadas durante la latencia de 1991-92 sobre portainjerto Colt.

Las variedades de **cerezo** estudiadas fueron:

“Francesa de Alenquer”:	10 árboles
“Lisboeta”:	10 árboles, aunque posteriormente se eliminaron dos de ellos (números 284 y 288) por mostrar diferencias frente a los demás.
“Maringa”:	7 árboles
“Morangão”:	10 árboles
“Saco 1”:	5 árboles
“Saco 2”:	5 árboles

Se tomaran como referencia tres variedades extranjeras de más amplia difusión, que estaban presentes en la colección y que son de distinta época de floración y maduración: “Precoce Bernard”, de floración y maduración temprana, “Burlat” que está en otras colecciones como de floración y maduración media y “Tardif de Vignole”, tardía. De cada una de ellas se dispuso de 10 árboles para el estudio.

Las variedades de **guindo** estudiadas fueron:

“Galega”:	7 árboles
“Garrafal Rosa”:	3 árboles
“Garrafal”:	10 árboles
“Garrafal Negra”:	10 árboles
“Seixas”:	10 árboles

“Sobral D’Óbidos”:	10 árboles
“Martinho D’Óbidos”:	7 árboles
“Pedro Miguel D’Óbidos”:	3 árboles (el tercer año se redujeron a 2 por muerte de uno de ellos)

Se tomó como referencia la variedad “Garrafal”.

3.3. Métodos

3.3.1. Muestras

1) Se llevaron a cabo los muestreos de flores, frutos y hojas como se indica a continuación.

Las flores se recogieron en plena floración, es decir, cuando el 95% estaban completamente abiertas y algunos pétalos comenzaban a caer, eligiendo las que estaban totalmente desarrolladas y completas. Se tomaron cinco grupos de dos árboles cada uno (siempre que fue posible). De cada grupo se tomaron 10 flores cada año y se repitieron las mediciones durante los tres años de estudio. En las variedades que no tenían 10 árboles, se hicieron cinco grupos de modo que hubiera también cinco repeticiones. En el muestreo de pétalos, se tomaron 25 pétalos de cada variedad en cada muestreo.

Los frutos se recolectaron al alcanzar la madurez, basándose en el color característico de cada variedad, de acuerdo con la información suministrada por los técnicos responsables de la colección y confirmados posteriormente en campo. Se tomaron muestras de los mismos grupos que se formaron para las flores.

Las hojas se muestrearon en estado adulto, tomando aproximadamente la décima hoja del brote del año, en el mes de Agosto. Los grupos muestreados fueron los mismos indicados en flores y frutos.

Las observaciones fenológicas fueron tomadas *in situ* durante un período de tres años consecutivos, a partir de 1999.

2) Para la caracterización isoenzimática, basándose en referencias bibliográficas (Arulsekhar y Parfitt, 1986), se muestrearon hojas, que se mantuvieron a -20°C hasta que se realizó la extracción. El tiempo máximo que se mantuvieron en hielo fue de dos días.

Se tomaron dos muestras por variedad, cada una de ellas de 5 hojas jóvenes por árbol, es decir, 25 hojas por muestra. El muestreo se realizó en el mes de abril del año 2000.

3) Para el análisis de RAPD, al igual que para las isoenzimas, el material más adecuado son las hojas jóvenes. También se utilizaron yemas, que resultaron ser un material igualmente adecuado.

Los muestreos de hojas se realizaron en abril del año 2001, recogiendo las hojas en nevera de campo y manteniéndolas posteriormente a -80°C hasta la extracción del ADN. Los muestreos de yemas se hicieron en el mes de julio, de modo análogo a los de hojas.

Los muestreos constaban de dos grupos por variedad, cada uno de 25 hojas jóvenes, con objeto de llevar a cabo posteriormente dos extracciones y amplificaciones de cada variedad.

3.3.2. Caracterización agronómica y morfológica

La caracterización del árbol, de flores, frutos y hojas se llevó a cabo basándose en los descriptores elaborados por la UPOV(1976) y por el IPGRI(1985) para las especies *Prunus avium* y *Prunus cerasus*, adaptados y complementados con otros caracteres que se han considerado de interés.

Los estados fenológicos observados fueron: inicio de floración, plena floración, caída de los pétalos y maduración.

Los parámetros morfológicos que se midieron fueron los siguientes:

1) En el árbol:

- Hábito de vegetación (IPGRI 6.1.1 y UPOV 4): se evaluó midiendo el ángulo que forman las ramas externas, considerándose como muy erecto si era de aproximadamente 60° , erecto, 80° , medio, 90° , abierto 100° y caedizo, superior a 100° , de acuerdo con lo indicado por A.J. Felipe (Espada *et al.*, 1988).

- Vigor del árbol (IPGRI 6.1.2 y UPOV 3): se cuantificó mediante la medición del perímetro del tronco 20 cm por encima de la zona del injerto. Seguidamente se tomó como referencia el mayor, que fue la “Burlat” para cerezos y “Garrafal” para guindos. Se le asignó el valor 100 y los restantes índices fueron calculados relativamente a este valor.

- Afinidad del portainjerto (IPGRI 6.1.3): se determinó la compatibilidad del patrón con la variedad en una escala de 1 (malo) a 5 (perfecto).

2) En el fruto:

- Tamaño del fruto (IPGRI 6.2.3 y UPOV 14): se hicieron 3 mediciones en el fruto (longitud, anchura y espesor) y 3 mediciones en el hueso (endocarpo), (también longitud, anchura y espesor), en una muestra de 10 frutos de cada dos árboles, como se ha indicado en los muestreos.

- Forma del fruto (IPGRI 6.2.4 y UPOV 15): se hizo por comparación con una escala de formas de 1 a 9, de acuerdo con lo siguiente:

Arriñonada	1
Aplastada	3
Redondeada	5
Alargada	7
Cordiforme	9

- Color del zumo (IPGRI 6.2.5 y UPOV 19): de acuerdo con una escala de 0 a 5:

Incoloro	0
Rosa	1
Rojo	2
Púrpura	3
Rojo oscuro	4
Otros	5

- Color de la pulpa del fruto (IPGRI 6.2.6 y UPOV 20): en una escala de 1 a 4:

Blanco crema	1
Rosa	2
Roja	3
Rojo oscuro (púrpura)	4

-Calidad gustativa (IPGRI 6.2.7): se realizó por un panel de 5 personas en un solo año y la escala adoptada fue:

Extremamente pobre	1
Pobre	3
Razonable	5
Buena	7
Muy buena	9

Para el cálculo del valor en esta escala, se procedió del siguiente modo: el número de probadores que coincidían en cada valoración se multiplicó por el número de la escala y la suma se dividió por el número de probadores; p.ej, en “Francesa de Alenquer”, dos probadores coincidían en razonable, dos en bueno y solamente uno decía que la variedad era muy buena, el valor anotado fue: $[(2 \times 5)+(2 \times 7)+(1 \times 9)]/5 \approx 7$.

- Ácidos totales y contenido en azúcares: las mediciones de sólidos solubles y acidez se realizaron sobre muestras obtenidas al exprimir 25 frutos. La medición de los sólidos solubles se efectuó por medio de un refractómetro Bausch e Lomb, expresándose en grados Brix. La determinación de la acidez del fruto se efectuó mediante el método potenciométrico, por lo que se determinaron los ácidos titulables presentes en la muestra, por adición de una base hasta pH=8,3. Se expresó en gramos de ácido málico al multiplicar por el factor 0,067.

- Firmeza de la pulpa (IPGRI 6.2.9 y UPOV 21): la escala para este carácter es de 1 a 9, adaptada para resolver todos los casos que se presentaron. La resistencia se evaluaba apretando los frutos con los dedos pulgar e índice, de acuerdo con la siguiente escala:

Leve	1
Intermedia leve	3
Intermedia	5
Intermedia firme	7
Firme	9

- Agrietamiento del fruto (IPGRI 6.2.11): el agrietamiento de los frutos se calculó sumergiendo 100 frutos en agua durante seis horas después de las cuales se contaron los agrietados, que sirven de base al índice de rajado.

- Longitud del pedúnculo (IPGRI 6.2.12 y UPOV 25): se midió en 5 muestras de 10 frutos cada una.

- Hojas en el pedúnculo (IPGRI 6.2.13): se evaluaron como:

Ausentes 0

Presentes 1

- Color de la epidermis (UPOV 16): se evaluó en la escala de 1 a 6:

Amarillo 1

Rojo anaranjado 2

Rojo sobre amarillo 3

Rojo 4

Púrpura 5

Negro 6

- Decoloraciones puntuales de la epidermis (UPOV 18):

Débil 3

Media 5

Fuerte 7

- Tamaño del endocarpo (IPGRI 6.3.1 y UPOV 26): medido en cm³.

3) En la hoja:

- Longitud del pecíolo/longitud del limbo (UPOV 7).

- Tamaño del limbo (UPOV 8).

- Longitud del limbo/anchura del limbo (UPOV 9).

- Ángulo del ápice.

- Ángulo de la base.

4) En la flor:

- Diámetro de la flor abierta.
- Longitud y anchura de los pétalos.
- Número de estambres.
- Longitud del pistilo.

5) Fenología:

- Época de floración (IPGRI 6.2.1 y UPOV 29): se determinó el inicio cuando 10% de las flores estaban abiertas, plena floración cuando estaban abiertas aproximadamente el 90% y la caída de los pétalos (cuajado) cuando el 90% habían caído (Christensen, 1974).

- Fecha de maduración (UPOV 31).

Una vez obtenidos los valores descritos se procedió a su análisis estadístico

3.3.3. *Análisis isoenzimático*

a) Homogenización y extracción:

El estudio isoenzimático se realizó en el año 2000, tomando como material de partida hojas jóvenes, recogidas en campo en bolsas de polietileno y mantenidas en hielo. Posteriormente se conservaron a -20°C hasta el momento de extracción.

La elección de este órgano frente a otros posibles se debió a que los tejidos jóvenes y particularmente las hojas son los que tienen un rendimiento mayor en actividad enzimática, con un contenido bajo en polifenoles y otros metabolitos secundarios que se incrementan con la edad del tejido elegido (Arulsekar y Parfitt 1986). Se homogenizaron 500 mg de hojas jóvenes finamente cortadas con 1 g de polivinilpirrolidona (PVPP) y 12 ml de tampón de extracción (Arulsekar y Parfitt, 1986). Se centrifugó y el sobrenadante se congeló hasta utilizarlo. A continuación se impregnó un papel Whatman de 0,5 x 10 mm y se dejó secar antes de introducirlo.

Durante todo el proceso, las muestras se mantuvieron en frío para evitar pérdida de la actividad enzimática.

El tampón de extracción utilizado fue el propuesto por Arulsekar y Parfitt (1986), tris citrato 0,05M (pH=8) con la siguiente composición:

Tris	6,5 g/l de agua destilada
Ácido cítrico monohidratado	1,5 g/l
Cisteína hidrociorada	1,0 g/l
Polietilenglicol 4000	1,0 g/l
Mercaptoetanol	0,08 ml

Inmediatamente antes de su utilización se añadió 1 g de PVPP.

b) Sistemas enzimáticos analizados:

Enzima	Abrev.	Código	Estructura cuaternaria
6-Fosfogluconato deshidrogenasa	6-PGD	E.C.1.1.1.44	Dimérica
Fosfoglucomutasa	PGM	E.C.2.7.5.1	Monomérica
Fosfoglucoisomerasa	PGI	E.C.5.3.1.9	Dimérica
Isocitrato deshidrogenasa	IDH	E.C.1.1.1.41	Dimérica
Shikimato deshidrogenasa	SKDH	E.C.1.1.1.25	Monomérica

c) Tampones utilizados:

Sistema enzimático	Tampón del gel	Tampón de electrodos
6-PGD y SkDH	Tris citrato (pH= 8,3)	Tris citrato (pH=7)
	Soltis y Soltis(1990)	Arulsekara y Parfitt (1986)
PGM, PGI y IDH	L- Histidina-HCl	Tris citrato (pH=7)
	Monohidrato(pH=7)	Soltis y Soltis(1990)
	Arulsekara y Parfitt (1986)	

d) Separación electroforética de isoenzimas:

La separación electroforética se realizó por medio de electroforesis en geles de almidón al 11%. Las dimensiones del gel eran de 18 x 20 x 0,8 cm. A 8 cm de uno de los bordes se realizó un corte transversal y se insertaron en el mismo papeles Whatman embebidos con las muestras. La inserción se llevó a cabo a 1 cm de los extremos del gel y manteniendo una distancia de 2 mm entre las muestras (Badenes 1991). La electroforesis se mantuvo durante 3 horas a 200 voltios.

e) Tinción de los geles:

PGI: La solución de tinción estaba compuesta por tampón Tris 1M (pH=8) al cual se le añadieron:

2 ml de una solución 0,1M de $MgCl_2$.

MTT (3-(4-(5-dimetiltiazol-2-yl)-2-feniltetrazolio bromuro)—20 mg

NADP (Nicotinamida adenina dinucleótido)—15 mg

PMS (Fenazina metasulfato)—5mg

Fructosa -6-fosfato- Na_2 —0,036M

Glucosa- 6-fosfato deshidrogenasa—40 Unidades

Glucosa-1-6 difosfato—1 ml al 0,05 %

PGM: Tampón Tris 1 M (pH=8) al que se le añadieron:

2 ml de una solución 0,1M de Cl_2Mg .

MTT—20 mg

NADP—15mg

PMS—5mg

α -D-glucosa -1-fosfato, 6ml de una solución al 1%

Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa—40 Unidades

6-PGD: Tampón Tris 1 M (pH=8) al que se le añadieron:

2 ml de una solución 0,1M de Cl_2Mg .

MTT—15mg

NADP—10 mg

PMS—5mg

Ácido 6-fosfogluconico—50mg

IDH: Tampón Tris 1 M (pH=8) al que se añadieron:

2 ml de una solución 0,1M de Cl_2Mg .

MTT—20 mg

NADP—15 mg

PMS—5 mg

Ácido isocítrico—100 mg

SkDH: Tris 1M (pH=8) al que se le añadieron:

2 ml de una solución 0,1M de Cl_2Mg .

MTT—15 mg

NADP—10 mg

PMS—2mg

Ácido shikímico—50 mg

Los geles se incubaron en la oscuridad a 30°C durante 30 min, posteriormente se fijaron con metanol y agua al 50% y se efectuó la lectura de bandas.

3.3.4. *Análisis de RAPD*

a) Extracción de ADN

La extracción se hizo siguiendo el protocolo de (Lodhi *et al.*, 1994) recomendado para *Prunus avium*. El método es una modificación de Doyle y Doyle (1990). Se basa en la extracción del ADN por el método CTAB, modificado añadiendo NaCl para remover los polisacáridos y PVP (polivinilpirrolidona) para eliminar los polifenoles durante la purificación del ADN.

El proceso de extracción se realizó con material esterilizado, siguiendo estos pasos:

- 1) El material vegetal se introduce en un mortero, juntamente con nitrógeno líquido y se deja formar un polvo no demasiado fino. Se añaden 5 ml de tampón de extracción y se mezcla con suavidad para evitar la rotura excesiva del ADN. Debe añadirse antes de la descongelación para impedir la degradación del ADN.
- 2) Pasar la pasta semilíquida a un tubo de 15 ml y lavar el mortero con 1ml de tampón de extracción.
- 3) Añadir 50 mg de PVP (100 mg/g de hojas) e invertir los tubos con cuidado.
- 4) Incubar a 65° C durante 25 min.
- 5) Enfriar a temperatura ambiente y añadir igual volumen de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1).
- 6) Centrifugar a 6000 rpm durante 15 min.
- 7) Pasar la fase acuosa a otro tubo.

- 8) Hacer una segunda extracción con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), para la fase acuosa, que puede estar turbia debido a la presencia de PVP.
- 9) Añadir la mitad de volumen de NaCl 5M a la solución acuosa.
- 10) Añadir etanol (95%) frío de forma suave, para que se mantenga en la parte superior, manteniéndolo a 4-6 °C durante 15-20min.
- 11) Centrifugar a 3000 rpm durante 3min y después aumentar a 5000 rpm durante otros 3 min.
- 12) Descartar el sobrenadante y lavar con etanol frío al 76%.
- 13) Remover el etanol sin dejar secar los precipitados de ADN, dejando el tubo abierto a 37 °C durante 20-30 min.
- 14) Disolver en 200-300 µl de Tris-EDTA (TE).
- 15) Añadir 1 µl de RNasa y dejar en reposo a 5 °C durante 1-8 h.

b) Soluciones empleadas:

Tampón de extracción:

Tris HCl, 100 mM ajustado a pH=8 con HCl.

EDTA 20 mM (inactivador de nucleasas).

NaCl 1,4M (impide la coprecipitación del ADN y polisacáridos en soluciones alcohólicas).

CTAB 2% (detergente para ruptura de membranas).

PVP-40 T (100 mg/g de tejido) (complejante de sustancias fenólicas).

β-mercaptoetanol (0,2 %) (v/v)(antioxidante). Se agrega al iniciar el proceso de extracción.

Cloroformo:octanol (24:1).

5M NaCl

Buffer TE : 10 mM Tris-HCl y 1 mM EDTA ajustado a pH=8 y autoclavar.

RNasa A (Sigma R9009:10 mg/ml).

Reacción de amplificación (PCR):

Para las reacciones de amplificación se ensayó un total de 60 cebadores con una secuencia arbitraria de diez nucleótidos (kits A, P, y R de Operon Technologies, Alameda, CA).

Las soluciones de reacción, con un volumen total de 25 μ l, estaban compuestas por (0,2 μ l) 0,2 unidades de Taq Polimerasa de Promega (M1665) en tampón B, (2,5 μ l) 1X (Promega), (2,5 μ l) 2,5mM MgCl₂ (Promega), (2,5 μ l) 1mM de un mix de dNTPs de 10mM (C114 G) (Promega), 2,5 μ l de BSA (Bovin Serum Albumin) acetilado, 10 mg/ml (R396 D) (Promega), 1 μ l (25 pmoles) de cebador (Operon Technologies) y 1 μ l de ADN (de una muestra de ADN obtenida de una dilución 1:10 del ADN extraído por el método antes descrito), completando 25 μ l con agua esterilizada.

La amplificación se realizó en un termociclador Biometra UNO Thermoblock programado del siguiente modo:

Separación inicial de las cadenas, 3 min a 94°C

y 45 ciclos de:

Desnaturalización, de 30 s a 94°C

Hibridación, 30 s a 36°C

Extensión, 60 s a 72°C

Extensión final de todas las cadenas simples, 5 min a 72°C.

Los productos amplificados se separaron por electroforesis en gel de agarosa (1,5%) con tampón TBE (Tris borato EDTA) 0,5 x, a 60 voltios/cm durante 1,5 h, y fueron visualizados con bromuro de etidio (0,5 μ l de una solución stock de 10 mg/ml).

Mediante comparación de la posición de las bandas visibles en el gel con un marcador de tamaño conocido (100 base pair step ladder de Boehringer), se determinaron los tamaños en pares de bases de los productos de amplificación obtenidos.

Se hicieron dos muestras por variedad.

4. RESULTADOS

4.1. Morfología de la flor

4.1.1. Cerezos

En las Tablas 11, 12, 13 y 14 se muestran los resultados correspondientes a las mediciones efectuadas en la flor de cerezos durante el período de estudio, 1999-2001. En las tres primeras Tablas, puede observarse que las variaciones entre los distintos años son más bien reducidas, lo que indica que dichos parámetros están poco sometidos a variabilidad por las condiciones ambientales. A continuación, se analiza con detalle cada uno de los parámetros de la Tabla 14.

El diámetro de la flor abierta, oscila entre valores algo inferiores a 3,0 cm y valores próximos a los 3,8 cm, siendo las dos variedades de mayor diámetro "Precoce Bernard" y "Burlat", y la de menor diámetro, "Francesa de Alenquer".

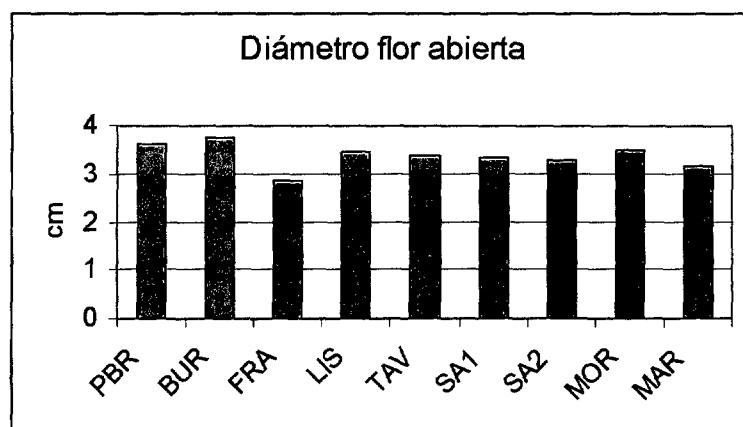


Fig. 4: Valor medio del diámetro de la flor abierta.

El resto de las variedades estudiadas tienen valores bastante similares.

El número de estambres, oscila en todos los casos entre 35 y 40, que serían los valores extremos en flores pentámeras, como es el caso del cerezo. "Tardif de Vignole" es la variedad con mayor número de estambres, valor medio muy próximo a 40, mientras que "Precoce Bernard" y "Lisboeta" tienen un número muy próximo a los 35 estambres.

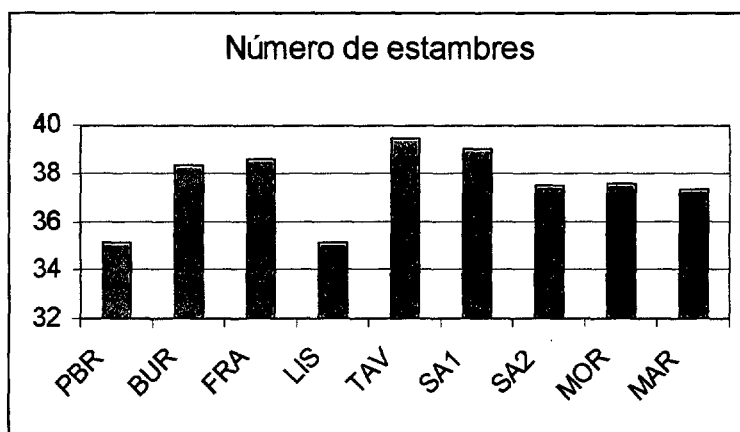


Fig. 5: Valor medio del número de estambres de la flor

La longitud del pistilo, es un parámetro que presentó ciertas dificultades en su medición, ya que presenta una cierta variabilidad dependiendo del momento exacto en que se realizase la medición. En cierto modo se puede suponer una cierta relación entre esta longitud y el porcentaje de cuajado que se obtenga. Los valores obtenidos oscilaron entre 1,25 cm y 1,45 cm, siendo "Tardif de Vignole" la variedad con pistilo más corto y "Saco 1" la de mayor dimensión.

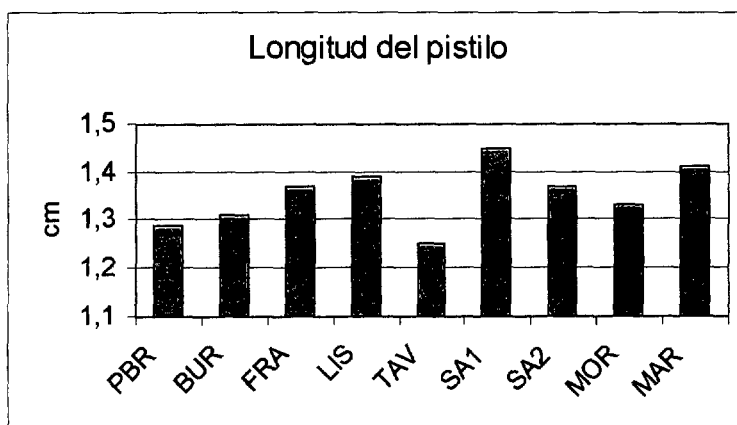


Fig. 6: Valor medio de la longitud del pistilo

La longitud de los pétalos presenta lógicamente una marcada correlación con el diámetro de la flor abierta, considerado más arriba. Nuevamente "Burlat" y "Precoce Bernard" son las dos variedades de mayor longitud de pétalos, con valores en torno 1,8 cm, mientras que "Francesa de Alenquer" tenía pétalos de aproximadamente 1,4 cm.

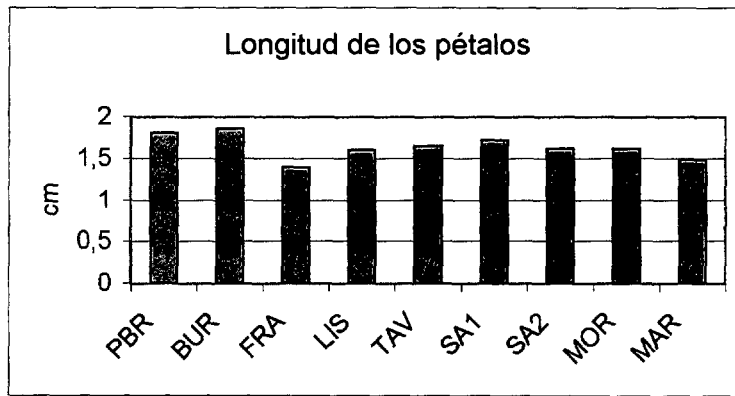


Fig. 7: Valor medio de la longitud de los pétalos.

La anchura de los pétalos sin embargo, no presenta correlación con la longitud de los mismos. Las variedades con mayor anchura eran "Precoce Bernard" y "Burlat", con valores próximos a 1,5 cm, siendo "Francesa de Alenquer" y "Lisboeta" las que tenían valores más pequeños, en torno a 1,3 cm.

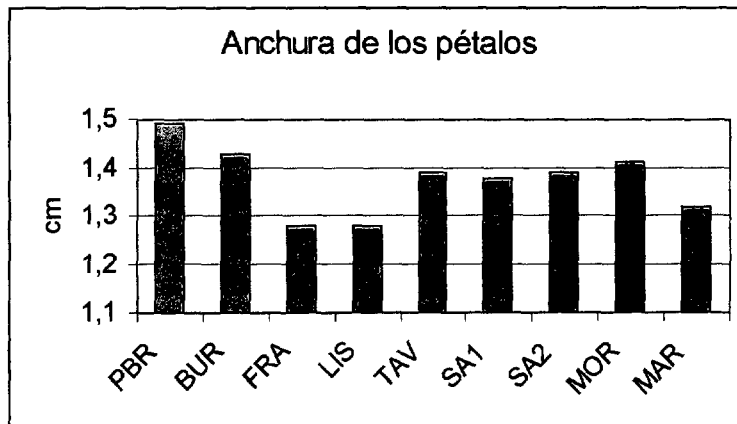


Fig. 8: Valor medio de la anchura de los pétalos

Tabla 11: Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 1999). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierto(cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Precoce Bernard	PRB	3,86 (0,11)	37,74 (0,70)	1,34 (0,03)	1,88 (0,11)	1,51 (0,12)
Burlat	BUR	4,03 (0,11)	39,36 (0,70)	1,39 (0,04)	1,99 (0,09)	1,51 (0,12)
Francesa de Alenquer	FRA	3,03 (0,10)	38,80 (0,99)	1,38 (0,04)	1,40 (0,12)	1,25 (0,13)
Lisboeta	LIS	3,49 (0,12)	36,02 (0,64)	1,41 (0,04)	1,54 (0,09)	1,20 (0,07)
Tardif de Vignole	TAV	3,38 (0,06)	39,94 (0,59)	1,24 (0,02)	1,71 (0,14)	1,40 (0,12)
Saco 1	SA1	3,82 (0,17)	40,30 (0,98)	1,50 (0,03)	1,81 (0,15)	1,41 (0,10)
Saco 2	SA2	3,76 (0,11)	36,16 (0,80)	1,41 (0,04)	1,73 (0,14)	1,54 (0,10)
Morangão	MOR	3,71 (0,11)	37,70 (1,96)	1,33 (0,05)	1,70 (0,08)	1,48 (0,08)
Maringa	MAR	3,52 (0,23)	37,90 (1,08)	1,40 (0,04)	1,63 (0,08)	1,41 (0,08)

Tabla 12: Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 2000). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta(cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Precoce Bernard	PRB	3,44 (0,11)	33,80 (1,53)	1,23 (0,02)	1,75 (0,11)	1,55 (0,12)
Burlat	BUR	3,74 (0,14)	37,76 (1,02)	1,25 (0,04)	1,78 (0,09)	1,47 (0,19)
Francesa de Alenquer	FRA	2,90 (0,06)	39,18 (0,71)	1,33 (0,02)	1,40 (0,13)	1,36 (0,15)
Lisboeta	LIS	3,42 (0,11)	35,72 (1,01)	1,35 (0,03)	1,65 (0,12)	1,32 (0,15)
Tardif de Vignole	TAV	3,44 (0,09)	39,52 (0,70)	1,22 (0,03)	1,60 (0,09)	1,42 (0,10)
Saco 1	SA1	2,98 (0,20)	38,12 (1,18)	1,36 (0,06)	1,62 (0,10)	1,41 (0,08)
Saco 2	SA2	3,07 (0,13)	38,74 (0,63)	1,36 (0,02)	1,62 (0,09)	1,39 (0,10)
Morangão	MOR	3,43 (0,22)	37,48 (1,28)	1,34 (0,03)	1,59 (0,10)	1,44 (0,10)
Maringa	MAR	3,12 (0,20)	36,60 (0,91)	1,34 (0,01)	1,46 (0,08)	1,27 (0,10)

Tabla 13: *Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .*

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta(cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Precoce Bernard	PRB	3,52 (0,09)	33,70 (2,11)	1,30 (0,05)	1,77 (0,10)	1,42 (0,11)
Burlat	BUR	3,45 (0,23)	37,90 (1,66)	1,29 (0,09)	1,77 (0,12)	1,32 (0,13)
Francesa de Alenquer	FRA	2,72 (0,10)	37,86 (0,09)	1,39 (0,02)	1,36 (0,08)	1,22 (0,08)
Lisboeta	LIS	3,41 (0,08)	33,52 (1,24)	1,41 (0,09)	1,59 (0,17)	1,33 (0,12)
Tardif de Vignole	TAV	3,31 (0,22)	38,66 (1,91)	1,29 (0,02)	1,62 (0,09)	1,34 (0,08)
Saco 1	SA1	3,19 (0,43)	38,42 (0,45)	1,48 (0,05)	1,69 (0,12)	1,32 (0,09)
Saco 2	SA2	2,99 (0,33)	37,44 (0,48)	1,33 (0,05)	1,47 (0,12)	1,25 (0,08)
Morangão	MOR	3,32 (0,12)	37,58 (0,85)	1,32 (0,03)	1,55 (0,15)	1,30 (0,13)
Maringa	MAR	2,88 (0,11)	37,44 (0,44)	1,49 (0,02)	1,36 (0,10)	1,28 (0,13)

Tabla 14: Parámetros morfológicos de flor de cerezo (años 1999-2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta(cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Precoce Bernard	PRB	3,61 (0,22)	35,08 (2,30)	1,29 (0,06)	1,80 (0,07)	1,49 (0,07)
Burlat	BUR	3,74 (0,29)	38,34 (0,89)	1,31 (0,07)	1,85 (0,12)	1,43 (0,10)
Francesa de Alenquer	FRA	2,88 (0,15)	38,61 (0,68)	1,37 (0,03)	1,39 (0,03)	1,28 (0,08)
Lisboeta	LIS	3,44 (0,04)	35,09 (1,37)	1,39 (0,03)	1,59 (0,06)	1,28 (0,07)
Tardif de Vignole	TAV	3,38 (0,06)	39,37 (0,65)	1,25 (0,03)	1,64 (0,06)	1,39 (0,04)
Saco 1	SA1	3,33 (0,44)	38,95 (1,18)	1,45 (0,08)	1,71 (0,10)	1,38 (0,05)
Saco 2	SA2	3,27 (0,42)	37,45 (1,29)	1,37 (0,04)	1,61 (0,13)	1,39 (0,15)
Morangão	MOR	3,49 (0,20)	37,59 (0,11)	1,33 (0,01)	1,61 (0,08)	1,41 (0,10)
Maringa	MAR	3,17 (0,32)	37,31 (0,66)	1,41 (0,08)	1,48 (0,14)	1,32 (0,08)

4.1.2. Guindos

En las Tablas 15, 16, 17 y 18 se presentan los resultados correspondientes a la caracterización de las flores de las variedades de guindo estudiadas. También en este caso no se observan marcadas diferencias entre los distintos años estudiados.

A continuación comentamos los resultados correspondientes a cada uno de los parámetros estudiados.

El diámetro de la flor abierta muestra dos grupos bien diferenciados de variedades, las de flores más grandes, que son las tres variedades "D'Obidos" más la variedad "Seixas", que tienen diámetros muy próximos a los 3,0 cm, y las "Garrafal" y la "Galega", con diámetros entre 2,5 y 2,7 cm.

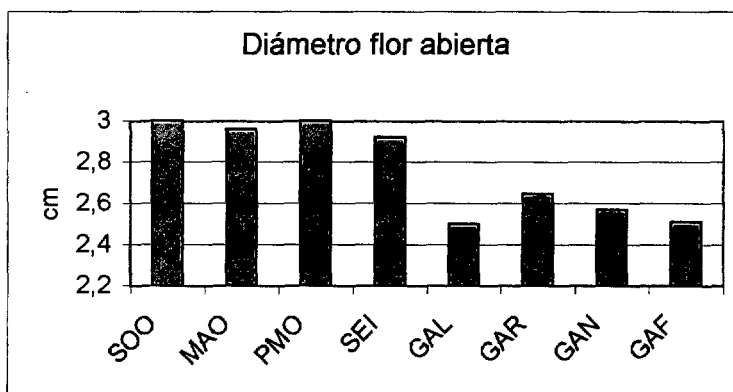


Fig. 9: Valor medio del diámetro de la flor abierta de guindos.

El número de estambres se encontraba en la mayoría de los casos entre 30 y 35, siendo las tres "D'Obidos" las de mayor número de estambres, superior a 35, y las "Garrafal" y "Galega" las de menor, alrededor de 30.

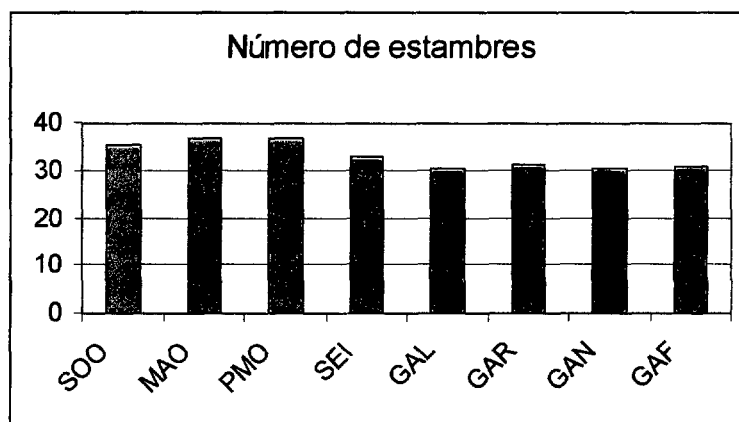


Fig. 10: Valor medio del número de estambres de la flor de guindos.

La longitud del pistilo, tuvo un comportamiento distinto, con valores en torno a 0,9-1,1 cm, siendo "Seixas", "Garrafal Negra" y "Garrafal" las variedades con pistilo de mayor longitud y "Galega" y "Garrafal Rosa" las de menor longitud. Las tres variedades "D'Obidos" presentaron longitudes muy similares, en torno a 1,0.

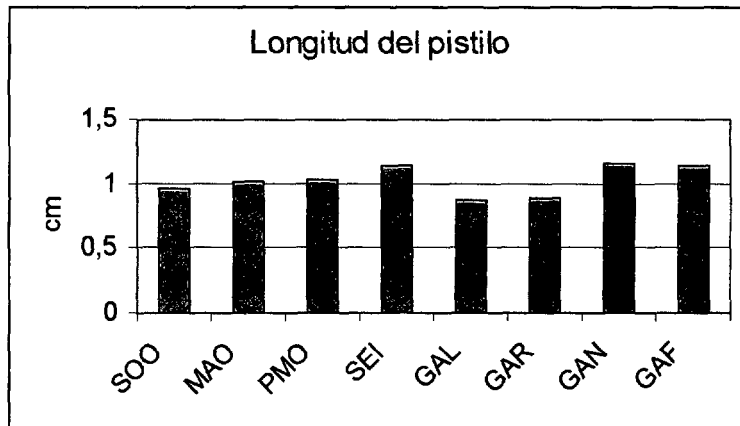


Fig. 11: Valor medio de la longitud del pistilo de guindos.

La longitud de los pétalos, de forma análoga al caso de los cerezos, mostró una cierta correlación con el diámetro de la flor, si bien no tan marcada como en aquéllos. Por otra parte, así como en los cerezos este parámetro tenía valores aproximadamente la mitad que el diámetro de la flor, en el caso de los guindos la longitud de los pétalos era en todos los casos algo menor del 50% del diámetro de la flor, probablemente debido al tipo de morfología floral. Las tres variedades "D'Obidos" fueron las de mayores longitudes de pétalos, alrededor de 1,3 cm, y la de menor longitud fue "Galega".

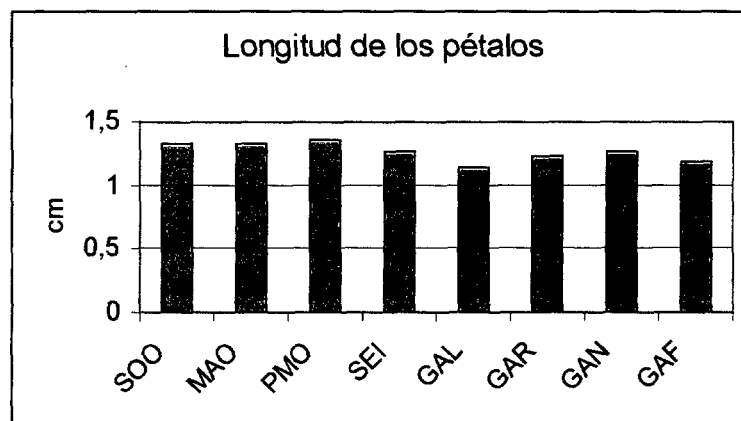


Fig. 12: Valor medio de la longitud de los pétalos de guindos.

La anchura de los pétalos, nuevamente muestra dos grupos, si bien no muy diferenciados, uno con pétalos algo más anchos, que corresponde a las tres variedades "D'Obidos" y a "Seixas" y otro con las tres "Garrafal" y "Galega".

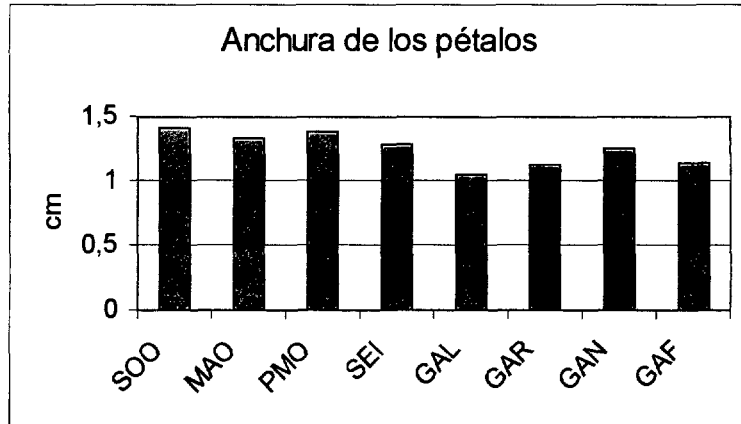


Fig. 13: Valor medio de la anchura de los pétalos de guindos.

Tabla 15: Parámetros morfológicos de flor de guindo (año 1999). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta (cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Sobral D'Óbidos	SOO	3,22 (0,16)	33,06 (0,70)	0,96 (0,06)	1,44 (0,10)	1,43 (0,12)
Martinho D'Óbidos	MAO	3,21 (0,24)	33,92 (2,45)	1,06 (0,09)	1,40 (0,12)	1,31 (0,17)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	3,28 (0,05)	34,54 (0,89)	1,08 (0,09)	1,44 (0,12)	1,44 (0,11)
Seixas	SEI	3,13 (0,04)	31,66 (0,59)	1,13 (0,04)	1,36 (0,09)	1,39 (0,10)
Galega	GAL	2,61 (0,13)	31,04 (0,71)	0,88 (0,02)	1,14 (0,13)	0,98 (0,09)
Garrafal Rosa	GAR	2,81 (0,13)	33,12 (1,40)	0,89 (0,01)	1,28 (0,11)	1,09 (0,12)
Garrafal Negra	GAN	2,68 (0,07)	29,86 (1,51)	1,16 (0,04)	1,30 (0,10)	1,30 (0,10)
Garrafal	GAF	2,62 (0,11)	30,36 (0,85)	1,11 (0,04)	1,19 (0,12)	1,15 (0,08)

Tabla 16: *Parámetros morfológicos de flor de guindo (año 2000). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .*

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta (cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Sobral D'Óbidos	SOO	2,98 (0,11)	36,66 (0,35)	0,96 (0,03)	1,32 (0,13)	1,47 (0,12)
Martinho D'Óbidos	MAO	2,91 (0,09)	37,70 (1,30)	0,97 (0,04)	1,35 (0,10)	1,35 (0,14)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	2,88 (0,13)	36,86 (1,42)	0,98 (0,05)	1,33 (0,13)	1,35 (0,12)
Seixas	SEI	2,94 (0,11)	34,82 (0,60)	1,10 (0,02)	1,23 (0,09)	1,20 (0,12)
Galega	GAL	2,61 (0,09)	29,72 (0,61)	0,88 (0,01)	1,22 (0,06)	1,14 (0,08)
Garrafal Rosa	GAR	2,80 (0,16)	31,00 (0,25)	0,91 (0,05)	1,30 (0,09)	1,22 (0,14)
Garrafal Negra	GAN	2,77 (0,05)	30,46 (0,85)	1,13 (0,02)	1,26 (0,05)	1,27 (0,08)
Garrafal	GAF	2,69 (0,03)	31,06 (0,58)	1,12 (0,02)	1,25 (0,07)	1,24 (0,09)

Tabla 17: *Parámetros morfológicos de flor de cerezo (año 2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .*

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta (cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Sobral D'Óbidos	SOO	2,79 (0,05)	36,68 (1,58)	0,97 (0,06)	1,23 (0,08)	1,32 (0,10)
Martinho D'Óbidos	MAO	2,77 (0,11)	37,98 (1,53)	1,01 (0,05)	1,23 (0,10)	1,29 (0,14)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	2,85 (0,00)	38,20 (0,85)	1,02 (0,05)	1,31 (0,11)	1,32 (0,12)
Seixas	SEI	2,68 (0,04)	32,40 (0,78)	1,15 (0,03)	1,22 (0,07)	1,25 (0,10)
Galega	GAL	2,27 (0,09)	30,54 (0,83)	0,85 (0,07)	1,04 (0,16)	1,00 (0,15)
Garrafal Rosa	GAR	2,34 (0,10)	29,50 (0,61)	0,88 (0,02)	1,10 (0,07)	1,04 (0,09)
Garrafal Negra	GAN	2,27 (0,04)	30,90 (0,72)	1,16 (0,06)	1,22 (0,07)	1,19 (0,07)
Garrafal	GAF	2,23 (0,07)	30,78 (0,88)	1,17 (0,05)	1,11 (0,07)	1,02 (0,11)

Tabla 18: Parámetros morfológicos de flor de guindo (años 1999-2001). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Diámetro flor abierta (cm)	Número de estambres	Longitud del pistilo (cm)	Longitud de los pétalos (cm)	Anchura de los pétalos (cm)
Sobral D'Óbidos	SOO	3,00 (0,21)	35,47 (2,08)	0,96 (0,00)	1,33 (0,11)	1,41 (0,08)
Martinho D'Óbidos	MAO	2,96 (0,22)	36,53 (2,27)	1,01 (0,05)	1,33 (0,09)	1,32 (0,03)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	3,00 (0,24)	36,53 (1,85)	1,03 (0,05)	1,36 (0,07)	1,37 (0,06)
Seixas	SEI	2,92 (0,23)	32,96 (1,65)	1,13 (0,03)	1,27 (0,08)	1,28 (0,10)
Galega	GAL	2,50 (0,20)	30,43 (0,67)	0,87 (0,02)	1,13 (0,09)	1,04 (0,09)
Garrafal Rosa	GAR	2,65 (0,27)	31,21 (1,82)	0,89 (0,02)	1,23 (0,11)	1,12 (0,09)
Garrafal Negra	GAN	2,57 (0,27)	30,41 (0,52)	1,15 (0,02)	1,26 (0,04)	1,25 (0,06)
Garrafal	GAF	2,51 (0,25)	30,73 (0,35)	1,13 (0,03)	1,18 (0,07)	1,14 (0,11)

4.2. Morfología de la hoja

4.2.1. Cerezos

En las Tablas 19, 20, 21 y 22 se muestran los resultados correspondientes a las mediciones efectuadas en la hoja de cerezos durante el período de estudio, 1999-2001. Las desviaciones típicas al considerar todo el período de estudio, Tabla 22, son en general bastante más elevadas que en el caso de la flor y del fruto, lo que indica una mayor incidencia de las condiciones ambientales en la morfología de la hoja que en la de flor y de fruto.

En cuanto a las características de los distintos parámetros evaluados, a continuación se comenta separadamente cada uno de ellos.

El ángulo de la base de la hoja, en la mayoría de los casos está muy próximo a los 80°; solamente en dos variedades, "Lisboeta" y "Maringa" este ángulo es obtuso y superior a 100°.

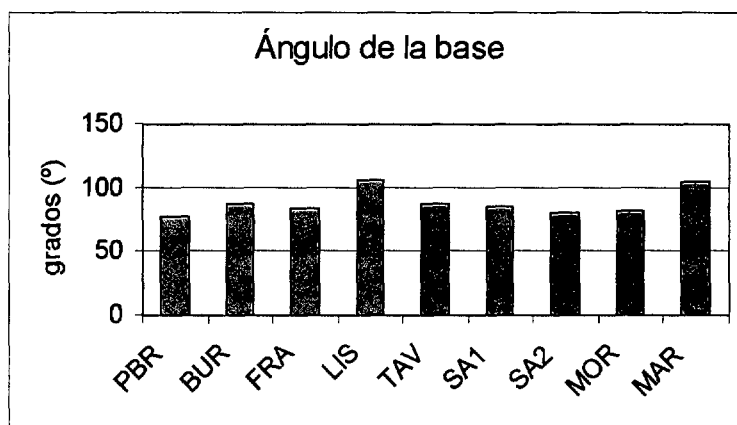


Fig. 14: Ángulo de la base de la hoja en cerezo.

El ángulo apical es agudo en todos los casos, alcanzando valores entre 60 y 72°. La variedad con valor más alto fue "Tardif de Vignole" y la de ángulo más agudo "Precoce Bernard".

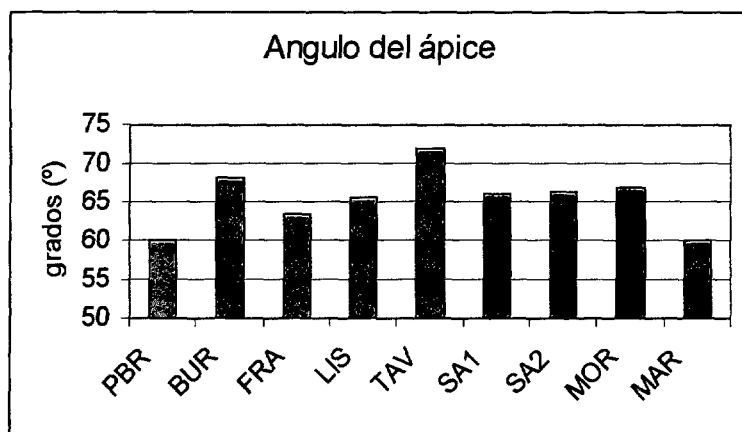


Fig. 15: Angulo del ápice de la hoja de cerezo.

La longitud del peciolo osciló entre 3,5 y 4,8 cm sin que se distinguieran grupos definidos entre las variedades estudiadas. El valor más alto correspondió a "Lisboeta". Las tres variedades con peciolo más corto fueron las dos "Saco" y "Maringa".

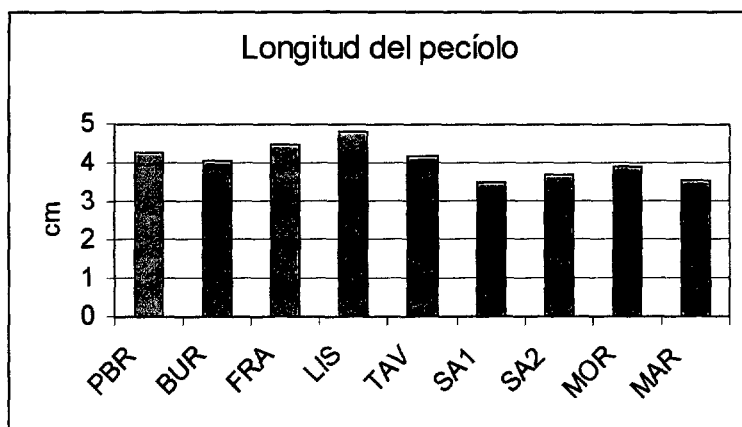


Fig. 16: Longitud del peciolo en hojas de cerezo.

La mayor parte de las variedades tenían una longitud del limbo bastante parecida, entre 14,2 y 15,8 cm; solamente dos variedades, "Saco 1" y "Saco 2" tenían el limbo de menor longitud, 12,5 cm aproximadamente.

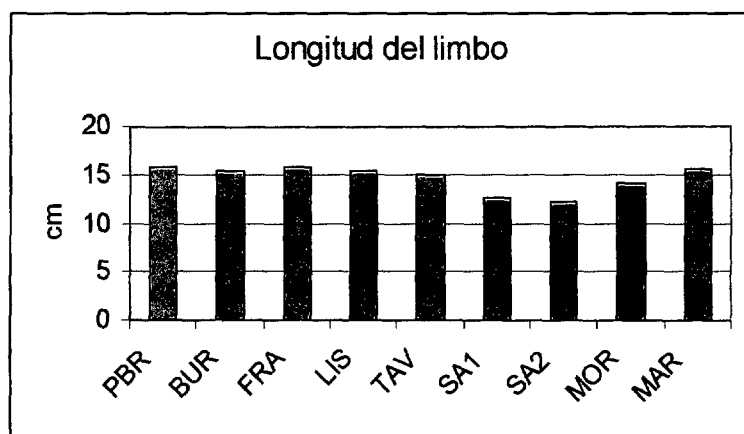


Fig. 17: Longitud del limbo de hoja de cerezo.

En la anchura del limbo se dió una situación parecida al caso anterior, todas las variedades estudiadas tenían valores en torno a 6,5 cm de anchura de hoja, excepto "Saco 1" y "Saco 2" que tenían hojas algo más estrechas, de 5,7 cm aproximadamente.

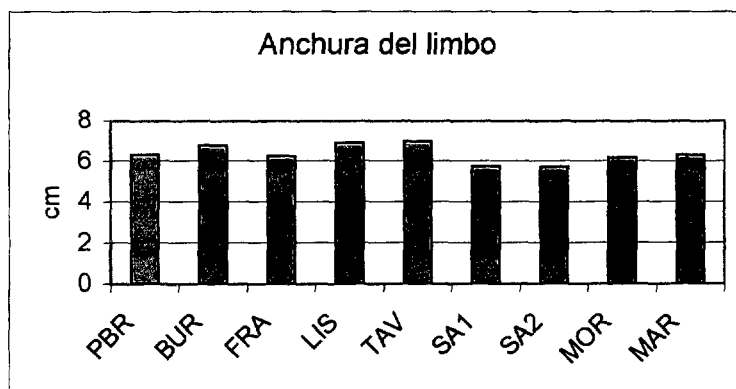


Fig. 18: Anchura del limbo de hojas de cerezo.

La relación longitud/anchura del limbo, que da una indicación sobre la forma de la hoja, variaba entre 2,2 y 2,5, siendo las hojas más alargadas las de "Francesa de Alenquer" y las más redondeadas las de las dos "Saco", "Tardif de Vignole" y "Lisboeta".

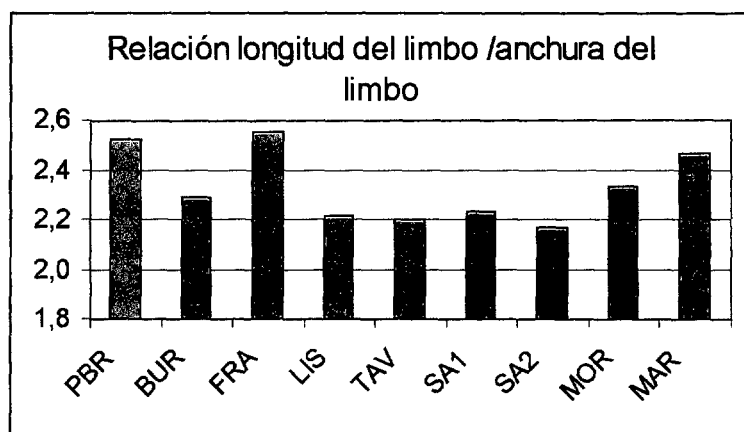


Fig. 19: Relación longitud /anchura del limbo en cerezo

Respecto a la relación entre la longitud del pecíolo y la longitud del limbo, no se apreciaron apenas diferencias entre variedades, oscilando dicha relación entre 0,24 y 0,31 en todos los casos.

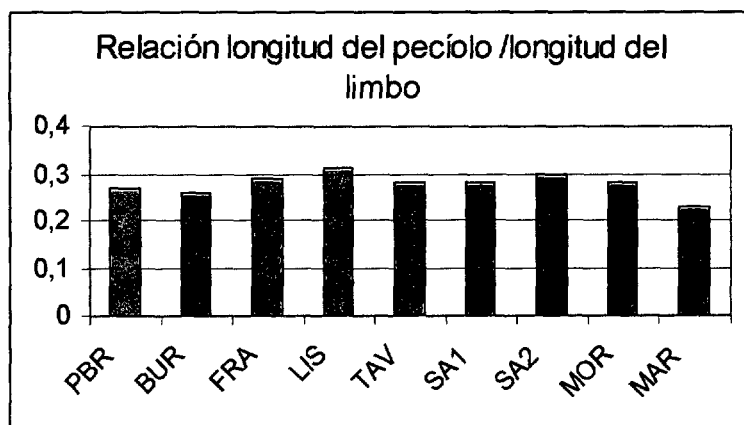


Fig. 20: Relación longitud del pecíolo/ longitud del limbo de cerezo.

Tabla 19: Parámetros morfológicos de hojas de cerezo en el año 1999. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev. de la base	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Precoce Bernard	PRB	78,94 (5,15)	56,56 (2,71)	4,11 (0,20)	16,04 (1,44)	6,16 (0,55)	2,61 (0,09)	0,26 (0,01)
Burlat	BUR	82,60 (3,01)	72,96 (6,53)	4,25 (0,13)	16,37 (0,24)	7,19 (0,43)	2,28 (0,10)	0,26 (0,00)
Francesa de Alenquer	FRA	77,18 (1,25)	65,38 (2,02)	5,04 (0,22)	15,89 (0,74)	7,00 (0,43)	2,27 (0,05)	0,32 (0,02)
Lisboeta	LIS	93,48 (7,06)	75,14 (3,99)	5,30 (0,22)	15,96 (1,07)	7,60 (0,48)	2,10 (0,08)	0,33 (0,02)
Tardif de Vignole	TAV	85,98 (2,01)	80,72 (6,05)	4,48 (0,39)	15,55 (0,38)	7,67 (0,38)	2,03 (0,07)	0,29 (0,02)
Saco (1)	SA1	85,90 (4,03)	69,32 (6,49)	3,85 (0,17)	13,89 (0,80)	6,54 (0,32)	2,12 (0,07)	0,28 (0,02)
Saco (2)	SA2	81,68 (3,45)	70,22 (3,13)	4,43 (0,17)	14,10 (0,46)	6,51 (0,37)	2,17 (0,12)	0,31 (0,01)
Morangão	MOR	82,00 (1,71)	70,82 (2,13)	4,37 (0,23)	15,08 (0,37)	6,81 (0,20)	2,22 (0,10)	0,29 (0,01)
Maringa	MAR	* *	* *	* *	* *	* *	* *	* *

*sin datos

Tabla 20: Parámetros morfológicos de hojas de cerezo en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev. de la base	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Precoce Bernard	PRB	78,86 (5,39)	48,68 (4,54)	3,72 (0,53)	16,31 (1,40)	6,11 (0,47)	2,67 (0,19)	0,23 (0,02)
Burlat	BUR	80,12 (3,24)	48,62 (2,51)	3,27 (0,18)	15,45 (0,24)	6,17 (0,18)	2,50 (0,03)	0,21 (0,01)
Francesa de Alenquer	FRA	73,80 (3,42)	53,96 (2,89)	4,01 (0,22)	14,51 (0,90)	5,56 (0,32)	2,61 (0,07)	0,28 (0,01)
Lisboeta	LIS	89,32 (3,74)	54,74 (2,15)	4,09 (0,31)	14,07 (0,60)	6,22 (0,14)	2,26 (0,11)	0,29 (0,02)
Tardif de Vignole	TAV	79,82 (4,52)	49,44 (3,13)	3,55 (0,11)	15,13 (0,52)	5,82 (0,14)	2,60 (0,07)	0,24 (0,01)
Saco (1)	SA1	73,32 (6,11)	49,00 (3,40)	3,12 (0,34)	12,54 (1,16)	4,93 (0,37)	2,54 (0,15)	0,25 (0,03)
Saco (2)	SA2	71,06 (2,13)	50,34 (3,84)	3,16 (0,09)	12,02 (0,44)	4,89 (0,10)	2,46 (0,05)	0,26 (0,01)
Morangão	MOR	73,86 (2,09)	51,44 (0,86)	3,39 (0,19)	14,25 (0,72)	5,50 (0,27)	2,59 (0,07)	0,24 (0,01)
Maringa	MAR	88,04 (1,93)	52,16 (2,53)	3,47 (0,22)	16,12 (0,75)	6,37 (0,21)	2,53 (0,10)	0,22 (0,02)

Tabla 21: Parámetros morfológicos de hojas de cerezo en el año 2001. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev. de la base	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Precoce Bernard	PRB	75,50 (10,04)	74,92 (7,83)	4,94 (0,40)	15,03 (1,34)	6,58 (0,47)	2,28 (0,12)	0,33 (0,05)
Burlat	BUR	99,68 (14,48)	82,50 (8,15)	4,56 (0,36)	14,39 (0,60)	6,88 (0,37)	2,09 (0,05)	0,32 (0,02)
Francesa de Alenquer	FRA	100,32 (1,79)	70,72 (3,41)	4,38 (0,25)	17,00 (6,06)	6,11 (0,28)	2,78 (0,86)	0,27 (0,06)
Lisboeta	LIS	135,92 (9,48)	66,84 (6,32)	4,98 (0,20)	15,77 (1,19)	6,82 (0,53)	2,31 (0,13)	0,32 (0,02)
Tardif de Vignole	TAV	95,48 (8,82)	85,26 (7,05)	4,41 (0,20)	14,45 (0,59)	7,35 (0,38)	1,97 (0,07)	0,31 (0,02)
Saco (1)	SA1	94,58 (13,20)	79,78 (3,11)	3,53 (0,18)	11,67 (0,58)	5,72 (0,31)	2,04 (0,07)	0,30 (0,00)
Saco (2)	SA2	87,38 (4,73)	78,04 (3,94)	3,39 (0,21)	10,62 (0,93)	5,62 (0,32)	1,89 (0,07)	0,32 (0,01)
Morangão	MOR	88,92 (10,40)	78,00 (5,24)	3,92 (0,26)	13,30 (0,43)	6,15 (0,23)	2,17 (0,11)	0,30 (0,02)
Maringa	MAR	121,68 (7,23)	75,76 (5,57)	3,67 (0,50)	14,30 (0,81)	6,14 (0,21)	2,33 (0,10)	0,26 (0,03)

Tabla 22: *Parámetros morfológicos de hojas de cerezo en los años (99-00-01).
Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .*

Variedades	Abrev. de la base	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Precoce Bernard	PRB	77,77 (1,96)	60,05 (13,46)	4,26 (0,63)	15,79 (0,68)	6,28 (0,26)	2,52 (0,21)	0,27 (0,05)
Burlat	BUR	87,47 (10,65)	68,03 (17,47)	4,03 (0,67)	15,40 (0,99)	6,75 (0,52)	2,29 (0,20)	0,26 (0,05)
Francesa de Alenquer	FRA	83,77 (14,43)	63,35 (8,56)	4,48 (0,52)	15,80 (1,25)	6,22 (0,73)	2,55 (0,26)	0,29 (0,02)
Lisboeta	LIS	106,24 (25,79)	65,57 (10,26)	4,79 (0,63)	15,27 (1,04)	6,88 (0,69)	2,22 (0,11)	0,31 (0,02)
Tardif de Vignole	TAV	87,09 (7,89)	71,81 (19,50)	4,15 (0,52)	15,04 (0,56)	6,95 (0,99)	2,20 (0,35)	0,28 (0,03)
Saco (1)	SA1	84,60 (10,69)	66,03 (15,65)	3,50 (0,37)	12,70 (1,12)	5,73 (0,81)	2,23 (0,27)	0,28 (0,03)
Saco (2)	SA2	80,04 (8,28)	66,20 (14,28)	3,66 (0,68)	12,25 (1,75)	5,67 (0,81)	2,17 (0,29)	0,30 (0,03)
Morangão	MOR	81,59 (7,54)	66,75 (13,74)	3,89 (0,49)	14,21 (0,89)	6,15 (0,66)	2,33 (0,23)	0,28 (0,03)
Maringa	MAR	104,86 (16,82)	63,96 (11,8)	3,57 (0,10)	15,21 (0,91)	6,26 (0,11)	2,43 (0,10)	0,24 (0,02)

4.2.2. Guindos

En las Tablas 23, 24, 25 y 26 se muestran los resultados correspondientes a las mediciones efectuadas en la hoja de guindos durante el período de estudio, 1999-2001. Las desviaciones típicas al considerar todo el período de estudio, Tabla 26, son en general bastante más elevadas que en el caso de la flor y del fruto, lo que indica una mayor incidencia de las condiciones ambientales en la morfología de la hoja que en la de flor y de fruto.

En cuanto a las características de los distintos parámetros evaluados, a continuación se comenta separadamente cada uno de ellos.

El ángulo de la base de la hoja, está muy próximo a los 60° en las tres "D'Óbidos", que son las de valores más bajos. El valor más alto se da en "Garrafal Negra", con cerca de 90°.

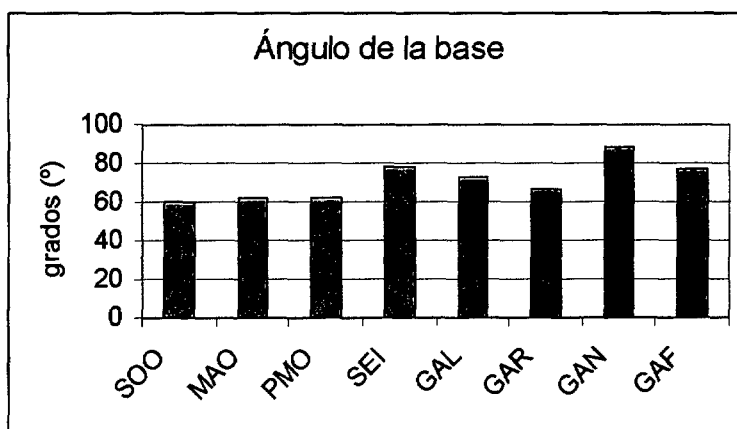


Fig. 21: *Ángulo de la base de la hoja en guindo.*

El ángulo del ápice era agudo en todos los casos, oscilando entre 58 y 68°. "Garrafal Rosa" fue la variedad con el ángulo más agudo.

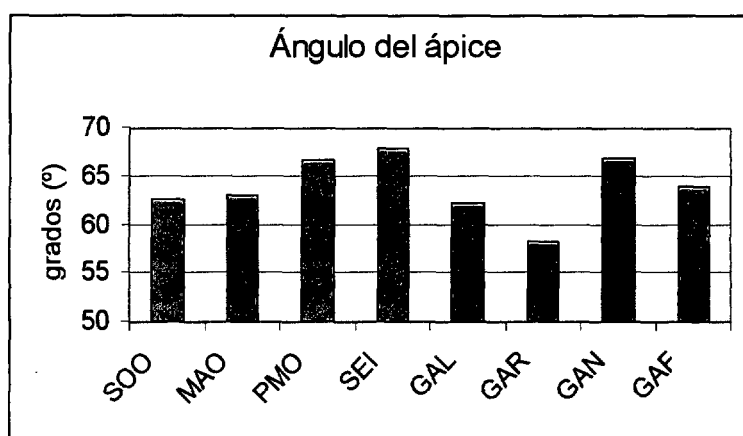


Fig. 22: *Ángulo del ápice de la hoja de guindo.*

La longitud del pecíolo mostró dos grupos bastante diferenciados: las tres "D'Obidos", "Galega" y "Garrafal Rosa" tenían pecíolo más bien corto, inferior a 2,0 cm, mientras que "Seixas", "Garrafal" y "Garrafal Negra" tenían pecíolos entre 2,5 y 3 cm de longitud.

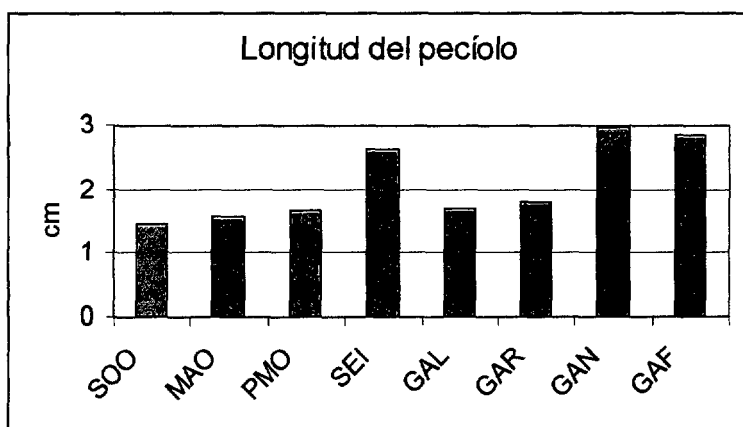


Fig. 23: *Longitud del pecíolo en hojas de guindo.*

En la longitud del limbo se observaron dos grupos, "Galega" y "Garrafal Rosa", con limbos de menos de 8 cm y el resto con longitud aproximada entre 10 y 12 cm.

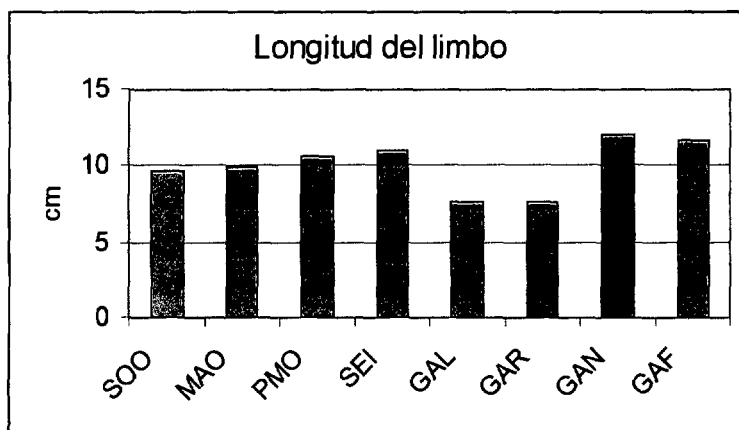


Fig. 24: Longitud del limbo en hojas de guindo.

En la anchura del limbo se dió una situación más gradual, siendo "Galega" y "Garrafal Rosa" las de menor dimensión y por tanto, combinado con el anterior parámetro, las de hojas más pequeñas.

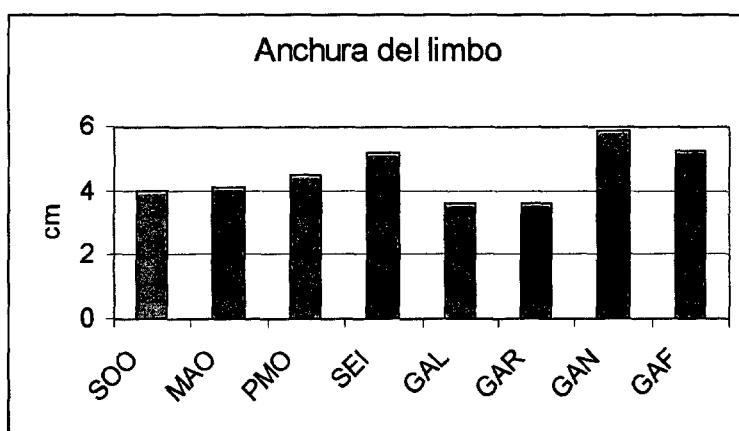


Fig. 25: Anchura del limbo de hojas de guindo.

La relación entre la longitud y la anchura del limbo tenía valores relativamente similares en todas las variedades oscilando entre 2,0 y 2,5 en todos los casos, lo que indica una cierta similitud de forma entre las hojas de las distintas variedades.

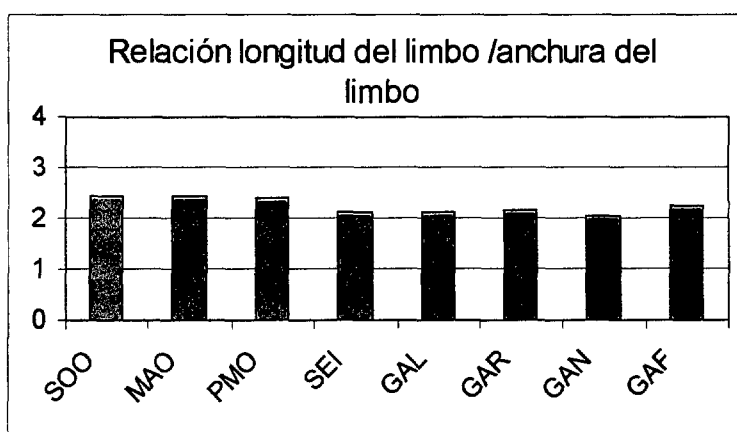


Fig.26: Relación longitud del limbo /anchura del limbo en guindo.

La relación entre la longitud del pecíolo y la longitud del limbo, si bien oscila entre valores relativamente próximos, muestra dos grupos entre las variedades estudiadas: las tres "D'Obidos" por una parte y las demás variedades por otra.

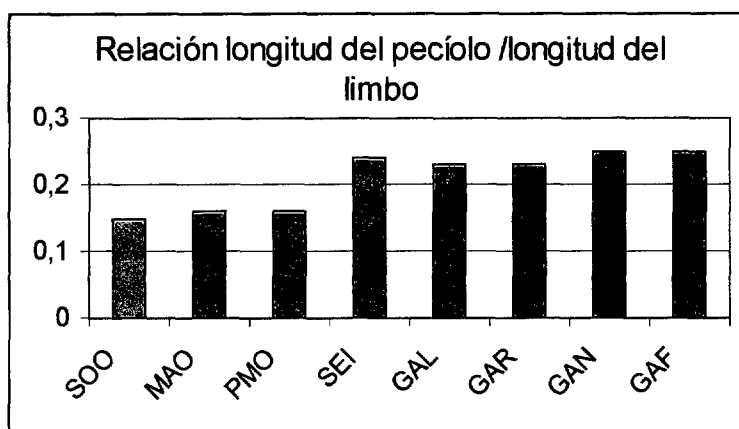


Fig. 27: Relación longitud del pecíolo /longitud del limbo.

Tabla 23: Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en el año 1999. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev. de	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/ anchura limbo	Relación longitud pecíolo/ longitud limbo
Sobral D'Óbidos	SOO	63,10 (4,15)	66,42 (6,06)	1,37 (0,35)	10,79 (0,47)	4,69 (0,32)	2,31 (0,12)	0,13 (0,03)
Martinho D'Óbidos	MAO	63,12 (3,39)	64,60 (2,35)	1,72 (0,14)	10,89 (0,77)	4,69 (0,39)	2,32 (0,07)	0,16 (0,01)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	63,64 (2,90)	71,46 (4,25)	1,85 (0,20)	11,87 (0,68)	5,30 (0,44)	2,25 (0,11)	0,16 (0,02)
Seixas	SEI	73,38 (5,59)	66,94 (4,64)	2,68 (0,20)	12,44 (0,74)	5,75 (0,29)	2,16 (0,03)	0,22 (0,01)
Galega	GAL	77,34 (5,57)	65,28 (5,50)	1,80 (0,22)	8,28 (0,35)	4,04 (0,15)	2,05 (0,06)	0,22 (0,02)
Garrafal Rosa	GAR	68,86 (10,71)	60,02 (6,33)	1,91 (0,10)	8,21 (0,47)	4,19 (0,38)	1,96 (0,06)	0,23 (0,01)
Garrafal Negra	GAN	85,00 (5,16)	68,26 (2,86)	3,48 (0,31)	12,84 (0,64)	6,52 (0,45)	1,97 (0,04)	0,27 (0,02)
Garrafal	GAF	74,34 (4,36)	64,36 (4,85)	3,10 (0,18)	11,88 (0,92)	5,70 (0,41)	2,08 (0,08)	0,26 (0,02)

Tabla 24: Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ

Variedades	Abrev. de la base	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Sobral D'Óbidos	SOO	51,46 (2,55)	50,14 (2,35)	1,41 (0,09)	8,95 (0,53)	3,65 (0,18)	2,45 (0,11)	0,16 (0,01)
Martinho D'Óbidos	MAO	53,34 (3,17)	51,06 (2,83)	1,49 (0,13)	9,14 (0,93)	3,80 (0,30)	2,41 (0,07)	0,16 (0,01)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	51,90 (1,93)	50,53 (2,93)	1,39 (0,04)	9,45 (0,04)	3,76 (0,15)	2,52 (0,08)	0,15 (0,00)
Seixas	SEI	66,90 (2,49)	54,36 (2,84)	2,37 (0,18)	10,83 (0,29)	4,68 (0,24)	2,32 (0,08)	0,22 (0,01)
Galega	GAL	53,28 (3,59)	50,60 (2,09)	1,62 (0,14)	7,33 (0,37)	3,51 (0,21)	2,09 (0,12)	0,22 (0,02)
Garrafal Rosa	GAR	52,84 (1,43)	51,66 (1,02)	1,82 (0,16)	7,79 (0,52)	3,57 (0,12)	2,18 (0,07)	0,23 (0,02)
Garrafal Negra	GAN	78,66 (3,58)	57,06 (1,76)	2,66 (0,16)	12,18 (0,61)	5,65 (0,38)	2,16 (0,07)	0,22 (0,01)
Garrafal	GAF	68,11 (2,39)	48,00 (1,58)	2,58 (0,08)	12,27 (0,43)	4,86 (0,24)	2,52 (0,09)	0,21 (0,01)

Tabla 25: *Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en el año 2001. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ*

Variedades	Abrev. de la base	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Sobral D'Óbidos	SOO	65,40 (3,53)	71,48 (2,50)	1,53 (0,03)	9,15 (0,46)	3,58 (0,24)	2,56 (0,05)	0,17 (0,01)
Martinho D'Óbidos	MAO	71,30 (3,44)	73,72 (2,44)	1,56 (0,09)	9,87 (0,87)	3,82 (0,30)	2,58 (0,05)	0,16 (0,01)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	70,35 (4,88)	78,20 (2,26)	1,77 (0,08)	10,40 (0,52)	4,34 (0,13)	2,40 (0,03)	0,17 (0,00)
Seixas	SEI	94,12 (4,53)	82,58 (3,21)	2,82 (0,14)	9,80 (0,57)	5,11 (0,32)	1,92 (0,05)	0,29 (0,02)
Galega	GAL	86,82 (12,61)	70,60 (3,16)	1,69 (0,15)	7,09 (0,39)	3,19 (0,28)	2,23 (0,08)	0,24 (0,01)
Garrafal Rosa	GAR	78,54 (10,57)	63,02 (4,61)	1,66 (0,08)	6,88 (0,34)	3,01 (0,30)	2,30 (0,12)	0,24 (0,01)
Garrafal Negra	GAN	101,02 (14,63)	75,06 (9,24)	2,80 (0,35)	10,94 (1,26)	5,44 (0,78)	2,02 (0,06)	0,26 (0,03)
Garrafal	GAF	86,52 (12,26)	79,32 (7,74)	2,88 (0,32)	10,68 (0,83)	5,11 (0,67)	2,11 (0,17)	0,27 (0,03)

Tabla 26: *Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a hojas en los años (99-00-01). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ*

Variedades	Abrev. de	Angulo de la base (°)	Angulo apical (°)	Longitud pecíolo (cm)	Longitud limbo (cm)	Anchura limbo (cm)	Relación longitud/anchura limbo	Relación longitud pecíolo/longitud limbo
Sobral D'Óbidos	SOO	59,99 (7,47)	62,68 (11,15)	1,44 (0,08)	9,63 (1,01)	3,97 (0,62)	2,44 (0,12)	0,15 (0,02)
Martinho D'Óbidos	MAO	62,59 (8,99)	63,13 (11,40)	1,59 (0,12)	9,97 (0,88)	4,10 (0,51)	2,44 (0,13)	0,16 (0,00)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	61,96 (9,34)	66,73 (14,43)	1,67 (0,24)	10,57 (1,22)	4,47 (0,78)	2,39 (0,14)	0,16 (0,01)
Seixas	SEI	78,13 (14,22)	67,96 (14,14)	2,62 (0,23)	11,02 (1,33)	5,18 (0,54)	2,13 (0,20)	0,24 (0,04)
Galega	GAL	72,48 (17,29)	62,16 (10,36)	1,70 (0,09)	7,57 (0,63)	3,58 (0,43)	2,12 (0,09)	0,23 (0,01)
Garrafal Rosa	GAR	66,75 (12,98)	58,23 (5,89)	1,80 (0,13)	7,63 (0,68)	3,59 (0,59)	2,15 (0,17)	0,23 (0,01)
Garrafal Negra	GAN	88,23 (11,52)	66,79 (9,09)	2,98 (0,44)	11,99 (0,97)	5,87 (0,57)	2,05 (0,10)	0,25 (0,03)
Garrafal	GAF	76,32 (9,36)	63,89 (15,67)	2,85 (0,26)	11,61 (0,83)	5,22 (0,43)	2,24 (0,25)	0,25 (0,03)

4.3. Características cuantitativas del fruto

4.3.1. Cerezos

En las Tablas 27, 28, 29 y 30 se muestran los resultados correspondientes a las mediciones efectuadas en el fruto de cerezos durante el período de estudio, 1999-2001. En las tres primeras Tablas, puede observarse que las variaciones entre los distintos años son reducidas, lo que indica que dichos parámetros están poco sometidos a variabilidad por las condiciones ambientales. A continuación, se analiza con detalle cada uno de los parámetros de la Tabla 30.

La longitud del pedúnculo, oscila entre valores algo inferiores a 3,5 cm y valores superiores a 5,2 cm, pudiendo agruparse las variedades en unas de pedúnculo largo y otras de pedúnculo corto, encontrándose en el primer grupo "Lisboeta", "Morangao" y las dos "Saco", variedades portuguesas, mientras que en el grupo de pedúnculo corto se encuentran "Burlat", "Precoce Bernard", "Tardif de Vignole" y "Maringa", variedades extranjeras, que posiblemente han sufrido un proceso de mejora y que entre otras cosas ha llevado a un acortamiento del pedúnculo.

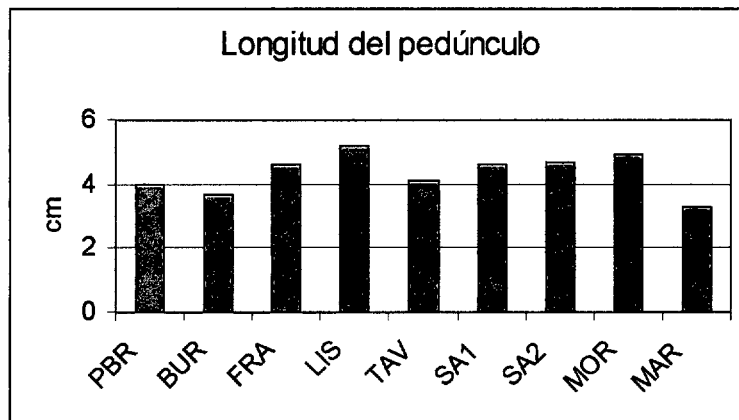


Fig. 28: Longitud media del pedúnculo del fruto de cerezo.

Respecto al porcentaje de agrietamiento de los frutos, parámetro de marcada importancia desde el punto de vista comercial, y objetivo perseguido en la mayor parte de los programas de mejora, se pueden observar marcadas diferencias entre las variedades estudiadas. "Tardif de Vignole" es la variedad con valores más bajos en este parámetro, seguida de "Lisboeta" y "Morangao", mientras que "Burlat" y "Maringa" tenían valores muy altos, próximos al 50% de agrietamiento.

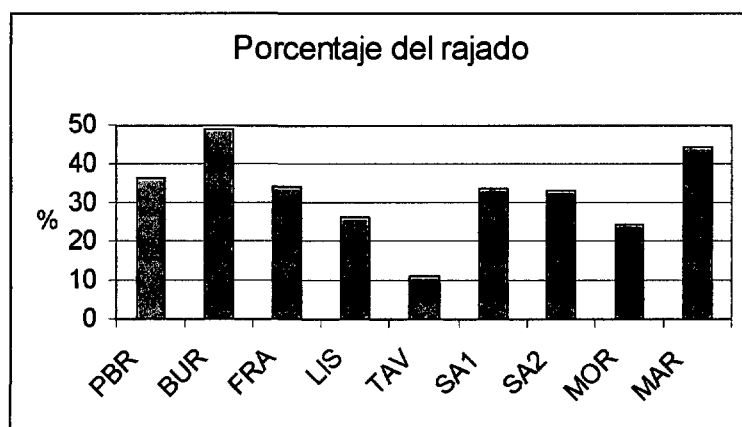


Fig. 29: Porcentaje del rajado en cerezos.

El peso del fruto, expresado en los valores del peso de 100 frutos, presenta oscilaciones no muy marcadas, entre valores algo menores de los 6 g por fruto, que es el caso de "Lisboeta" y valores algo superiores a los 7 g por fruto, lo que ocurre en "Maringa". Hay que tener en cuenta que en el caso de "Lisboeta" no se dispuso más que de los valores de un año, por lo que este resultado habría que tomarlo con ciertas restricciones. Las variedades extranjeras "Burlat", "Precoce Bernard", "Tardif de Vignole" y "Francesa de Alenquer" fueron junto con "Maringa" las de frutos de mayor peso.

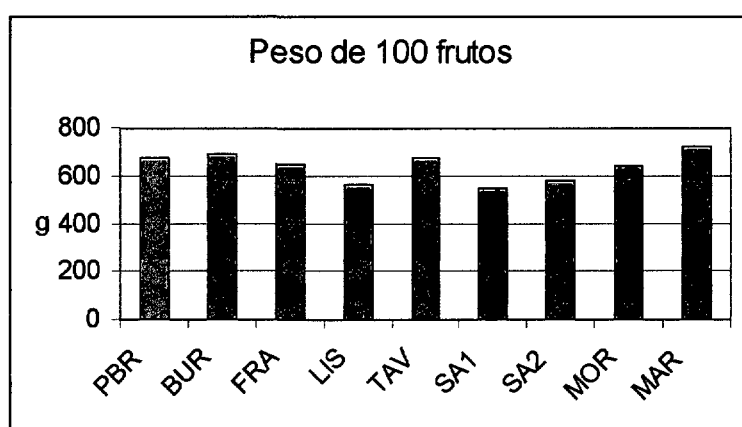


Fig. 30—Peso de 100 frutos de cerezo en gramos

El volumen del fruto muestra una cierta correlación, aunque no completa con el peso del fruto, lo que indica una cierta variabilidad en la densidad del fruto, en gran parte debido al mayor o menor porcentaje que representa el endocarpo en el

mismo. Las variedades con mayor volumen de fruto fueron "Maringa", "Tardif de Vignole" y "Burlat", mientras que las de menor volumen fue "Francesa de Alenquer".

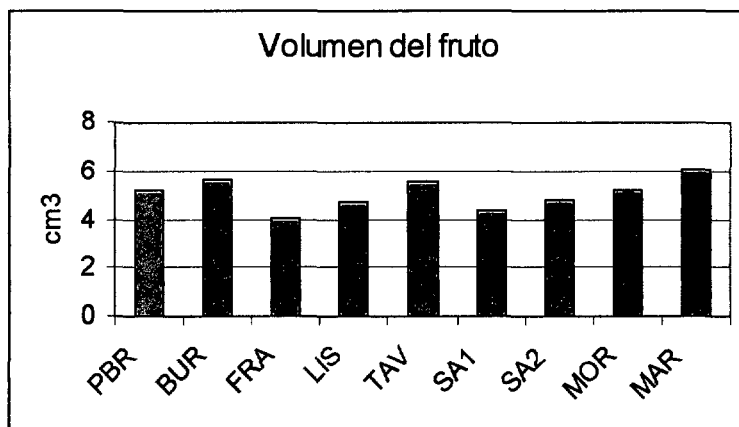


Fig.31: Volumen del fruto de cerezo.

En cuanto al volumen del endocarpo (hueso), "Tardif de Vignole" es la que alcanzó el valor más elevado, si bien tiene importancia en este parámetro también el valor relativo respecto al volumen total del fruto.

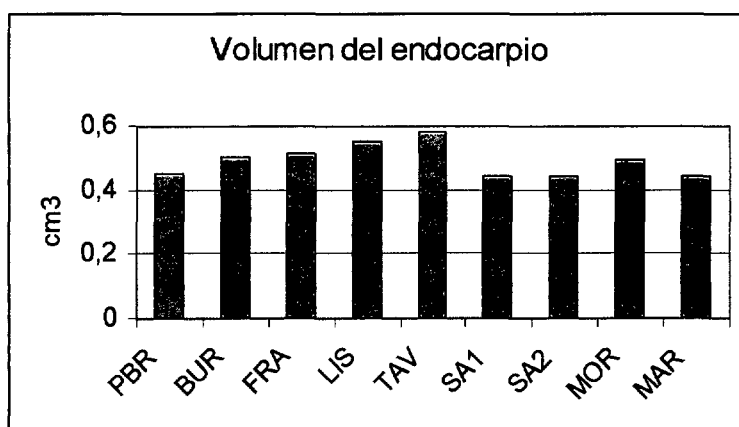


Fig.32: Volumen del endocarpio de cerezo.

La acidez total muestra la existencia de dos grupos de variedades claramente diferenciados: "Burlat" y "Precoce Bernard", con valores bajos de acidez, alrededor de los 5,2 g/l y el resto de variedades, con valores superiores a 7 g/l, alcanzando incluso valores por encima de 8,5 g/l en algunos casos.

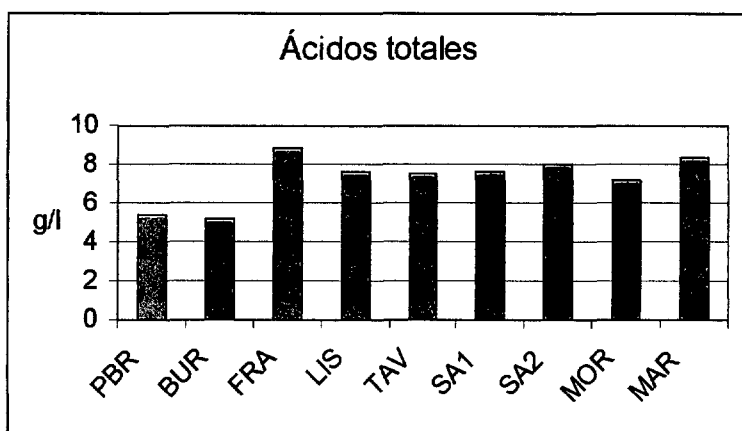


Fig. 33: Ácidos totales (gramos de ácido málico / litro de zumo).

Los azúcares totales por su parte, presentan un cierto paralelismo con la acidez. Nuevamente "Precoce Bernard" y "Burlat" son las que tienen contenidos más bajos en azúcares, destacando en el extremo opuesto las variedades portuguesas: las dos "Saco", "Morangao" y "Lisboeta" con contenidos de azúcares superiores a 23°Brix en todas ellas.

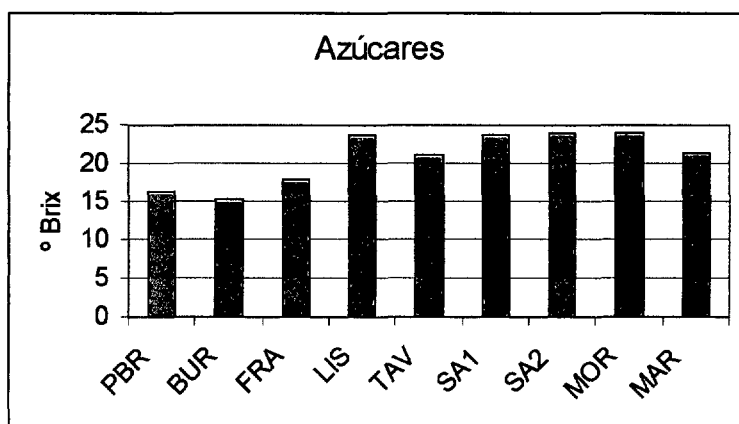


Fig. 34: Contenido de azúcares en variedades de cerezo.

Tabla 27: *Parámetros morfológicos en cerezo referentes a fruto en el año 1999.*
Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)*	Azúcares totales (° Brix)
Precoce Bernard	PRB	4,20	37,80	724,61	5,26	0,47	5,22	16,54
		(0,32)	(4,44)	(53,97)	(0,47)	(0,03)	(0,54)	(0,71)
Burlat	BUR	4,10	37,20	716,79	5,82	0,53	4,79	13,20
		(0,14)	(6,72)	(37,86)	(0,38)	(0,03)	(0,39)	(0,14)
Francesa de Alenquer	FRA	4,50	54,00	572,43	4,12	0,56	7,92	19,20
		(0,25)	(4,30)	(39,36)	(0,49)	(0,03)	(0,78)	(3,58)
Lisboeta	LIS	5,18	26,40	561,90	4,72	0,54	6,30	21,40
		(0,18)	(6,58)	(33,81)	(0,22)	(0,03)	(0,82)	(1,08)
Tardif de Vignole	TAV	4,05	2,20	600,00	4,85	0,60	6,82	19,20
		(0,33)	(2,49)	(48,48)	(0,54)	(0,03)	(0,59)	(0,67)
Saco 1	SA1	4,67	42,20	565,20	4,34	0,45	7,88	20,60
		(0,39)	(9,96)	(31,85)	(0,67)	(0,04)	(0,69)	(1,14)
Saco 2	SA2	4,90	2,40	648,00	4,90	0,54	6,74	20,60
		(0,28)	(0,55)	(55,86)	(0,50)	(0,03)	(0,65)	(0,73)
Morangão	MOR	4,97	29,80	728,80	5,37	0,53	6,36	21,80
		(0,39)	(15,48)	(56,47)	(0,71)	(0,03)	(0,68)	(0,27)
Maringa	MAR	3,17	40,60	894,54	6,66	0,50	6,19	21,10
		(0,15)	(9,13)	(48,55)	(0,54)	(0,05)	(0,49)	(0,65)

*gramos de ácido málico / litro de zumo

Tabla 28: Parámetros morfológicos en cerezo referente a fruto en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)**	Azúcares totales (° Brix)
Precoce Bernard	PRB	3,76	54,60	667,66	5,63	0,49	5,00	14,67
		(0,21)	(12,01)	(22,56)	(0,18)	(0,02)	(0,31)	(0,52)
Burlat	BUR	3,40	67,20	676,33	5,52	0,47	5,40	16,58
		(0,26)	(7,60)	(33,51)	(0,13)	(0,01)	(0,73)	(0,40)
Francesa de Alenquer	FRA	4,42	*	*	4,34	0,49	9,17	17,04
		(0,25)	*	*	(0,30)	(0,03)	(0,17)	(0,76)
Lisboeta	LIS	5,24	*	*	4,67	0,56	8,96	25,80
		(0,47)	*	*	(0,31)	(0,02)	(0,69)	(3,42)
Tardif de Vignole	TAV	3,98	*	*	5,55	0,55	8,55	25,30
		(0,11)	*	*	(0,16)	(0,02)	(0,56)	(1,40)
Saco 1	SA1	4,58	25,20	630,68	5,06	0,43	7,66	27,80
		(0,26)	(11,78)	(32,10)	(0,31)	(0,03)	(0,26)	(1,30)
Saco 2	SA2	4,28	63,80	579,17	5,21	0,43	9,55	25,30
		(0,11)	(6,98)	(29,59)	(0,16)	(0,01)	(0,55)	(1,40)
Morangão	MOR	4,72	18,40	582,67	5,41	0,45	8,01	29,20
		(0,35)	(4,16)	(14,54)	(0,35)	(0,04)	(0,60)	(0,84)
Maringa	MAR	3,35	69,60	632,21	5,62	0,41	9,68	26,40
		(0,16)	(8,79)	(22,68)	(0,21)	(0,02)	(0,64)	(0,55)

* sin datos

** gramos de ácido málico / litro de zumo

Tabla 29: Parámetros Morfológicos en cerezo referentes a fruto en el año 2001.
Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)**	Azúcares totales (° Brix)
Precoce Bernard	PRB	3,99	17,00	640,90	4,66	0,40	5,85	17,60
		(0,21)	(2,45)	(61,03)	(0,29)	(0,02)	(1,05)	(1,34)
Burlat	BUR	3,56	42,80	685,68	5,71	0,51	5,16	15,80
		(0,10)	(14,65)	(43,51)	(0,28)	(0,02)	(0,33)	(0,84)
Francesa de Alenquer	FRA	4,85	14,80	716,70	3,63	0,47	9,54	17,40
		(0,10)	(4,38)	(24,21)	(0,39)	(0,03)	(1,14)	(0,55)
Lisboeta	LIS	*	*	*	*	*	*	*
		*	*	*	*	*	*	*
Tardif de Vignole	TAV	4,37	19,60	746,56	6,37	0,59	7,06	19,00
		(0,31)	(5,68)	(35,72)	(0,33)	(0,02)	(0,36)	(0,71)
Saco 1	SA1	4,57	*	435,46	3,77	0,43	7,14	22,80
		(0,31)	*	(55,44)	(0,77)	(0,03)	(0,52)	(2,05)
Saco 2	SA2	4,85	*	503,98	4,27	0,36	7,82	25,80
		(0,37)	*	(18,60)	(0,40)	(0,02)	(0,51)	(2,05)
Morangão	MOR	5,11	*	605,80	4,97	0,49	6,96	21,20
		(0,20)	*	(30,54)	(0,51)	(0,03)	(0,23)	(0,84)
Maringa	MAR	3,31	22,00	654,65	5,92	0,41	9,14	16,60
		(0,10)	(6,58)	(38,23)	(0,52)	(0,03)	(0,56)	(0,55)

* sin datos

** gramos de ácido málico / litro de zumo

Tabla 30: Parámetros morfológicos medios de cerezos referentes a frutos en los años (99-00-01). Entre paréntesis, desviaciones típicas, σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)**	Azúcares totales (° Brix)
Precoce Bernard	PRB	3,98	36,47	677,72	5,18	0,45	5,36	16,27
		(0,22)	(18,84)	(42,75)	(0,49)	(0,05)	(0,44)	(1,48)
Burlat	BUR	3,69	49,07	692,93	5,68	0,50	5,12	15,19
		(0,37)	(15,95)	(21,18)	(0,15)	(0,03)	(0,31)	(1,77)
Francesa de Alenquer	FRA	4,59	34,40	644,57	4,03	0,51	8,88	17,88
		(0,23)	(27,72)	(102,01)	(0,36)	(0,05)	(0,85)	(1,16)
Lisboeta	LIS	5,21	26,40	561,90	4,70	0,55	7,63	23,6
		(0,04)	*	*	(0,04)	(0,01)	(1,33)	(2,2)
Tardif de Vignole	TAV	4,13	10,90	673,28	5,59	0,58	7,48	21,17
		(0,21)	(12,30)	(103,63)	(0,76)	(0,03)	(0,94)	(3,58)
Saco 1	SA1	4,61	33,70	543,78	4,39	0,44	7,56	23,73
		(0,06)	(12,02)	(99,36)	(0,65)	(0,01)	(0,38)	(3,69)
Saco 2	SA2	4,68	33,10	577,05	4,79	0,44	8,04	23,90
		(0,34)	(43,42)	(72,03)	(0,48)	(0,09)	(1,42)	(2,87)
Morangão	MOR	4,93	24,10	639,09	5,25	0,49	7,11	24,03
		(0,20)	(8,06)	(78,55)	(0,24)	(0,04)	(0,84)	(4,49)
Maringa	MAR	3,28	44,07	727,13	6,07	0,44	8,34	21,37
		(0,09)	(23,99)	(145,41)	(0,53)	(0,05)	(1,88)	(4,91)

* sin datos

** gramos de ácido málico / litro de zumo

4.3.2. Guindos

En las Tablas 31, 32, 33 y 34 se presentan los resultados correspondientes a la caracterización del fruto de las variedades de guindo estudiadas. En este caso tampoco se observan marcadas diferencias entre los distintos años estudiados.

A continuación comentamos los resultados correspondientes a cada uno de los parámetros estudiados.

La longitud del pedúnculo oscila entre valores próximos a los 3,5 cm y 4,5 cm. Los pedúnculos más largos corresponden a las tres "D'Obidos", y los más cortos a "Galega".

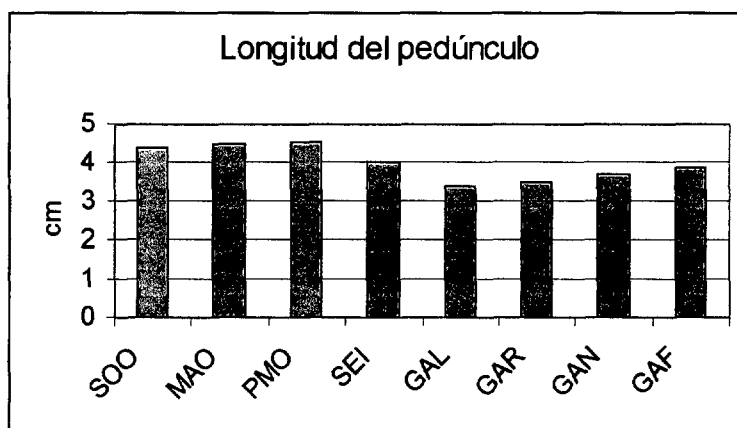


Fig. 35—Longitud media del pedúnculo del fruto de guindo (cm)

El porcentaje del rajado, en general, es bastante bajo en comparación con el caso de los cerezos. Solamente en las variedades "Garrafal" y "Garrafal Negra" se dan porcentajes superiores al 15%, mientras que en el resto de variedades no llega al 10%.

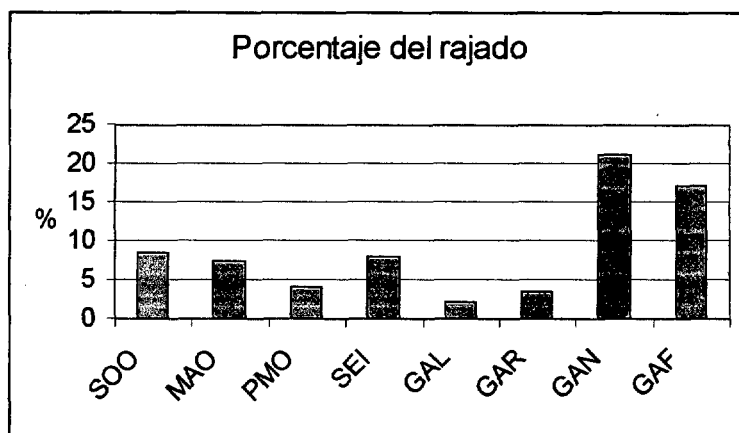


Fig. 36—Porcentaje del rajado en guindo

El peso medio de los frutos vuelve a marcar una diferencia entre "Garrafal" y "Garrafal Negra" por un lado, con frutos de más de 5 g de peso medio y el resto de variedades, que tienen frutos de 3 a 4 g de peso.

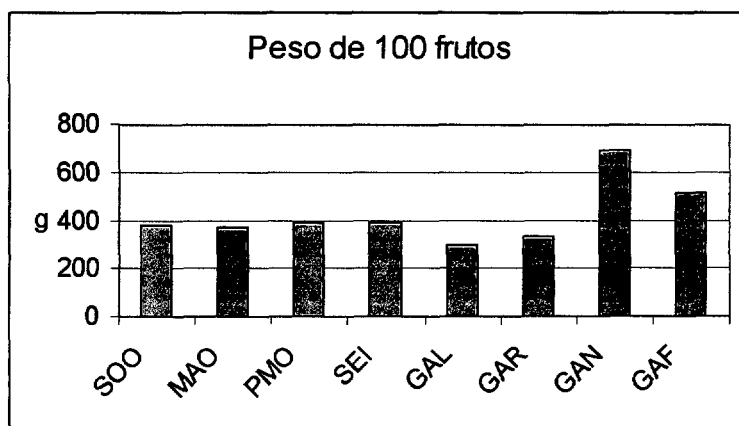


Fig. 37: Peso medio de 100 frutos de guindos (gramos).

El volumen del fruto, por su parte, tiene un comportamiento parecido al del peso, siendo nuevamente "Garrafal" y "Garrafal Negra" las dos variedades con mayor volumen distanciándose del resto de variedades estudiadas.

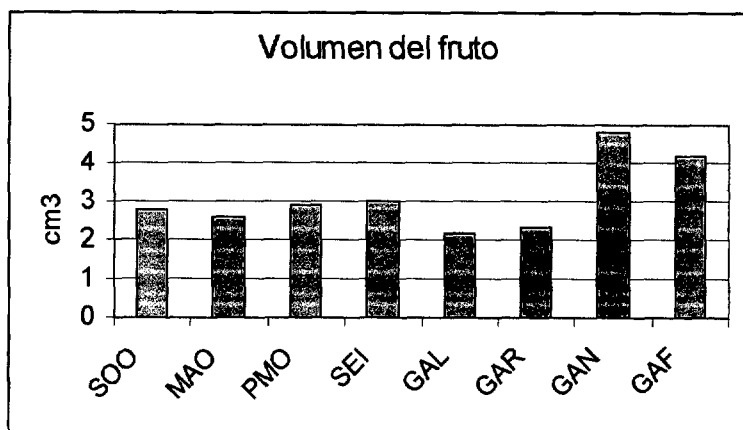


Fig. 38: Volumen del fruto de guindos (cm³).

El endocarpo del fruto sin embargo, tiene un comportamiento distinto que el peso y volumen. Las variedades con endocarpo de mayor volumen son, además de "Garrafal" y "Garrafal Negra", las tres "D'Obidos". Las de menor endocarpo, "Galega" y "Garrafal Rosa".

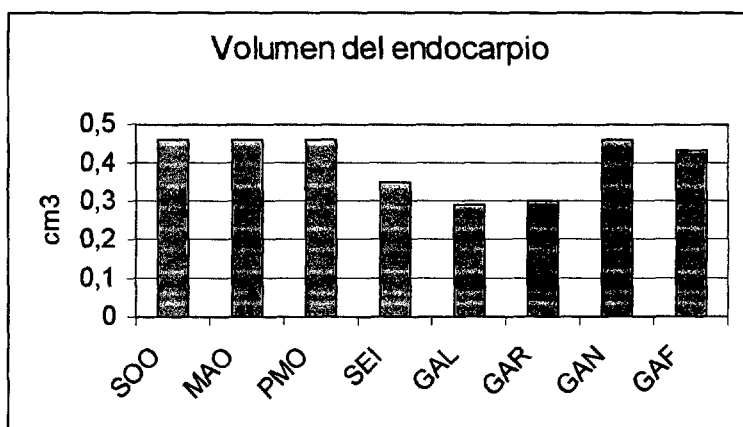


Fig. 39—volumen del endocarpio de guindos (cm³)

Los ácidos totales alcanzan los valores más altos, alrededor de 20 g/l en las Tres "D'Obidos" y los valores más bajos, inferiores a 10,0 g/l, en "Seixas", Garrafal" y "Garrafal Negra".

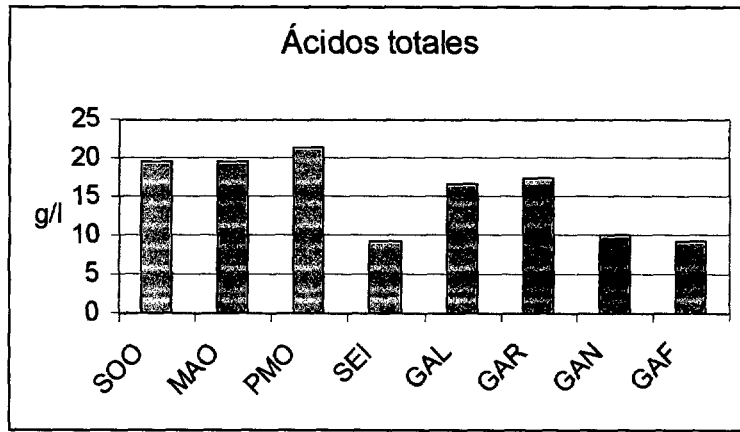


Fig. 40—Ácidos totales en guindo (gramos de ácido málico / litro de zumo)

Los azúcares, por su parte, presentan oscilaciones bastante menores que los ácidos. "Garrafal" es la de mayor contenido, y "Martinho D'Obidos" la de menor, oscilando entre 22,8 y 17,4 °Brix respectivamente.

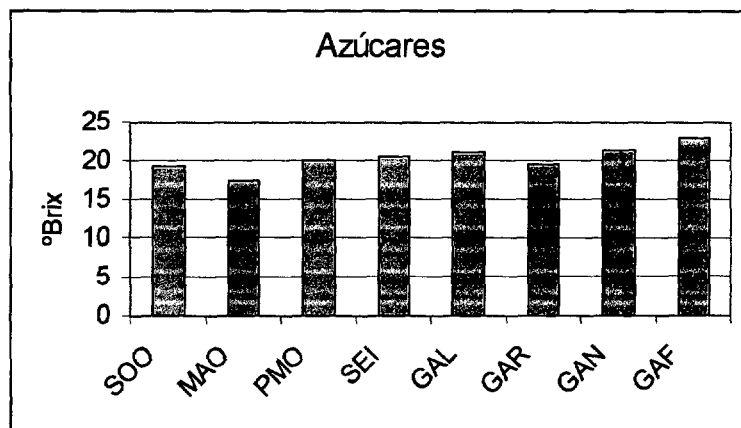


Fig. 41—Azúcares totales en guindo (° Brix)

Tabla 31: Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en el año 1999. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)*	Azúcares totales (° Brix)
Sobral D'Óbidos	SOO	4,62 (0,07)	19,20 (6,14)	488,40 (12,18)	3,29 (0,46)	0,53 (0,04)	17,51 (0,30)	19,10 (0,82)
Martinho D'Óbidos	MAO	4,68 (0,12)	18,20 (5,07)	476,40 (20,07)	2,97 (0,36)	0,52 (0,06)	17,16 (0,25)	17,70 (0,84)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	5,07 (0,20)	7,80 (6,46)	496,00 (8,94)	3,09 (0,09)	0,53 (0,02)	16,06 (0,61)	17,60 (0,55)
Seixas	SEI	3,97 (0,39)	7,80 (7,40)	490,20 (19,84)	3,69 (0,20)	0,40 (0,01)	9,55 (0,69)	18,94 (1,38)
Galega	GAL	3,40 (0,30)	0,00 (0,00)	353,40 (22,94)	2,42 (0,23)	0,31 (0,01)	15,84 (0,51)	19,70 (0,67)
Garrafal Rosa	GAR	3,82 (0,27)	3,40 (2,41)	420,20 (49,39)	2,72 (0,42)	0,35 (0,02)	18,10 (0,82)	18,10 (0,82)
Garrafal Negra	GAN	3,71 (0,26)	21,00 (7,21)	784,40 (33,57)	5,36 (0,24)	0,53 (0,03)	9,01 (0,31)	18,80 (1,15)
Garrafal	GAF	4,25 (0,16)	17,00 (2,12)	620,80 (36,16)	4,60 (0,38)	0,48 (0,04)	7,74 (0,32)	21,10 (0,55)

* gramos de ácido málico / litro de zumo

Tabla 32: Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en el año 2000. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)*	Azúcares totales (° Brix)
Sobral D'Óbidos	SOO	4,18 (0,35)	3,00 (3,08)	358,11 (16,15)	2,68 (0,20)	0,47 (0,04)	19,42 (1,18)	20,40 (1,14)
Martinho D'Óbidos	MAO	4,20 (0,25)	2,20 (1,48)	336,28 (15,96)	2,46 (0,17)	0,49 (0,03)	19,50 (0,60)	18,00 (1,41)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	4,19 (0,24)	2,40 (1,14)	348,14 (13,24)	2,81 (0,19)	0,45 (0,03)	21,58 (0,47)	19,00 (1,22)
Seixas	SEI	3,77 (0,28)	* *	* *	3,21 (0,19)	0,35 (0,03)	10,86 (0,48)	23,40 (0,89)
Galega	GAL	3,22 (0,19)	4,00 (4,64)	310,36 (13,07)	2,45 (0,11)	0,32 (0,02)	17,12 (1,08)	23,20 (1,30)
Garrafal Rosa	GAR	3,38 (0,17)	* *	* *	2,57 (0,26)	0,33 (0,02)	17,90 (0,99)	22,00 (0,00)
Garrafal Negra	GAN	3,40 (0,17)	* *	* *	4,09 (0,30)	0,39 (0,03)	11,24 (0,85)	23,00 (0,00)
Garrafal	GAF	3,19 (0,09)	* *	* *	5,01 (0,31)	0,44 (0,02)	10,44 (0,74)	23,60 (0,55)

* sin datos

** gramos de ácido málico / litro de zumo

Tabla 33: Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en el año 2001. Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)*	Azúcares totales (° Brix)
Sobral D'Óbidos	SOO	4,27 (0,55)	2,80 (2,17)	289,00 (8,94)	2,34 (0,15)	0,37 (0,02)	21,86 (1,19)	18,40 (0,55)
Martinho D'Óbidos	MAO	4,50 (0,35)	2,00 (2,55)	293,00 (27,97)	2,24 (0,30)	0,36 (0,04)	21,48 (0,98)	16,60 (0,55)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	4,34 (0,10)	2,00 (1,41)	309,50 (0,71)	2,74 (0,04)	0,41 (0,01)	26,25 (0,35)	23,50 (4,95)
Seixas	SEI	4,33 (0,29)	* *	281,50 (13,11)	2,17 (0,17)	0,29 (0,03)	7,40 (0,70)	19,60 (0,55)
Galega	GAL	3,44 (0,09)	* *	225,02 (28,74)	1,58 (0,20)	0,24 (0,03)	16,74 (1,11)	20,20 (0,45)
Garrafal Rosa	GAR	3,25 (0,43)	* *	234,78 (32,72)	1,58 (0,12)	0,23 (0,01)	16,22 (1,27)	18,40 (0,89)
Garrafal Negra	GAN	3,92 (0,24)	* *	596,42 (30,81)	4,85 (0,49)	0,46 (0,05)	9,58 (0,27)	21,80 (1,79)
Garrafal	GAF	4,11 (0,29)	* *	401,10 (15,20)	2,94 (0,40)	0,37 (0,03)	9,40 (0,23)	23,80 (5,67)

* sin datos

** gramos de ácido málico / litro de zumo

Tabla 34: Parámetros morfológicos medios de guindos referentes a frutos en los años (99-00-01). Entre paréntesis, desviaciones típicas σ .

Variedades	Abrev.	Longitud pedúnculo (cm)	% rajado	Peso (g) 100 frutos	Volumen fruto (cm ³)	Volumen endocarpio (cm ³)	Acidez total (g/l)*	Azúcares totales (° Brix)
Sobral D'Óbidos	SOO	4,36 (0,23)	8,33 (9,41)	378,50 (101,25)	2,77 (0,48)	0,46 (0,08)	19,60 (2,18)	19,30 (1,01)
Martinho D'Óbidos	MAO	4,46 (0,24)	7,47 (9,30)	368,56 (95,87)	2,56 (0,37)	0,46 (0,09)	19,38 (2,16)	17,43 (0,74)
Pedro Miguel D'Óbidos	PMO	4,53 (0,47)	4,07 (3,24)	384,55 (98,44)	2,88 (0,19)	0,46 (0,06)	21,30 (5,10)	20,03 (3,08)
Seixas	SEI	4,02 (0,28)	7,80 *	385,85 (147,57)	3,02 (0,78)	0,35 (0,06)	9,27 (1,75)	20,65 (2,41)
Galega	GAL	3,35 (0,12)	2,00 (2,83)	296,26 (65,34)	2,15 (0,49)	0,29 (0,04)	16,57 (0,66)	21,03 (1,89)
Garrafal Rosa	GAR	3,48 (0,30)	3,40 *	327,49 (131,11)	2,29 (0,62)	0,30 (0,06)	17,41 (1,03)	19,50 (2,17)
Garrafal Negra	GAN	3,68 (0,26)	21,00 *	690,41 (132,92)	4,77 (0,64)	0,46 (0,07)	9,94 (1,16)	21,20 (2,16)
Garrafal	GAF	3,85 (0,58)	17,00 *	510,95 (155,35)	4,18 (1,10)	0,43 (0,06)	9,19 (1,36)	22,83 (1,50)

* sin datos

** gramos de ácido málico / litro de zumo

4.4. Dendrograma basado en caracteres cuantitativos

En la figura 42 se muestra el dendrograma basado en el método "neighbor-joining" (Rohlf, 1990) obtenido a partir de los caracteres cuantitativos de flor, hoja y fruto.

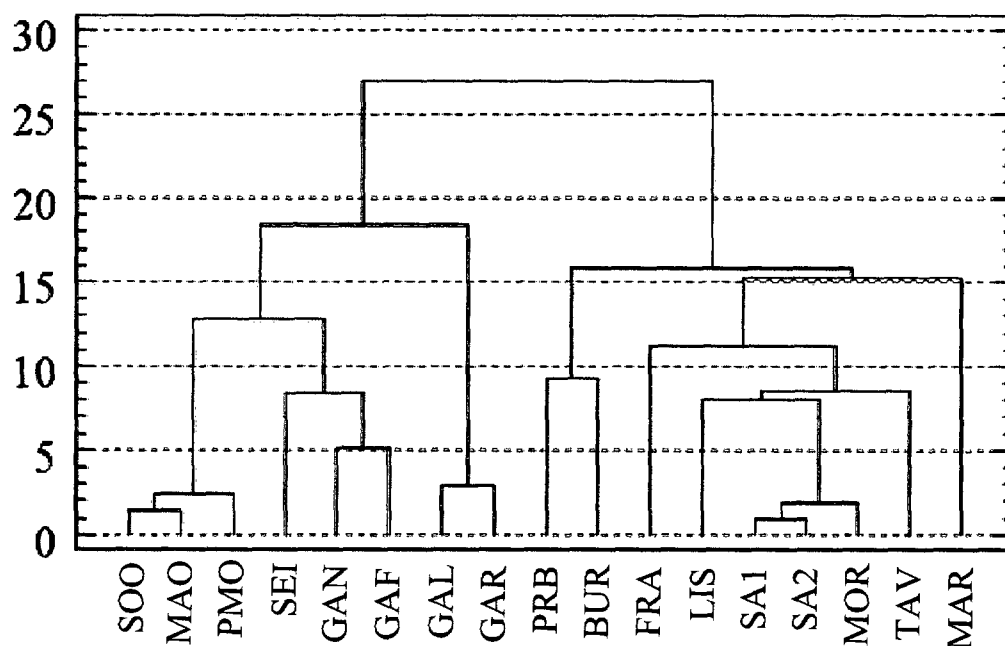


Fig. 42: Dendrograma de cerezos y guindos basado en los caracteres cuantitativos (ver Tablas anteriores para abreviaturas).

En dicho dendrograma podemos observar que a una distancia filogenética de 27 se separan las variedades de cerezo y guindo.

Los guindos por su parte se separan a una distancia de 18 con la formación de dos grupos. El grupo de la "Galega" y "Garrafal Rosa" por un lado y las restantes por otro. Esas dos variedades se pueden considerar muy similares ya que se distinguen con una distancia filogenética de 3. De las restantes, podemos referirnos a las "Óbidos", que forman un grupo aparte, ya que la distancia que las separa es muy pequeña. "Garrafal" y "Garrafal Negra" presentan una cierta similitud y en conjunto una similitud algo menor con la "Seixas".

En los cerezos podemos observar que "Saco 1", "Saco 2" y "Morangão" forman un grupo bastante homogéneo con distancias filogenéticas pequeñas a separarlas. Tienen una cierta similitud con "Lisboeta" y algo menor con "Tardif de Vignole".

“Maringa” se distancia bastante del resto y lo mismo ocurre con “Precoce Bernard” y “Burlat”, algo similares entre sí.

4.5. Características cualitativas del fruto

4.5.1. Cerezo

En la tabla 35 se muestran las características referentes al fruto de las variedades de cereza estudiadas en lo que respecta a los parámetros que figuran en dicha tabla.

Tabla 35: Características cualitativas del fruto del cerezo.

Variedades	Color del fruto	Color de la pulpa	Forma Del fruto	Decoloraciones puntuales
Precoce Bernard	Púrpura	Púrpura	Reniforme	Pocas y grandes
Burlat	Púrpura	Púrpura	Aplastado	Pocas y grandes
Francesa de Alenquer	Púrpura	Púrpura	Acorazonada	Ningunas
Lisboeta	Púrpura	Púrpura	Alargada	Ningunas
Tardif de Vignole	Púrpura	Púrpura	Aplastada	Ningunas
Saco 1	Rojo	Blanco crema	Aplastada	Pocas y grandes
Saco 2	Púrpura	Púrpura	Redondeada	Pocas y grandes
Morangão	Rojo	Blanco crema	Reniforme	Pocas y grandes
Maringa	Púrpura	Púrpura	Reniforme	Ningunas

Variedades	Firmeza	Prueba organoléptica
Precoce Bernard	Intermedia leve	8
Burlat	Intermedia	8
Francesa de Alenquer	Intermedia leve	7
Lisboeta	Intermedia	7
Tardif de Vignole	Intermedia	7
Saco 1	Firme	7
Saco 2	Firme	8
Morangão	Firme	8
Maringa	Intermedia firme	7

El fruto es de color púrpura excepto en "Saco 1" y en "Morangao", que son rojos. En lo que respecta al color de la pulpa, es blanco-crema en los dos variedades anteriores y púrpura en todos los demás casos.

Las diferentes formas están plasmadas en la tabla 35. “Precoce Bernard”, “Morangão” y “Maringa” tienen forma arrañada. “Francesa de Alenquer” es acorazonada y “Saco 2” redondeada. “Burlat”, “Tardif de Vignole” y “Saco 1” presentan forma aplastada y “Lisboeta” alargada.

“Precoce Bernard”, “Burlat”, “Saco 1”, “Saco 2” y “Morangão” tienen pocas decoloraciones, de gran tamaño. “Francesa de Alenquer”, “Lisboeta”, “Tardif de Vignole” y “Maringa” no tienen decoloraciones puntuales, manteniendo una coloración uniforme

La firmeza del fruto se ha establecido por la presión con los dedos. “Saco 1”, “Saco 2” y “Morangão” tienen una consistencia firme y Maringa intermedia firme; “Burlat”, “Lisboeta” y “Tardif de Vignole” tienen una firmeza intermedia, mientras que “Precoce Bernard” y “Francesa de Alenquer” presentan una consistencia intermedia leve.

La determinación de la prueba organoléptica se ha hecho de acuerdo a lo establecido en Materiales y Métodos y las cerezas en estudio fueron de buena aceptación para los catadores con niveles de 7 y 8 que corresponden a valoración buena y buena - muy buena.

4.5.2. Guindo

En la tabla 36 se muestran las características referentes al fruto de las variedades de guindo estudiadas en lo que respecta a los parámetros que figuran en dicha tabla.

Tabla 36: Características cualitativas de guindo.

Variedades	Color del Fruto	Color de la pulpa	Forma Del fruto	Decoloraciones puntuales
Sobral D'Óbidos	Rojo	Rojo	Aplastada	Ninguna
Martinho D'Óbidos	Rojo	Rojo	Aplastada	Ninguna
Pedro Miguel D'Óbidos	Rojo	Rojo	Aplastada	Ninguna
Seixas	Púrpura	Púrpura	Aplastada	Ninguna
Galega	Rojo	Rojo	Aplastada	Ninguna
Garrafal rosa	Rojo	Rojo	Aplastada	Ninguna
Garrafal negra	Púrpura	Púrpura	Acorazonada	Pequeños p. Negros
Garrafal	Rojo anaranj.	Blanco crema	Aplastada	Pocas y grandes

Variedades	Hojas en pedúnculo	Firmeza	Prueba organoléptica
Sobral D'Óbidos	Presente	Leve	2
Martinho D'Óbidos	Presente	Leve	2
Pedro Miguel D'Óbidos	Presente	Leve	2
Seixas	Ausente	Leve	3
Galega	Ausente	Leve	1
Garrafal rosa	Ausente	Leve	3
Garrafal negra	Ausente	Leve	4
Garrafal	Ausente	Leve	7

El fruto es de color rojo, excepto “Seixas” y “Garrafal Negra” que son púrpuras y “Garrafal” que tiene color rojo anaranjado. Estas valoraciones se corresponden con la pulpa con excepción de “Garrafal” que es blanco crema.

La forma del fruto es aplastada en todas las variedades estudiadas excepto en “Garrafal Negra” que es acorazonada.

De las variedades estudiadas, solamente presentaron decoloraciones en la epidermis la “Garrafal “ y la “Garrafal Negra”. Esta presenta unos pequeños puntos negros que parecen ser característicos de la variedad ya que se observaron todos los años. Atribuimos su presencia a desequilibrios nutritivos, pero carece de confirmación esta afirmación. “Garrafal” presenta pocas decoloraciones y de gran tamaño.

Las tres variedades D'Óbidos son las únicas que presentaron hojas en el pedúnculo, lo que resulta útil para la caracterización y diferenciación de guindos.

En la firmeza del fruto se ha procedido de modo igual a cerezos. Todas las variedades de guindo estudiadas presentan una firmeza leve.

La determinación de la prueba organoléptica se ha hecho de acuerdo a lo establecido en Material y Métodos y los guindos no fueron de buena aceptación para los catadores, basados en las mismas valoraciones que en cerezos. “Garrafal” es la excepción, con valoración buena (7).

4.6. Características del árbol

4.6.1. Cerezo

En la tabla 37 se resumen los resultados de las características de las variedades de cerezo estudiadas.

Tabla 37: Características de los árboles de cerezo.

Variedades	Vigor	Porte	Compatibilidad (IPGRI)
Precoce Bernard	93	Medio	Buena
Burlat	100	Erecto	Buena
Francesa de Alenquer	52	Erecto	Media
Lisboeta	46	Erecto	Media
Tardif de Vignole	68	Erecto	Buena
Saco 1	60	Erecto	Media
Saco 2	52	Caedizo	Buena
Morangão	53	Erecto	Buena
Maringa	80	Medio	Buena

Las variedades de cerezo se pueden dividir en vigorosas, “Precoce Bernard” y “Burlat”, de vigor medio-alto, “Maringa”, medianamente vigorosas, “Tardif de Vignole” y “Saco 1”. “Francesa de Alenquer”, “Lisboeta”, “Saco 2” y “Morangão” son variedades débiles.

El porte fue determinado de acuerdo con lo descrito en Material y Métodos. “Precoce Bernard” y “Maringa” tienen porte medio. “Burlat”, “Francesa de Alenquer”, “Lisboeta”, “Tardif de Vignole”, “Saco 1” y “Morangão” tienen porte erecto. “Saco 2” de acuerdo con la información disponible, presenta porte caedizo.

La compatibilidad con el patrón Colt es media en “Francesa de Alenquer”, “Lisboeta” y “Saco 1” y buena en el resto de variedades.

4.6.2. Guindo

En la tabla 38 se resumen los resultados de las características de las variedades de guindo estudiadas.

Tabla 38: Características de los árboles de guindo.

Variedades	Vigor	Porte	Compatibilidad (IPGRI)
Sobral D’Óbidos	83	Caedizo	Buena
Martinho D’Óbidos	87	Caedizo	Buena
Pedro Miguel D’Óbidos	98	Caedizo	Buena
Seixas	90	Erecto	Media
Galega	78	Medio	Mala
Garrafal rosa	68	Medio	Mala
Garrafal negra	85	Erecto	Mala
Garrafal	100	Erecto	Mala

Como variedades vigorosas en relación a “Garrafal” están referidas las tres “D’Óbidos”, “Seixas” y “Garrafal Negra”. “Galega” y “Garrafal Rosa” tienen un vigor ligeramente inferior a estas.

El porte, determinado del mismo modo que en los cerezos, esto es, la determinación del ángulo del árbol con la vertical constatamos que las “D’Óbidos” tienen un porte caedizo. “Seixas”, “Garrafal Negra” y “Garrafal” tienen porte erecto. “Galega” y la “Garrafal Rosa” son árboles con porte medio.

Las “D’Óbidos” presentan una buena compatibilidad con el patrón Colt. “Seixas” tiene compatibilidad media y las restantes variedades presentan una compatibilidad mala con este patrón.

4.7. Fenología

4.7.1. Cerezo

Los resultados de la evaluación de la fenología de los cerezos correspondientes a los tres años evaluados, se resumen en las tablas 39, 40 y 41 así como en las figuras 43, 44 y 45.

Tabla 39: Estados fenológicos de cerezos en 1999. (- sin datos).

Variedad	Inicio Floración	Plena Floración	Cuajado	Maduración
Precoce Bernard	25 MAR	4 ABR	6 ABR	29 MAY
Burlat	26 MAR	6 ABR	8 ABR	3 JUN
Francesa de Alenquer	31 MAR	7 ABR	11 ABR	10 JUN
Lisboeta	31 MAR	7 ABR	11 ABR	13 JUN
Tardif de Vignole	5 ABR	11 ABR	-	21 JUN
Saco 1	5 ABR	11 ABR	-	25 JUN
Saco 2	5 ABR	11 ABR	-	20 JUN
Morangão	5 ABR	11 ABR	-	24 JUN
Maringa	3 ABR	7 ABR	-	18 JUN

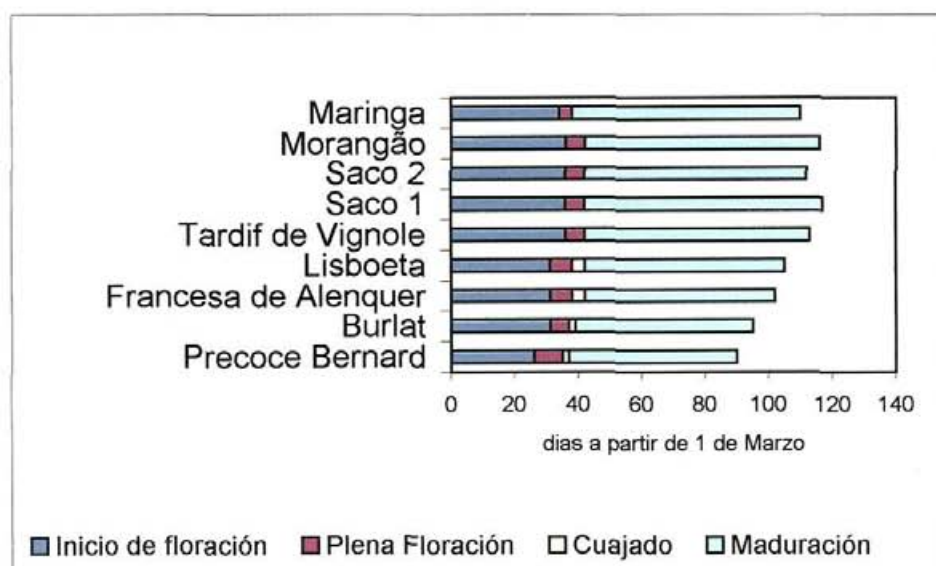


Fig.43: Fenología de variedades de cerezo en el año 1999.

Como puede observarse, el inicio de floración de los cerezos se da entre marzo y abril. En los años 1999 y 2001 se dio la floración prácticamente en las mismas fechas, mientras que en el año 2000 se adelantó unos 20 días, quedando las fechas de cada variedad, en términos relativos, muy similar. El período de floración entre las variedades más tempranas y las más tardías era de unos 10 días.

La plena floración tuvo un comportamiento muy similar al inicio, con un desplazamiento de aproximadamente una semana.

El cuajado se dió en todos los casos ente 3 y 5 días después de la plena floración.

La maduración, aun cuando había diferencias por años en el inicio de floración, se dió en los 3 años en fechas muy similares. "Burlat" y "Precoce Bernard" son las variedades más precoces, madurando en los 3 ó 4 primeros días de junio, mientras que "Saco 1", "Saco 2", "Morangão" y "Tardif de Vignole" fueron las más tardías, con maduración en la última década de junio, y todas ellas antes que los guindos.

Tabla 40: Estados fenológicos de cerezos en 2000.

Variedad	Inicio Floración	Plena Floración	Cuajado	Maduración
Precoce Bernard	4 MAR	10 MAR	15 MAR	29 MAY
Burlat	5 MAR	11 MAR	16 MAR	31 MAY
Francesa de Alenquer	10 MAR	17 MAR	20 MAR	11 JUN
Lisboeta	10 MAR	17 MAR	20 MAR	14 JUN
Tardif de Vignole	13 ABR	24 MAR	28 MAR	20 JUN
Saco 1	13 ABR	24 MAR	28 MAR	25 JUN
Saco 2	15 ABR	20 MAR	28 MAR	22 JUN
Morangão	10 ABR	17 MAR	22 MAR	25 JUN
Maringa	10 ABR	17 MAR	20 MAR	19 JUN

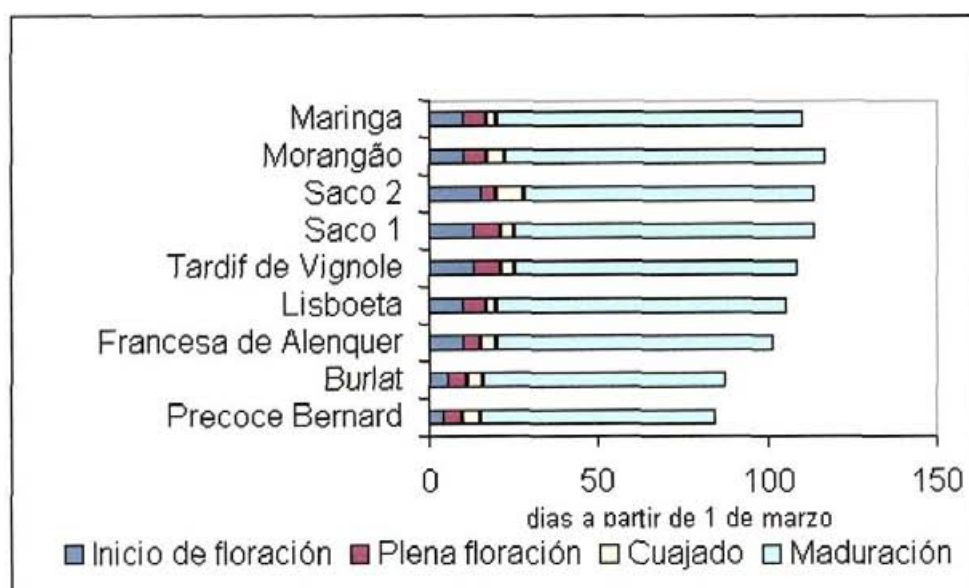


Fig.44: Fenología de variedades de cerezo en el año 2000.

Comparando la fenología de los tres años con las características climáticas recogidas en Material y Métodos, que presentaron marcadas diferencias, sobre todo en la pluviometría, no se aprecia una clara correlación entre ambos.

Tabla 41: Estados fenológicos de cerezos en 2001. (- sin datos).

Variedad	Inicio Floración	Plena Floración	Cuajado	Maduración
Precoce Bernard	23 MAR	3 ABR	-	1 JUN
Burlat	24 MAR	6 ABR	-	2 JUN
Francesca de Alenquer	30 MAR	6 ABR	-	13 JUN
Lisboeta	26 MAR	30 MAR	-	14 JUN
Tardif de Vignole	9 ABR	-	-	22 JUN
Saco 1	3 ABR	11 ABR	-	30 JUN
Saco 2	3 ABR	11 ABR	-	25 JUN
Morangão	4 ABR	8 ABR	-	29 JUN
Maringa	30 MAR	3 ABR	-	20 JUN

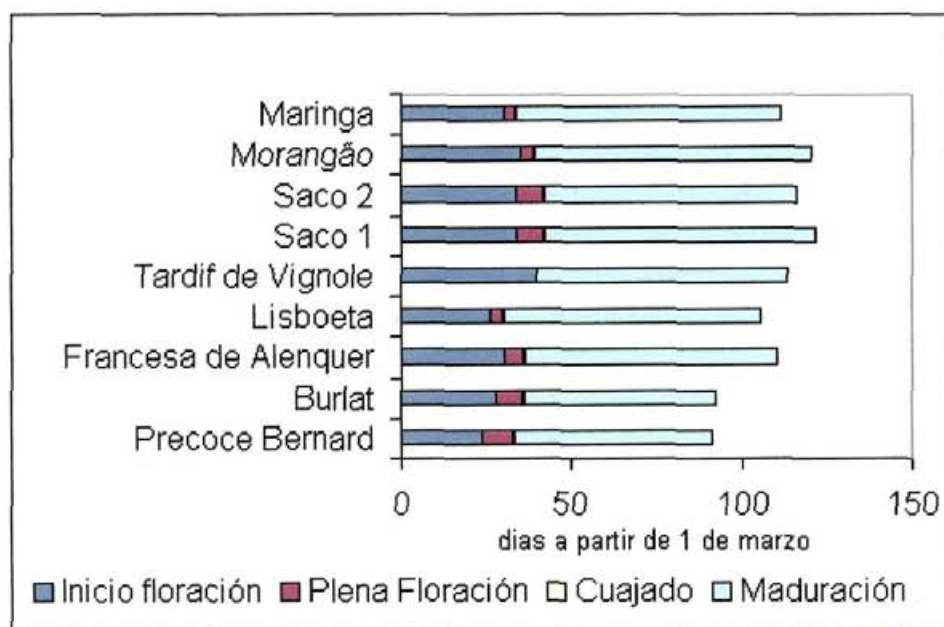


Fig.45: Fenología de variedades de cerezo en el año 2001.

4.7.2. Guindo

Los resultados de la evaluación de la fenología de los guindos correspondientes a los tres años evaluados, se resumen en las tablas 42, 43 y 44 así como en las figuras 46, 47 y 48.

Tabla 42: Estados fenológicos de guindos en 1999.

Variedad	Inicio Floración	Plena Floración	Cuajado	Maduración
Sobral D'Obidos	4 ABR	6 ABR	11 ABR	29 JUN
Martinho D'Obidos	4 ABR	6 ABR	11 ABR	29 JUN
Pedro Miguel D'Obidos	4 ABR	6 ABR	11 ABR	29 JUN
Seixas	4 ABR	5 ABR	9 ABR	24 JUN
Galega	7 ABR	9 ABR	13 ABR	28 JUN
Garrafal Rosa	7 ABR	9 ABR	13 ABR	28 JUN
Garrafal Negra	8 ABR	11 ABR	13 ABR	30 JUN
Garrafal	9 ABR	11 ABR	13 ABR	30 JUN

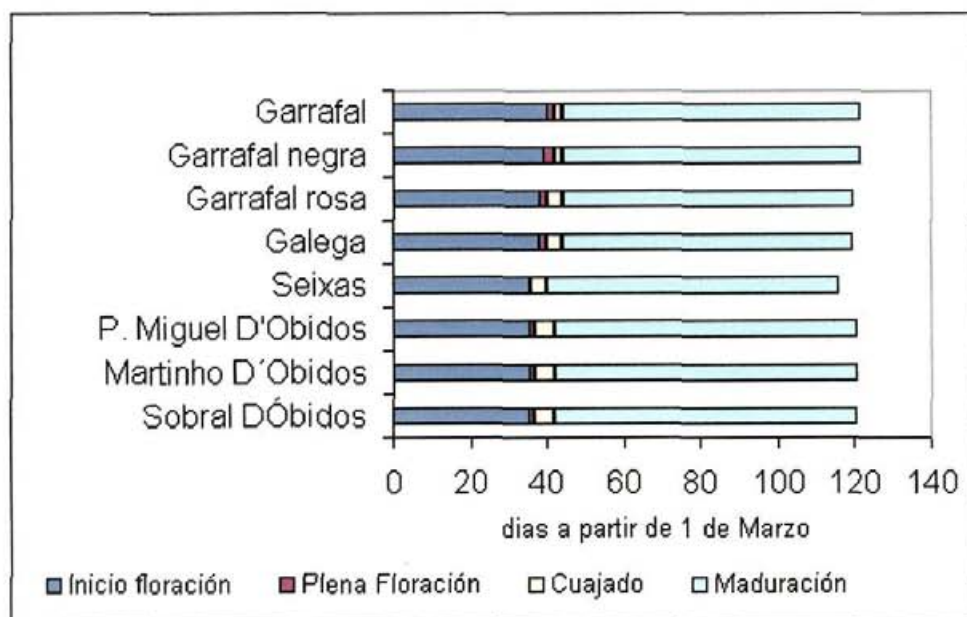


Fig. 46: Fenología de variedades de guindo en el año 1999.

Los guindos iniciaron la floración en la primera decena de abril en los años 1999 y 2001 y en la segunda decena de marzo, es decir unos 20 días antes, en el año 2000, manteniéndose los datos relativos para las distintas variedades.

La plena floración se alcanzó hacia el 10 de abril en los años 1999 y 2001, y unos 20 días antes en el año 2000.

La amplitud del período de floración para las variedades estudiadas fue de aproximadamente 5 a 7 días en los distintos años.

El cuajado se produjo aproximadamente una semana después de la plena floración.

Tabla 43: Estados fenológicos de guindos en 2000.

Variedad	Inicio Floración	Plena Floración	Cuajado	Maduración
Sobral D'Obidos	13 MAR	20 MAR	28 MAR	28 JUN
Martinho D'Obidos	13 MAR	20 MAR	28 MAR	28 JUN
Pedro Miguel D'Obidos	13 MAR	20 MAR	28 MAR	29 JUN
Seixas	10 MAR	17 MAR	22 MAR	25 JUN
Galega	17 MAR	28 MAR	10 ABR	26 JUN
Garrafal Rosa	17 MAR	28 MAR	10 ABR	26 JUN
Garrafal Negra	17 MAR	29 MAR	10 ABR	27 JUN
Garrafal	15 MAR	28 MAR	10 ABR	29 JUN

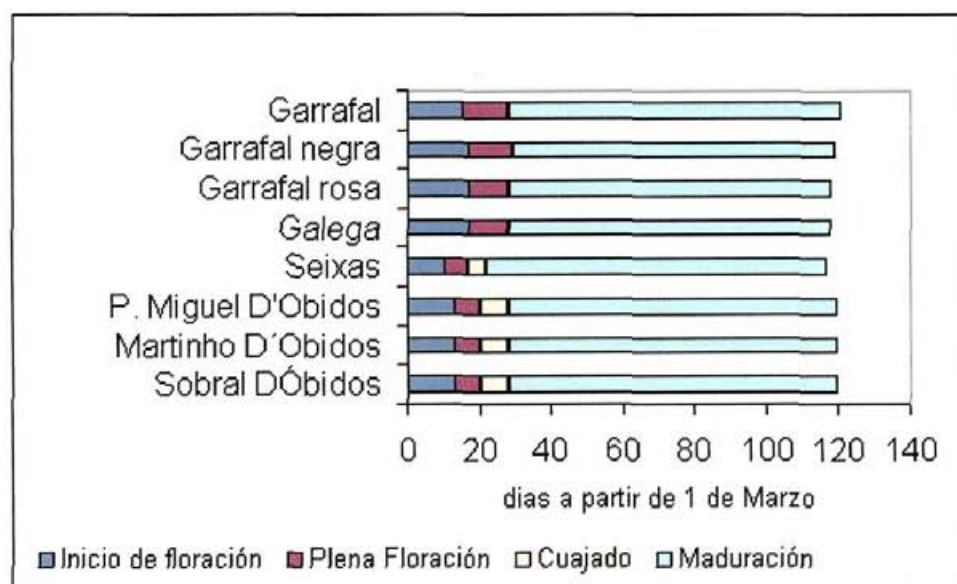


Fig.47: Fenología de variedades de guindo en el año 2000.

La maduración se dió en los tres años en la última semana de junio o primeros días de julio, con un desplazamiento máximo para las variedades estudiadas de unos 5 días.

Las tres variedades "D'Obidos" tuvieron el mismo comportamiento fenológico; lo mismo ocurrió con "Galega" y "Garrafal Rosa".

Todas las variedades de guindo alcanzaron la maduración inmediatamente después de los cerezos tardíos estudiados.

Tabla 44: Estados fenológicos de guindos en 2001. (- sin datos).

Variedad	Inicio Floración	Plena Floración	Cuajado	Maduración
Sobral D'Obidos	1 ABR	11 ABR	-	5 JUL
Martinho D'Obidos	1 ABR	11 ABR	-	5 JUL
Pedro Miguel D'Obidos	1 ABR	11 ABR	-	5 JUL
Seixas	1 ABR	9 ABR	-	29 JUN
Galega	6 ABR	11 ABR	-	29 JUN
Garrafal Rosa	6 ABR	11 ABR	-	29 JUN
Garrafal Negra	10 ABR	16 ABR	-	29 JUN
Garrafal	4 ABR	11 ABR	-	29 JUN

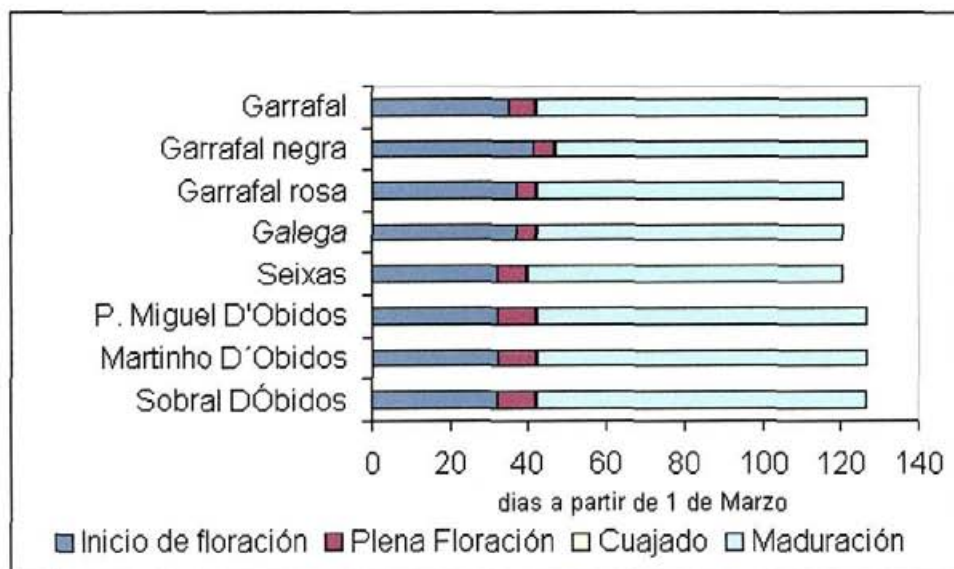


Fig.48: Fenología de variedades de guindo en el año 2001.

De modo análogo al caso del cerezo, no se aprecian claras correlaciones entre las observaciones fenológicas realizadas y los datos de temperatura y pluviometría recogidos en la sección de Material y Métodos.

4.8. Caracterización isoenzimática

Se han analizado los 5 sistemas isoenzimáticos ya indicados: Isocitrato deshidrogenasa (IDH), Fosfoglucosa isomerasa (PGI), Shikimato deshidrogenasa (SKDH), Fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) y Fosfoglucomutasa (PGM).

Los resultados para los distintos sistemas isoenzimáticos han sido los siguientes:

4.8.1. Isocitrato deshidrogenasa (IDH)

En este sistema enzimático hemos encontrado cuatro tipos de zimogramas diferentes que hemos denominado A, B, C, y D, y que reflejamos en la figura 49.

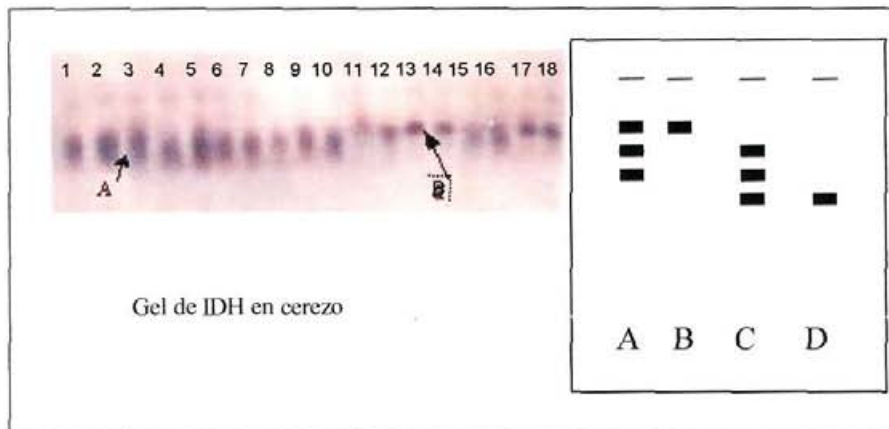


Fig.49: Zimogramas para IDH en cerezo y guindo

Gel de cerezos: Carriles 1 y 2 "Precoce Bernard"; 3 y 4 "Burlat"; 5 y 6 "Francesa de Alenquer"; 7 y 8 "Lisboeta"; 9 y 10 "Tardif de Vignole"; 11 y 12 "Saco 1"; 13 y 14 "Saco 2"; 15 y 16 "Morangão"; 17 y 18 "Maringa".

Gel de guindos: carril R referencia ("Precoce Bernard"); 1 y 2 "Sobral D'Obidos"; 3 y 4 "Martinho D'Obidos"; 5 y 6 "Pedro Miguel D'Obidos", 7 y 8 "Seixas"; 9 y 10 "Galega"; 11 y 12 "Garrafal Rosa"; 13 y 14 "Garrafal Negra"; 15 y 16 "Garrafal".

4.8.2. Fosfoglucoisomerasa (PGI)

En este sistema enzimático y después de una análisis cuidadoso se han encontrado cinco tipos de zimogramas diferentes, cuyos patrones de bandas se reflejan en la figura 50 y a los que se les han asignado las letras A, B, C, D, y E.

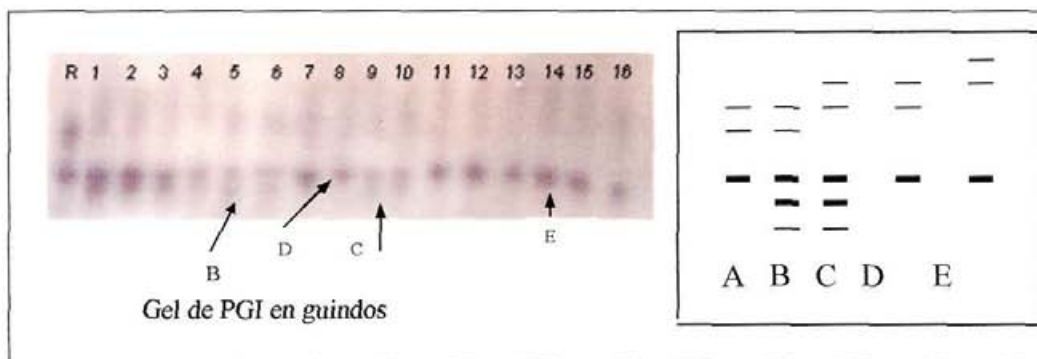


Fig. 50: Zimogramas para PGI en cerezo y guindo. (Ver figura 49 para leyendas)

4.8.3. Shikimato deshidrogenasa (SKDH)

En este sistema enzimático los patrones encontrados fueron solamente de dos tipos denominados A y B reflejados en la figura 51. El análisis de IDH resulta por tanto poco discriminante en nuestro ensayo.

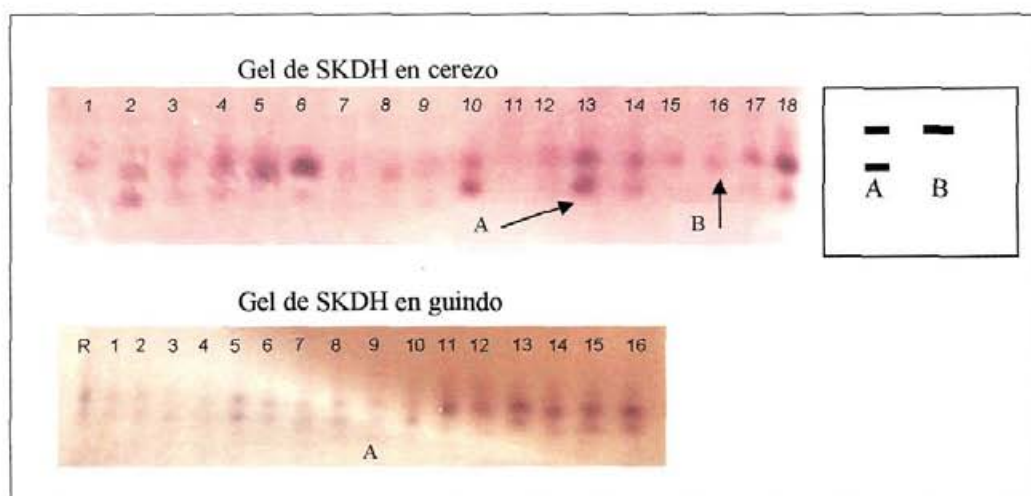


Fig. 51: Zimogramas para SKDH de cerezos y guindos. (Ver figura 49 para leyendas)

4.8.4. Fosfogluconato deshidrogenasa (6 - PGD)

Al igual que en el caso anterior encontramos tanto en cerezos como en guindos, dos patrones diferentes de bandas denominados A y B y reflejados en la figura 52.

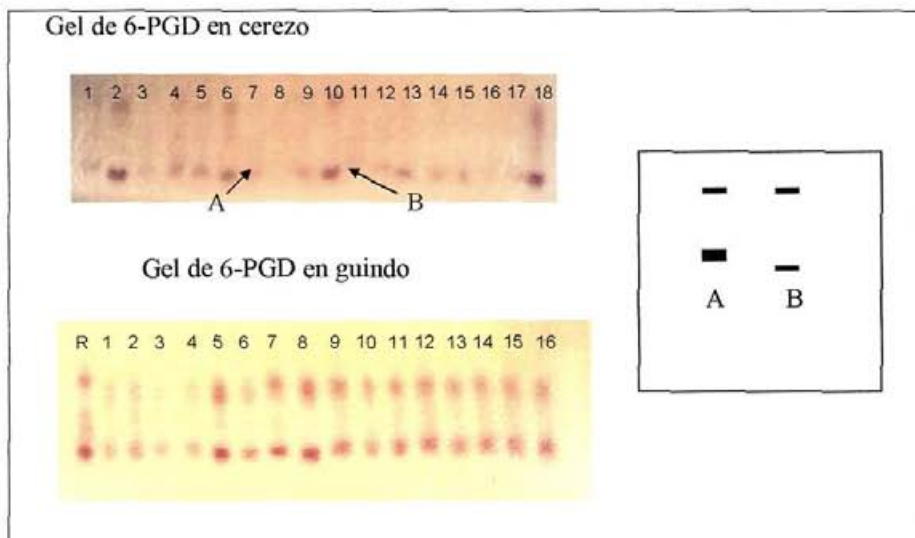


Fig. 52: Zimogramas para 6-PGD en cerezos y guindos. (Ver figura 49 para leyendas)

4.8.5. Fosfoglucomutasa (PGM)

En el sistema enzimático PGM hemos encontrado ocho tipos de zimogramas diferentes siendo por tanto el sistema que por sí solo permite una mayor discriminación entre variedades. En la figura 53 se pueden observar los ocho patrones de bandas.

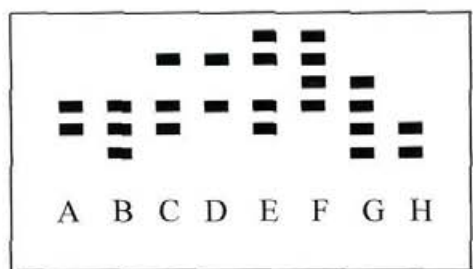


Fig. 53 Zimogramas para PGM en cerezos y guindos.

4.8.6. Agrupaciones de variedades de cerezo

Como resumen de los patrones isoenzimáticos que presentan las distintas variedades de cerezo y de guindo para cada uno de los sistemas estudiados se ha elaborado la tabla 45.

Tabla 45: Modelos de patrones de bandas para 5 sistemas isoenzimáticos en variedades de cerezo y guindo.

Variedad	IDH	PGI	SKDH	6-PGD	PGM
Precoce Bernard	A	A	A	A	A
Burlat	A	A	A	A	A
Tardif de Vignole	A	A	A	A	A
Francesa de Alenquer	A	A	A	A	B
Lisboeta	A	A	A	A	C
Maringa	B	A	A	B	D
Morangao	B	B	A	A	C
Saco 1	A	A	B	A	A
Saco 2	B	B	A	A	E
Galega	A	C	A	A	F
Garrafal Rosa	A	C	A	A	F
Garrafal Negra	C	B	A	A	G
Garrafal	D	D	A	A	G
Seixas	D	C	A	A	A
Martinho D'Obidos	A	E	A	A	H
Pedro Miguel D'Obidos	A	E	A	A	H
Sobral D'Obidos	A	E	A	A	H

A partir de dicha tabla, se obtuvieron separadamente para cerezos y para guindos los dendrogramas basados en las distancias entre variedades ("neighbor-joining method").

En el caso de los cerezos, se obtuvo un dendrograma que separa 7 grupos (Figura 54). Las variedades "Precoce Bernard" (PBR), "Burlat" (BUR) y "Tardif de Vignole" (TAV) no mostraron diferencias, y son muy similares a "Francesa de Alenquer" (FRA) y a "Lisboeta" (LIS) que pueden tener también un origen francés. "Saco 1" (SA1), "Saco 2" (SA2), "Morangão" (MOR) y "Maringa" (MAR) aparecen en grupos independientes, siendo esta última variedad de origen italiano, la más distanciada del resto.

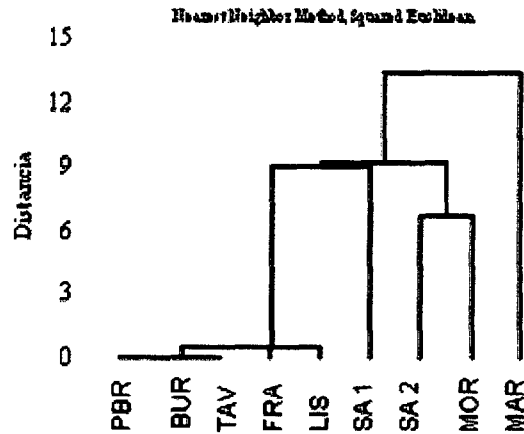


Fig. 54. Dendrograma de variedades de cerezo basado en isoenzimas.

En el caso de los guindos, se obtuvo un dendrograma (Figura 55) que separa 5 grupos de variedades: en el mismo grupo están las 3 variedades “D’Obidos” (SOO, MAO, PMO) que presentan exactamente iguales todos los patrones de isoenzimas. Otro grupo lo forman “Galega” (GAL) y “Garrafal Rosa” (GAR), también con los mismos modelos. La variedad que más se separa del resto es “Seixas” (SEI), mientras que “Garrafal Negra” (GAN) y “Garrafal” (GAF) se mantienen en grupos intermedios.

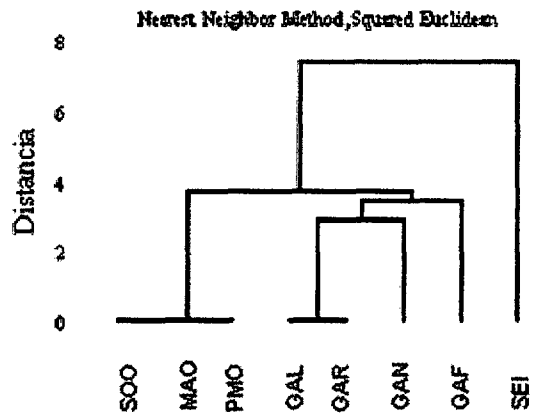


Fig. 55. Dendrograma de variedades de guindo basado en isoenzimas.

4.9. Caracterización molecular mediante RAPD

Se han ensayado tres series de 20 cebadores correspondiendo cada grupo a las series operon kit O, kit P y kit R de la Operon Technologies. De los 60 ensayados algunos no mostraban suficiente polimorfismo o mostraban mala resolución. El cebador, su secuencia, así como la calidad y polimorfismo están plasmados en la tablas que siguen (tablas 46, 47 y 48).

Tabla 46: Cebadores de la serie O.

Cebador	Secuencia	Calidad	Polimorfismo*
O-01	GGCACGTAAG	mala resolución	
O-02	ACGTAGCGTC	Buena	PA
O-03	CTGTTGCTAC	mala resolución	
O-04	AAGTCCGCTC	débil resolución	PB
O-05	CCCAGTCACT	mala resolución	
O-06	CCACGGGAAG	mala resolución	
O-07	CAGCACTGAC	débil resolución	PB
O-08	CCTCCAGTGT	mala resolución	
O-09	TCCCACGCAA	mala resolución	
O-10	TCAGAGCGCC	mala resolución	
O-11	GACAGGAGGT	buena	PA
O-12	CAGTGCTGTG	buena	PA
O-13	GTCAGAGTCC	mala resolución	
O-14	AGCATGGCTC	mala resolución	
O-15	TGGCGTCCTT	mala resolución	
O-16	TCGGCGGTTC	buena	PA
O-17	GGCTTATGCC	mala resolución	
O-18	CTCGCTATCC	mala resolución	
O-19	GGTGACGTT	mala resolución	
O-20	ACACACGCTG	buena	PA

*PA= Polimorfismo alto, PB= polimorfismo bajo

Tabla 47: *Cebadores de la serie P.*

Cebador	Secuencia	Calidad	Polimorfismo *
P-01	GTAGCACTCC	mala resolución	
P-02	TCGGCACGCA	buena	PA
P-03	CTGATACGCC	mala resolución	
P-04	GTGTCTCAGG	mala resolución	
P-05	CCCCGGTAAC	mala resolución	
P-06	GTGGGCTGAC	mala resolución	
P-07	GTCCATGCCA	mala resolución	
P-08	ACATCGCCCA	mala resolución	
P-09	GTGGTCCGCA	mala resolución	
P-10	TCCCGCCTAC	mala resolución	
P-11	AACGCGTCGG	débil resolución	PB
P-12	AAGGGCGAGT	mala resolución	
P-13	GGAGTGCCTC	mala resolución	
P-14	CCAGCCGAAC	buena	PA
P-15	GGAAGCCAAC	mala resolución	
P-16	CCAAGCTGCC	mala resolución	
P-17	TGACCCGCCT	mala resolución	
P-18	GGCTTGGCCT	mala resolución	
P-19	GGGAAGGACA	mala resolución	
P-20	GACCCTAGTC	mala resolución	

*PA= Polimorfismo alto, PB= polimorfismo bajo

Tabla 48: *Cebadores de la serie R.*

Cebador	Secuencia	Calidad	Polimorfismo
R-01	TGCGGGTCCT	mala resolución	
R-02	CACAGCTGCC	mala resolución	
R-03	ACACAGAGGG	mala resolución	
R-04	CCCGTAGCAC	mala resolución	
R-05	GACCTAGTGG	mala resolución	
R-06	GTCTACGGCA	mala resolución	
R-07	ACTGGCCTGA	mala resolución	
R-08	CCCGTTGCCT	buena	PA
R-09	TGAGCACGAG	mala resolución	
R-10	CCATTCCCA	mala resolución	
R-11	GTAGCCGTCT	buena	PA
R-12	ACAGGTGCGT	mala resolución	
R-13	GGACGACAAG	buena	PA
R-14	CAGGATTCCC	buena	PB
R-15	GGACAACGAG	mala resolución	
R-16	CTCTGCGCGT	mala resolución	
R-17	CCGTACGTAG	mala resolución	
R-18	GGCTTTGACA	mala resolución	
R-19	CCTCCTCATC	mala resolución	
R-20	ACGGCAAGGA	mala resolución	

*PA= Polimorfismo alto, PB= polimorfismo bajo

Como puede apreciarse, de los 60 cebadores ensayados, 14 mostraron resolución buena o débil y 10 de ellos, con buena resolución, tenían un polimorfismo alto, que son los que se utilizaron para llevar a cabo las amplificaciones con las variedades estudiadas. En concreto, los cebadores utilizados fueron: O-02, O-11, O-12, O-16, O-20, P-02, P-14, R-08, R-13 y R14.

A continuación se muestran los geles resultantes del análisis de RAPDs para siete de los cebadores anteriores.

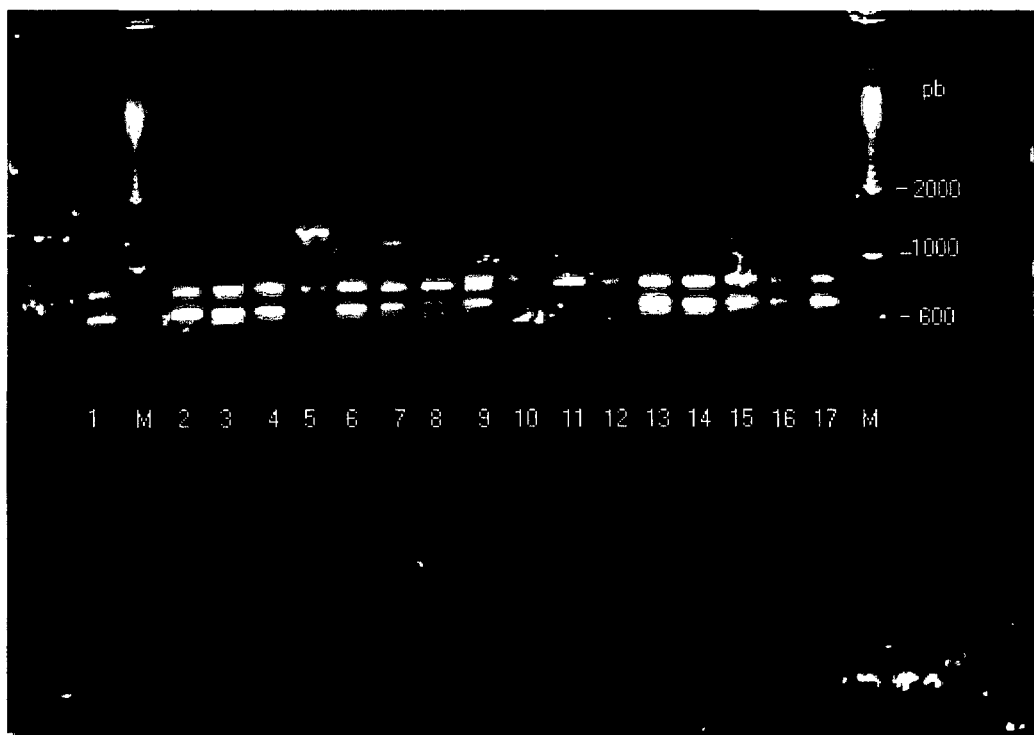


Fig.56: Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador O-02
Guindos: 1="Galega"; 2="Garrafal Rosa"; 3= "Garrafal"; 4= "Garrafal Negra"; 5= "Seixas"; 6= "Pedro Miguel D'Óbidos"; 7= "Sobral D'Óbidos"; 8= "Martinho D'Óbidos". Cerezos: 9= "Burlat"; 10= "Precoce Bernard"; 11= "Tardif de Vignole";12= "Lisboeta"; 13= "Francesa de Alenquer"; 14= "Morangão"; 15= "Maringa"; 16= "Saco 1"; 17= "Saco 2"; 18= "Saco 2"; M= Marcador (100 base pair step ladder).



Fig. 57: Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador O-12 (ver muestras en Fig.56).

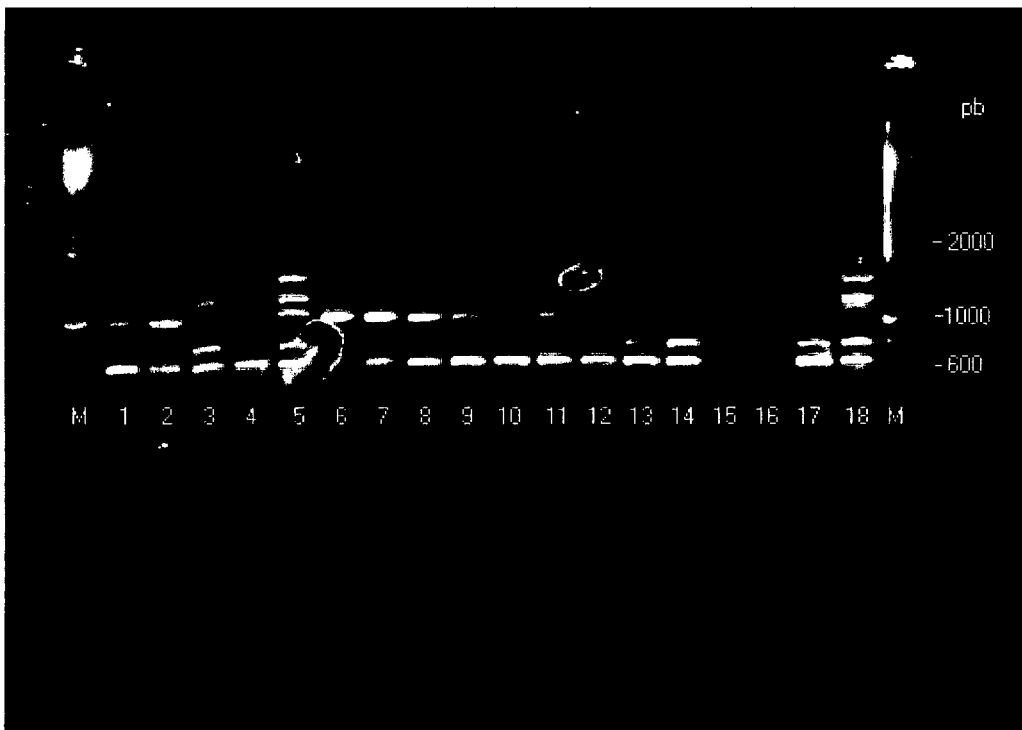


Fig.58: Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador O-20 (ver muestras en Fig.56).

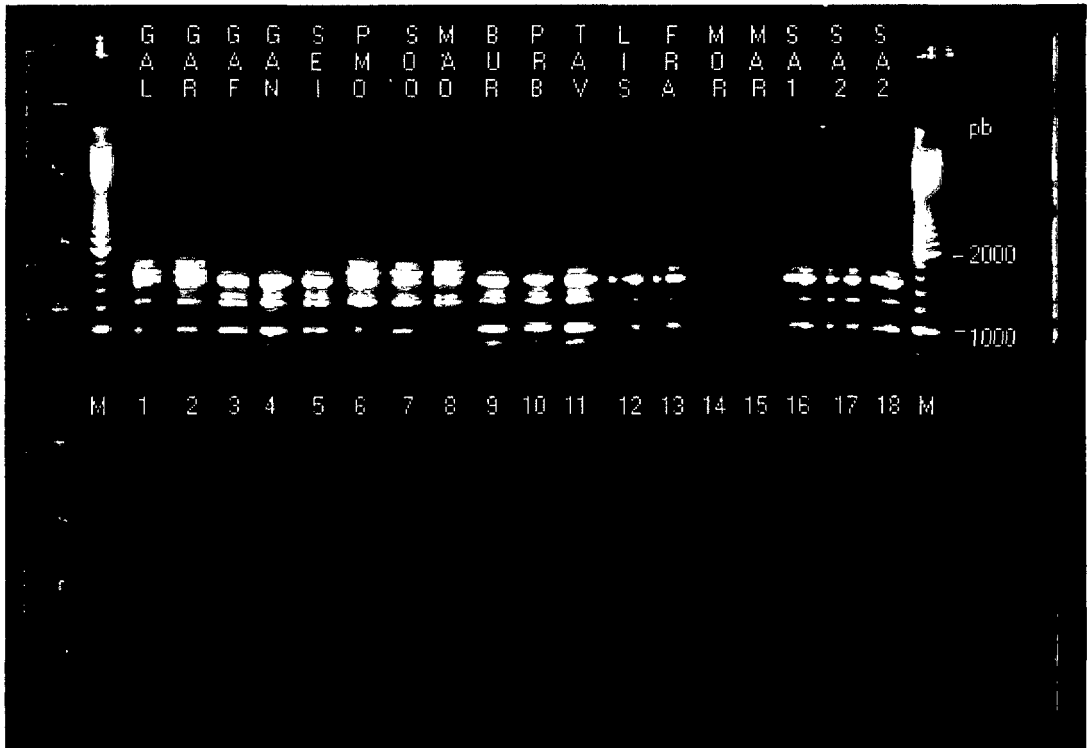


Fig.59: Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador P-02 (ver muestras en Fig.56)

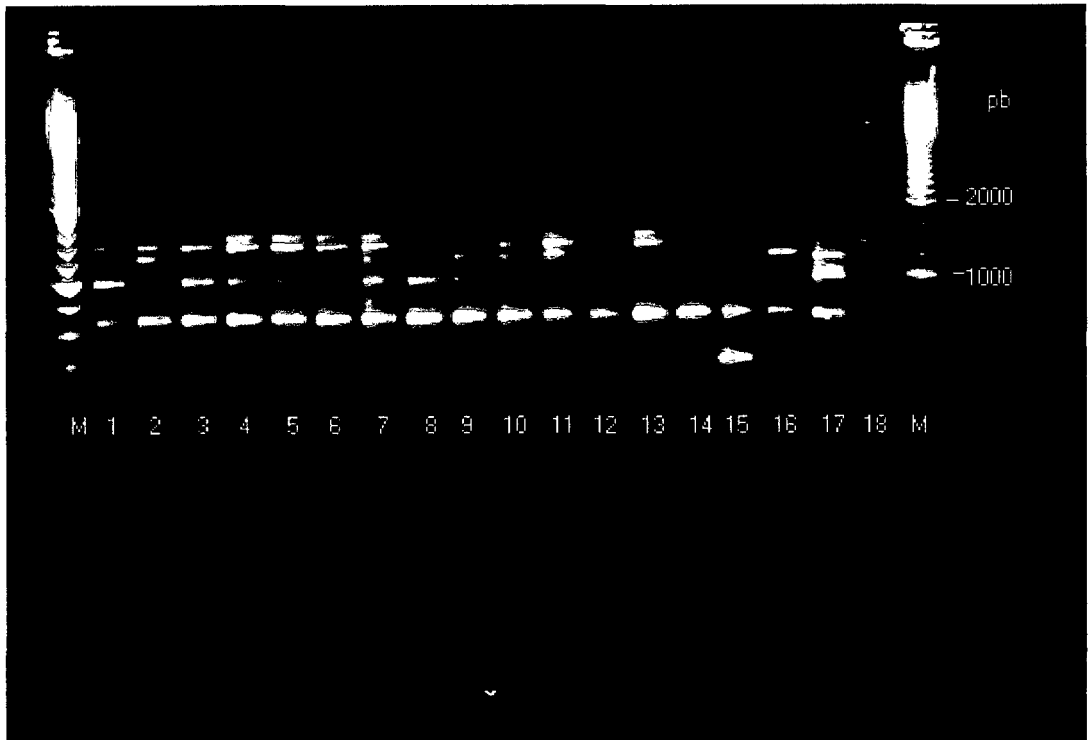


Fig.60—Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador R-08 (ver muestras en Fig.56)

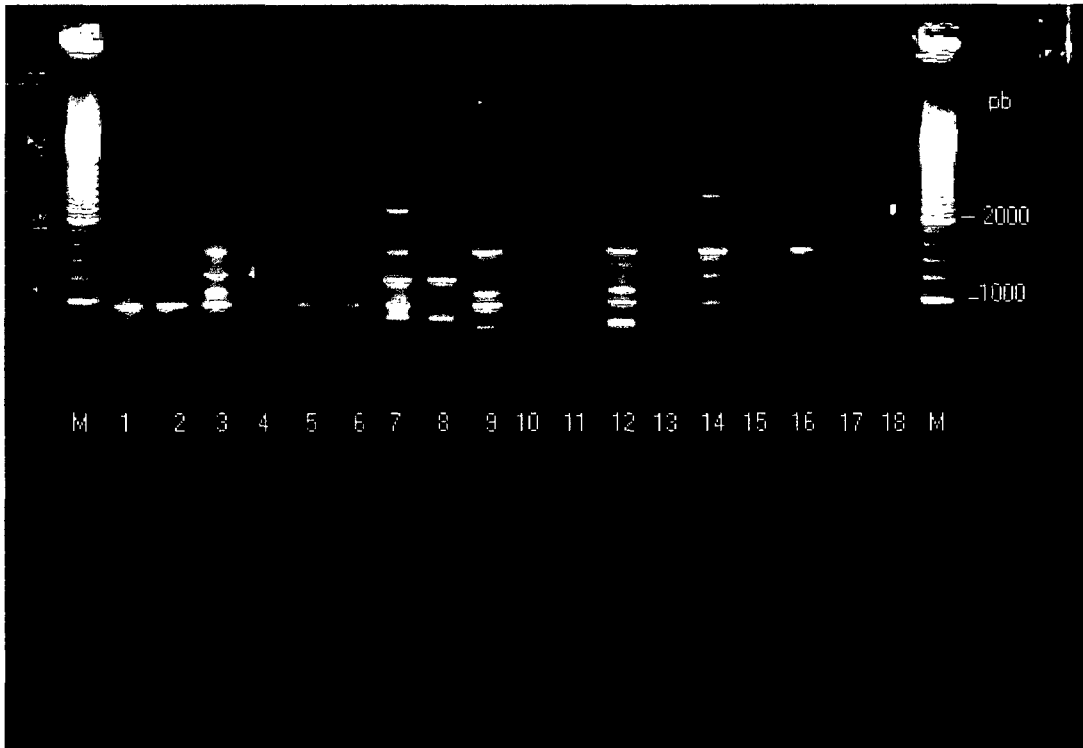


Fig. 61— Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador R-13 (ver muestras en Fig.56)

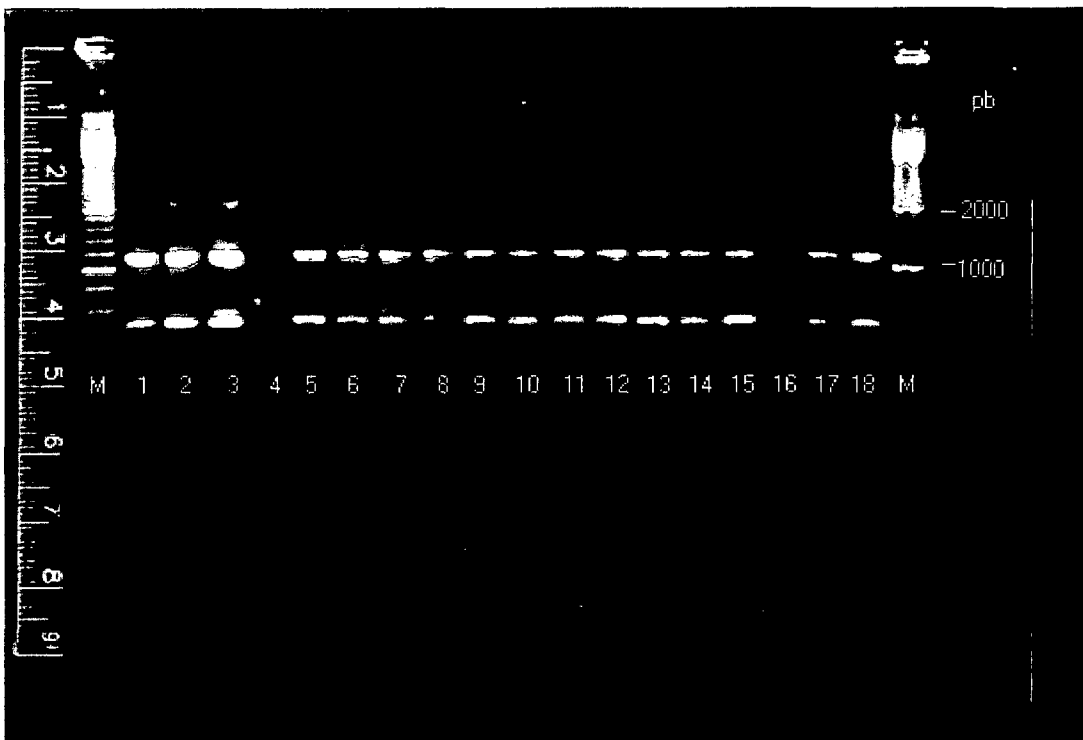


Fig.62: Gel de RAPDs de cerezos y guindos con el cebador R-14 (ver muestras en Fig.56)

Para llevar a cabo el análisis de RAPD, se hicieron tres repeticiones. La primera se hizo con hojas incompletamente desarrolladas, ya que es un buen material de extracción de ADN. Las dos restantes se hicieron con a partir de yemas. Después de extraído el ADN de las nuevas muestras se hicieron nuevamente los RAPDs y se encontraron algunos problemas de no repetición de bandas en los dos bloques de plantas en que se habían dividido cada variedad. Estos resultados nos hicieron suponer que los dos grupos de variedades no pertenecerían al mismo clon. Después de una recolección y posterior extracción de ADN en que se intentó verificar la analogía de 3 árboles en cada bloque con una repetición, sí que daba el mismo patrón de bandas.

Los resultados obtenidos son los que se muestran en los geles de las figuras anteriores.

Del análisis de los resultados globales, se deduce que un 75% de las muestras dieron buena resolución, un 12% son de débil resolución y un 13% son de resolución nula, por amplificación nula o por otras causas.

Como no se pudieron analizar estadísticamente los resultados, debido a las dificultades de reproducibilidad de los mismos, solamente haremos las deducciones que nos parezcan más evidentes sin pretender agrupar variedades o establecer relaciones filogenéticas entre ellas.

Se puede afirmar que las variedades "Galega" y "Garrafal Rosa" no dejan duda de que se trata de la misma para los siete cebadores analizados y que se muestran en las figuras anteriores.

De modo semejante podemos también afirmar que las variedades con el nombre genérico D'Obidos son la misma, pues los patrones presentados por los diferentes cebadores tienen las mismas bandas de amplificación.

En lo referente a las variedades "Garrafal", "Garrafal Negra" y "Seixas" se distinguen unas de otras por los patrones obtenidos.

"Garrafal" es diferente de "Garrafal Negra" y "Seixas" para el cebador R-13. "Garrafal Negra" es diferente de las otras dos para el cebador R-14 y la variedad "Seixas" lo es para el cebador P-2.

En los cerezos el análisis es un poco más confuso. "Maringa", "Saco 1" y "Saco 2" se distinguen unas de otras y de las demás por el cebador R-8. "Burlat", "Precoce Bernard" y "Francesa de Alenquer" parecen formar un grupo y juntamente con "Saco 2" son diferentes de las demás con respecto al cebador R-13. El cebador

R-14 diferencia "Saco 1" de las demás. Con el cebador O-12, "Precoce Bernard" se presenta diferente de las demás, que tienen un patrón semejante para este cebador. "Lisboeta" y "Morangão" presentan patrones diferentes entre sí y diferentes de las demás con el cebador O-20.

Por los resultados obtenidos con los RAPDs, se puede considerar que este tipo de marcadores moleculares pueden resolver la identificación varietal, si bien se requiere una puesta a punto metodológica precisa para resolver las dificultades existentes en cuanto a repetitividad. Por otra parte, es posible que estos marcadores sean capaces de distinguir clones dentro de una misma variedad.

5. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

La caracterización de variedades basada en el estudio de caracteres pomológicos ha permitido identificar variedades en numerosas especies de frutales cultivados (Asensio Sanches, 2000; Badenes Catala, 1991; Christensen, 1974; Guardiola *et al.*, 1977). Es la metodología usual empleada y aceptada desde el punto de vista legal para el registro y patente de variedades (Badenes, 1991). La caracterización de la colección de cerezos y guindos estudiada en este trabajo fue por esta razón caracterizada por este método. Se utilizó como complemento la caracterización por isoenzimas y el análisis del ADN mediante RAPD.

Los caracteres morfológicos usados para distinción de las variedades pueden dividirse en cuantitativos y cualitativos, y se observaron en las flores, los frutos y las hojas. Si particularizamos las medidas hechas en flor podemos separar variedades según los valores de dichos parámetros. Así el diámetro de la flor abierta es mayor en las variedades consideradas como mejoradas que en las presuntas tradicionales. Puede ser que el mayor diámetro sea un atractivo para las abejas y otros insectos polinizadores. Este carácter puede considerarse un buen marcador ya que detecta diferencias entre variedades.

La longitud del pistilo es otro carácter de importancia en cerezo. Presenta sin embargo ciertas dificultades en la medición. Su mayor longitud facilita la polinización en las variedades auto incompatibles ya que los insectos al tocar la flor lo hacen primeramente en las flores que tienen el pistilo de mayor longitud, entrando contacto con el estigma. Puede también considerarse un buen marcador a la hora de caracterizar variedades, ya que diferencia variedades como la "Saco 1" y "Maringa" de las restantes.

La longitud de los pétalos se puede considerar de un modo paralelo al diámetro de la flor abierta y variando proporcionalmente con ella. La anchura de pétalos, aunque no está correlacionada con la longitud de los mismos, puede separar las variedades "Precoce Bernard" y "Burlat" de las demás.

Puede decirse que los parámetros que caracterizan variedades basados en la flor, no presentan variación año tras año y por lo tanto no parece serían necesarias las mediciones en diversos años, en contra de lo que afirman Badenes (1991) y Christensen (1974), que afirman que serán necesarias mediciones durante varios ciclos de cultivo, y en las mismas condiciones climáticas.

Los parámetros de caracterización basados en el fruto, son de importancia incuestionable ya que el análisis de los mismos puede por sí solo diferenciar variedades. Uno de los que se puede considerar buen marcador es la longitud del pedúnculo (Christensen, 1970). La separación de variedades con este parámetro es confirmada por el análisis de la tabla 19, en que las variedades presuntamente mejoradas, "Precoce Bernard", "Burlat" y "Maringa", se separan de las demás por tener los pedúnculos más cortos, que por otra parte parecen ser dominantes sobre los largos (Brown *et al.*, 1996), lo que confirma lo anterior es que los caracteres en recesividad pueden no haber sufrido mejoras todavía. Ejemplos de pedúnculos cortos son los que tienen una longitud menor de 2,9 cm y pedúnculos largos los mayores de 5,8 cm.

El porcentaje de frutos rajados, carácter de gran importancia en los modernos programas de mejora, es un carácter que presenta grandes diferencias entre variedades. "Tardif de Vignole" y "Morangão" son las que mostraron valores más bajos. Los valores obtenidos previsiblemente pueden estar influenciados por las condiciones ambientales y de cultivo, si bien parece existir una componente de tipo genético. La escala de evaluación más aconsejable es la de 1 a 5, que va desde "muy bajo", con menos del 24% de rajado, hasta muy alto, con más del 82% (Christensen, 1970).

El peso del fruto así como su volumen y el de su endocarpio (hueso) muestran una correlación con su tamaño y con la parte de fruto comestible. El peso fue un carácter para el que se seleccionó en el pasado, verificándose que las variedades consideradas como mejoradas son las que tienen mayores frutos. Por otra parte, son caracteres que pueden ser considerados como buenos marcadores para diferenciar variedades. El tamaño del fruto juntamente con la longitud del pedúnculo parecen ser los descriptores más importantes para caracterizar variedades (Christensen, 1970). La fecha de cosecha asimismo puede también ser un buen descriptor (Hjalmarsson y Ortiz, 2000).

Los valores de acidez y contenido en azúcares presentan similitudes en la variación y separan variedades en dulces y ácidas. Así las variedades más tempranas son generalmente menos ácidas y menos dulces y las tardías más ácidas y más dulces. En los frutos, la desviación estándar durante los tres años nos indica que no hay mucha variación ambiental.

El color del zumo discrimina entre frutos coloreados y no coloreados. El color de la epidermis puede ser influenciado por condiciones ambientales principalmente climáticas, por lo que Hjalmarson y Ortiz (2000) afirman que los estudios de caracterización deben ser hechos en la misma localidad.

La fecha de cosecha es otro descriptor importante, variando sin embargo de unas regiones a otras. Por citar un ejemplo, la maduración de "Burlat" en Bélgica es a mediados de junio y en Portugal alrededor de fines de mayo. En lo referente a la altitud, podemos referir una constatación "in situ", que los cerezos del valle de Cova da Beira, a una menor altitud, maduraban antes que los de la colección estudiada en Fundão.

En el apartado de la contribución de las hojas para la caracterización de variedades, podemos inferir, a partir de las variaciones de las desviaciones estándar, que los tres años fueron indispensables para la caracterización, pues hubo variación año tras año; posiblemente sería aconsejable aumentar el número de años de observación para obtener unos valores numéricos de mayor fiabilidad. Los caracteres que mejor permiten agrupar las variedades en grupos son la longitud del pecíolo, la longitud del limbo y la anchura del mismo. Las dos últimas permiten agruparlas en las de hojas grandes y las de hojas pequeñas, carácter importante a la hora de mejorar variedades, ya que las hojas más grandes podrían permitir mayores tasas fotosintéticas y por consiguiente una mayor potencialidad de cosecha. Se considera una hoja pequeña la que tiene una longitud del limbo menor que 13,4 cm y una grande la que es mayor de 16,8 cm (Christensen, 1970).

En lo referente a los guindos y a los parámetros en flor, podemos hacer algunas consideraciones. Como no tenemos información suficiente de la auto compatibilidad de las variedades D'Óbidos, no podemos concluir sobre estas variedades. De las restantes y según información recogida en viveros, la "Seixas", la "Galega" y las "Garrafal" son auto compatibles, por lo que un estigma pequeño puede ser un factor de importancia añadida ya que los estambres pueden ayudaren a la auto polinización. La importancia del tamaño del pistilo se confirma en "Galega" y en "Garrafal Rosa" que lo tienen pequeño. Puede así considerarse un marcador con alguna fiabilidad. Por el análisis de los parámetros de flor puede adelantarse que la "Galega" y la "Garrafal Rosa" forman un grupo, así como las tres "D'Óbidos". Analizando las desviaciones estándar podemos afirmar que no se dan grandes diferencias entre años como ocurría en cerezos.

En los guindos, los caracteres de fruto pueden separar las variedades por grupos, concretamente el grupo de la "Galega" y "Garrafal Rosa" por un lado y el grupo de las tres "D'Óbidos" más la "Seixas". Los caracteres que contribuyeron para tal agrupamiento fueron la longitud del pedúnculo, el peso de 100 frutos, el volumen del fruto y del endocarpio, así como los ácidos totales.

En la hoja, los caracteres importantes a la hora de caracterizar y diferenciar variedades son las dimensiones de las hojas. Así las variedades "Garrafal" y "Garrafal Negra" son las que tienen hojas de mayores dimensiones y como tal tienen los frutos mayores lo que confirma nuestra suposición. La relación longitud pecíolo/ longitud limbo, presenta menores valores en las "D'Óbidos", lo que podría facilitarles una mayor resistencia a la acción del viento, soportándolo mejor.

Por lo que respecta a los sistemas isoenzimáticos analizados, hacemos algunos comentarios de cada uno de ellos.

Isocitrato deshidrogenasa (IDH):

En este sistema isoenzimático hemos encontrado cuatro patrones. Dos patrones A y B para cerezo y tres A, C y D para guindos por lo que se deduce que los guindos para este sistema son más polimórficos que los cerezos. Este resultado confirma lo afirmado por Beaver *et al.*, (1995) que indican que los guindos y otros tetraploides son más polimórficos que los cerezos, que son diploides. Santi y Lemoine (1990b) afirman también que en guindos se detectan tres fenotipos para IDH. Beaver y Iezzoni (1993) en las variedades que ellos analizan, hacen referencia para guindos, a dos patrones de bandas para IDH. En un estudio realizado por Granger *et al.*, (1993) IDH mostraba suficiente polimorfismo para caracterizar cerezos en extracto de hoja.

Fosfoglucoisomerasa (PGI):

En el estudio llevado a cabo por Granger *et al.*, (1993) se indica que el sistema PGI muestra suficiente polimorfismo para ser un buen marcador en frutales. Este sistema es por tanto ampliamente utilizado en la caracterización vegetal destacando su uso en colecciones de cítricos (Beaver y Crawford, 1986; Gottlieb, 1981, 1982; Weden y Gottlieb, 1979, 1980) y en colecciones de castaño (Fernández, 1992). En este trabajo hemos encontrado 5 tipos de patrones (tabla 34), denominados como A y B para cerezos y B, C, D y E para guindos. Al igual que para el sistema IDH también este sistema isoenzimático es más polimórfico para guindos que para cerezos (Beaver *et al.*, 1995).

Shikimato desidrogenasa (SKDH):

Los patrones encontrados en cerezos y guindos fueron de dos tipos: A y B para cerezo y sólo A para guindos. Santi y Lemoine (1990b) apuntan tres patrones de bandas para SKDH para identificación en algunas variedades de cerezo que no coinciden con las de este estudio. En este trabajo SKDH ha resultado poco discriminante en la diferenciación de variedades de cerezo y totalmente homogéneo para los guindos. A pesar de ello Granger *et al.*, (1993) afirman que el sistema SKDH muestra suficiente polimorfismo en hoja de cerezo como para distinguir algunas variedades.

Fosfogluodeshidrogenasa (6-PGD):

Este sistema isoenzimático es muy similar al sistema SKDH en hoja de cerezo y guindo pues presenta solamente dos patrones de bandas A y B para cerezos y A para guindos. Este sistema fue utilizado con éxito por Granger *et al.*, (1993) que lo señalan como buen discriminante de variedades y Beaver *et al.*, (1995) llegaron a definir 5 alelos en dos loci 6-PGD-1 con tres alelos y 6-PGD-2 con 2 alelos.

Fosfoglucomutasa (PGM):

En nuestro estudio fue el sistema que más polimorfismo presentó y como tal fue el más discriminante. En la figura 44 pueden observarse ocho patrones de bandas. La atribución a cerezos corresponde a los patrones A, B, C, D y E y los patrones A, F, G y H son los que se encontraron en guindos (tabla 34). También Granger *et al.*, (1993) consideran el sistema PGM buen discriminante a la hora de caracterizar variedades. Beaver y Iezzoni (1993) encontraron en cerezos y guindos 3 patrones para PGM-2 en variedades que no coinciden con las nuestras.

Atendiendo al conjunto de los cinco sistemas isoenzimáticos podemos decir que el más discriminante ha resultado PGM y los más homogéneos SKDH y 6-PGD. La falta de variabilidad en los guindos en estos dos sistemas puede ser debida a la cercanía genética de las variedades analizadas ya que para las tres variedades "D'Óbidos" ninguno de los sistemas muestra diferencias y lo mismo ocurre para "Galega" con "Garrafal Rosa". El conjunto de los cinco sistemas nos permite diferenciar en cerezo todas las variedades excepto "Burlat" con "Precoce Bernard" y "Tardif de Vignole", las cuales proceden del mismo centro de selección; y en guindos no llegan a diferenciarse las tres "D'Obidos" entre ellas ni "Galega" con "Garrafal Rosa". Este hecho, unido a que no encontramos diferencias en el estudio de morfología, nos hacen pensar que "Martinho D'Óbidos", "Pedro Miguel D'Óbidos" y

"Sobral D'Óbidos" son tres casos de sinonimia de la misma variedad, hecho que también parece suceder con "Galega" y "Garrafal Rosa".

En cuanto a la evaluación de la metodología de los RAPD como marcadores moleculares en la caracterización de las variedades estudiadas, comentamos lo siguiente.

En nuestro caso, se intentó caracterizar las variedades de cerezos y de guindos tal y como se detalla en la sección de Resultados. Se presentaron algunas dificultades de reproducibilidad, como ya se ha indicado anteriormente. La reproducibilidad está fuertemente influenciada por la enzima polimerasa (Gerlach y Stosser, 1997). Polimerasa de diferentes fuentes es de diferente característica y por lo tanto la reacción de amplificación puede variar mucho. Hemos usado siempre el mismo tipo de enzima, pero como afirman estos autores, lotes de diferentes calidades pueden ser un problema. Afirman también que los procedimientos RAPDs una vez estandarizados y optimizados para ciertas especies, si fueren mantenidas todas las reacciones de amplificación y usando los cebadores seleccionados, no presentan problemas de reproducibilidad.

La metodología parece mostrar un polimorfismo suficiente para la identificación varietal y quizá en algunos casos clonal.

Con vistas a la utilización del ADN en identificación varietal en *Prunus*, posiblemente interese recurrir a los microsatélites como alternativa más adecuada y que previsiblemente no presente las dificultades indicadas.

La utilización conjunta de los métodos morfológicos clásicos junto con la utilización complementaria de marcadores isoenzimáticos y moleculares se estima aconsejable para la identificación varietal en cerezos y guindos.

6-CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los caracteres morfológicos cuantitativos han permitido la identificación de las variedades estudiadas. Los caracteres morfológicos cualitativos presentan una fiabilidad algo más reducida en la caracterización, por ser algo más subjetivos.
2. Morfológicamente se agruparon las variedades estudiadas. Dentro de los guindos podemos considerar que "Galega" y "Garrafal Rosa" parecen ser la misma variedad y lo mismo ocurre con "Pedro Miguel D'Óbidos", "Sobral D'Óbidos" y "Martinho D'Óbidos", que morfológicamente tienen una similitud que indica se tratan de la misma variedad.
3. Basándose en la caracterización morfológica, los cerezos se pueden agrupar en variedades presuntamente mejoradas y variedades no mejoradas, siendo los parámetros más indicativos las dimensiones del fruto así como la longitud del pedúnculo entre otras características. Las primeras pueden incluir "Precoce Bernard", "Burlat", "Maringa" y "Tardif de Vignole". Las segundas comprenden "Morangão", "Lisboeta", "Francesa de Alenquer", "Saco 1" y "Saco 2".
4. Los índices de rajado, importante parámetro de interés en la mejora actual, mostraron marcadas diferencias entre las variedades en estudio, tanto en cerezos como en guindos.
5. En general, los frutos más tardíos son más dulces que los más precoces.
6. Todas las variedades de cerezo en estudio fueron consideradas como variedades de buena aceptación por los consumidores, con base en un panel de cinco probadores. El mismo panel clasificó las guindas como de relativamente mala aceptación, pues con la excepción de "Garrafal Negra" y "Garrafal", son bastante ácidas, si bien se ha de tener en cuenta que su principal utilización es para confitería y otros productos elaborados.
7. Los datos de fenología nos permiten concluir que aunque la floración ocurra en fechas diferentes en distintos años, la maduración ocurre sensiblemente en las mismas fechas. Las variedades de cerezo se pueden agrupar en: de maduración precoz, como "Precoce Bernard" y "Burlat"; de maduración media, "Lisboeta" y "Francesa de Alenquer" y de maduración tardía, "Saco 1", "Saco 2", la "Tardif de Vignole" y

"Morangão". En los guindos no se detectaron grandes diferencias en maduración que se producía en todas las variedades a fines de junio-inicio de julio.

8. La influencia ambiental sobre los caracteres morfológicos medidos en flores y fruto no es tan marcada como sobre hojas, por lo que en flores y frutos no sería necesaria la medición durante los tres años.
9. Los resultados obtenidos por los sistemas isoenzimáticos son marcadamente coincidentes con los de morfología.
10. El sistema isoenzimático que se ha mostrado más polimórfico en hoja ha sido la fosfoglucomutasa, por lo que este sistema es de utilidad en la caracterización de variedades de cerezos y guindos.
11. Los marcadores RAPDs no se mostraron fiables a la hora de caracterizar variedades por su baja reproducibilidad. Esta puede ser debida a la técnica en sí o al hecho de la existencia de clones diferentes en los árboles que componen cada variedad.

7-BIBLIOGRAFIA

- Ambiente, Portugal. Secretaria de Estado do Ambiente e Recursos Naturais. Comissão Nacional do (1978). Carta dos solos (material cartográfico) / Comissão Nacional do Ambiente. Lisboa.
- Ambiente, Portugal. Secretaria de Estado do Ambiente e Recursos Naturais. Comissão Nacional do (1982). Carta de capacidade de uso do solo(material cartográfico) / Comissão Nacional do Ambiente. Lisboa.
- Ambiente, Portugal. Secretaria de Estado do Ambiente e Recursos Naturais. Comissão Nacional do (1983). Carta litológica (material cartográfico)/ Comissão nacional do Ambiente. Lisboa.
- Ambiente, Portugal. Secretaria de Estado do Ambiente e Recursos Naturais. Comissão Nacional do (1985). Carta agrícola e florestal (material cartográfico): grandes grupos de utilização do solo/ Comissão Nacional do Ambiente. Lisboa.
- Aranzana, M.J., Carbo, J. y Arus, P. (2002). Microsatellite variability in peach (*Prunus persica* L.) Batsh: cultivar identification, marker mutation pedigree inferences and population structure. *Theor. Appl.Genet.* 106(8), 1341-1352.
- Aranzana, M.J., Pineda, A., Cosson, P., Dirlewanger, E., Ascasibar, J., Cipriani, G., Ryder, CD, Testolin, R., Abbott, A., King, GJ., Iezzoni, A.F. y Arus, P. (2003). A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome. *Theor. Appl.Genet.* 106(5), 819-825.
- Arulsekhar, S. y Parfitt, D.E. (1986). Isozyme Analysis Procedures for Stone Fruits, Almond, Grape, Walnut, Pistachio and Fig. *HortScience* 21, 928-933.
- Arús, P. (1983). caracterización electroforética de híbridos F1 en *Brassica oleracea* L. En : Los recursos fitogenéticos y las nuevas variedades vegetales. ITEA 2, 402-- 406.
- Asensio, M. L. (2000). Caracterización de variedades de *vitis vinifera* L. cultivadas en Extremadura, mediante estudios morfológicos, agronómicos y bioquímicos. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.
- Ashari, S, Aspinal, D y Sedley, M (1988). Discrimination of Zygotic and nucelar seedling of five poliembrionic *citrus* rootstocks by isozyme analisis and seedling morphology. *J. Hort. Sci.* 63(4), 695-703.
- Awise, J.C. (1994). "Molecular markers, natural history and evolution," New York.
- Badenes, M. L. (1991). Caracterización e identificación de variedades de albaricoquero por métodos pomológicos y bioquímicos, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Badenes, M. L., Garces, A., Romero, C., Romero, M., Clave, J., Rovira, M. y Llácer, G. (2003). Genetic diversity of introduced and local Spanish persimmon cultivars revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50(6), 579-585.
- Bangert, F. (1968). Zur ursache des platzen von kirschenfrutchten. In "ISHS Symposium on cherries" (I. f. o. d. Universitat, ed.), pp. 198-201, Bonn, Germany.
- Barazani, Oz, Azat, Atayev, Yacubov, Bakhtiyor, Kostiuksky, Vladimir, Popov, Konstantin y Golan-Goldhirsh, Avi (2003). Genetic variability in Turkmen populations of *Pistacia vera* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50(4), 383-389.
- Bargioni, G. (1996). Sweet Cherry Scions. In "Cherries: Crop physiology, production and uses" (A. D. a. L. Webster, N.E., ed.), pp. 73-112. CAB international.

- Beaver, J.A y Iezzoni, A.F. (1990). Allozyme inheritance and diversity in sour cherry. *HortScience* 25, 1081.
- Beaver, J.A y Iezzoni, A.F. (1993). Allozyme inheritance in tetraploide sour cherry (*Prunus cerasus*). *J.Am.Soc.Hort.Sci.* 118, 873-877.
- Beaver, J.A, Iezzoni, A.F. y Ramm, C.W. (1995). isozyme diversity in sour sweet and ground cherry. *Theor. Appl.Genet.* 90, 847-852.
- Beaver, R., J. y Crawford, D., J. (1986). allozyme divergence among five diploid species of *Antenaria* (Asteracea:Inulae) and their diploid derivatives. *Am. J. Bot.* 73, 287-296.
- Beckman, T.G. y Perry, R.L. (1987). the effects of scion and graft union root growth potential (RGP) of two seedling cherry rootstock, *Prunus mahaleb* L and *P. avium* L.Mazzard. *Fruit Variety Journal* 41, 8-13.
- Blazso, G. y Gabor, M. (1994). anti-inflammatory effects of cherry (*Prunus avium* L.) stalk extract. *Pharmazie* 49(7), 540-541.
- Boritzki, M., Plieske, J. y Strus, D. (2000). Cultivar identification in sweet cherry (*Prunus avium* L.) using AFLP and microsatellite markers. *Acta Hort.* 538.
- Borve , J. y Meland, M (1998). Rain crover protection against cracking of sweet cherries I. the effects on marketable yield. *Acta Hort.* 468.
- Brewer, G., J. y Singh , C.F. (1971). "Introduction to isozymes techniques," Academic Press, New York.
- Bringhursts, R. S., Arulsekar, S., Hancock, A.M. y Voth, V (1981). Electroforetic characterization of strawberry cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 106(5), 684-687.
- Brown, S. K., Iezzoni, A.F. y Fogle, H. W. (1996). Cherries. *In* "Fruit Breeding volume I. Tree and Tropical Fruits" (J. Janick & J. N. Moore, eds.), pp 213-255. John Wiley & Sons, Inc, New York, USA.
- Brunner, J.F. (1996). Management and control of insect and mite pests of cherry. *In* "Cherries: crop physiology, production and uses" (A. D. Webster y N. E. Looney, eds.), pp. 367-391. CAB international, Wallington, Oxon, UK.
- Bullock, R. M. (1952). a study of some inorganic compounds and growth promoting chemicals in relation to fruit cracking o Bing cherries at maturity. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci* 59, 243-253.
- Burkhart, T., Manchester, H. y Reiter (2001). Detection and quantification of the antioxidant melatonin in Montmorency and Balton tart cherries (*Prunus cerasus*). *Journal of the chemical society* 49, 4898-4902.
- Byrne, D.H. (1989a). Inheritance of five isozyme loci in apricot. *HortScience* 24(6), 1015-1016.
- Byrne, D.H. y Littleton (1989b). Characterization of isozyme variability in apricots. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114(4), 674-678.
- Caetano Anollés, G. (1993). "Amplifying DNA with arbitrary oligonucleotide primers. PCR methods and aplicaciones."
- Carepetian, J., Estilai, A. y Hashemi, A. (1994). Variation and Inheritance of isozymes in Safflower. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119, 624-628.
- Cation, D. y Friday, J. (1859). Cracking and root control of sweet cherry. *Plant Disease Reporter* 43, 394-395.
- Cerezo, M. R., Company, Socias i y Arús, P. (1989). Identification of almond cultivars by pollen isozymes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114(1), 164-169.

- Chaparro, J.X., Durham, R.E., More, G.E. y Sherman, W.B. (1987). Use of isozyme techniques to identify "peach nonpareil" almond hybrids. *HortScience* 22, 300-302.
- Christensen, J.V (1969). Register of sweet cherry in Scandinavia. *Nordjordburgsforsk* 3, 152-170.
- Christensen, J.V (1970). cultivar trial with sweet cherry. *Tidsskr.planteavl* 74, 301-312.
- Christensen, J.V (1972a). Cracking in cherries: determination of cracking susceptibility. *Acta agric.Scand.* 22, 126-128.
- Christensen, J.V (1972b). Revner y kirsebaer V Nogle salt og kemikaliers virkning pa revnetilbojeligheden. cracking in cherries v. the influence of some salts and chemicals on cracking. *Frukt og Baer Oslo*, 37-47.
- Christensen, J.V (1974). Numerical studies of morphological distinction marks in sweet cherry cultivars. identification key for 34 cultivars. *Tidsskr.planteavl* 78, 303-312.
- Christensen, J.V (1975). Cracking in cherries, VII: Cracking susceptibility in relation to fruit size and firmness. *Acta agric.Scand.* 25, 11-13.
- Christensen, J.V (1976). Crack formation in cherries. *Tidsskr.planteavl* 80, 289-324.
- Christensen, J.V (1985). production of cherries in western Europe. *Acta Hort.* 169.
- Christensen, J.V (1996). Rain induced cracking of sweet cherries: its causes and prevention. In "Cherries: crop physiology, production and uses" (A. D. Webster yN. E. Looney, eds.), pp. 393--407. CAB international, Wallington, Oxon, UK.
- Crawford, D.J. (1983). Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. In "Isozymes in plant genetic and breeding, part A" (S. D. y. O. T. J. Tanksley, ed.), pp. 257-287. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam.
- Curvin, D.; McArdle, F. J. y Ritter, C.M. (1978). Fruit firmness and pectic composition of Montmorency cherries as influenced by differential nitrogen, phosphorus and potassium application. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci* 89, 72-79.
- Day, L.H. (1951). Cherry rootstocks in California. *California Agriculture Experimental Station Bulletin* 725, 7-11.
- Demirsoy, L. K. y Bilgener, S. (1998). the effects of preharvest calcium hidroxide application on cracking in 0900 "Ziraat", "Lambert" and "van" sweet cherries. *Acta Hort.* 468.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M.J., Poizat, C., Zaneto, A. y Arus, P. (2002). Development of microsatellite marks in peach (*Prunus persica* L. Batsh) and their use in gentic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl.Genet.* 105(1), 127-138.
- Doyle, J.J. y Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12, 13-15.
- Duneman, F. (1994). Genetic relationships in *Malus* evaluated by RAPD "fingerprinting" of cultivars and wild species. In "Progress in temperate fruit breeding" (H. S. Y. M. Kellerhals, ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- Durham, R.E., Moore, G.A. y Sherman, W.B. (1987). Isozyme banding patterns and their usefulness as genetic markers in peach. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 112, 1013-1018.
- Edin, M. (1989). Tabel Edabriz, porte greffe nanisant du cerisier. *Infos Paris* 55, 41-45.

- Edin, M., Garcia, A., Lichou, J. y Jourdan, J.M. (1996). Influence of dwarfing cherry rootstocks on fruit production. *Acta Hort.* 410, 239-245.
- Edson, C.E., Nugent, J.E., Thornton, G.E. y Laubach, J.E. (1998). Integrated sour cherry (*Prunus cerasus*) production in Northwest Lower Michigan. *Acta Hort.* 468, 505-513.
- Espada, J.L., Ferris, F. y Gella, R (1988). Características de algunas variedades interesantes de cerezo dulce. In "Informaciones Técnicas del Departamento de Agricultura y Montes de la Diputación General de Aragón".
- Esquinas, J. (1983). los recursos Fitogenéticos como patrimonio de la humanidad. Acciones internacionales para su salvaguarda. En: Los recursos Fitogenéticos y las nuevas variedades vegetales. ITEA 2, 15-16.
- Fabri, A., Hormaza, J.J. y Polito, V.S. (1995). Random Amplified Polymorphic DNA analysis of olive (*Olea europae* L.) cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 120(3), 538-542.
- Fernandez, J (1992). Variability in *Castanea sativa*, *C. crenata* and interspecific hybrids for GOT, ACO, APS, PGM, PGI, IDH, MDH, SDH isozymes. In "Abstracts international symposium on populations genetics and gene conservation of forest trees", carcans maubuisson.
- Fernandez, R.T. y Flore, J.A. (1998). Intermittent application of CaCl₂ to control rain cracking of sweet cherry. *Acta Hort.* 468.
- Fideghelli, C., Albertini, A. y Mannino, P. (1983). Advanced sweet cherry dwarf selections obtained by ionizing radiations. *Acta Hort.* 140, 95-101.
- Flores, F. (1985). "Historia de una comarca alto extremeña: el vale del Jerte," Cáceres.
- Fogle, H. W. (1975). Cherries. In "Advances in Fruit Breeding" (J. Janick , and Moore, J.N., ed.), pp. 348-366. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana
- Fogle, Harold W. (1961). Source of propagation wood for cherry varieties and species in the United States and Canada. *Fruit. Vart. Hort. Dig.* 16, 2-17.
- Frascaria , N., Santi, F. y Gouyon, P.H. (1993). Genetic differentiation within and among population of chestnut(*Castanea sativa* Mill.) and wild cherry (*Prunus avium* L.). *Heredity* 70, 634-641.
- García, A. y Tsunewaki, k (1977). Cytogenetical studies in the genus *Persea* (Lauracea) III. Electrophoretical studies on peroxidase isozymes. *Jap. J. Genet.* 52, 379-386.
- Gerlach, H.K. y Stosser, R.(1997). Patterns of Random Amplified Polymorphic DNAs for sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivar Identification. *Angew. Bot.* 71, 212-218.
- Gonzalez -Andrés, F., Chavez, J., Montáñez, G y Ceresuela, J.L. (1999). Characterization of woody *Medicago* (sect.*Dendrotelis*) species, on the basis of seed and seedling morphometry. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46(5), 505-519.
- Gottlieb, L., D. (1981). Electrophoretic evidence and plant populations. *Prog. Phytochemic.* 7, 1-46.
- Gottlieb, L., D. (1982). conservation and duplication of isozymes in plants. *Science* 216, 373-379.
- Goulão, L., Valdeviesso, T., Santana, C. y Oliveira, C. (2001). Comparison between phenetic characterization using RAPD and ISSR markers and phenotypic data of cultivated Chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 48(4), 329-338.

- Granger, A.R., Clark, G.R. y Jackson, J.F. (1993). Sweet cherry cultivar identification by leaf isozyme polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* 86.
- Gruppe, W. (1985). Evaluating orchard behaviour of cherry rootstocks. *Acta Hort.* 169, 199-207.
- Guardiola, J.L., Zaragoza, S., Bono, R. y Medina, M. (1977). Características del fruto y de la planta de cinco mutaciones de satsuma. In "I congreso mundial de citricultura", Vol. II, pp. 65-67.
- Hancock, A.M. y Yezzone, A.F. (1988). Malate dehydrogenase isozyme patterns in seven *Prunus* species. *HortScience* 23, 381-383.
- Hedrick, U.P., Howe, G.H., Taylor, O.M., Tubergen, C.B. y Wellington, R. (1915). "The cherry of New York," New York.
- Hemmat, M., Weeden, N.F., Manganaris, A.G. y Lawson, D. M. (1994). Molecular marker linkage map for apple. *Journal of Heredity* 85, 4-11.
- Hermann, M. y Feucht, W. (1984). Fruit cracking in sweet cherries. electron optical aspect of the fruit surface, calcium suplement and ckrack developmen. *Erwerbsobstbau* 26, 8-11.
- Herrero, J y Cobs (1964). cartografia de frutales de hueso y pepita. In "E.E. aula dei. Ejemplar mecanografiado".
- Hetenyi, E. y Valyi-Nagy, T. (1969). Pharmacology of cherry (*Prunus avium* L) Stalk extract. II. cardiovascular effects. *acta Phisiol. Acad Sci Hung* 35(2), 189-97.
- Hillig, K.W. y Iezzone, A.F. (1988). Multivariate analysis of a sour cherry germplasm collection. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 113, 928-934.
- Hjalmarsson, I. y Ortiz, R. (2000). In situ and ex situ assessment of morphological and fruit variation in Scandinavian sweet cherry. *Scientia Horticulturae* 85, 37-49.
- Hormaza, J.J. (1995). Marcadores de ADN aplicados a la mejora de frutales. *ITEA* 00, 00-00.
- Iezzone, A.F. (1984). Sour cherry breeding program in eastern Europe. *Fruit Variety Journal* 38, 121-125.
- Iezzone, A.F. (1986). Variance components and sampling procedures for fruit size and quality in sour cherry. *HortScience* 21, 1040-1042.
- Iezzone, A.F. (1996). Sour Cherry Cultivars: Objectives and Methods of Fruit Breeding and Characteristics of Principal Commercial Cultivars. In "Cherries: Crop Physiology, Production and Uses" (A. D. Webster y N. E. Looney, eds.), pp. 113-125. CAB international, Wallington, Oxon, UK.
- Iezzone, A.F., Schmidt, H. y Albertini, A. (1990). Genetic resource of temperate fruitand nut crops. 3: cherries. *Acta Hort.* 190, 111-173.
- Ingram, C (1948). "Ornamental cherries," London.
- IPGRI (1985). "Cherry Descriptors," Roma.
- IUB, International Union of Biochemistry Nomenclature committee, ed. (1984). "Enzyme Nomenclature," New York.
- Kertesz, Z.I. y Nebel, B.R. (1935). observationson the cracking cherries. *Plant Phisiol* 10, 763-771.
- Lapins, K.O. (1983). Mutacion breeding. In "Methods in fruit breeding" (J. N. M. J. Janick, ed.). Purdue university press, West Lafayet.
- Larsen, F.E. (1972). Characteristics of available sweet cherry rootstocks. *Good Fruit Growers* 22, 14-15.
- Lichou, J., Edin, M., Tronel, C y Saunier, R. (1990). "Le cerisier. La cerise de table" CTIFL.

- Link, W., Dixkens, C., Singh, M., Schwal, M. y Melchinger, A.E. (1995). genetic diversity in European and Mediterranean faba bean germplasma revealed by RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 90, 27-32.
- Linnaeus (1753). "Specie Plantarum." 1st edn. Laurentii Salvii Holmiae
- Liu, Fan, Von Bothmer, R. y Salomon, B (2000). genetic diversity in European accessions of the Barley Core collection as detected by isozyme electrophoresis. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47(6), 571-581.
- Lodhi, M.A., Guang-Ning, Ye., Weden, N., F. y Reisch, B.L (1994). A simple and Efficient Method for DNA Extraction for Grapevine Cultivars and *Vitis* Species. *Plant Molecular Biology Reporter* 12(1), 6-13.
- Longstroth, M y Perry, R.L. (1996). Selecting the Orchard site, orchard planning and establishment. *In "Cherries: Crop Physiology, Production an Uses"* (A. D. W. Y. N.E.Looney, ed.), pp. 203-221. Cab international.
- Looney, N.E. (1985). Benefits of calcium spray below expectation in B.C. tests. *Good Fruit Growers* 36(10), 7-8.
- Loos, B.P. (1993). Allozyme variation within and between populations in *Lolium*. *Pl. Syst. Evol.* 188, 101-103.
- Market, C., L., y F. Moller. (1959). Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenic and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa* 45, 753 -763.
- Marshall, R.E. (1954). Cherry and cherries products. *In "Economic crops"* (Interscience, ed.), Vol. 5, New York.
- Mcready, R. M. y McComb, E. A. (1954). Texture change in canned cherries. *West canner & Packer* 46, 17-19.
- Meland, M y Skjervheim, K. (1998). Rain cover protection against cracking for sweet cherry orchards. *Acta Hort.* 468.
- Messenger, R., Arús, P. y Carrera, M. (1987). Identification of peach cultivars with pollen isozymes. *Scientia Horticulturae* 31, 107-117.
- Miller, A.N., Lombard, P.B., Westwood, M.N. y Stebins, R.L. (1990). tree and fruit growth of " Napoleon " cherry in responses to rootstock and planting method. *HortScience* 25, 176-178.
- Mink, G.I. y Jones, A.L. (1996). Cherry Disease: Their Prevention and Control. *In "Cherries: Crop Physiology, Production and Uses"* (A. D. a. L. Webster, N.E., ed.), pp. 347-366. CAB international.
- Monte-Corvo, L., Cabrita, L., Oliveira, C. y Leitão, J. (2000). Assessment of genetic relationships among *Pyrus* species and cultivars using AFLP and RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47(3), 257-265.
- Morales, R. (1998). "Utilización de sistemas isoenzimáticos (PGI, PGM e IDH) en la diferenciación de variedades comerciales de alfalfa," Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid.
- Moreno, J., Manzano, M.A., Toribio, F., Trujillo, I. y Rallo, L. (2001). Establecimiento del banco de germoplasma de variedades de cerezo del Valle del Jerte. *In "IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas"* (S. E. d. C. Hortícolas, ed.), Cáceres.
- Moreno, S. (1996). Caracterización de germoplasma de Vid (*Vitis vinifera* L.) mediante marcadores moleculares. Caracterización de germoplasma, Universidad Politécnica de Madrid-Escuela Técnica de Ingenieros Agrónomos, Madrid.
- Moreno, S., Gogorcena, Y. y Ortiz, J.M. (1995). the use of RAPD markers in identification of cultivar of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). *SCI Hortic. Amsterdam* 62, 237-243.

- Mulcahy, D. L., Cresti, M., Sansavini, S., Douglas, G.C., Linskens, H.F., Bergamini Mulcahy, G., Vignani, R. y Pacaldi, M. (1993). The use of random amplified polymorphic DNAs to fingerprint apple genotypes. *SCi Hort. Amsterdam* 54, 89-96.
- Mullis, K. B. (1990). the unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci. Am.* 36-43.
- Newbury, H.J. y Ford-Lloyd (1993). The use of RAPD for assessing variation in plants. *Plant Growth Regulation* 12, 43-51.
- Nielsen, G. y Johansen, H.B. (1986). Proposal for the identification of barley varieties based on the genotype for the 2 hordein and 39 isozyme loci of 47 reference varieties. *Euphytica* 35, 717-728.
- Olden, E.J. y Nybom, N. (1968). On the origin of *Prunus cerasus*. L. *Hereditas* 59, 327-345.
- Opara, L.U., Studman, C.J. y Banks, N.H. (1997). fruit skin splitting and cracking. *Hort. Rev.* 19, 217-262.
- Ortiz, J.M., ed. (1999). "Identificación molecular de germoplasma de vid," Madrid.
- Panda, S, Martin, J.P. y Aguinagald, I. (2003). Chloroplast DNA study in sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) using PCR-RFLP method. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50(5), 489-495.
- Paran, I. y Michelmore, R.W. (1993). Development of PCR- based markers linked to down mildew resistance in lettuce. *Theor. Appl.Genet.* 85(8), 985-993.
- Parfitt, D.E. y Arulsekar, S. (1989). Inheritance and isozyme diversity for PGI and PGM among grape cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114, 486-491.
- Parnia, P., Mladin, G. y Popescu, M (1985). A new autochthonous vegetative rootstock for sweet and sour cheery. *Acta Hort.* 169.
- Parry, M.S. (1986). the effect of budding height on the field performance of two apples cultivars on three rootstock. *J.Hort Sci* 61, 1-7.
- Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J. y Breton-Davidian, J. (1987). "Manuel Technique de Génétique par Électroforèse des protéines.," Paris.
- Pennel, D. y Webster, A. D. (1996). Sweet cherries: protection of fruit from bird and rain damage. *In* "Cherries: Crop physiology, production and uses" (A. D. Webster y N. E. Looney, eds.). CAB international, Wallington. Oxon, UK.
- Perry, R.L. (1987). Cherry rootstocks. *In* "Rootstocks for fruit crops" (R. C. R. &R.F. Carlson, ed.), pp. 217-264. J.Wiley & Sons Inc, New York.
- Pontikis, C.A., Loukas, M y Kousonis, G. (1980). The use of biochemical markers to distinguish olive cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 55(4), 333-343.
- Powers, W. L. y Bolden, W.B. (1947). control of cracking of fruit by rain. *Science* 105.
- Rafalski, J.A. y Tingey, S.V. (1993). Genetic diagnostics in plant Breeding: RAPDs, microsateles and machines. *Trends in genetics* 9(8), 275-280.
- Rajora, P y Rabman, H (2003). Microsatelite DNA and RAPD fingerprint, identification and relationship of hibrid poplar *Populus x canadiensis*. *Theor. Appl.Genet.* 106(3), 470-477.
- Rohlf, F.J. (1990) NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Versión 1.60.Exeter software, N.Y.
- Roth, M. y Grupp, W. (1985). the effects of water logging on root and shoot growth of three clonal cherry rootstocks. *Acta Hort.* 169, 295-302.
- Rowe, R.N. y Beardsel, D.V (1973). Water logging of fruit trees. *Horticultural Abstracts* 43, 533-548.

- Ruiz, M., Varela, F y Carrillo, J.M. (1997). Analysis of the discrimination power of agro/morphological and biochemical descriptors in a sample of the Spanish collection of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 44(3), 247-255.
- Sadowski, A., Jadczyk, E. y Stepniewska, M. (1996). Effect of height budding on F.12/1 rootstock and of depth of planting upon growth and yield of Schattmorelle sour cherry trees. *Acta Hort.* 410, 295-297.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf F.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. y Erlich, H.A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 219, 487-491.
- Salisbury, F.B. y Ross, C.W. (1991). "Plant physiology," Belmont, California.
- Sánchez-Escribano, E., Ortiz, J.M. y Cenis, J.L. (1998). Identification of table grapes cultivars (*Vitis vinifera* L.) by the isoenzymes from the woody stems. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45(2), 173-179.
- Sanchez-Monge, E. (1985). Mejora Genética Actual y Futura. In "Simposium Genética Agraria y Sociedad".
- Santi, F. y Lemoine, M. (1990a). Genetic markers for *Prunus avium* L., 1-Inheritance and linkage of isozyme loci. *Ann. Sci.For.* 47, 131-139.
- Santi, F. y Lemoine, M. (1990b). Genetic markers for *Prunus avium* L., 2:clonal identification and discrimination from *P. cerasus* and *P. avium*. *Ann. Sci.For.* 47, 219-227.
- Scandalios, J.G. (1977). Isozymes: genetic and biochemical regulation of alcohol dehydrogenase. In "Regulation of enzymes synthesis and activity in higher plants" (H. Smith, ed.), pp. 129-153. Academic Press, London.
- Schueler, S., Tusch, A., Schuster, M. y Ziegenhagen, B. (2003). Characterisation of microsatellite in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) markers for individual identification and reproductive processes. *Genome* 46(1), 95-102.
- Scott, N. y Thomas, M. (1994). DNA typing of grapevines. A universal technology for identification, cultivar description and evaluation of genetic relatedness.
- Sekse, L. (1998). fruit cracking mechanism in sweet cherries (*Prunus avium*). *Acta Hort.* 468.
- Sharma, S.K., Knox, M.R. y Ellis, T.H.N. (1996). AFLP analysis of the diversity and phylogeny of lens and its comparison with RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* 93, 751-758.
- Shimada, Takehico, Haji, Takashi, Yamaguchi, Masami y Takeda, Toshihide (1994). Classification of Mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) by RAPDs assay. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 63 (3), 543-551.
- Shimada, Takehico, Shiratori, Toshiharu, Hayama, Hiroko, Nishimura, Kouichi, Yamaguchi, Masami y Yoshida, Masao (1999). Genetic diversity of cherries characterized by Random Amplified polymorphic DNA (RAPDs analysis). *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 68(5), 984-986.
- Smith, J.S.C. y Wich, R.D. (1986). The identification of female self in hybrid maize: a comparison using electrophoresis and morphology. *Seed Science and Technology* 14, 1-8.
- Smykov, V. K. (1988). Apricot breeding in URSS. *Acta Hort.* 209, 115-- 120.
- Spiegel-Roy (1990). economic and agricultural impact of mutation breeding in fruit trees. *Mut. Breed. Revue* 5, 26 pp.
- Stamper, F y Smole, J. (1992). Identification of apple and sweet cherry cultivars, peach hybrids and apricot ecotypes by isozyme phenotyping. *Acta Hort.* 317.

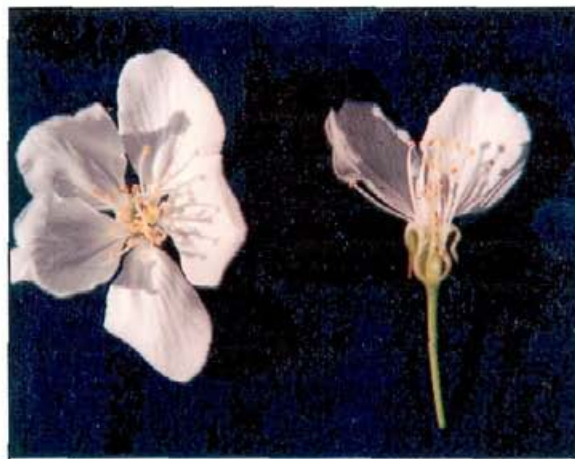
- Stebbins, G.L. (1990). Introduction. In "Isozymes in Plant Biology" (D. E. S. a. P. S. Soltis, ed.).
- Stockinger, E.J., Mulnix, C.A., Long, C.M., Bretin, T.S y y Iezzoni, A.F. (1996). A linkage map of sweet cherry based on RAPD analysis of a microspore-derived callus culture population. *Journal of Heredity* 87.
- Strada, Della, Peroni, G.F. , Fieghelli, C. , Monastra, F y cobianchi, D., eds. (1989). "Monografia di cultivar di albericocco.," Vol. 355, pp. 1-240. Istituto Sperimentale per la frutticoltura, Roma.
- Tanksley, S.D. y Orton, T.J. (1983). "Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A.," Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- Torres, A., M. y Bergh, B., O. (1980). Fruit and leaf isozyme as genetic markers in avocado. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 105, 614-619.
- Torres, A., M., Soots, R.K. y Diedenhofen, V. (1978). Leaf isozymes as genetic markers in citrus. *Am. J. Bot.* 65 (8), 869-881.
- Torres, A., M. y Tisserat, B. (1980). leaf isozymes as genetic markers in date palm. *Am. J. Bot.* 76, 162-167.
- Torres, A.M. (1990). Isozyme Analysis of fruit tree. In "Isozymes in Plant Biology" (D. E. S. y. P. S. Soltis, ed.). Chapman and Hall Ltd, London.
- UPOV (1976). "Guideline for the conduct of test for distinctness, homogeneity and stability of the cherry.."
- USDA (1973). Agricultural Marketing Service. United States Plant Variety Protection. In "Plant Variety Protection Office", pp. 1-18.
- Vargas, E.M., Macaya, G, Baudoin, J.P. y Rocha, O.J. (2001). Case study on breeding systems and systems and its consequences for germplasm conservation: 3. Electrophoretic mobility of phaseolins in wild population of Lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) in Central Valey of Costa Rica. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48(2), 109-120.
- Vavilov, N.I. (1951). "The origin, variation, imunityand breeding of cultivated plants," New York.
- Vega, K., Chavira, M., De la Vega, O., Simpson, J. y Vandemark, G. (2001). Analysis of genetic diversity in *Agave tequilana* var. azul using RAPD markers. *Euphitica* 119(3), 335-341.
- Verner, L. (1938). Reduction of cracking in sweet cherries following the use of calcium sprays. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci* 36, 271-274.
- Veyrat, P (1983). La erosión genética frente a la protección de variedades. *ITEA* 2, 410-450.
- Vial, P. M. (1998). Characterization of apple, pear, and cherry varieties through isoenzymatic analysis(MDA,PGL,PGM). *Agris*.
- Watkins, R (1976). Cherry, plum, peach apricot and almond. In "Evolution of crop plants" (N. W. Simmonds, ed.), pp. 242-247. Lon man, New York.
- Webster, A. D. (1984). The effects of fumigation and rootstocks on the growth of young cherry trees planted in land previously cropped with cherries. *Journal of Horticultural Science* 59, 349-358.
- Webster, A. D. (1996). The Taxonomic Classification of Sweet and Sour Cherries and a Brief History of There Cultivation. In ""Cherries: Crop physiology, production and uses" (A. D. Webster y N. E. Looney, eds.), pp 3-24. CAB international, Wallington, Oxon, UK.
- Webster, A. D. (1998). Labour demand and expected returns by different tree training forms and planting densities in sweet cherry orchards. *Acta Hort.* 468.

- Webster, A. D. y Cline, J. (1994). Cherries, cracking the problem. *Grower* 121(26), 14-16.
- Webster, A. D. y Looney, N.E. (1996). World distribution of sweet and sour cherry production: national statistics. *In* "Cherries: Crop physiology production and uses" (A. D. Webster y N. E. Looney, eds.), pp. 25-69. CAB international, Wallington, Oxon, UK.
- Webster, A. D. y Schmidt, H. (1996). Rootstock for sweet and sour cherries. *In* "cherries: crop Physiology, production and uses" (A. D. L. Webster, N.E., ed.). CAB international, Wallington, Oxon, UK.
- Weden, N., F. y Gottlieb, L., D. (1979). Distinguishing allozymes and isozymes of phosphoglucosomerase by electroforetic comparison of pollen and somatic tissue. *Biochem. Genet.* 17, 287-296.
- Weden, N., F. y Gottlieb, L., D. (1980). isolation of cytoplasmic enzymes from pollen. *Plant Phisiol* 66, 400-403.
- Welsh, J. y McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids.Res.* 18, 7213-7218.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. y Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as markers. *Nucl. Acids.Res.* 18, 6531-6535.
- Wunsh, A y Hormaza, J.I. (2002). Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach (*Prunus persica* L. Batsch) SSR sequences. *Heredity* 89(1), 56-63.
- Zabeau, M. y Vos, P. (1993). European patent application, publication number EP 0 534 858 A1.
- Zaragoza, S. , Trenor, I. y Alonso, E. (1990). Influencia del aclareo sobre el calibre de los frutos de la Satsuma clausellina. *Levante agricola* 301-- 302, 156--160.
- Zhebentyayeva, N, Reighard, L, Gorina;M y Abbott, G (2003). Simple sequence repeat (SSR) analysis of assessment of genetic variability in apricot germplasm. *Theor. Appl.Genet.* 106(3), 435-444.
- Zhou, Z.Q. y Li, Y.N. (2000). The RAPD evidence for the Phylogenetic relationship of the closely related species of cultivated apple. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47(4), 353-357.

ANEJO: Fichas varietales

BURLAT (*Prunus avium*)

- **Árbol**
- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Muy Fuerte

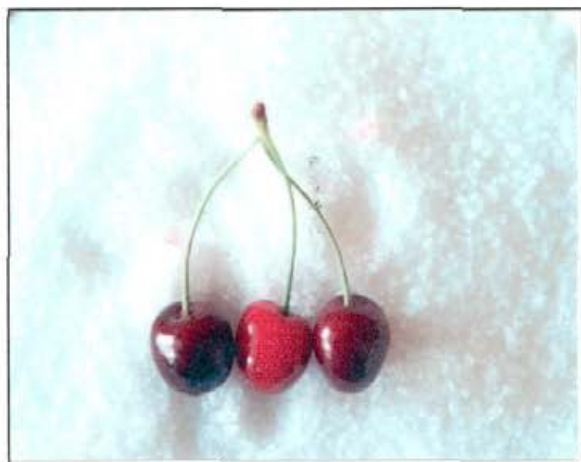


- **Fruto**
- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Intermedia
- **Fecha maduración:** primeros de junio
- **Volumen:** $\mu = 5,68 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,15$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 15,19^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 1,77$
- **Ácidos:** $\mu = 5,12 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,31$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,69 \text{ cm}$; $\sigma = 0,37$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 693 \text{ g}$; $\sigma = 21,18$

- **Flor**
- **Época de floración:** Precoz
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,74 \text{ cm}$; $\sigma = 0,29$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,85 \text{ cm}$; $\sigma = 0,12$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,43 \text{ cm}$; $\sigma = 0,10$
- **Número de estambres:** $\mu = 38,34$; $\sigma = 0,89$
- **Hoja**
- **Longitud del limbo:** $\mu = 15,40 \text{ cm}$; $\sigma = 0,99$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,75 \text{ cm}$; $\sigma = 0,52$
- **Longitud del peciolo:** $\mu = 4,03 \text{ cm}$; $\sigma = 0,67$

FRANCESA DE ALENQUER *(Prunus avium)*

- **Árbol**
- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Débil



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Intermedia leve
- **Fecha maduración:** mediados de junio
- **Volumen:** $\mu = 4,03 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,36$
- **Forma:** Acorazonada
- **Azúcares:** $\mu = 17,88 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 1,16$
- **Ácidos:** $\mu = 8,88 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,85$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,59 \text{ cm}$; $\sigma = 0,23$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 644,57 \text{ g}$; $\sigma = 102,1$

■ Flor

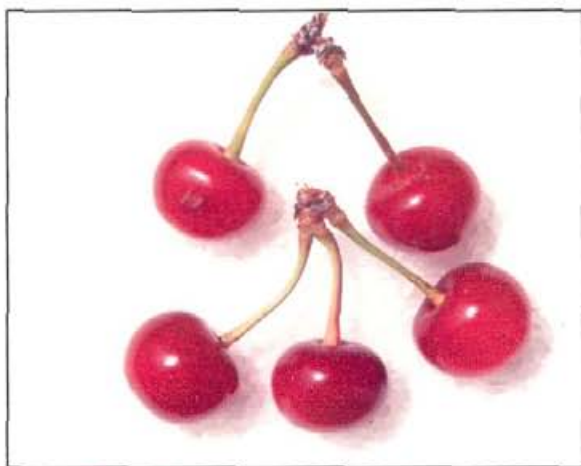
- **Época de floración:** Media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,88 \text{ cm}$; $\sigma = 0,15$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,39 \text{ cm}$; $\sigma = 0,03$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,28 \text{ cm}$; $\sigma = 0,08$
- **Número de estambres:** $\mu = 38,61$; $\sigma = 0,68$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 15,80 \text{ cm}$; $\sigma = 1,25$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,22 \text{ cm}$; $\sigma = 0,73$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 4,48 \text{ cm}$; $\sigma = 0,52$

GALEGA (*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Medio
- **Vigor:** Fuerte



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Rojo
- **Firmeza:** Leve
- **Fecha maduración:** inicio de julio
- **Volumen:** $\mu = 2,15 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,49$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 21,03 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 1,89$
- **Ácidos:** $\mu = 16,57 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,66$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,35 \text{ cm}$; $\sigma = 0,12$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 296,26 \text{ g}$; $\sigma = 42,75$

■ Flor

- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,50 \text{ cm}$; $\sigma = 0,20$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,13 \text{ cm}$; $\sigma = 0,09$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,04 \text{ cm}$; $\sigma = 0,09$
- **Número de estambres:** $\mu = 30,43$; $\sigma = 0,67$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 7,57 \text{ cm}$; $\sigma = 0,63$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 3,58 \text{ cm}$; $\sigma = 0,43$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 1,70 \text{ cm}$; $\sigma = 0,09$

GARRAFAL NEGRA

(*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Fuerte



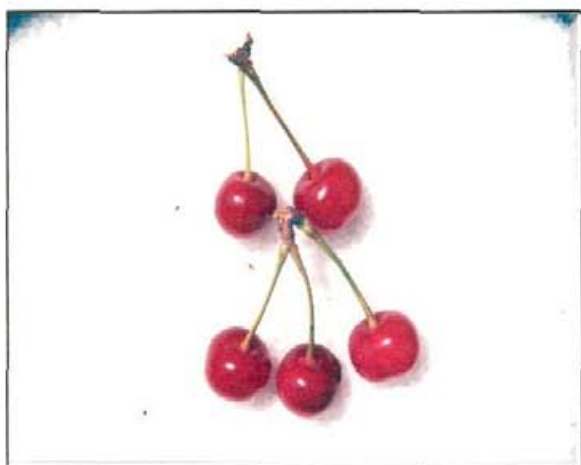
- **Fruto**
- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Leve
- **Fecha maduración:** inicio de julio
- **Volumen:** $\mu = 4,77 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,64$
- **Forma:** Acorazonada
- **Azúcares:** $\mu = 21,20 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 2,16$
- **Ácidos:** $\mu = 9,94 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,16$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,68 \text{ cm}$; $\sigma = 0,26$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 690,41 \text{ g}$; $\sigma = 132,92$

- **Flor**
- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,57 \text{ cm}$; $\sigma = 0,27$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,26 \text{ cm}$; $\sigma = 0,04$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,25 \text{ cm}$; $\sigma = 0,06$
- **Número de estambres:** $\mu = 30,41$; $\sigma = 0,52$

- **Hoja**
- **Longitud del limbo:** $\mu = 11,61 \text{ cm}$; $\sigma = 0,83$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 5,22 \text{ cm}$; $\sigma = 0,43$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 2,85 \text{ cm}$; $\sigma = 0,26$

GARRAFAL ROSA

(*Prunus cerasus*)



Fruto

- **Color de la epidermis:** rojo
- **Color de la pulpa:** Rojo
- **Firmeza:** leve
- **Fecha maduración:** inicio de julio
- **Volumen:** $\mu = 2,29 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,62$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 19,50 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 2,17$
- **Ácidos:** $\mu = 17,41 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,03$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,48 \text{ cm}$; $\sigma = 0,30$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 327,49 \text{ g}$; $\sigma = 131,11$

Árbol

- **Porte:** Medio
- **Vigor:** Medio

Flor

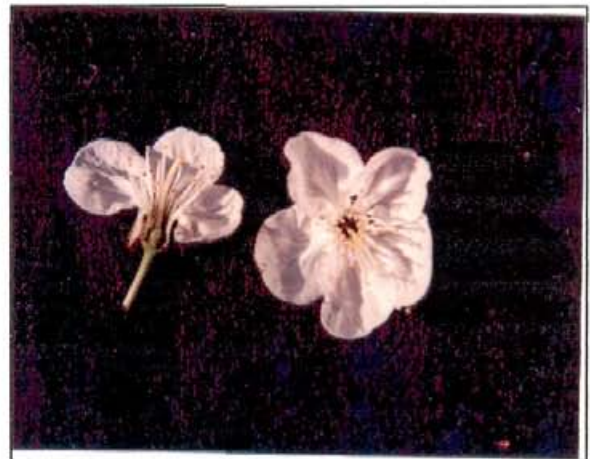
- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,65 \text{ cm}$; $\sigma = 0,27$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,23 \text{ cm}$; $\sigma = 0,11$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,12 \text{ cm}$; $\sigma = 0,09$
- **Número de estambres:** $\mu = 31,21$; $\sigma = 1,82$

Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 7,63 \text{ cm}$; $\sigma = 0,68$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 3,59 \text{ cm}$; $\sigma = 0,59$
- **Longitud del peciolo:** $\mu = 1,80 \text{ cm}$; $\sigma = 0,13$

GARRAFAL (*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Muy Fuerte



- **Fruto**
- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Rojo
- **Firmeza:** leve
- **Fecha maduración:** inicio julio
- **Volumen:** $\mu = 4,18 \text{ cm}^3$; $\sigma = 1,10$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 22,83 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 1,50$
- **Ácidos:** $\mu = 9,19 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,36$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,85 \text{ cm}$; $\sigma = 0,58$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 510,95 \text{ g}$; $\sigma = 155,35$

- **Flor**
- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,51 \text{ cm}$; $\sigma = 0,25$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,18 \text{ cm}$; $\sigma = 0,07$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,14 \text{ cm}$; $\sigma = 0,11$
- **Número de estambres:** $\mu = 30,73$; $\sigma = 0,35$
- **Hoja**
- **Longitud del limbo:** $\mu = 11,61 \text{ cm}$; $\sigma = 0,83$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 5,22 \text{ cm}$; $\sigma = 0,43$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 2,85 \text{ cm}$; $\sigma = 0,26$

LISBOETA (*Prunus avium*)

■ **Árbol**

- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Débil



■ **Fruto**

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Intermedia
- **Fecha maduración:** mediados de junio
- **Volumen:** $\mu = 4,70 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,04$
- **Forma:** Alargada
- **Azúcares:** $\mu = 23,6 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 2,22$
- **Ácidos:** $\mu = 7,63 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,33$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 5,21 \text{ cm}$; $\sigma = 0,04$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 561,90 \text{ g}$; $\sigma = \text{un año}$

■ **Flor**

- **Época de floración:** media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,44 \text{ cm}$; $\sigma = 0,04$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,59 \text{ cm}$; $\sigma = 0,06$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,28 \text{ cm}$; $\sigma = 0,07$
- **Número de estambres:** $\mu = 35,09$; $\sigma = 1,37$

■ **Hoja**

- **Longitud del limbo:** $\mu = 15,27 \text{ cm}$; $\sigma = 1,04$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,88 \text{ cm}$; $\sigma = 0,69$
- **Longitud del peciolo:** $\mu = 4,79 \text{ cm}$; $\sigma = 0,63$

MARINGA (*Prunus avium*)

■ **Árbol**

- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Débil



■ **Fruto**

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Intermedia firme
- **Fecha maduración:** mediados de junio
- **Volumen:** $\mu = 6,07 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,53$
- **Forma:** Reniforme
- **Azúcares:** $\mu = 21,37 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 4,91$
- **Ácidos:** $\mu = 8,34 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,88$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,28 \text{ cm}$; $\sigma = 0,09$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 727,13 \text{ g}$; $\sigma = 145,41$

■ **Flor**

- **Época de floración:** Media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,17 \text{ cm}$; $\sigma = 0,32$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,48 \text{ cm}$; $\sigma = 0,14$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,32 \text{ cm}$; $\sigma = 0,08$
- **Número de estambres:** $\mu = 37,31$; $\sigma = 0,66$

■ **Hoja**

- **Longitud del limbo:** $\mu = 15,21 \text{ cm}$; $\sigma = 0,91$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,26 \text{ cm}$; $\sigma = 0,11$
- **Longitud del peciolo:** $\mu = 3,57 \text{ cm}$; $\sigma = 0,10$

MARTINHO D'ÓBIDOS (*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Caedizo
- **Vigor:** Fuerte

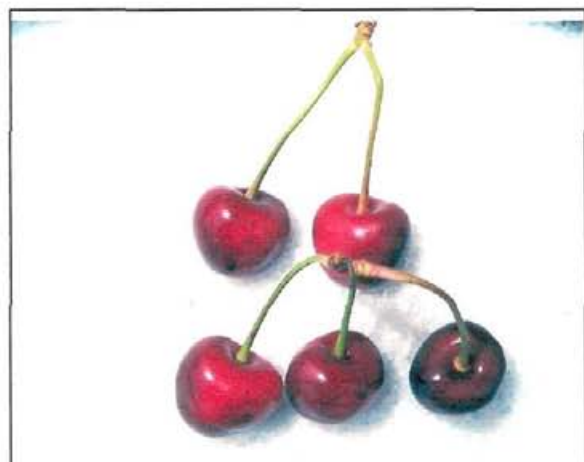


- **Fruto**
- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Rojo
- **Firmeza:** leve
- **Fecha maduración:** inicio julio
- **Volumen:** $\mu = 2,56 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,37$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 17,43 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 0,74$
- **Ácidos:** $\mu = 19,38 \text{ g/l}$; $\sigma = 2,16$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,46 \text{ cm}$; $\sigma = 0,24$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 368,56 \text{ g}$; $\sigma = 95,87$

- **Flor**
- **Época de floración:** Media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,96 \text{ cm}$; $\sigma = 0,22$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,33 \text{ cm}$; $\sigma = 0,09$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,32 \text{ cm}$; $\sigma = 0,0,3$
- **Número de estambres:** $\mu = 36,53$; $\sigma = 2,27$
- **Hoja**
- **Longitud del limbo:** $\mu = 9,97 \text{ cm}$; $\sigma = 0,88$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 4,10 \text{ cm}$; $\sigma = 0,51$
- **Longitud del peciolo:** $\mu = 1,59 \text{ cm}$; $\sigma = 0,12$

MORANGÃO (*Prunus avium*)

- **Árbol**
- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Débil



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Blanco crema
- **Firmeza:** Firme
- **Fecha maduración:** Fines de junio
- **Volumen:** $\mu = 5,25 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,24$
- **Forma:** Reniforme
- **Azúcares:** $\mu = 24,03 \text{ °Brix}$; $\sigma = 4,49$
- **Ácidos:** $\mu = 7,11 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,84$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,93 \text{ cm}$; $\sigma = 0,20$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 639,09 \text{ g}$; $\sigma = 78,55$

■ Flor

- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,49 \text{ cm}$; $\sigma = 0,20$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,61 \text{ cm}$; $\sigma = 0,08$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,41 \text{ cm}$; $\sigma = 0,07$
- **Número de estambres:** $\mu = 37,59$; $\sigma = 0,11$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 14,21 \text{ cm}$; $\sigma = 0,89$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,15 \text{ cm}$; $\sigma = 0,66$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 3,89 \text{ cm}$; $\sigma = 0,49$

PEDRO MIGUEL D'ÓBIDOS (*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Caedizo
- **Vigor:** Fuerte



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Rojo
- **Firmeza:** leve
- **Fecha maduración:** inicio julio
- **Volumen:** $\mu = 2,88 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,19$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 20,03 \text{ °Brix}$; $\sigma = 3,08$
- **Ácidos:** $\mu = 21,30 \text{ g/l}$; $\sigma = 5,10$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,53 \text{ cm}$; $\sigma = 0,47$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 384,55 \text{ g}$; $\sigma = 98,44$

■ Flor

- **Época de floración:** Media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,00 \text{ cm}$; $\sigma = 0,24$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,36 \text{ cm}$; $\sigma = 0,07$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,37 \text{ cm}$; $\sigma = 0,0,6$
- **Número de estambros:** $\mu = 35,47$; $\sigma = 2,08$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 10,57 \text{ cm}$; $\sigma = 1,22$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 4,47 \text{ cm}$; $\sigma = 0,78$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 1,67 \text{ cm}$; $\sigma = 0,24$

PRECOCE BERNARD

(*Prunus avium*)

■ **Árbol**

- **Porte:** Medio
- **Vigor:** Fuerte



■ **Fruto**

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Intermedia leve
- **Fecha maduración:** Primeros de junio
- **Volumen:** $\mu = 5,18 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,49$
- **Forma:** Reniforme
- **Azúcares:** $\mu = 16,27 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 1,48$
- **Ácidos:** $\mu = 5,36 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,44$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 3,98 \text{ cm}$; $\sigma = 0,22$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 677,72 \text{ g}$; $\sigma = 42,75$

■ **Flor**

- **Época de floración:** Precoz
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,61 \text{ cm}$; $\sigma = 0,22$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,80 \text{ cm}$; $\sigma = 0,07$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,49 \text{ cm}$; $\sigma = 0,07$
- **Número de estambres:** $\mu = 35,08$; $\sigma = 2,30$

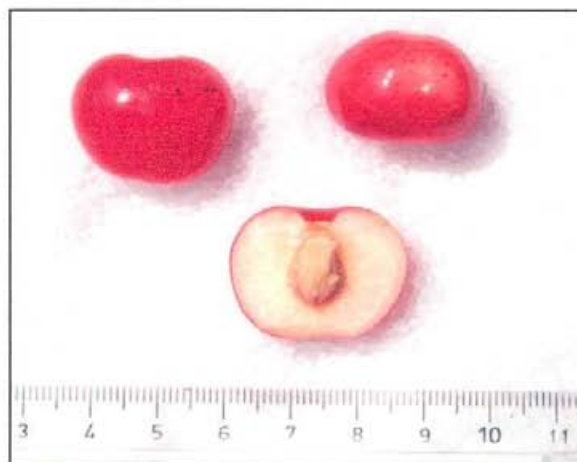
■ **Hoja**

- **Longitud del limbo:** $\mu = 15,79 \text{ cm}$; $\sigma = 0,68$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,28 \text{ cm}$; $\sigma = 0,26$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 4,26 \text{ cm}$; $\sigma = 0,63$

SACO 1 (*Prunus avium*)

■ **Árbol**

- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Medio



■ **Fruto**

- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Blanco crema
- **Firmeza:** Firme
- **Fecha maduración:** Fines de junio
- **Volumen:** $\mu = 4,39 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,65$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 23,73 \text{ °Brix}$; $\sigma = 3,69$
- **Ácidos:** $\mu = 7,56 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,38$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,61 \text{ cm}$; $\sigma = 0,06$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 543,78 \text{ g}$; $\sigma = 99,36$

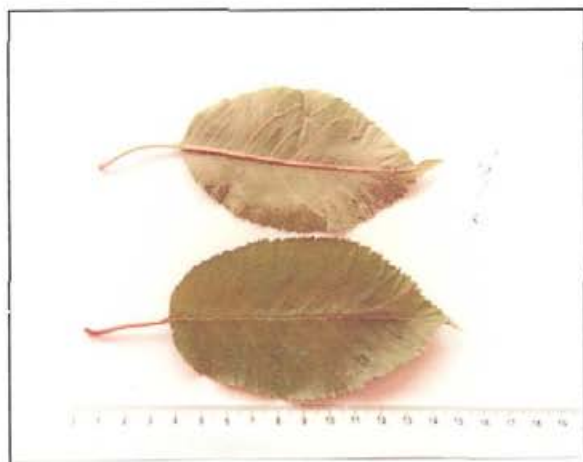
■ **Flor**

- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,33 \text{ cm}$; $\sigma = 0,44$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,71 \text{ cm}$; $\sigma = 0,10$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,38 \text{ cm}$; $\sigma = 0,05$
- **Número de estambres:** $\mu = 38,95$; $\sigma = 1,18$

■ **Hoja**

- **Longitud del limbo:** $\mu = 12,70 \text{ cm}$; $\sigma = 1,12$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 5,73 \text{ cm}$; $\sigma = 0,81$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 3,50 \text{ cm}$; $\sigma = 0,37$

SACO 2 (*Prunus avium*)



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Firme
- **Fecha maduración:** Fines de junio
- **Volumen:** $\mu = 4,79 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,48$
- **Forma:** Redondeada
- **Azúcares:** $\mu = 23,90 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 2,87$
- **Ácidos:** $\mu = 8,04 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,42$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,68 \text{ cm}$; $\sigma = 0,34$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 577,05 \text{ g}$; $\sigma = 42,75$

■ Árbol

- **Porte:** Caedizo
- **Vigor:** Débil

■ Flor

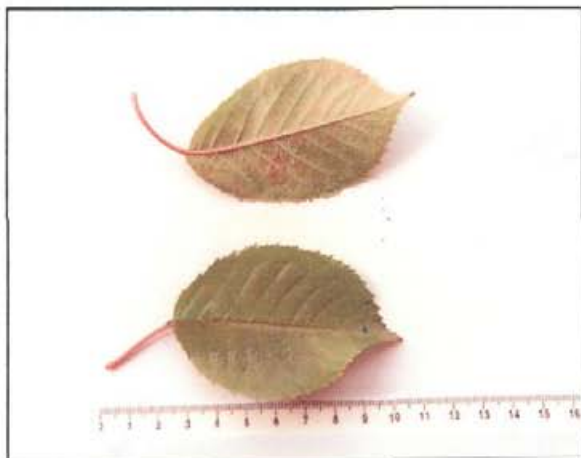
- **Época de floración:** Tardía
- **Díámetro de flor:** $\mu = 3,27 \text{ cm}$; $\sigma = 0,42$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,61 \text{ cm}$; $\sigma = 0,13$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,39 \text{ cm}$; $\sigma = 0,15$
- **Número de estambres:** $\mu = 37,45$; $\sigma = 1,29$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 12,25 \text{ cm}$; $\sigma = 1,75$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 5,67 \text{ cm}$; $\sigma = 0,81$
- **Longitud del peciolo:** $\mu = 3,66 \text{ cm}$; $\sigma = 0,68$

SEIXAS (*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Fuerte



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** leve
- **Fecha maduración:** inicio julio
- **Volumen:** $\mu = 3,02 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,78$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 20,65 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 2,41$
- **Ácidos:** $\mu = 9,27 \text{ g/l}$; $\sigma = 1,75$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,02 \text{ cm}$; $\sigma = 0,28$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 385,85 \text{ g}$; $\sigma = 147,57$

■ Flor

- **Época de floración:** Media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 2,92 \text{ cm}$; $\sigma = 0,23$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,27 \text{ cm}$; $\sigma = 0,08$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,28 \text{ cm}$; $\sigma = 0,10$
- **Número de estambres:** $\mu = 32,96$; $\sigma = 1,65$

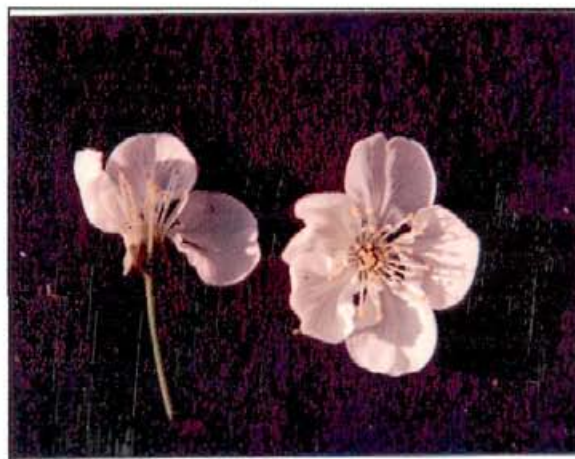
■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 11,02 \text{ cm}$; $\sigma = 1,33$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 5,18 \text{ cm}$; $\sigma = 0,54$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 2,62 \text{ cm}$; $\sigma = 0,23$

SOBRAL D'ÓBIDOS

(*Prunus cerasus*)

- **Árbol**
- **Porte:** Caedizo
- **Vigor:** Fuerte



■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Rojo
- **Color de la pulpa:** Rojo
- **Firmeza:** leve
- **Fecha maduración:** inicio julio
- **Volumen:** $\mu = 2,77 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,48$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 19,30 \text{ °Brix}$; $\sigma = 1,01$
- **Ácidos:** $\mu = 19,60 \text{ g/l}$; $\sigma = 2,18$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,36 \text{ cm}$; $\sigma = 0,23$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 378,50 \text{ g}$; $\sigma = 101,25$

■ Flor

- **Época de floración:** Media
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,00 \text{ cm}$; $\sigma = 0,21$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,33 \text{ cm}$; $\sigma = 0,11$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,41 \text{ cm}$; $\sigma = 0,0,8$
- **Número de estambres:** $\mu = 35,47$; $\sigma = 2,08$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 9,63 \text{ cm}$; $\sigma = 1,01$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 3,97 \text{ cm}$; $\sigma = 0,62$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 1,44 \text{ cm}$; $\sigma = 0,08$

TARDIF DE VIGNOLE (*Prunus avium*)



■ Árbol

- **Porte:** Erecto
- **Vigor:** Medio

■ Fruto

- **Color de la epidermis:** Púrpura
- **Color de la pulpa:** Púrpura
- **Firmeza:** Intermedia
- **Fecha maduración:** Fines de junio
- **Volumen:** $\mu = 5,59 \text{ cm}^3$; $\sigma = 0,76$
- **Forma:** Aplastada
- **Azúcares:** $\mu = 21,17 \text{ }^\circ\text{Brix}$; $\sigma = 3,58$
- **Ácidos:** $\mu = 7,48 \text{ g/l}$; $\sigma = 0,94$
- **Long. pedúnculos:** $\mu = 4,13 \text{ cm}$; $\sigma = 0,21$
- **Peso 100 frutos:** $\mu = 673,28 \text{ g}$; $\sigma = 103,63$ (2años)

■ Flor

- **Época de floración:** Tardía
- **Diámetro de flor:** $\mu = 3,38 \text{ cm}$; $\sigma = 0,06$
- **Longitud de pétalos:** $\mu = 1,64 \text{ cm}$; $\sigma = 0,06$
- **Anchura de pétalos:** $\mu = 1,39 \text{ cm}$; $\sigma = 0,04$
- **Número de estambres:** $\mu = 39,37$; $\sigma = 0,65$

■ Hoja

- **Longitud del limbo:** $\mu = 15,04 \text{ cm}$; $\sigma = 0,56$
- **Anchura del limbo:** $\mu = 6,95 \text{ cm}$; $\sigma = 0,99$
- **Longitud del pecíolo:** $\mu = 4,15 \text{ cm}$; $\sigma = 0,52$

A todos los técnicos del laboratorio de análisis del laboratorio de Alcains (DRABI) por su contribución a este trabajo.

Al director de la Dirección Regional de Agricultura da Beira Interior por su comprensión sobre la importancia de esta Tesis y la disponibilidad demostrada.

A los restantes trabajadores de la Zona Agraria de Fundão que siempre vieron con buenos ojos la importancia del trabajo.

A todos los miembros del departamento de Biología Vegetal (ETSIA) que me acogieron desinteresadamente.

A todos aquellos que no enuncio, no porque su ayuda haya sido menos valiosa, sino porque es imposible citar a tantas personas que se conocen durante los años que duró este trabajo.

El desarrollo de esta Tesis ha sido posible en parte gracias a la concesión de una beca del Programa "Prodep-Formação Avançada" de Enseñanza Superior en Portugal y al proyecto INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria) en la convocatoria de Conservación de Recursos Fitogenéticos.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de Tesis, Doctor Jesús María Ortiz Marcide y Doctora Remedios Morales Corts, principales tutores sobre los cuales me apoyé para la realización de este trabajo. Agradezco su confianza, paciencia y todo el tiempo dedicado cuando lo necesité.

Al Profesor Dionisio Afonso Gonçalves por su ayuda y amistad.

Al Profesor Alfredo Jorge da Costa Teixeira por haber contribuido para aumentar mis conocimientos en conservación de recursos genéticos.

Al Conselho Directivo de la Escola Superior Agraria de Bragança en la persona de los profesores Orlando Rodríguez, Albino Bento y Jaime Pires por su amistad y apoyo institucional.

Al Profesor Antonio Monteiro del Instituto Superior de Agronomia por la confianza depositada en la realización de esta tesis.

Al Profesor Santiago Moreno por el apoyo prestado cuando llegué Madrid.

Al amigo Doutor Altino Branco Choupina por el apoyo en la optimización de las condiciones de la PCR.

Al Doutor Mario Viana por su empeño y por el impulso en la realización de este trabajo.

Al ingeniero Joao Claudio Almeida Rodrigues por las sugerencias informáticas.

Al ingeniero Castro Ribeiro por las sugerencias informáticas

Al ingeniero agrícola Artur João Bartolo Fernández que en el papel de becario colaboró en la toma de datos.

A la ingeniero biotecnóloga Milene Santos que colaboró en la optimización de la extracción de ADN.

A los ingenieros de la Zona Agraria de Fundão, Gravito Henriques, experimentado fruticultor que pronto se percató de la importancia del establecimiento de los bancos de germoplasma y Matos Soares que le secundó en la gestión de la colección.

Al técnico Pedro, trabajador incansable en la gestión de la colección, que desinteresadamente me comunicaba los periodos óptimos de toma de datos.