



# EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA E ISOENZIMÁTICA DE CULTIVARES DE *Fragaria ananassa* Duch., CULTIVADOS EN CUBA

Isoenzymatic and morphoagronomic evaluation of *Fragaria ananassa* Duch. cultivars, grown in Cuba

Argelys Kessel Domini<sup>✉</sup>, Regla M. Lara Rodríguez, María M. Hernández Espinosa, Orlando Coto Rabelo, Yusnier Díaz Hernández, Alberto Caballero Núñez y María I. Pavón Rosales

**ABSTRACT.** Given that the morphoagronomic evaluation of cultivars is a relatively inexpensive method and is the basis of the characterization of plants and that isoenzymes have been a powerful tool for the study of genetic variation in species, was aimed at evaluating strawberry cultivars Missionary, Oso Grande and Rabunda, which were introduced in different parts of the country and had not conducted studies to give us an estimate of the variability or genetic stability present in them. For field evaluation used various UPOV descriptors and a sample design was used with a confidence level of 95 %, which determined the mean and confidence intervals; also estimated fruit quality parameters such as: firmness, soluble solids content and total acidity. Biochemical analysis was done using four isoenzyme systems which included two other existing genotypes in different locations, Villa Clara and the Gran Piedra (Santiago de Cuba). The characters that showed significant differences among cultivars evaluated were number of leaves, number of fruits per plant and the fruit length. Is generally observed a high level of polymorphism degree in the studied genotypes.

**Key words:** strawberry, morphoagronomic evaluation, isoenzyme systems

**RESUMEN.** Teniendo en cuenta que la evaluación morfoagronómica de los cultivares es un método relativamente económico y constituye la base de la caracterización de las plantas y que las isoenzimas han sido una herramienta poderosa para el estudio de la variabilidad genética en especies, nos propusimos evaluar los cultivares de fresa Misionaria, Oso Grande y Rabunda; que fueron introducidos en diferentes localidades del país y no se le habían realizado estudios que nos brinden un estimado de la variabilidad o estabilidad genética presente en los mismos. Para las evaluaciones en campo se utilizaron diversos descriptores de la UPOV y se empleó un diseño muestral con un nivel de confianza del 95 %, donde se determinó la media y los intervalos de confianza; además, se estimaron parámetros de calidad de fruto como: la firmeza, el contenido de sólidos solubles y la acidez total. El análisis bioquímico se hizo mediante cuatro sistemas isoenzimáticos donde se incluyeron otros dos genotipos existentes en diferentes localidades, Villa Clara y la Gran Piedra (Santiago de Cuba). Los caracteres que mostraron diferencias significativas entre los cultivares evaluados fueron el número de hojas, el número de frutos por planta así como el largo de la fruta. Se observó de manera general un alto nivel de polimorfismo en los genotipos estudiados.

**Palabras clave:** fresa, evaluación morfoagronómica, sistemas isoenzimáticos

M.Sc. Argelys Kessel Domini, Aspirante a Investigador; M.Sc. Regla M. Lara Rodríguez, Especialista y Dra.C. María M. Hernández Espinosa, Investigador Titular del departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal; Yusnier Díaz Hernández, Reserva Científica del departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal; Dr.C. Alberto Caballero Núñez, Investigador Titular del departamento de Matemática Aplicada y María I. Pavón Rosales, Especialista de Extensión y Producción Agropecuaria, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, CP 32 700; Orlando Coto Rabelo, Investigador Titular, Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT). Calle 7ma e/ 30 y 32, Miramar, Playa, Cuba.

✉ [argelys@inca.edu.cu](mailto:argelys@inca.edu.cu)

## INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), es una planta poliploide con 56 cromosomas ( $2n=8x=56$ ) resultante de la hibridación interespecífica entre dos especies de fresas silvestres también octoploides<sup>A</sup>.

<sup>A</sup>Bonet, J. Desarrollo y caracterización de herramientas genómicas en *Fragaria* diploide para la mejora del cultivo de la fresa. [Tesis de Doctorado]. Departamento de Bioquímica y Biología Vegetal, Universidad Autónoma de Valencia, 2010, 241 p.

Una de ellas es originaria de América del Sur (*F. chiloensis* L. P. Mill.) y la otra del norte (*F. virginiana* Duch.). El término x en el nombre científico hace referencia a su condición de híbrido. Se trata de un importante fruto, que se consume fresco o industrializado y que es muy apreciado en prácticamente todo el mundo (1, 2, 3).

En Cuba, la introducción de la fresa se inició en la década del 60 del siglo pasado, cuando especialistas cubanos intentaron aclimatar este cultivo a las condiciones ambientales de nuestro país (4), donde se definió un grupo de cultivares; sin embargo, no se le han realizado estudios que permitan dilucidar la variabilidad o estabilidad genética presente en los mismos y que incluyan estudios morfológicos.

Para el estudio de la variabilidad genética entre individuos, se han utilizado varios tipos de marcadores: morfológicos, isoenzimas, proteínas y marcadores basados en el ADN<sup>B</sup>, siendo las isoenzimas los primeros marcadores moleculares que se emplearon<sup>C</sup>. Las isoenzimas son marcadores generalmente codominantes, fenotípicamente neutros y la metodología empleada para su análisis es rápida, sencilla y económica (5).

Por ello el objetivo de la presente investigación, fue realizar una caracterización mediante marcadores morfológicos y bioquímicos a un grupo de cultivares de fresa existente en Cuba, para conocer su variabilidad o estabilidad genética.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE CULTIVARES

#### DE FRESA

Las muestras vegetales para el desarrollo de la presente investigación, fueron tres cultivares de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) que han sido cultivados y

<sup>B</sup>Valdés-Infante, J. Utilización de marcadores morfoagronómicos y marcadores de ADN para el desarrollo de una metodología que contribuya al mejoramiento genético del guayabo (*Psidium guajava* L.) en Cuba. [Tesis de Doctorado]. Universidad de La Habana, 2009, 120 p.

<sup>C</sup>Milián, M. D. Caracterización de la variabilidad genética en la colección cubana del género *Xanthosoma*. [Tesis de Doctorado]. Universidad de La Habana, 2008, 100 p.

extendidos en diferentes localidades del país, ellos son: Misionaria o fresa criolla, Oso Grande y Rabunda; los cuales se plantaron en el huerto de la finca "Las Papas", área experimental del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) en un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado (6), a doble hilera, con una distancia de plantación de 0,40 m, entre plantas, en surcos de 0,90 m de ancho y 22 m de largo.

Para la evaluación morfológica, se utilizaron los descriptores de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales<sup>D</sup> y se tuvieron en cuenta los siguientes caracteres (Tabla I):

Para la valoración se tuvo en cuenta una escala del 1- 9 descrita para cada marcador, donde el hábito de crecimiento se valoró teniendo en cuenta tres valores, erecto (3), intermedio (5) o en extensión (7), el vigor de la planta, débil (3), medio (5) o fuerte (7) y la coloración de la haz de la hoja, amarillo verde (1), luz verde (2), de color verde (3), verde oscuro (4) o azul verde (5). Estos caracteres se evaluaron en el inicio de la floración. La posición de la fruta durante la cosecha, en el suelo (3), vertical (5) o intermedio (7) y se realizó en el momento máximo de la cosecha. En cuanto a la resistencia a plagas se observó visualmente la aparición de síntomas que indicaran la presencia de patógenos relacionados con el cultivo.

El número de hojas por planta y el número de frutos se contó de forma manual cuando las plantas se encontraban en producción. Los días hasta la floración y hasta la maduración de la fruta se evaluó cuando las plantas tenían más del 50 % con la primera flor y cuando los frutos estaban maduros; se tuvo una estimación de muy temprano (1), temprano (3), medio (5), tarde (7) o muy tarde (9). El tiempo de aparición de los estolones, temprano (3), intermedio (5), o tarde (7) y se contaron cuando comenzó la aparición de los mismos; la duración de la temporada de cosecha, corta (3), intermedia (5) o larga (7). El resto de los caracteres, el largo, el diámetro y la masa de la fruta se evaluaron en el momento en que fueron cosechados los frutos.

<sup>D</sup>Fresa (*Fragaria sp* L.) Descriptores. Unión Internacional de Protección de las Obtenciones Vegetales. 2009, 10 p.

**Tabla I. Caracteres morfoagronómicos empleados en la evaluación de cultivares de fresa**

Caracteres cualitativos	Caracteres cuantitativos
- Hábito de crecimiento de la planta	- Número de hojas por planta
- El vigor de la planta	- Días hasta la floración
- Coloración de la haz de la hoja	- Días hasta la maduración de la fruta
- Posición de la fruta en la cosecha	- Número de frutos por planta
- Resistencia a plagas	- Largo de la fruta
	- Diámetro de la fruta.
	- Masa de la fruta
	- Duración de la temporada de cosecha.
	- Días hasta la aparición de los primeros estolones
	- Número de estolones por planta

## ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE FRUTO

La estimación de parámetros de calidad de fruto se realizó en el laboratorio de Fisiología y Bioquímica Vegetal del INCA, donde se evaluaron: la firmeza, el contenido de sólidos solubles y la acidez total. Para medir la firmeza se utilizó el Durofel DFT- 100, el brix mediante un Refractómetro digital y para determinar la acidez se valoró con hidróxido de sodio (Na-OH), empleando como indicador la fenolftaleína.

## TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Se evaluaron alrededor de 30 plantas de cada cultivar, en dos momentos de producción (diciembre - enero y febrero - abril). Para obtener un estimado de la variabilidad existente entre los cultivares, teniendo en cuenta los caracteres evaluados, utilizamos un diseño muestral, con un nivel de confianza del 95 %, donde se determinó la media y los intervalos de confianza. Los datos fueron procesados con ayuda de la estadística descriptiva del programa Excel- 2010.

## ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO DE LOS CULTIVARES DE FRESA

Se emplearon cuatro sistemas isoenzimáticos y se incluyeron, con fines comparativos, otros dos cultivares recolectados en fincas de productores de diferentes localidades del país: uno procedente de Villa Clara y el otro de la Gran Piedra (Santiago de Cuba). Se tomaron aproximadamente 0,5 g de hojas sanas en crecimiento activo de cada cultivar, utilizando como tampón de extracción el Tris-HCl 0.1 M, 2-mercaptoetanol al 1 % (v/v), sacarosa 20 %, PVP 4,5 %, tritón x-100 8,5 %. Las corridas electroforéticas se llevaron en geles de poliacrilamida (PAGE) al 10 % en lámina vertical y un sistema de tampones discontinuos, con tampón de corrida Tris- glicina pH 8,3 (7).

Para cada sistema estudiado se aplicaron las tinciones específicas (Tabla II). Después de teñidos los geles se lavaron con agua destilada y se conservaron en una solución de ácido acético al 10 % hasta el momento en que se midieron las movi- lidades electroforéticas.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A partir de los resultados se construyó la matriz binaria, asignándosele a la presencia de bandas (1) y a la ausencia (0) para cada sistema. La misma se procesó con el paquete de programas estadísticos NTSYS-PC versión 2.1 (9), se empleó el coeficiente de Dice (10) y se aplicó el método de las medias aritméticas de grupos no ponderados (UPGMA) del programa SAHN para producir el dendrograma. Los grupos en este se formaron a partir del 50 % de afinidad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA

Los caracteres cualitativos evaluados no mostraron diferencias significativas, donde se observó que el hábito de crecimiento de la planta, en una escala de 3, 5 y 7 fue intermedio (5). El vigor en la primera evaluación, se comportó de medio (5) a fuerte (7) y en la segunda, fuerte (7), lo que consideramos importante, porque nos permitió apreciar su comportamiento en campo y nos dio la medida de cómo las plantas respondieron a las condiciones imperantes de la localidad en las que fueron plantadas.

La coloración del haz de la hoja se evaluó de verde oscuro (4), parámetro muy significativo en los programas de mejora y selección de cultivares de fresa, donde se prefieren genotipos con esta característica y además está muy relacionado con el alto vigor de la planta (11). Se observó que aunque la posición de la fruta durante la cosecha fue en el suelo, no presentó daño (3).

En cuanto al carácter resistencia a plagas, no hubo incidencias en el momento de la evaluación. Es válido destacar que las observaciones se realizaron en los meses de enero a abril, en la temporada seca, razones por las cuales estimamos que las enfermedades de origen fungoso o bacteriano no se presentaron. Además, el experimento se encontraba en un contorno agroecológico (12), donde se contaba con diversos tipos de plantas, una de ellas fueron

**Tabla II. Sistemas isoenzimáticos, concentración del gel de poliacrilamida (PAGE) y métodos de tinción**

Sistemas isoenzimáticos	% PAGE	Método de tinción
Fosfatas ácidas	8,5 %	Wendel y Weeden (1989) (8)
Anhidrasa carbónica	8,5 %	González (1989) <sup>E</sup>
Esterasas	10 %	Iglesias (1986) <sup>F</sup>
Glutamato-oxalato-transaminasa	10 %	Iglesias (1986) <sup>F</sup>

<sup>E</sup>González, C. Comportamiento genético bioquímico de la lima persa SRA-58 (*Citrus latifolia*) sobre diferentes patrones en Cuba. [Tesis de Doctorado]. Universidad de La Habana, Cuba. 1989, 200 p.

<sup>F</sup>Iglesias, L. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya (*Glycine max* L. Merrill). [Tesis de Doctorado]. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana. 1986, 232 p.

diferentes especies de *Gerbera* y se ha informado que estas flores al ser atrayentes de insectos, contribuyen al equilibrio ecológico y a la sostenibilidad de los agroecosistemas; de aquí su importancia (13).

Los caracteres cuantitativos, días hasta la floración; días hasta la maduración de los frutos; días hasta la aparición de los primeros estolones; número de estolones por planta y duración de la temporada de cosecha, no mostraron diferencias significativas, pero ofrecieron valores muy útiles; debido a que estos caracteres tuvieron una aparición temprana. La floración ocurrió a partir de los 30 días de plantación y la cosecha a los 60 y a la vez, ya comenzaba la aparición de los primeros estolones. La primera cosecha tuvo una duración de 21 días (corta) y la segunda de 150 (larga), aspecto que valoramos significativo, debido a que a pesar de que en los momentos de evaluación las temperaturas no fueron las óptimas para el cultivo, se produjo aparición de flores y frutos en los meses antes mencionados, además está reportado que en el cultivo de la fresa la producción de estolones se inicia cuando culmina la producción de frutos (3) y para la fecha ya había un promedio de ocho estolones por planta, por tanto a este carácter se le dio un valor de 3 (temprano).

Los caracteres relacionados con el rendimiento de la planta que mostraron diferencias significativas fueron: el número de hojas, el número de frutos por planta y el largo de la fruta (Tabla III). Las diferencias se presentaron entre los cultivares Misionaria y Rabunda que tenían más hojas con respecto a Oso Grande y se observó que este carácter resultó favorable para la protección de los frutos de las radiaciones solares, pero a la vez, cuando hay mucha humedad puede resultar perjudicial, porque los frutos tienen menos aereación y están más susceptibles a enfermedades causadas por hongos.

En cuanto a la producción de frutos el cultivar Rabunda, se distinguió de los otros dos, presentando el mayor valor para este carácter. Sin embargo, cuando evaluamos el largo de la fruta, se observó que Oso Grande difiere con Misionaria y no con Rabunda y

además, a pesar de que no se obtuvieron diferencias significativas para el diámetro de la fruta, el cultivar Oso Grande presentó el mayor valor.

No se comportaron de igual manera los caracteres relacionados con la calidad del fruto (contenido de sólidos solubles, acidez total y firmeza), donde no se encontraron diferencias significativas, pero se pudo apreciar que en el cultivar Oso Grande el intervalo de confianza para la firmeza fue más amplio con respecto a los otros dos cultivares.

Resultaron interesantes los valores de grados Brix que oscilaron sobre siete, algo similar a los presentados por el cultivar comercial Sabrosa-Candongia, considerada por su sabor en la Red Andaluza de Experimentación Agraria, 2008, en la categoría de "fruto bueno a muy bueno" (14). Vale destacar que el contenido en sólidos solubles suele estar directamente relacionado con el contenido de azúcares.

La presente investigación resulta de gran importancia, debido a que la mayor parte de los programas de mejora genética de la fresa, incluyen los mismos caracteres de interés agronómico que se han tenido en cuenta en este estudio, pero la prioridad de ellos varía según la problemática de la región para la que se realicen. Se ha comprobado que se prefieren cultivares de porte intermedio, elevada productividad, resistentes a las plagas de mayor incidencia en el cultivo, con frutos de buen sabor y aroma y de color rojo brillante (11).

## ANÁLISIS BIOQUÍMICO

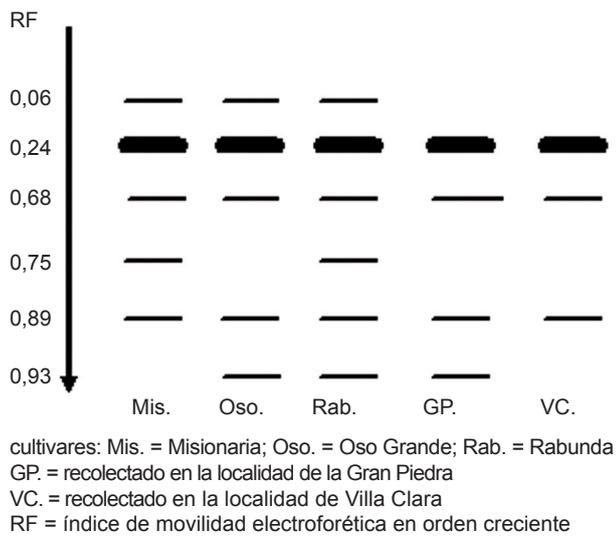
El análisis bioquímico se hizo teniendo en cuenta el nivel de polimorfismo representado entre los cultivares evaluados, donde obtuvimos un alto polimorfismo con los sistemas isoenzimáticos empleados.

Para el sistema Fosfatasa ácida (Figura 1) se aprecian un total de seis bandas, de las cuales tres fueron polimórficas (RF= 0,06, 0,75 y 0,93), donde se pudo apreciar que la banda 4 en la posición 0,75 unidades solo se presentó para los cultivares Misionaria y Rabunda, dando lugar a cinco zimotipos diferentes.

**Tabla III. Caracteres cuantitativos relacionados con el rendimiento en tres cultivares de fresa**

Carácter	Cultivares media			Intervalo de confianza					
	Mis.	Oso.	Rab.	Mis.		Oso.		Rab.	
				min.	max.	min.	max.	min.	max.
No. hojas	30,13	19,93	28,90	25,47	34,79	17,66	22,20	24,91	32,89
No. frutos/planta	17,63	21,87	30,67	13,93	21,33	19,19	24,55	25,06	36,28
Largo fruta (cm)	3,42	4,09	3,78	3,13	3,71	3,93	4,22	3,60	4,00
Diámetro fruta (cm)	2,75	2,78	2,97	2,44	3,04	2,64	2,92	2,72	3,22
Masa fruta (g)	10,47	13,20	11,95	8,59	12,35	12,04	14,36	10,67	13,23
Brix (°)	7,28	7,2	6,53	6,52	8,04	6,12	8,28	6,21	6,85
Acidez total (%)	1,49	1,39	1,58	4,39	7,36	5,03	7,81	6,47	9,65
Firmeza	38,25	45,05	31,70	23,64	52,86	20,27	69,83	29,16	34,24
No. estolones/planta	9,14	8,60	6,67	7,07	11,21	6,17	11,03	5,05	8,29

Mis. = Misionaria, Oso. = Oso Grande, Rab. = Rabunda, Diám. = Diámetro, No. = número y est = estolones



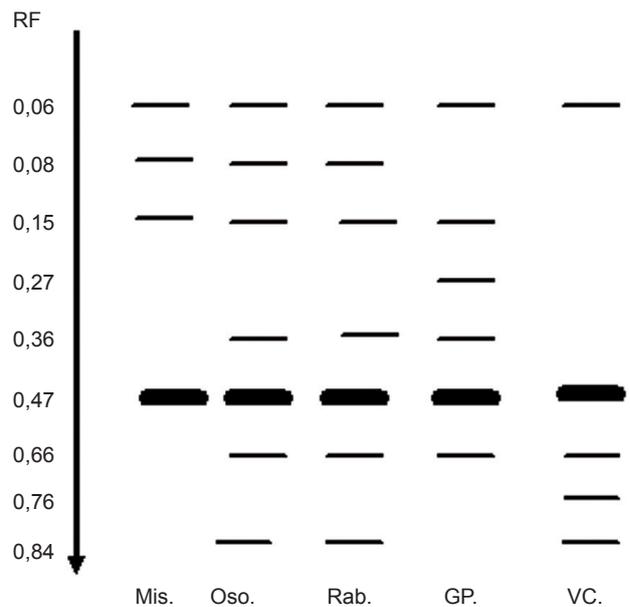
**Figura 1. Zimograma del sistema de isoenzimas de Fosfatasa ácida en cinco cultivares de fresa**

Vale destacar que las fosfatasa ácida juegan un papel importante en la hidrólisis de fósforo y por ende, en el ciclo biogeoquímico de este elemento y en la nutrición de las plantas. De ahí que la actividad de estas enzimas se ha asociado con la capacidad de algunos genotipos de tolerar la baja disponibilidad de fósforo (15, 16).

El zimograma para el sistema anhidrasa carbónica (Figura 2), presentó un total de nueve bandas, de estas solamente dos fueron monomórficas y se observaron cuatro zimotipos donde los cultivares Oso Grande y Rabunda mostraron patrones de bandas idénticos, la banda 4 en la posición 0,27 se presentó solo para el cultivar de la Gran Piedra y la banda 8 en la posición 0,76 en el de Villa Clara, por lo que pudieran representar importantes marcadores bioquímicos para dichos cultivares.

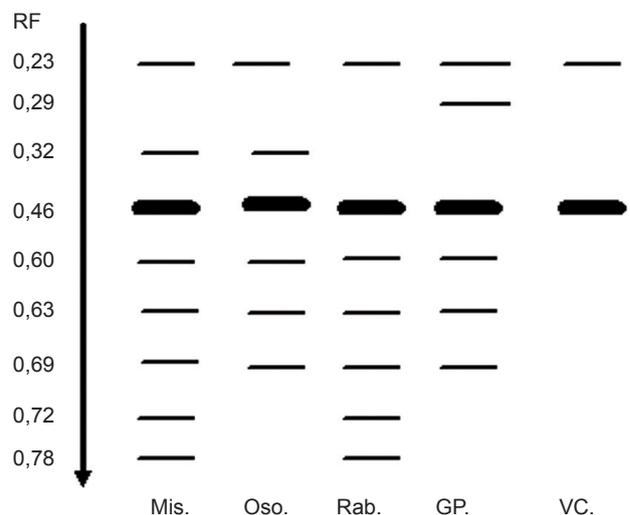
Resulta valioso resaltar, que la mayoría de los informes de Anhidrasa carbónica en plantas son concernientes a la función que realizan en los tejidos verdes, pero a pesar de su abundancia, el rol fisiológico de esta enzima está aún escasamente entendido (17). También se refiere que están relacionadas con la respuesta al enraizamiento y constituyen un marcador para este proceso<sup>6</sup>. Se plantea que en las plantas C<sub>3</sub> la mayoría de la actividad de Anhidrasa carbónica reside dentro del estroma del cloroplasto, por lo que se ha propuesto que esta enzima acelera la deshidratación del bicarbonato a dióxido de carbono, para proveer un suministro constante de dióxido de carbono para la actividad de la Rubisco durante la fotosíntesis (17).

<sup>6</sup>Geada, D. Variabilidad isoenzimática del género Eucalyptus en la región occidental de Cuba. [Tesis de Maestría]. Universidad de La Habana, 2003, 124 p.



**Figura 2. Zimograma del sistema de isoenzimas de Anhidrasa carbónica en cinco cultivares de fresa**

En el sistema esterases, se pudo observar un total de nueve bandas (Figura 3), siete polimórficas y dos monomórficas (RF= 0,23 y 0,46), lo que favoreció la presencia de cinco zimotipos, presentándose un polimorfismo similar a los obtenidos para el sistema anterior.



**Figura 3. Zimograma del sistema de isoenzimas de Esterasas en cinco cultivares de fresa**

Cuando se comparan estos resultados con otros estudios de diversidad genética realizados en cultivares de fresa, resultan interesantes, porque con el empleo de este sistema no detectaron información (18).

Las diferencias encontradas pueden deberse a que, no son las mismas especies y las condiciones de cultivo y época en la que se realizó la investigación son diferentes y se conoce que las isoenzimas son marcadores de expresión génica, por lo que están influenciadas por las condiciones ambientales (expresión fenotípica).

Cabe destacar que en estudios realizados con otros cultivos se han obtenido niveles altos de polimorfismo con el empleo de este sistema isoenzimático: en la caracterización de clones y somaclones de plátanos<sup>H, I</sup> y en la determinación de la estabilidad genética de cuatro especies del germoplasma de papa en Cuba (19). Igualmente, se ha comprobado que el sistema de isoenzimas de esterases juega un papel importante en los procesos fotosintéticos y la estabilidad de su expresión isoenzimática las hace importantes en estudios genéticos y en la caracterización de diversas especies vegetales<sup>P</sup>.

Al observar el zimograma del sistema Glutamato-oxalato-transaminasa (Figura 4), se detectaron un total de siete bandas, de ellas cinco fueron polimórficas, obteniéndose que la banda 4 en la posición 0,29 únicamente se presentó para el cultivar Oso Grande, por lo que se pudo apreciar zimitipos específicos para cada cultivar. A pesar de los resultados brindados por este sistema, no se encontraron referencias sobre la utilización de las GOT en la caracterización de genotipos de fresa, pero sí es conocido su empleo como marcadores genéticos en otras especies vegetales como el tomate (*Solanum lycopersicom* L.) (20).

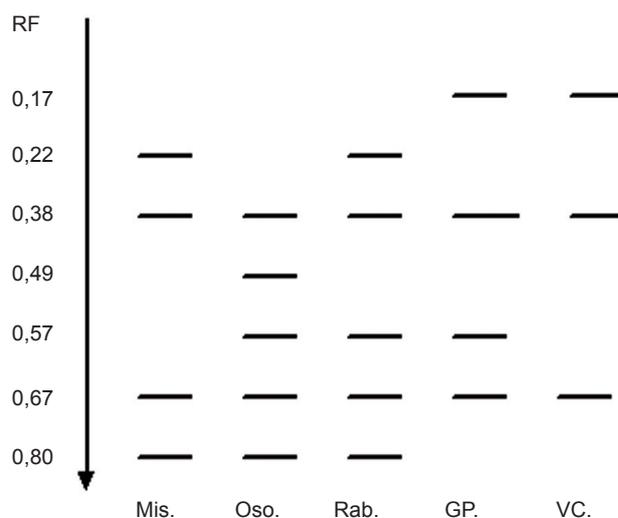
Los resultados del análisis cuantitativo de los zimogramas, para los cultivares estudiados se muestran en la Tabla IV, donde se obtuvo que las esterases, anhidrasa carbónica y las glutamato-oxalato-transaminasa resultaron ser los sistemas más polimórficos, representando un 76 %, lo cual corrobora sus usos en la detección de variabilidad genética de especies del género *Fragaria*.

<sup>H</sup>Román, M. I. Estudio de la diversidad genética en accesiones de bananos y plátanos (*Musa* spp.) en Cuba. [Tesis de Doctorado]. Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 2004, 127 p.

<sup>I</sup>Dueñas, F. Determinación de la variabilidad genética en clones y somaclones de bananos y plátanos del género *Musa*. [Tesis de Maestría]. Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 2005, 74 p.

**Tabla IV. Análisis cuantitativo de cuatro zimogramas de los sistemas isoenzimáticos empleados en cinco cultivares de fresa**

Sistemas isoenzimáticos	Bandas (#)	Bandas polimórficas (#)	Polimorfismo (%)
Fosfatasa ácida	6	3	50
Anhidrasa carbónica	9	7	77,8
Esterasa	9	7	77,8
Glutamato-oxalato-transaminasa	7	5	71,4



cultivares: Mis. = Misionaria; Oso. = Oso Grande; Rab. = Rabunda  
 GP. = recolectado en la localidad de la Gran Piedra  
 VC. = recolectado en la localidad de Villa Clara  
 RF = índice de movilidad electroforética en orden creciente

**Figura 4. Zimograma del sistema de isoenzimas de Glutamato-oxalato-transaminasa en cinco cultivares de fresa**

En la Tabla V se muestra el polimorfismo encontrado para cada cultivar cuando se realiza un análisis integral de los resultados aportados a partir de los cuatro sistemas isoenzimáticos empleados.

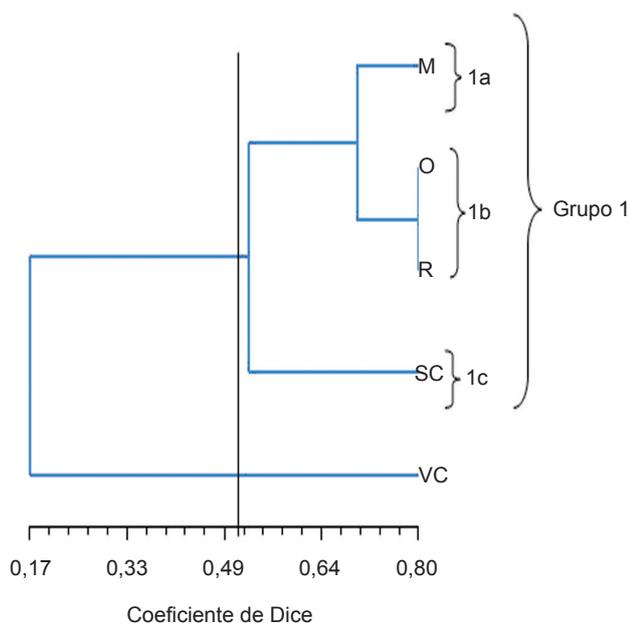
**Tabla V. Resultados de los porcentajes de polimorfismo encontrados para todos los sistemas estudiados en los cultivares evaluados**

Cultivares	TBPC/TBP	Porcentaje de polimorfismo (%)
Rabunda	16/22	72,7
Oso Grande	14/22	63,6
Misionaria	13/22	59,1
Gran Piedra	11/22	50
Villa Clara	4/22	18,2

TBPC = total de bandas polimórficas por cultivar  
 TBP = total de bandas polimórficas

El mayor nivel de polimorfismo lo presentaron 'Rabunda' con un 72,7 % y 'Oso Grande' con un 63,6 %, mientras que el menor polimorfismo se observó en el genotipo recolectado en 'Villa Clara', el que presentó el menor número de bandas en los cuatro sistemas estudiados.

En los resultados del análisis de conglomerado de los cinco genotipos del género *Fragaria*, a partir de los cuatro sistemas isoenzimáticos, se pudo apreciar la formación de un grupo conformado por tres subgrupos a partir de un índice de similitud de 0,50 (Figura 5) y el cultivar recolectado en Villa Clara no se agrupó con ningún cultivar.



M = Misionaria; O = Oso Grande; R = Rabunda  
 SC = Santiago de Cuba; VC = Villa Clara; 1a = subgrupo 1  
 1b = subgrupo 2; 1c = subgrupo 3

**Figura 5. Dendrograma que representa las afinidades genéticas entre los cinco cultivares de *Fragaria x ananassa* Duch**

Los resultados confirman la validez y utilidad de la aplicación de los marcadores bioquímicos, al permitir la caracterización de los cultivares estudiados. Esta información puede ser utilizada en los programas de mejoramiento genético de las fresas, es de destacar que no se ha encontrado referencia alguna de estudios isoenzimáticos desarrollados en estas especies en Cuba, por lo que esta investigación es pionera.

De manera general, el análisis genético realizado, nos permitió conocer la estabilidad genética existente entre los genotipos Misionaria, Oso Grande y Rabunda, a los que también se les realizó la evaluación morfoagronómica. Se detectó una mayor similitud entre Oso Grande y Rabunda por lo que consideramos interesante resaltar que, en la evaluación en campo observamos que Misionaria fue el de menor número de frutos y, a la vez, el de mayor número de estolones por planta. Conjuntamente se detectó que el cultivar de mayor distinción resultó ser el proveniente de Villa Clara, por lo que pudiera valorarse su inclusión en los futuros programas de mejora para el cultivo de la fresa, donde es necesario aumentar la variabilidad genética.

## AGRADECIMIENTOS

A Georvis Téllez Beltrán y Elisa Rabelo Agüero, Técnicos en Ciencias Agropecuarias del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

## REFERENCIAS

1. Debnath, S. C. y Teixeira da Silva, J. A. Strawberry culture *in vitro*: Applications in genetic transformation and biotechnology. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 2007, vol. 1, no. 1, p. 1-12.
2. Ferreira, C.; Ferreira, J. L.; Nunes, C. M.; de Souza, S.; Leal, A.; Fontes, B. D.; Carvalho, M. S.; Pascual, M.; Borem, A. y de Almeida, G. M. An improve method for genomic DNA extraction, from strawberry leaves. *Ciencia Rural*, Santa María, 2011, vol. 41, no. 8, p. 1383-1389.
3. Karim, M. R.; Azis, A. M.; Krishna, U.; Aminul, M. y Monzur, M. *In vitro* response of strawberry (*Fragaria x Ananassa* Dutch.) for callus induction and shoot regeneration. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAR)*, 2011, vol. 1, no. 1, p. 29-36.
4. Clavijo, R.; Beltrán, A.; LLauger, R.; Rodríguez, A.; Farrés, E.; García, M. U. y Placeres, J. Apuntes sobre el cultivo de la fresa (*Fragaria x Ananassa* Dutch.). *Citrifrut*, julio – diciembre, 2010, vol. 27, no. 2, p. 67-70.
5. Picca, A.; Helguera, M.; Salomón, N.; y Carrera, A. Marcadores moleculares. Capítulo 4. 2006. p. 61-68. [en línea]. [Consultado: 2 jun 2008]. Disponible en: <<http://www.argenbio.org>>.
6. Hernández, A.; Perez, J. M.; Bosh, D. y Rivero, L. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de suelo. Editorial AGRINFOR, La Habana, 1999. 46 p.
7. González, C. Detección del polimorfismo genético mediante marcadores bioquímicos en plantas. En: Cornide, M. T. Marcadores Moleculares, nuevos horizontes en la genética y la selección de plantas. La Habana: (Ed) Felix Varela, 2002. p. 36-66.
8. Wendel, J. F. y Weeden, N. F. Visualization and interpretation of plant isozymes. En: D.Soltis y P.Soltis (eds). *Isozymes in plant biology* Diosco. 1989. 45 p.
9. Rohlf, F. J. NTSYS-PC, numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. Exeter Software, Setauket, New York. 2001. [en línea]. [Consultado: 4 nov. 2007]. Disponible en: <<http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc.html>>.
10. Dice, L. R. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 1945, vol. 26, p. 297-302.
11. Bartual, R.; Marsal, J. I. y López-Aranda, J. M. Andana y Carisma, dos nuevas variedades de fresa que ofrecen una gran capacidad productiva. *Cultivos Intensivos*, 2000, no. 105, p. 54-57.
12. Altieri, M. A. y Nicholls, C. I. Conversión agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación. *Ecosistemas*, 2007, vol. 16, no. 1, p. 3-12.

13. Yong, A. y Leyva, A. La biodiversidad florística en los sistemas agrícolas. *Cultivos Tropicales*, 2010, vol. 31, no. 4, p. 5-11.
14. Monfort, A.; Perez, A. y Sánchez, D. Características nutricionales de la variedad Sabrosa-Candongua. *Fruticultura Profesional*, 2008, no. 175, p. 34-38.
15. Ming, F.; Mi, G.; Zhang, F. y Zhu, L. Differential responses of rice plants to low – phosphorus stress and its physiological adaptative mechanism. *J. Plant Nutr.*, 2002, vol. 25, p. 1213-1224.
16. Valdéz, M.; González, C.; Lara, M. R.; Hernández, Y.; Pavón, M. I.; Hernández, R. M.; Cabrera, M. y Torrecilla, G. Diversidad genética de especies silvestres del género *Nicotiana* I: caracterización mediante marcadores bioquímicos. *Protección Vegetal*, 2010, vol. 25, no. 2, p. 88-97.
17. Badger, M. R. y Price, G. D. The role of carbonic anhydrase in photosynthesis. *Plant Mol. Biol.*, 1994, vol. 45, p. 369-392.
18. Becerra, V.; Paredes, M.; Romero, A. y Lavín, A. Diversidad bioquímica y molecular en frutillas chilenas (*Fragaria chiloensis*) y su implicancia en el mejoramiento genético de las especie. *Agricultura Técnica de Chile*, 2001, vol. 61, no. 4, p. 413-428.
19. Castillo, J. G.; Estevez, A.; Salomón, J. L.; Vargas, D.; Hernández, M. M.; Pérez, A.; Borrás, O.; López, Y. y Arencibia, A. D. Determinación de la estabilidad genética en cuatro especies del banco de germoplasma de papa en Cuba conservadas *in vitro*. *Cultivos Tropicales*, 2010, vol. 31, no. 3, p. 51-57.
20. Florido, M.; Alvarez, M.; Lara, R. M.; Plana, D.; Varela, M.; Shagarodsky, T. y Moya, C. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de 20 accesiones de tomate (*Lycopersicon* spp). *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 4, p. 61-69.

Recibido: 6 de agosto de 2012

Aceptado: 3 de junio de 2013

#### ¿Cómo citar?

Kessel Dominí, Argelys; Lara Rodríguez, Regla M.; Hernández Espinosa, María M.; Coto Rabelo, Orlando; Díaz Hernández, Yusnier; Caballero Núñez, Alberto y Pavón Rosales, María I. Evaluación morfoagronómica e isoenzimática de cultivares de *Fragaria ananassa* Duch., cultivados en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2014, vol. 35, no. 2, p. 72-79.