

## LA DIVERSIDAD FENOTÍPICA DE MANZANO EN ZACATLÁN, PUEBLA, MÉXICO ES AMPLIA Y ES APORTADA PRINCIPALMENTE POR CARACTERÍSTICAS DE FRUTO

### PHENOTYPIC DIVERSITY OF APPLE IN ZACATLÁN, PUEBLA, MÉXICO IS BROAD AND IS GIVEN MAINLY BY FRUIT TRAITS

Breni María Posadas-Herrera<sup>1</sup>, Pedro A. López\*<sup>1</sup>, Nicolás Gutiérrez-Rangel<sup>1</sup>, Rufino Díaz-Cervantes<sup>1</sup> y Armando Ibáñez-Martínez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Campus Puebla, Colegio de Postgraduados. Boulevard Forjadores de Puebla 205. 72760, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla, México. <sup>2</sup>Facultad de Ingeniería Agrohidráulica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. Universidad s/n. 73965, San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México.

\*Autor para correspondencia (palopez@colpos.mx)

#### RESUMEN

El manzano (*Malus* spp.) es un frutal distribuido mundialmente, con más de 30 especies y casi 1000 variedades. El municipio de Zacatlán, ubicado en la Sierra Norte de Puebla, México, es el principal productor en el estado y se le reconoce por su tradición en el cultivo y aprovechamiento de este frutal, así como por la abundancia y variabilidad de cultivares, destacando los 'locales' o 'tradicionales'. No obstante, esta diversidad regional no ha sido caracterizada; por ello, este estudio tuvo como objetivo identificar la variación fenotípica presente en una muestra de árboles de manzana del municipio de Zacatlán, mediante una caracterización *in situ*. Para tal fin, durante los años 2015 y 2016, en ocho huertos, ubicados en cinco localidades, se caracterizaron 103 árboles pertenecientes a 36 variedades (24 'tradicionales' y 12 de 'reciente introducción'), utilizando 49 variables que incluyeron características morfológicas de fruto, flor y hoja, bioquímicas de fruto y atributos de árbol. Los datos se sometieron a análisis de varianza de una vía y a análisis multivariados (de componentes principales, de conglomerados y de varianza). Hubo diferencias significativas entre árboles en el 100 % de las variables analizadas, de las cuales, 16 variables de fruto, hoja, flor y árbol (que incluyeron 12 características morfológicas, dos bioquímicas y dos fenológicas) fueron las más importantes para explicar la variación observada. Se formaron cinco grupos que representan la diversidad en el municipio, los cuales se diferenciaron estadísticamente con nueve de las 16 variables: valor de luminosidad de cáscara y pulpa, número de lenticelas, firmeza de fruto, ancho de sépalo, color de capullo, largo del peciolo de la hoja, días a inicio de cosecha y grados Brix. Se concluye que en un área pequeña, como la del municipio de Zacatlán, Puebla, existe una amplia diversidad de manzano.

**Palabras clave:** *Malus* spp., variedades tradicionales, variables morfológicas, árboles, fruto.

#### SUMMARY

The apple (*Malus* spp.) is a fruit tree distributed worldwide, with more than 30 species and almost 1000 cultivars. The municipality of Zacatlán, at the Sierra Norte of Puebla, Mexico is the main producer in the state and is recognized by its tradition in the cultivation and use of this fruit, as well as by the abundance and variability of cultivars, among which 'local' or 'traditional' varieties stand out. Nevertheless, this regional diversity has not been characterized; therefore, this study aimed to identify the phenotypical variation present on a sample of apple trees from the municipality of Zacatlán,

employing *in situ* characterization. For this purpose, during the years 2015 and 2016, in eight orchards, located at five localities, 103 trees from 36 cultivars (24 'traditional' and 12 'recently introduced') were characterized using 49 traits, including morphological traits from fruit, flower and leaf, fruit biochemical traits and tree attributes. The data were subjected to one-way analysis of variance, as well as to multivariate analysis (principal component, cluster, and analysis of variance). There were significant differences among trees in 100 % of the analyzed traits, among which, 16 variables from fruit, flower, leaf and tree (which included 12 morphological, two biochemical and two phenological traits) were the most important in explaining the observed variation. Five groups, representing the diversity in the municipality, were defined, and they were statistically different from each other in nine out of the 16 traits: luminosity value of the skin and flesh, lenticel number, fruit firmness, sepal width, flower color at bloom stage, petiole length, days to the start of harvest and Brix degrees. It is concluded that in a small area, such as that of the municipality of Zacatlán, Puebla, there is a wide diversity in apple trees.

**Index words:** *Malus* spp., traditional varieties, morphological traits, trees, fruit.

#### INTRODUCCIÓN

El género *Malus* agrupa de 25 a 33 especies (Ma *et al.*, 2017) e incluye a uno de los frutales económicamente más importantes a nivel mundial: la manzana (*Malus domestica* Borkh.). Diversos estudios realizados tanto en especies cultivadas (Jemrić *et al.*, 2012; Kalkisim *et al.*, 2016; Reig *et al.*, 2015; Šebek, 2013a) como silvestres (Dan *et al.*, 2015; Reim *et al.*, 2012) han evidenciado y destacado la gran diversidad morfológica y bioquímica presente entre poblaciones, así como la importancia de las variedades locales o tradicionales de este frutal. La diversidad encontrada para este género se debe a la evolución y domesticación ocurrida durante miles de años (Cornille *et al.*, 2012); sin embargo, esta diversidad se ha visto restringida en parte por la homogeneidad de los cultivares comerciales, la cual ha llevado al borde de la extinción a un número desconocido de cultivares locales (Bhat *et al.*, 2011).

La preservación de recursos fitogenéticos es una actividad primordial a nivel mundial debido, entre otras razones, a la importancia que tiene la diversidad en ellos contenida para la generación de nuevas variedades (López *et al.*, 2005). Por otra parte, el conservar materiales locales también es importante por las cualidades que tienen al haber sido seleccionados *in situ*, por contar con la aceptación de los consumidores y por su función en los ecosistemas (Feliciano *et al.*, 2010). Un paso inicial para la conservación de dichos recursos es la caracterización de los mismos (Hidalgo, 2003) mediante los métodos tradicionales, que se basan en la medición de descriptores morfológicos, agronómicos, bioquímicos y moleculares, los cuales usualmente se utilizan para distinguir la variación dentro de una misma especie (Farrokhi *et al.*, 2013). Una opción para llevar a cabo este tipo de estudios es la caracterización *in situ*, de los cuales existen varios reportes en la literatura (Pantoja-Ambriz *et al.*, 2016; Salazar-Rojas *et al.*, 2010).

Lo anterior resalta la conveniencia de desarrollar investigaciones con cultivares de manzana, sobre todo en América Latina, donde existen muchas variedades que no han sido estudiadas (González-Horta *et al.*, 2005). Al respecto, Donno *et al.* (2012) han enfatizado la necesidad de tener mayor información de cultivares antiguos o locales para contribuir a la diversificación del mercado y al mantenimiento de la biodiversidad, además de preservar los vínculos históricos y culturales que representa el frutal. En México son escasos los estudios de caracterización de la diversidad local o regional en este frutal, como el hecho por González-Horta *et al.* (2005), quienes, mediante marcadores moleculares, estudiaron la variación en manzanos de Cadereyta, Querétaro.

En México, en 2016 se produjeron 716,930 t de manzana, con un valor de 4.6 mil millones de pesos, en una superficie de 54,248 ha; el estado de Chihuahua aportó 81.8 % del volumen nacional, seguido por Durango con 5.9 % y Puebla con 5.2 % (SIAP, 2017a). En este último estado, el municipio de Zacatlán contribuyó con el 20.3 % de la producción estatal (SIAP, 2017b). Este municipio se localiza en la Sierra Norte del estado de Puebla y es reconocido por su importancia en la producción de este frutal, el cual forma parte de la cultura y vida diaria de sus habitantes desde hace siglos, situación que se refleja en la celebración de la Feria de la Manzana desde hace más de 75 años (Aldana y Nava, 2017). Retomando los elementos previamente expuestos, esta investigación tuvo como objetivo identificar la variación fenotípica en una muestra de árboles de manzana, mediante una caracterización *in situ* en huertos ubicados en el municipio de Zacatlán, Puebla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El estudio se realizó en ocho huertos ubicados en las localidades de Atzingo La Cumbre (19° 58' 47" N, 19° 58' 47" O, 2140 msnm), Hueyapan (19° 59' 40" N, 97° 59' 23" O, 2200 msnm), Poxcuatzingo (19° 57' 31" N, 97° 58' 42" O, 2140 msnm) y Tomatlán (19° 53' 39" N, 97° 58' 22" O, 2140 msnm), con un huerto por localidad, y en Jicolapa (19° 57' 57" N, 97° 58' 20" O, 2100 msnm) con cuatro huertos. Todas las localidades pertenecen al municipio de Zacatlán, situado en la Sierra Norte del estado de Puebla, México, entre los paralelos 19° 50' 06" y 20° 08' 12" N y los meridianos 97° 51' 06" y 98° 12' 36" O (INAFED, 2017). El tipo de suelo presente en las cinco localidades es el andosol (Iracheta, 2010) y en cuanto a clima, predominan los templados húmedos y subhúmedos (INAFED, 2017).

### Material vegetal

Mediante el muestreo no probabilístico "bola de nieve" o "muestra en cadena" (Hernández *et al.*, 2014) se identificó a productores del municipio de Zacatlán que en sus huertos mantuvieran distintas variedades de manzana; hecho lo anterior se procedió a elegir aquellos que estuvieran accesibles y con disponibilidad de los propietarios a permitir la toma de datos, eligiéndose así ocho huertos. Posteriormente se georreferenciaron 103 árboles, los cuales representaron a las diferentes variedades (identificadas por los productores) presentes en cada huerto (Cuadro 1). Cada árbol se identificó con las iniciales del nombre de la variedad, de la localidad y del propietario. En cuanto a su origen, los árboles se categorizaron como pertenecientes a variedades 'tradicionales' (no autóctonas) o de 'reciente introducción'; las primeras fueron las variedades que los agricultores consideraron más antiguas (con más de 20 años de haber sido plantadas o injertadas en la región), y las segundas, las que tenían menos de 20 años de establecidas, ya fuera en plantación o en injerto. Se tomó como referencia ese tiempo porque de acuerdo con información de los productores, hace aproximadamente 20 años se promovió fuertemente la introducción de nuevas variedades de manzana en el municipio.

### Descriptores morfológicos

La caracterización morfológica se llevó a cabo midiendo 40 de las 57 variables enlistadas en las directrices para la ejecución del examen de distinción, homogeneidad y estabilidad en manzano (UPOV, 2005), de las cuales 19 correspondieron a fruto, 14 a flor y siete a hoja. Adicionalmente, se midieron seis variables de árbol y tres bioquímicas. Todas las variables de fruto, flor y hoja tuvieron 10 repeticiones,

**Cuadro 1. Relación de árboles caracterizados en cinco localidades del municipio de Zacatlán, Puebla.**

Variedad	Árboles por variedad					Variedad	Árboles por variedad				
	A	H	J	P	T		A	H	J	P	T
'Tradicional'						'Reciente Introducción'					
Amarga Dulce	-	1	-	-	-	Agua Nueva	1	-	2	-	1
Apinzelada	-	-	3	-	-	Ana	-	-	1	-	-
Calvilla	-	-	2	-	-	Gala	1	-	2	-	1
Camuesa	-	-	-	1	-	Golden	-	1	2	-	1
Carreta	-	-	2	-	-	Golden Mario	-	-	1	-	-
Ceniza	-	-	1	-	-	Golden Pradera	-	-	1	-	-
Cera	-	-	3	-	-	Golden Supreme	1	-	1	-	1
Delicia	1	-	3	1	1	Granny Smith	-	-	1	-	-
Delicia doble	-	-	2	1	-	Poma Rosa	1	-	1	-	1
Dominica	-	-	1	-	-	Red Delicious	1	1	2	-	1
Extracam	-	-	3	-	1	Reina Peruana	1	1	3	-	2
Jonathan	-	-	2	-	-	Rome Beauty	-	-	3	-	-
King Davies	1	1	3	1	-	Subtotal	6	3	20	0	8
King Royal	1	1	3	1	1						
Mayo	-	-	1	-	-						
Pájaro Rojo	-	-	1	-	-						
Paraíso	-	1	1	-	-						
Perón Agrio	-	-	2	-	-						
Plátano	-	-	1	-	-						
Rayada Normal	-	-	4	2	1						
Rayada Doble	-	1	2	-	-						
Rayada Temprana	-	-	3	-	-						
San Juan	-	-	1	-	-						
Toronja	-	-	1	-	-						
No identificada	-	-	2	-	-						
Subtotal	3	5	47	7	4						

-: no hubo árboles; A: localidad de Atzingo La Cumbre; H: localidad de Hueyapan; J: localidad de Jicolapa; P: localidad de Poxcuatzingo; T: localidad de Tomatlán.

obtenidas al azar en los cuatro cuadrantes de la copa del árbol, para suplir la ausencia de un diseño experimental. Los frutos se cortaron en madurez comercial, tomando como base el momento de corte que señalaron los respectivos propietarios. En cada fruto se registró el peso en g (PFR), con una balanza digital (Ohaus® Scout Pro Newark, NJ, USA); el diámetro (DFR) y longitud de fruto (LFR), longitud (LPFR) y diámetro del pedúnculo (DPRF), profundidad (PCP) y ancho de la cavidad peduncular (ACP), profundidad (PCO) y ancho de la cavidad del ojo (ACO); todas estas variables se midieron en mm, con un vernier digital. El color de cáscara y pulpa se determinó con un colorímetro (Konica Minolta® CR-400, Tokio, Japón) en tres puntos opuestos de la zona ecuatorial del fruto, de acuerdo con el sistema

CIE Lab, donde *L* indica la luminosidad del color, de 0 a 100 para negro y blanco, respectivamente; *a* la intensidad de rojo a verde, con valores positivos hacia rojo y negativos hacia verde, y *b* de amarillo a azul, con valores positivos hacia amarillo y negativos hacia azul (Voss, 1992). La presencia de paño (PRU) y de estrías (PEST) se estimó en porcentaje con respecto al área total del fruto, con una escala ordinal: 1 (0 %), 2 ( $\leq 25$  %), 3 ( $> 25$  y  $\leq 50$  %), 4 ( $> 50$  y  $\leq 75$  %) y 5 ( $> 75$  %). El número de lenticelas (NLEN) se contabilizó en tres puntos opuestos de 1 cm<sup>2</sup> de la zona ecuatorial, al igual que la firmeza (FIR) del fruto sin cáscara, que se midió en kg fuerza con un penetrómetro Fruit Pressure Tester FT 327 (Fachinni srl®, Alfonsini, Italia).

Las mediciones en las flores se hicieron inmediatamente después de su corte, para evitar cambios por manejo mecánico o por deshidratación. Con un vernier digital se midió en mm el diámetro longitudinal y transversal (DLFL y DTFL), la longitud y ancho del pedúnculo (LPED y APED), longitud y ancho del sépalo (LSEP y ASEP), longitud y ancho del pétalo predominante (LPET, APET) y el ancho de cáliz (ACAL). Se registró la apertura de lóculos (ALOC), tipo de estambres (TES) y la posición de pétalos (TPET) con una escala nominal (UPOV, 2005). El color de pétalos se determinó con base en la presencia de antocianinas en pétalos (PANT), en escala ordinal: 1 (0 %, blanca), 2 (25 %, rosa claro), 3 (> 25 y ≤ 50 %, rosa pastel), 4 (> 50 y ≤ 75 %, rosa) y 5 (> 75 %, rosa fucsia). Para el color de capullo o botón de flor (CCAP) se usó la carta de colores de la *Royal Horticultural Society* (Pantoja-Ambriz *et al.*, 2016).

El color del haz de la hoja (CH) se midió con el colorímetro en tres puntos, bajo el sistema CIE *Lab*. El largo (LHOJ) y ancho (AHOJ) de la hoja, así como la longitud del peciolo (PEH) se midieron en mm con un vernier digital. El margen de la hoja (MARH) se valoró con una escala nominal (UPOV, 2005). Las hojas se colectaron antes del inicio de la floración de los árboles.

La edad de los árboles (EDAD) fue proporcionada por los propietarios de los huertos, así como la producción del año previo (PROD), expresada en kg por árbol. Las etapas fenológicas de inicio de floración (IFL), fructificación (IFR) y cosecha (ICO) se registraron en días a partir del primer día del calendario, mediante monitoreos en 2015 y 2016. También se registró la forma del fruto (FORF) en escala nominal (UPOV, 2005). Todas estas variables contaron sólo con una repetición.

### Descriptorios bioquímicos

Los diez frutos caracterizados morfológicamente se usaron para las determinaciones bioquímicas en el laboratorio del Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. A cada fruto se le retiró la cáscara y se le extrajo el jugo con un extractor marca Turmex®. Al jugo extraído se le determinaron por triplicado los sólidos solubles totales (°Brix), con un refractómetro digital (Atago® PR-101, Tokio, Japón), el pH (PH) con un potenciómetro (Conductronic® PC18, Puebla, México) y la acidez titulable (AM) con la metodología descrita por la AOAC (Woodbury, 2000).

### Análisis estadístico

Las 43 variables con repeticiones se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, considerando como factor de variación a árboles. También se calcularon las correlaciones de Pearson entre variables. A partir de los

resultados de ambos análisis se seleccionaron aquellas variables que cumplieran con los requisitos de haber tenido significancia estadística y no haber estado altamente correlacionadas entre sí ( $r < 0.70$ ). Así, se escogieron 30 variables, con cuyos promedios, más las seis variables que tuvieron una sola repetición por árbol, se realizó un análisis de componentes principales, producto del cual se seleccionaron 16 variables informativas con coeficientes en los vectores propios superiores a 0.30, con las que se calcularon las distancias euclidianas para conducir un análisis de conglomerados con el método de Ward; el punto de corte se determinó con la prueba de la pseudo-F. Con las 16 variables informativas también se realizó un análisis de varianza multivariado para comparar los grupos, y finalmente, un análisis de varianza de una vía bajo la hipótesis de nulidad de efectos de grupos y una prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Todos los análisis se realizaron con el programa SAS versión 9.0 (SAS Institute, 2013).

## RESULTADOS

En los ocho huertos se identificaron 36 variedades de manzano (Cuadro 1). De ellas, 24 correspondieron a variedades tradicionales y 12 a variedades de reciente introducción. En el primer conjunto quedaron contenidos 67 árboles, en tanto que en el segundo fueron 36; en los primeros se incluyeron dos árboles que no fueron relacionados con alguna variedad, pero que el productor correspondiente las consideró como variedades tradicionales (no autóctonas). Entre las variedades tradicionales sobresalieron por su mayor frecuencia de árboles King Royal, Rayada, King Davies, Delicia y Rayada Doble, en tanto que entre las de reciente introducción, las más comunes fueron Reina Peruana, Red Delicious, Agua Nueva, Gala y Golden. Los análisis de varianza revelaron la existencia de diferencias significativas entre árboles para las 43 variables morfológicas y bioquímicas analizadas, indicando alta variación fenotípica entre los árboles. Evidencias de esto último pueden observarse en el Cuadro 2, donde se reportan estadísticos para las diferentes variables sometidas a análisis, incluyendo las seis variables registradas por árbol.

Los primeros ocho componentes principales (CP) explicaron 54 % de la variación total. El CP1 se asoció con ancho de sépalo; el CP2 con firmeza del fruto; el CP3 con longitud de pedúnculo del fruto y color de cáscara en el valor *L*; el CP4 fue determinado predominantemente por el número de lenticelas; el CP5 por el color de capullo y ancho de pedúnculo de la flor; el CP6 por el diámetro de pedúnculo del fruto, pH y longitud de pedúnculo de la flor; el CP7 por el inicio de fructificación, inicio de cosecha y por el peciolo de hoja; y el CP8 por color de pulpa en *L*, sólidos solubles totales y tipo de pétalo. Con estas variables,

**Cuadro 2. Variación en características de árboles de manzana del municipio de Zacatlán, Puebla.**

Variable	Prom./ Med.†	Máx.	Mín.	Desv. Std.	Variable	Prom./ Med.†	Máx.	Mín.	Desv. Std.
PFR (g)	107.22	223.97	36.49	39.00	LPET (mm)	16.63	23.39	9.32	2.46
DFR (mm)	62.39	85.62	42.76	8.90	APET (mm)	11.16	15.86	5.85	1.93
LFR (mm)	52.05	64.73	33.11	6.78	ACAL (mm)	2.97	4.84	1.62	0.51
LPFR (mm)	17.28	42.63	1.00	6.95	ALOC	1.81	3.00	1.00	0.62
DPFR (mm)	2.87	11.15	1.00	1.49	TES	2.00†	3.00	1.00	-
PCP (mm)	10.05	18.74	5.01	2.69	TPET	2.00†	3.00	1.00	-
ACP (mm)	25.90	35.87	15.46	4.63	PANT	2.00†	5.00	1.00	-
PCO (mm)	11.44	20.23	4.02	3.09	CCAP	2.00†	10.00	1.00	-
ACO (mm)	25.33	36.03	14.52	4.55	CHL	29.25	34.51	26.33	2.04
CCL	46.45	75.96	23.94	12.80	CHa	6.18	9.22	3.60	1.35
CCa	9.69	25.71	-15.51	10.89	CHb	8.25	11.92	5.00	1.91
CCb	18.68	36.94	3.82	7.74	LHOJ (mm)	8.75	12.04	3.98	1.26
CPL	75.77	81.72	55.71	4.41	AHOJ (mm)	5.00	8.08	2.98	0.87
CPa	-3.17	27.01	-8.64	5.10	PEH (mm)	3.36	5.81	2.20	0.58
CPb	20.52	35.20	9.69	3.31	MARH	4.00†	5.00	1.00	-
PRU	2.00†	4.00	1.00	-	EDAD (años de injertado)	1.82	4.00	1.00	1.08
PEST	3.40†	5.00	1.00	-	PROD (kg por árbol)	1.87	5.00	1.00	0.98
NLEN	7.99	17.00	2.07	2.91	IFL (días)	40.49	180.00	15.00	24.57
FIR (kg fuerza)	6.42	12.37	2.08	2.29	IFR (días)	70.92	105.00	15.00	21.95
DLFL (mm)	32.98	49.24	16.97	5.38	ICO (días)	118.83	150.00	45.00	14.04
DTFL (mm)	31.99	47.59	16.40	5.22	FORF	5.00†	7.00	1.00	-
LPED (mm)	12.35	37.79	3.39	6.72	°Brix	14.40	19.45	9.65	1.86
APED (mm)	1.43	2.23	0.60	0.24	PH	3.59	4.47	2.92	0.28
LSEP (mm)	5.57	10.56	2.15	1.39	AM	0.46	1.45	0.12	0.25
ASEP (mm)	3.01	4.09	1.83	0.48					

†Por la escala de la variable se reporta la mediana, en lugar del promedio (el - indica que no se calculó la desviación estándar). Prom: promedio; Med: mediana; Máx: máximo; Mín: mínimo; Desv. Std.: desviación estándar. PFR: peso del fruto; DFR: diámetro de fruto; LFR: longitud de fruto; LPFR: longitud del pedúnculo; DPFR: diámetro del pedúnculo; PCP: profundidad de la cavidad peduncular; ACP: ancho de la cavidad peduncular; PCO: profundidad de la cavidad del ojo; ACO: ancho de la cavidad del ojo; CCL: color de la cáscara en L; CCa: color de la cáscara en a; CCb: Color de la cáscara en b; CPL: color de la pulpa en L; CPa: color de la pulpa en a; CPb: color de la pulpa en b. PRU: presencia de paño; PEST: presencia de estrías; DLFL: diámetro longitudinal; DTFL: diámetro transversal; LPED: longitud del pedúnculo; APED: ancho del pedúnculo; LSEP: longitud del sépalo; ASEP: ancho del sépalo; LPET: longitud del pétalo predominante; APET: ancho del pétalo predominante; ACAL: ancho de cáliz; ALOC: apertura de lóculos; TES: tipo de estambres; TPET: posición de pétalos; PANT: antocianinas en pétalos; CCAP: color de capullo o botón de flor; CHL: color del haz de la hoja en L; CHa: color del haz de la hoja en a; CHb: color del haz de la hoja en b; LHOJ: largo de la hoja; AHOJ: ancho de la hoja; PEH: longitud del peciolo; MARH: margen de la hoja; EDAD: edad de los árboles; PROD: producción del año previo; IFL: Inicio de floración; IFR: inicio de fructificación; ICO: inicio de cosecha; FORF: forma del fruto; °Brix: grados Brix; PH: pH del jugo; AM: acidez titulable.

consideradas las más informativas, se realizó el análisis de conglomerados.

La Figura 1 muestra el dendrograma generado para los 103 árboles caracterizados; con base en la prueba de la pseudo-F se obtuvieron tres conjuntos: el A que incluye a 51 árboles, 26 de los cuales corresponden a variedades identificadas como tradicionales, como Rome Beauty, Poma Rosa y Apinzelada y el resto a variedades de reciente introducción, como Golden, Agua Nueva, Gala y Granny

Smith; los frutos de este conjunto en su mayoría presentan cáscara amarilla o clara ( $L = 53.4$ ;  $a = 5.9$ ;  $b = 23.1$ ). El conjunto B se formó con nueve árboles, todos pertenecientes a variedades identificadas como tradicionales, tales como Rayada Temprana y Extracam, todas ellas de cáscara roja ( $L = 38.1$ ;  $a = 12.4$ ;  $b = 15.0$ ). El conjunto C incluyó a 43 árboles, principalmente con cáscara roja ( $L = 37.5$ ;  $a = 15.9$ ;  $b = 13.1$ ), con 32 árboles pertenecientes a variedades tradicionales, como King Royal, Rayada y Delicia; y once árboles que correspondieron a variedades de reciente introducción,

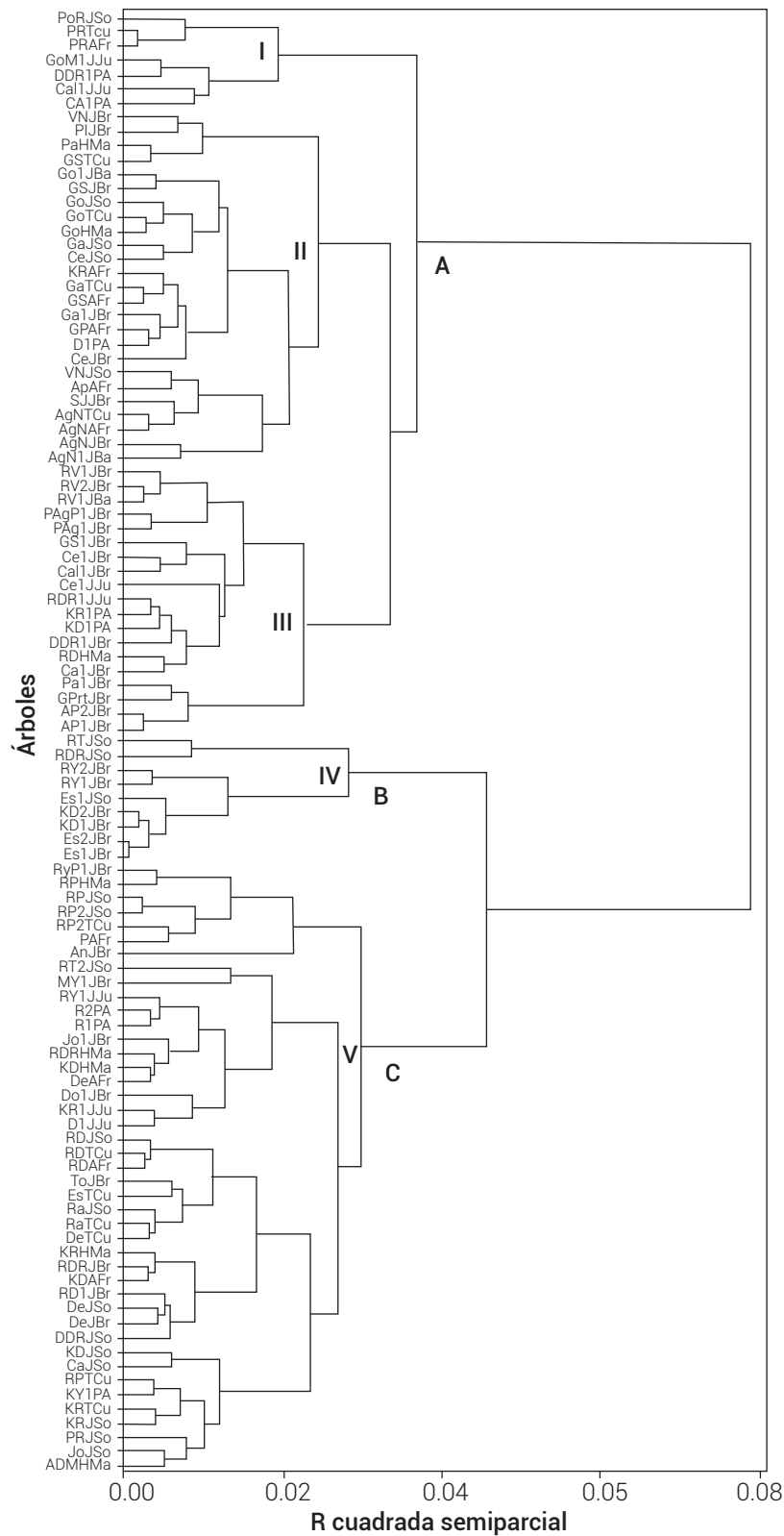


Figura 1. Dendrograma obtenido mediante análisis de agrupamiento con el método de Ward de 103 árboles de manzana del municipio de Zacatlán, Puebla.

**Cuadro 3. Medias de grupos de variación de manzana del municipio de Zacatlán, Puebla.**

Variables	Grupos				
	I	II	III	IV	V
CCL	51.16 a	56.66 a	52.46 a	38.08 b	37.54 b
CPL	65.15 b	77.27 a	77.7 a	74.95 a	76.05 a
NLEN	6.27 ab	7.32 ab	6.22 ab	5.55 b	8.13 a
FIR (kg fuerza)	5.69 ab	7.49 a	4.30 b	5.70 ab	6.98 a
ASEP (mm)	2.32 c	3.08 ab	2.74 bc	3.36 a	3.13 ab
CCAP	3.14 b	3.48 b	2.84 b	6.11 a	3.32 b
PEH (mm)	29.48 b	31.36 ab	33.63 ab	33.31 ab	35.52 a
ICO (días)	120.00 ab	114.00 b	121.58 ab	133.33 a	117.21 b
°Brix	16.27 a	14.08 b	13.64 B	14.43 ab	14.58 ab

Medias con las mismas letras en hileras son estadísticamente iguales (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). CCL: color de la cáscara en L; CPL: color de la pulpa en L; NLEN: número de lenticelas; FIR: firmeza del fruto; ASEP: ancho del sépalo; CCAP: color de capullo o botón de flor; PEH: longitud del peciolo; ICO: inicio de cosecha; °Brix: grados brix.

como es el caso de Reina Peruana y Red Delicious.

Dentro del conjunto A se identificaron tres grupos, en tanto que los conjuntos B y C coincidieron con un grupo cada uno (Figura 1). El análisis de varianza multivariado confirmó la existencia de diferencias entre los cinco grupos definidos, pues los cuatro estadísticos de esta prueba (Lambda de Wilks, Traza de Pillai, Traza de Hotteling-Lawley y la Raíz máxima de Roy) mostraron alta significancia estadística ( $P < 0.0001$ ). Los promedios de grupo para las variables que los distinguieron se presentan en el Cuadro 3. El grupo A-I se formó con siete árboles, tres de ellos corresponden a variedades tradicionales, la mayoría con cáscara amarilla, con la pulpa más oscura y algunos con pulpa de tonalidad rosa, como la variedad Sandía. El grupo se caracteriza por frutos con firmeza media (5.69 kg fuerza) y mayor contenido de sólidos solubles (16.27 °Brix), así como por presentar los sépalos más angostos; son variedades de ciclo intermedio, que se cosechan en agosto.

El grupo A-II se integró con 25 árboles, diez de ellos de variedades 'tradicionales', predomina la cáscara amarilla o clara, con la mayor firmeza del fruto (7.49 kg fuerza) pero bajo contenido de sólidos solubles (14.08 °Brix); estos árboles son precoces, pues su cosecha se inicia en julio. El grupo A-III se formó con 19 árboles, 13 de ellos clasificados como variedades 'tradicionales', sus frutos presentan menor firmeza y menor contenido de sólidos solubles totales, cáscara de los frutos bicolor pero tendiendo a claro, color de pulpa tendiente a claro; se trata de árboles de ciclo intermedio (cosecha en agosto). El grupo IV (B) se formó con nueve árboles de variedades tradicionales, con cáscara roja y capullo de color rojo oscuro; su firmeza es intermedia y su contenido de sólidos solubles intermedio; son materiales muy tardíos, cuya cosecha inicia en septiembre. El grupo V (B) estuvo formado por 43 árboles, 33 de ellos

correspondientes a variedades tradicionales, en su mayoría de cáscara roja y pulpa color crema; alta firmeza de fruto, contenido de sólidos solubles totales de medio a alto y precoces en fructificación y cosecha (abril-julio), con el peciolo de la hoja más largo y el mayor número de lenticelas.

### DISCUSIÓN

En esta caracterización *in situ*, llevada a cabo en un área relativamente pequeña (pues abarca una superficie menor a 500 km<sup>2</sup>) pero con gran tradición en torno al cultivo de la manzana, en sólo ocho huertos se encontraron árboles representativos de un alto número de variedades de este frutal (36), tanto tradicionales como de reciente introducción, con predominio de las primeras. Ello implica que esta región puede ser un reservorio de árboles y variedades con características de interés para la conservación y aprovechamiento. Como referente, en Bosnia y Herzegovina, Gasi *et al.* (2010) señalan que se mantiene una colección *ex situ* de 39 cultivares, 24 tradicionales y 15 modernos internacionales, los cuales representan la colección más grande de su tipo en esa Federación, en tanto que en Serbia, Mratinić y Akšić (2012) mencionan la existencia de cuando menos 18 cultivares autóctonos.

Lo anterior resalta la importancia de la diversidad fenotípica encontrada en el municipio de Zacatlán, misma que se refleja en las diferencias identificadas entre árboles y grupos de éstos. Tal variación es producto de las características genéticas de las variedades, y aun cuando en esta aproximación no es posible separar la variación debida al ambiente, también está implícita la selección que el agricultor ha ejercido sobre algunas características deseables, como lo reportan Muzher *et al.* (2007). Al igual que en otras regiones productoras (González-Horta *et al.*, 2005), en Zacatlán se cultivan árboles de diversas variedades de

manzana en huertas pequeñas, con lo que se mantiene la variabilidad entre poblaciones (Damyar *et al.*, 2007) y dentro de ellas; y con la intervención humana se contribuye a la preservación de altos niveles de variación genética (Cornille *et al.*, 2012). Otros autores también han destacado la existencia e importancia de la variación entre variedades en manzano, tanto tradicionales como modernas (Al-Halabi y Muzher, 2015; Farrokhi *et al.*, 2014; Gasi *et al.*, 2010), y la gran variación genética entre y dentro de especies y poblaciones en el género *Malus* (Gasi *et al.*, 2010; Király *et al.*, 2012; Pérez-Romero *et al.*, 2015).

Las 16 variables identificadas como informativas permitieron, en la mayoría de los casos, agrupar a los árboles con base en las variedades a las que pertenecen. Tales variables coinciden con las reportadas en otros estudios, como el de Höfer *et al.* (2013), quienes en manzanas del Cáucaso, encontraron como variables importantes las de fruto, sobre todo color y firmeza. De manera similar, Reig *et al.* (2015), al describir la variación de manzano del Valle de Ebro, España, detectaron como relevantes a las características color de fruto, sólidos solubles en el jugo y fecha de cosecha. Pérez-Romero *et al.* (2015), Božović *et al.* (2015) y Kalkisim *et al.* (2016) reportaron resultados similares. En otros estudios sólo se han utilizado variables del fruto para describir tipos y variedades de manzana (Sebek, 2013b; Dar *et al.*, 2015; Farina *et al.*, 2016). Por los resultados obtenidos en este estudio, y los otros citados, se puede señalar que las características morfológicas y bioquímicas del fruto son las más importantes para describir la variación presente en manzano. Es de resaltar que estas características también son consideradas por los agricultores en la elección y conservación de variedades tradicionales que satisfacen sus necesidades y las del mercado.

Aun cuando los grupos formados con el análisis de conglomerados se generaron con base en 16 variables, fueron nueve las que finalmente los diferenciaron, y entre éstas figuraron el color de la cáscara y de la pulpa, el número de lenticelas y la firmeza del fruto. Estas características forman parte de las cualidades externas o físicas del fruto que han sido señaladas como relevantes para el consumidor al momento de decidir sobre la calidad y aceptación de la manzana (Mancera-López *et al.*, 2007; Jenks y Bebeli, 2011), siendo el color del fruto un factor importante en la preferencia del consumidor y el precio en el mercado (González-Talice *et al.*, 2013). Los grupos también se distinguieron por características de la flor y de la hoja, así como por el inicio de cosecha y los grados Brix. Con respecto a esta última, autores como Seipel *et al.* (2009) y Feng *et al.* (2014) mencionaron que las cualidades internas o bioquímicas, entre ellas los sólidos solubles, son importantes para distinguir grupos de variedades con diferente calidad.

Con respecto a los sólidos solubles encontrados en el presente estudio, éstos variaron de 13.64 a 16.27 °Brix entre los grupos formados, datos parecidos a los reportados por Mratinić y Akšić (2012), quienes encontraron valores para esta variable entre 12.55 y 19.24 °Brix; no obstante, cabe mencionar que en otros estudios enfocados a características bioquímicas se han reportado contenidos de azúcares menores a los aquí indicados (Campeanu *et al.*, 2009; Minnocci *et al.*, 2010).

Las diferencias entre grupos para firmeza del fruto y contenido de sólidos solubles indican la existencia de variación para estas características entre los árboles y variedades cultivadas en la región de estudio. Estos dos atributos son parámetros de calidad muy importantes para la aceptación de las variedades por parte de los consumidores, como lo afirman Campeanu *et al.* (2009), Feliciano *et al.* (2010) y Jakopic *et al.* (2012). Al respecto, conviene señalar que una de las actividades importantes en Zacatlán es la elaboración de vinos o bebidas alcohólicas con manzana; en el grupo A-I el contenido de grados Brix fue alto. De acuerdo con Božović *et al.* (2016) y Tomić *et al.* (2011) materiales con esas características son ideales para elaborar los productos mencionados.

El inicio de cosecha es un aspecto importante para los productores, ya que de éste depende el precio del mercado, además de que cuando se cuenta con materiales que no son tardíos, les permite evitar daños por factores climáticos, como heladas. En este trabajo, entre los árboles caracterizados predominaron los tempranos o intermedios a la cosecha, posiblemente por las razones mencionadas. No obstante lo anterior, también se encontraron árboles tardíos (los nueve del grupo IV), los cuales también fueron considerados como variedades 'tradicionales'. Es probable que su existencia esté asociada con el hecho de que se ha señalado que los manzanos con maduración tardía o muy tardía son buenos cultivares para almacenamiento, en tanto que los de maduración temprana o media no lo son (Božović *et al.*, 2016). Esto último también explicaría el por qué los productores de Zacatlán señalan que la mayoría de sus variedades tienen corta vida de anaquel.

Aunque la caracterización morfológica y bioquímica permitió identificar el alto nivel de variación fenotípica presente entre los árboles de manzano de Zacatlán, Puebla, se sugiere realizar un estudio molecular más extenso entre las variedades de manzana de la región para identificar el patrón de diversidad desde una perspectiva genética.

## CONCLUSIÓN

Existe una amplia diversidad fenotípica entre los árboles que representan a las 36 variedades de manzana

cultivadas en el municipio de Zacatlán, Puebla. La variación es más notable en nueve variables, las cuales incluyen principalmente características morfológicas de fruto, y en menor cantidad de flor, hoja, inicio de cosecha y el contenido de sólidos solubles.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México el apoyo en el financiamiento de los estudios de Maestría en Ciencias de la primera autora. También se agradece al Ing. José Alfredo Regalado Ortiz, Jefe del DDR 02 de Zacatlán, y a los productores miembros de la Organización de Comunidades Unidas de Frutas de Zacatlán A.C. (CUFRUZAC) por el apoyo en la investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Al-Halabi O. and B. Muzher (2015) Genetic diversity of some apple cultivars in the South of Syria based on morphological characters. *International Journal of Environment* 4:86-99, <http://dx.doi.org/10.3126/ije.v4i4.14105>.
- Aldana Z. J. M. y R. Nava R. (2017) Los murales de Zacatlán, Puebla; un discurso en el espacio urbano-arquitectónico. *Topofilia, Revista de Arquitectura, Urbanismo y Territorios* 5:93-107.
- Bhat Z. A., A. H. Pandit, W. M. Wani and J. A. Rather (2011) Effect of interstock on juvenility and tree size of 'Ambri' apple. *Acta Horticulturae* 903:435-437, doi:10.17660/ActaHortic.2011.903.58.
- Božović D., B. Lazović, S. Ercisli, M. Adakalić, V. Jaćimović, I. Sezer and A. Koc (2016) Morphological characterization of autochthonous apple genetic resources in Montenegro. *Erwerbs-Obstbau* 58:93-102, <http://dx.doi.org/10.1007/s10341-015-0260-8>.
- Campeanu G., G. Neata and G. Darjanschi (2009) Chemical composition of the fruits of several apple cultivars grown as biological crop. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37:161-164.
- Cornille A., P. Gladieux, M. J. M. Smulders, I. Roldán-Ruiz, F. Laurens, B. Le Cam, A. Nersesyan, J. Clavel, M. Olonova, L. Feugey, I. Gabrielyan, X.-G. Zhang, M. I. Tenailon and T. Giraud (2012) New insight into the history of domesticated apple: secondary contribution of the European wild apple to the genome of cultivated varieties. *PLoS Genetics* 8:e1002703. doi:10.1371/journal.pgen.1002703.
- Damyar S., D. Hassani, R. Dastjerdi, H. Hajnajari, A. A. Zeinanloo and E. Fallahi (2007) Evaluation of Iranian native apple cultivars and genotypes. *Journal of Food Agriculture and Environment* 5:211-215.
- Dan C., A. F. Sestras, C. Bozdog and R. E. Sestras (2015) Investigation of wild species potential to increase genetic diversity useful for apple breeding. *Genetika* 47:993-1011, <https://doi.org/10.2298/GEN-SR1503993D>.
- Dar J. A., A. A. Wani and M. K. Dhar (2015) Morphological, biochemical and male-meiotic characterization of apple (*Malus × domestica* Borkh.) germplasm of Kashmir Valley. *Chromosome Botany* 10:39-49, <http://doi.org/10.3199/iscb.10>.
- Donno D., G. L. Beccaro, M. G. Mellano, D. Torello M., A. K. Cerutti, S. Canterino and G. Bounous (2012) Application of sensory, nutraceutical and genetic techniques to create a quality profile of ancient apple cultivars. *Journal of Food Quality* 35:169-181, <http://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00442.x>.
- Farina V., G. Gianguzzi and A. Mazzaglia (2016) Fruit quality traits of six ancient apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars grown in the Mediterranean area. *International Journal of Fruit Science* 16:275-283, <https://doi.org/10.1080/15538362.2015.1102675>.
- Farrokhji J., R. Darvishzadeh, H. Hatami Maleki and L. Naseri (2013) Evaluation of Iranian native apple (*Malus × domestica* Borkh.) germplasm using biochemical and morphological characteristics. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 78:307-313.
- Feliciano R. P., C. Antunes, A. Ramos, A. T. Serra, M. E. Figueira, C. M. M. Duarte, A. de Carvahlo and M. R. Bronze (2010) Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 - Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Functional Foods* 2:35-45, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.12.004>.
- Feng F., M. Li, F. Ma and L. Cheng (2014) The effects of bagging and debagging on external fruit quality, metabolites, and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in 'Jonagold' apple (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae* 165:123-131, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.11.008>.
- Gasi F., S. Simon, N. Pojskic, M. Kurtovic and I. Pejic (2010) Genetic assessment of apple germplasm in Bosnia and Herzegovina using microsatellite and morphologic markers. *Scientia Horticulturae* 126:164-171, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.07.002>.
- González-Horta A. C., M. R. Fernández-Montes, A. Rumayor-Flores, E. Castañón T. y R. A. Martínez P. (2005) Diversidad genética en poblaciones de manzano en Querétaro, México revelada por marcadores RAPD. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28:83-91.
- González-Talice J., J. A. Yuri y A. del Pozo (2013) Relations among pigments, color and phenolic concentrations in the peel of two Gala apple strains according to canopy position and light environment. *Scientia Horticulturae* 151:83-89, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.12.007>.
- Hernández S. R., C. Fernández C. y P. Baptista L. (2014) Metodología de la Investigación. Sexta edición. McGraw-Hill/Interamericana Editores. México, D. F. 600 p.
- Hidalgo R. (2003) Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. In: Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. T.L. Franco y R. Hidalgo (eds.). Boletín Técnico IPGRI No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. pp: 2-26.
- Höfer M., H. Flachowsky, M. V. Hanke, V. Seměnov, A. Šlávás, I. Bandurko, A. Sorokin and S. Alexanian (2013) Assessment of phenotypic variation of *Malus orientalis* in the North Caucasus region. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:1463-1477, <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-012-9935-2>.
- INAFED, Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (2017) Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Puebla. Secretaría de Gobernación. México. <http://siglo.inafed.gov.mx/enciclopedia/EMM21puebla/index.html> (Noviembre, 2017).
- Iracheta C. A. (2010) Plan de Ordenamiento Ecológico de Zacatlán. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), H. Ayuntamiento Municipal de Zacatlán 2008-2010, El Colegio Mexiquense. México, D.F. 232 p. [http://www.zacatlan.gob.mx/articulo11/1/decretos/ordenamiento\\_ecologico\\_zacatlan.pdf](http://www.zacatlan.gob.mx/articulo11/1/decretos/ordenamiento_ecologico_zacatlan.pdf).
- Iwanami H. (2011) Breeding for fruit quality in apple. In: Breeding for Fruit Quality. M. A. Jenks and P. J. Bebeli (eds.). Wiley Blackwell. Hoboken, New Jersey, USA. pp:175-200.
- Jakopic J., A. Slatnar, F. Stampar, R. Veberic and A. Simoncic (2012) Analysis of selected primary metabolites and phenolic profile of 'Golden Delicious' apples from four production systems. *Fruits* 67:377-386, <http://dx.doi.org/10.1051/fruits/2012032>.
- Jemrić, T., G. Fruk, D. Čiček, M. Skendrović Babojević and Z. Sindrak (2012) Preliminary results of fruit quality of eight Croatian local apple cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 77:223-226, <http://hrcak.srce.hr/97509>.
- Kalkisim O., D. Ozdes, Z. Okcu, B. Karabulut and H. B. Senturk (2016) Determination of pomological and morphological characteristics and chemical compositions of local apple varieties grown in Gumushane, Turkey. *Erwerbs-Obstbau* 58:41-48, <http://dx.doi.org/10.1007/s10341-015-0256-4>.
- Király I., R. Redeczki, E. Erdélyi and M. Tóth (2012) Morphological and molecular (SSR) analysis of old apple cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 40:269-275.
- López S. J. L., J. A. Ruiz C., J. J. Sánchez G. y R. Lépiz I. (2005) Adaptación climática de 25 especies de frijol silvestre (*Phaseolus* spp.) en la República Mexicana. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28:211-230.
- Ma B., L. Liao, Q. Peng, T. Fang, H. Zhou, S. S. Korban and Y. Han (2017) Reduced representation genome sequencing reveals patterns of genetic diversity and selection in apple. *Journal of Integrative Plant Biology* 59:190-204, doi:10.1111/jipb.12522.
- Mancera-López M. M., J. M. Soto-Parra, E. Sánchez-Chávez, R. M. Yáñez-Muñoz, F. Montes-Domínguez y R. R. Baladrán-Quintana (2007) Caracterización mineral de manzana 'Red Delicious' y 'Golden

- Delicious' de dos países productores. *Tecnociencia Chihuahua* 1:6-17.
- Minnocci A., P. Lacopini, F. Martinelli and L. Sebastiani (2010)** Micromorphological, biochemical, and genetic characterization of two ancient, late-bearing apple varieties. *European Journal of Horticultural Science* 74:1-7.
- Mratinić E. and M. F. Akšić (2012)** Phenotypic diversity of apple (*Malus* sp.) germplasm in South Serbia. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55:349-358, <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132012000300004>.
- Muzher B. M., R. A. A. Younis, O. El-Halabi and O. M. Ismail (2007)** Genetic identification of some Syrian local apple (*Malus* sp.) cultivars using molecular markers. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3:704-713.
- Pantoja-Ambríz, J., M. E. Pedraza-Santos, P. A. López y P. Apáez B. (2016)** Distribución y caracterización morfológica de genotipos silvestres de *Cuitlauzina pendula* Lex (Orchidaceae). *Interciencia* 41:819-825.
- Pérez-Romero L. F., M. P. Suárez, E. Dapena and P. Rallo (2015)** Molecular and morphological characterization of local apple cultivars in Southern Spain. *Genetics and Molecular Research* 14:1487-1501, <http://dx.doi.org/10.4238/2015.February.20.4>.
- Reig G., Á. Blanco, A. M. Castillo, Y. Gogorcena and M. A. Moreno (2015)** Phenotypic diversity of Spanish apple (*Malus × domestica* Borkh.) accessions grown at the vulnerable climatic conditions of the Ebro Valley, Spain. *Scientia Horticulturae* 185:200-210, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.024>.
- Reim S., A. Proft, S. Heinz and M. Höfer (2012)** Diversity of the European indigenous wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) in the East Ore Mountains (Osterzgebirge), Germany. I. Morphological characterization. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59:1101-1114, <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-011-9746-x>.
- Salazar-Rojas V. M., B. E. Herrera-Cabrera, M. Á. Soto-Arenas and F. Castillo-González (2010)** Morphological variation in *Laelia anceps* subsp. *dawsonii* f. *chilapensis* Soto-Arenas Orchidaceae in traditional home gardens of Chilapa, Guerrero, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57:543-552, <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9492-5>.
- SAS Institute (2013)** SAS 9.4 Versión para Windows. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Šebek G. (2013a)** Morphological characteristics of fruits of selected types of wild apples (*Malus sylvestris* L.) in the area of Bijelo Polje. *Agriculture & Forestry* 59:167-173.
- Šebek G. (2013b)** Autochthonous cultivars of apple from the area of the upper Polimlje. *Poljoprivreda i Sumarstvo* 59:67-74, <http://abc065a4e4554d33eef058f3e6e7f03f.pdf>.
- Seipel M., M. E. Pirovani, D. R. Güemes, N. F. Gariglio and A. M. Piagentini (2009)** Características fisicoquímicas de los frutos de tres variedades de manzanas cultivadas en la región centro-este de la provincia de Santa Fe. *Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 8:27-36.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2017a)** Manzana: México produjo 716,930 toneladas en 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México, D.F. <https://www.gob.mx/siap/articulos/manzana-mexico-produjo-716-930-toneladas-en-2016?idiom=es> (Noviembre, 2017).
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2017b)** Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México, D.F. [http://nube.siap.gob.mx/cierre\\_agricola/](http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/) (Noviembre, 2017).
- Tomić L., P. Ninić and M. Cvetković (2011)** Evaluation of fruit characteristics of old apple cultivars within west Bosnia. The 16th Conference about Biotechnology with International Participation. 4-5 March, 2011. Čačak, Serbia. pp:353-357.
- UPOV, Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (2005)** Manzano (Variedades frutales). Código UPOV: MALUS\_DOM (*Malus domestica* Borkh.). Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. Ginebra, Suiza. 45 p. <http://www.upov.int/edocs/tgdocs/es/tg014.pdf> (Noviembre, 2017).
- Voss D. H. (1992)** Relating colorimeter measurement of plant color to the *Royal Horticultural Society Colour Chart*. *HortScience* 27:1256-1260.
- Woodbury J. E. (2000)** Spices and other condiments. In: Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Vol. II. Food Composition, Additives, Natural Contaminants. W. Horwitz (ed.). Association of Official Analytical Chemist International, Gaithersburg, Maryland, USA. pp:z1-16.