

VARIABILIDAD MORFOLÓGICA MEDIANTE CARACTERES DE SEMILLA DE POBLACIONES DE *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, ORIGINARIAS DE GUANAJUATO, MÉXICO

Miguel Ángel Hernández-Martínez; Carlos Alberto Núñez-Colín¹;
Salvador Horacio Guzmán-Maldonado; Edgar Espinosa-Trujillo;
María Guadalupe Herrera-Hernández

Campo Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, km 6.5 Carretera Celaya–San Miguel de Allende, Apartado Postal 112, Celaya, Guanajuato, C. P. 38110, MÉXICO.
Correo-e: lit007a@gmail.com (¹Autor para correspondencia)

RESUMEN

El membrillo cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch.) es un arbusto frutal de la familia Rosaceae subtribu *Pyrinae* originario de México, del cual no existen estudios para conocer su diversidad ni su sistema reproductivo. Por estas razones y para tener un primer antecedente sobre su variabilidad morfológica, se caracterizaron seis poblaciones de *A. denticulata* originarias de Guanajuato, México, mediante caracteres de semilla. Todas las poblaciones presentaron alta variabilidad intra e interpoblacional. Las variables de semilla analizadas fueron discriminantes para distinguir las diferentes poblaciones, siendo las más importantes las relacionadas con las de tamaño de las semillas, seguidas de las de forma. El grado de apomixis no es claro en esta especie debido a la alta variación intrapoblacional; por lo tanto, se necesitan estudios más detallados para concluir la existencia o no de apomixis en *A. denticulata*.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Membrillo cimarrón, Rosaceae subtribu *Pyrinae*, variabilidad morfológica, métodos multivariados.

MORPHOLOGICAL VARIABILITY BY MEANS OF SEED TRAITS OF POPULATIONS OF

Amelanchier denticulata (Kunth) Koch, FROM GUANAJUATO, MEXICO.

ABSTRACT

The Mexican serviceberry (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch.) is a fruit-bearing shrub belonging with to the family Rosaceae subtribe *Pyrinae*, which is native to Mexico. There are no studies to know its diversity and its reproductive system. Furthermore, for having an insight of the morphological variability, six populations of *A. denticulata* from Guanajuato, Mexico, were characterized by means seed traits. All the populations showed high intra and inter-population variability. The analyzed seed traits were discriminating to distinguish the different populations mainly by traits related to the seed size, followed by the seed shape traits. The apomixis degree is not clear on this species due to the high intra-population variability. However, more detailed studies are needed to conclude whether or not apomixis is present in *A. denticulata*.

ADDITIONAL KEYWORDS: Southern false serviceberry, Rosaceae subtribe *Pyrinae*, morphological variability, multivariate methods.

INTRODUCCIÓN

El membrillo cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) es una planta nativa de México, perteneciente a la familia Rosaceae subtribu *Pyrinae* (anteriormente la subfamilia Maloideae); está reportada su distribución desde el sur de Texas en Estados Unidos hasta Guatemala (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 2005).

En México, esta especie recibe localmente diversos nombres en español como: membrillo cimarrón, duraznillo, madronillo, membrillo, membrillo silvestre, acebuche, granjenillo, manzanita y mimbre. Además en lenguas indígenas recibe los nombres de: tlaxisqui, tlaxistle, tomistlacatli, tlaxioqui, clasisle, tlachistle, yagalán y claldurazno. En inglés: Southern false serviceberry y big bend serviceberry (Vibrans *et al.*, 2006). Esta especie puede ser considerada como un cultivo subutilizado o abandonado según las clasificaciones de FAO para los recursos fitogenéticos (FAO, 2001).

Existe muy poca información de esta especie que está catalogada con su sinónimo de *Malacomeles denticulata* (H. B. K.) Jones en estudios filogenéticos de la subtribu *Pyrinae* (Phipps *et al.*, 1990; Campbell *et al.*, 1995; Campbell *et al.*, 2007), aunque el género *Malacomeles* ha sido considerado dentro del género *Amelanchier* debido a su parecido morfológico (Robertson, 1974; Phipps *et al.*, 1990; Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 2005). Recientemente, Rzedowski y Calderón de Rzedowski (2005) y Vibrans *et al.* (2006) consideraron que las especies del llamado género *Malacomeles* realmente pertenecen al género *Amelanchier*, lo que ya habían reportado anteriormente Standley y Steyermark (1946) y Robertson (1974).

La variabilidad, tanto morfológica como genética, que presenta el membrillo cimarrón no ha sido reportada aún. Para hacer un primer acercamiento a la variabilidad presente en esta especie es posible utilizar características de semillas debido a que es considerada un órgano estable y discriminante en estudios de biodiversidad (González-Andrés y Ortiz, 1995), sobre todo en especies relacionadas, como lo es el género *Crataegus* (Nieto-Ángel *et al.*, 2009).

Por esto el presente estudio tuvo como objetivos conocer la variabilidad intra e interpoblacional y sus relaciones morfológicas en caracteres de semilla en seis poblaciones de *A. denticulata*, y determinar la capacidad discriminante de las características morfológicas de semillas en estudios del género *Amelanchier*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 50 semillas al azar por cada población de seis diferentes poblaciones de *A. denticulata* obtenidas de colectas hechas en campo cerca de las comunidades de San Miguel de Allende, San Luis de la Paz, Dolores Hidalgo, La Valenciana, El Derramadero y Santa Rosa en el estado de Guanajuato (Cuadro 1; Figura 1).

INTRODUCTION

The Mexican serviceberry (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) is a plant native to Mexico, belonging with family Rosaceae subtribe *Pyrinae* (formerly the subfamily Malodeae); its distribution is reported from southern Texas in United States to Guatemala (Rzedowski and Calderón de Rzedowski, 2005).

In Mexico, this species receive several locally names in Spanish like as: membrillo cimarrón duraznillo, madronillo, membrillo, membrillo silvestre, acebuche, granjenillo, manzanita y mimbre. Moreover, in natives languages receive the names as: tlaxisqui, tlaxistle, tomistlacatli, tlaxioqui, clasisle, tlachistle, yagalán, and claldurazno. In English: Mexican serviceberry, southern false serviceberry, and big bend serviceberry (Vibrans *et al.*, 2006). This species would be considered like as an underutilized and neglected crop according to FAO's classification about plant genetic resources (FAO, 2001).

There is few information about this species that is catalogued by its synonym name of *Malacomeles denticulata* (H. B. K.) Jones in phylogenetic studies about subtribe *Pyrinae* (Phipps *et al.*, 1990; Campbell *et al.*, 1995; Campbell *et al.*, 2007), although the genus *Malacomeles* has been considered within to genus *Amelanchier* because they have high morphological similarity (Robertson, 1974; Phipps *et al.*, 1990; Rzedowski and Calderón de Rzedowski, 2005). Recently, Rzedowski and Calderón de Rzedowski (2005) and Vibrans *et al.* (2006) considered that the species of the called genus *Malacomeles* really belong with genus *Amelanchier*, this topic had been formerly reported by Stanley and Steyermark (1946) and Robertson (1974).

The variability both morphologically as well as genetic that shows the Mexican serviceberry has not been reported yet; and to make a first insight about the variability which is present in this species, it is possible to use seed traits because the seed is considered a stable and discriminating tissue in biodiversity studies (González-Andrés and Ortiz, 1995), mainly in related species like as the genus *Crataegus* (Nieto-Ángel *et al.*, 2009).

That is why the present research aims to know the intra and inter-population variability and their morphological relationships by seed traits in six *A. denticulata* populations, besides to determine the discriminating capacity of morphological seed traits in studies about the genus *Amelanchier*.

MATERIALS AND METHODS

50 randomly seeds per each population of six different populations of *A. denticulata* were used, which were obtained by field collection close to the communities of San Miguel de Allende, San Luis de la Paz, Dolores Hidalgo, La Valenciana, El Derramadero, and Santa Rosa in the state of Guanajuato, Mexico (Table 1; Figure 1).

CUADRO 1. Datos de Pasaporte de las seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch originarias del estado de Guanajuato.TABLE 1. Passport data of the six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch from the State of Guanajuato.

Procedencia	Latitud N	Longitud W	Colector	Año
San Miguel de Allende	20° 54' 26"	100° 31' 50"	Núñez-Colín et al.	2009
San Luis de la Paz	21° 20' 57"	100° 28' 17"	Núñez-Colín et al.	2009
Dolores Hidalgo	21° 09' 25"	100° 55' 50"	Núñez-Colín et al.	2009
La Valenciana	21° 02' 44"	101° 15' 06"	Núñez-Colín et al.	2009
El Derramadero	21° 03' 51"	101° 13' 20"	Núñez-Colín et al.	2009
Santa Rosa	21° 06' 21"	101° 07' 27"	Núñez-Colín et al.	2009

FIGURA 1. Mapa de ubicación de las seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, originarias del estado de Guanajuato, México, consideradas en este estudio.FIGURE 1. Location map of the six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, from the State of Guanajuato, Mexico, considered in the present study.

Estas semillas fueron el producto de la colecta de frutos de al menos diez diferentes individuos de cada población; los árboles estuvieron separados aproximadamente 10 m entre ellos, y de los mismos se consideraron características fenotípicas semejantes como: altura del árbol y diámetro promedio de las ramas; los frutos fueron colectados *in situ*, se despulparon manualmente y las semillas fueron lavadas y puestas a secar a temperatura ambiente en papel desecante por 72 h; más tarde las semillas fueron almacenadas a una temperatura de 7 °C en un refrigerador convencional en bolsas de plástico con cierre.

Las semillas se digitalizaron junto con una regla milimétrica utilizando un escáner HP Scanjet G2710; las imágenes resultantes fueron analizadas utilizando el paquete ImageTool ver. 3.00 (Wilcox *et al.*, 1995), donde se obtuvieron las variables de longitud del eje mayor (LEMa), longitud del eje menor (LEMe), área (A) y perímetro (P) de la semilla, además de los índices diámetro Feret ($DF = \frac{(4 \cdot A) \pi}{P^2}$), índice de redondez ($IR = \frac{(4 \cdot \pi \cdot A) P^2}{P^2}$), índice de alargamiento ($IE = \frac{LEMa}{LEMe}$), índice de compactación

These seeds were the result to collect fruits at least ten different individuals per population, the shrubs were spaced approximately 10 m among them; in these shrubs, similar phenotypic traits like as shrub height and average shoot diameter were considered, these fruits were collected *in situ*, they are manually pulped and the seeds were washed and left to dry at room temperature on drying paper per 72 h, later the seeds were stored at temperature of 7 °C in a conventional freezer into zipper plastic bags.

The seeds were digitalized with a millimetric reference using a HP Scanjet G2710 Scanner, where the resulting images were analyzed by means the software ImageTool ver. 3.00 (Wilcox *et al.*, 1995); in this software, the traits Major axis length (LEMa), Minor axis length (LEMe), Area (A) and Perimeter (P) were obtained, besides several indices were also calculated like as Feret diameter ($DF = \frac{(4 \cdot A) \pi}{P^2}$), Roundness index ($IR = \frac{(4 \cdot \pi \cdot A) P^2}{P^2}$), Elongation index ($IE = \frac{LEMa}{LEMe}$), Compactness index ($IC = \frac{DF}{LEMa}$), and the roundness ratio ($RR = \frac{LEMe}{LEMa}$) which is the inverse ratio of the Elongation index.

($IC = DF \cdot LEMa$), el radio de redondez ($RR = LEMe \cdot LEMa$) que es la relación inversa del índice de alargamiento.

Siguiendo la metodología utilizada por Núñez-Colín *et al.* (2008), se empleó la fórmula de varianza interna (Núñez-Colín y Barrientos-Priego, 2006) basada en el análisis de componentes principales, los estadísticos básicos y la prueba de resustitución para conocer la variabilidad intrapoblacional. Por otro lado, para conocer la variabilidad interpoblacional y las variables más discriminantes para diferenciar las poblaciones, se utilizaron el análisis discriminante canónico, la distancia Mahalanobis, el análisis de varianza multivariada (MANOVA) y la prueba de medias estandarizadas de Tukey para las variables canónicas (Johnson, 1998). Además de esto, tomando los promedios, se realizó un análisis de agrupamiento utilizando las distancias Euclidianas y el método de Ward (Ward, 1963) para observar la relación de parecido entre las poblaciones.

Además se realizó la prueba de resustitución, que se genera del análisis discriminante canónico, que es utilizada para corroborar el porcentaje de individuos típicos y atípicos de la población, donde los individuos atípicos los reclasifica por sus características en otras poblaciones.

RESULTADOS

Mediante el índice de varianza interna (Núñez-Colín y Barrientos-Priego, 2006) se determinó que la población de Santa Rosa fue la más heterogénea (0.8196), y la de San Luis de la Paz la más homogénea (0.2659; Figura 2); las poblaciones del Derramadero y de La Valenciana presentaron variabilidad media alta, al igual que la población de Dolores Hidalgo (0.4762, 0.4910 y 0.4343, respectivamente); sin embargo, esta última población presentó más individuos atípicos, ya que evidenció un alto error estándar en esta prueba (Núñez-Colín y Barrientos-Priego, 2006). Caso contrario, la población de San Miguel de Allende mostró una variabilidad mayor a la de San Luis de la Paz (0.3780), pero menor a las otras (Figura 2).

Esto se comprueba al obtener el coeficiente de variación de las variables medidas donde la población de Santa Rosa muestra los mayores valores; por el contrario, la población de San Luis de la Paz presentó los valores más bajos (Cuadro 2). En este mismo sentido, las otras poblaciones presentaron valores altos sólo en algunas variables; por ejemplo en el área de la semilla, la población de Dolores Hidalgo tuvo el valor más alto que el de las otras poblaciones, a excepción de la de Santa Rosa, mientras que en el índice de compactación presenta valores bajos en comparación con valores de las poblaciones de El Derramadero y La Valenciana (Cuadro 2).

De acuerdo a la prueba de resustitución, la población con mayor porcentaje de individuos atípicos fue la de La Valenciana, seguida por la de Santa Rosa (Cuadro 3). Caso contrario, las poblaciones de San Luis de la Paz y de San

Following the methodology used by Núñez-Colín *et al.* (2008), the formula of internal variability (Núñez-Colín y Barrientos-Priego, 2006) based on the Principal Component Analysis, the basic statistics, and the resubstitution test were used to know the intra-population variability. On the other hand, to know the inter-population variability and the most discriminating traits to differentiate the populations, the canonical discriminant analysis, the Mahalanobis distance, the multivariate analysis of variance (MANOVA), and the Tukey's standardized means test for canonical variables were used (Johnson, 1998). Moreover, taking in account the means per population, a cluster analysis using the Euclidean distance and the method of Ward were done to show the similarity relationships among populations.

Furthermore, the resubstitution test, generated in the canonical discriminant analysis, was done; this test is using to corroborate the percentage of typical and atypical individuals of each population, where the atypical individuals are reclassified in other populations per itself traits

RESULTS

Using the internal variability index (Núñez-Colín y Barrientos-Priego, 2006) was determined that the Santa Rosa population was the most heterogeneous population (0.8196) meanwhile San Luis de la Paz population was the most homogeneous (0.2659; Figure 2); El Derramadero and La Valenciana populations showed high average variability as well as the Dolores Hidalgo population (0.4762, 0.4910 y 0.4343 respectively); however, this last population showed more atypical individuals because it showed higher standard error in this test (Núñez-Colín y Barrientos-Priego, 2006). Contrary, the San Miguel de Allende population showed higher variability in comparison to San Luis de la Paz (0.3780), but lower than the other populations (Figure 2).

These results are corroborated using the variation coefficient of all measured traits, where the Santa Rosa population showed the highest values; contrary, the San Luis de la Paz population showed the lowest values (Table 2). In this sense, the other populations only showed high values in some traits, for example, in the seed area, the Dolores Hidalgo population had the second highest value, except to Santa Rosa population, while in compactness index showed lower values in comparison with the values of the populations from El Derramadero and La Valenciana (Table 2).

According to the resubstitution test, La Valenciana population was the population with highest percentage of atypical individuals, followed by Santa Rosa population (Table 3). Contrary, the populations from San Luis de la Paz and San Miguel de Allende showed the lowest percentage of atypical individuals (Table 3).

In the canonical discriminant analysis were needed three canonical roots to explain 97.72 % of the total variance, where the first canonical root explained 79.29 %, the second, 14.30 %, and the third, 4.13 % (Table 4)

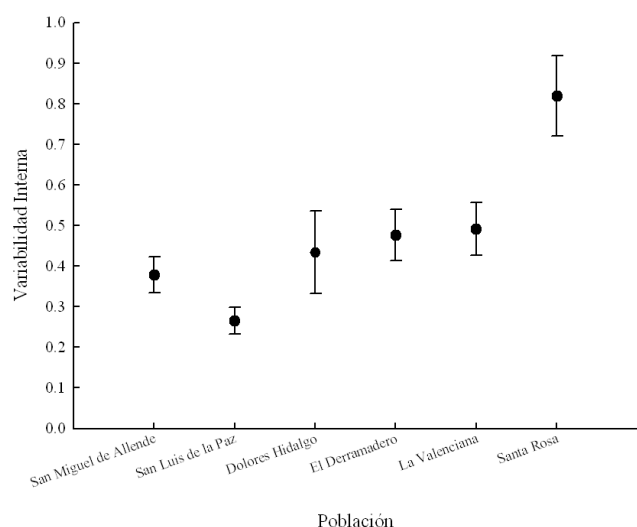


FIGURA 2. Varianza interna de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, originarias de Guanajuato, México, mediante variables de semilla.

FIGURE 2. Internal variance of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, from Guanajuato, Mexico, by means seed traits.

Miguel de Allende presentaron los menores porcentajes de individuos atípicos (Cuadro 3).

En el análisis discriminante canónico fueron necesarias tres raíces canónicas para explicar el 97.72 % de la varianza total, donde la primera raíz canónica explica el 79.29 %, la segunda el 14.30 % y la tercera 4.13 % (Cuadro 4).

La primera raíz canónica estuvo asociada al perímetro y a la longitud del eje mayor de la semilla; la segunda raíz estuvo asociada a las variables índice de compactación y radio de redondez, y la tercera raíz canónica estuvo asociada al índice de redondez (Cuadro 5).

En la representación tridimensional de las poblaciones, en las tres primeras raíces canónicas se observó que las poblaciones del oriente de Guanajuato (El Derramadero, La Valenciana y Santa Rosa) se encuentran ubicadas en la zona positiva de la raíz canónica 1, lo que se traduce en semillas más grandes que las del occidente (San Miguel de Allende, Dolores Hidalgo y San Luis de la Paz). Por otro lado, la población de Dolores Hidalgo se ubicó en la zona negativa de la raíz canónica 2, lo que se traduce en semillas poco compactas y alargadas; el caso contrario fue la población de San Miguel de Allende, que presentó semillas compactas y poco alargadas; todas las otras poblaciones presentaron características intermedias entre estas dos poblaciones (Figura 3).

La distancia de Mahalanobis mostró que todas las poblaciones estudiadas fueron estadísticamente diferentes (Cuadro 6), lo cual se confirma con la lambda de Wilks del MANOVA que presentó un valor de 0.0662, lo que quiere decir que el vector de medias de las diferentes poblaciones

The first canonical root was associated to the perimeter and the major axis length of the seed; the second root was associated to the traits compactness index and roundness ratio; and the third canonical root was associated to the roundness index (Table 5).

In the three dimensional representation of the populations in the three first canonical roots, it showed that the populations from eastern Guanajuato (El Derramadero, La Valenciana, and Santa Rosa) were located in the positive area of the first canonical root that means they have bigger seeds than western ones (San Miguel de Allende, Dolores Hidalgo, and San Luis de la Paz). On the other hand, Dolores Hidalgo population was located in the negative area of the second canonical root that means it has low compact and elongated seeds, contrary San Miguel de Allende population showed compact and low elongated seeds. All others populations showed intermediate values between these two populations (Figure 3).

The Mahalanobis distance showed that all studied populations were statistically different (Table 6), this result was confirmed with the Wilks' lambda of the MANOVA, which showed a value of 0.0662 that means the means vector of the all populations showed very high significant differences.

In the MANOVA analysis into the canonical roots showed differences among population in the first three canonical roots (Table 7). The Tukey's standardized means test showed that Santa Rosa and La Valenciana populations are statistically similar in the first canonical root with the highest positive average values (Table 8); El Derramadero population showed significant differences with all other populations although it showed also a positive value (Table 8). Contrary, the Dolores Hidalgo and San Luis de la Paz populations no significant differences among them were showed and they had negative values. The San Miguel de Allende population showed the highest negative value and significant differences with all populations (Table 8).

In this test, in the second canonical root, it showed that San Miguel de Allende population had the highest positive value and significant differences with the other populations (Table 8); contrary, the Dolores Hidalgo population had the highest negative value and also significant differences with the other populations (Table 8); The remaining populations (El Derramadero, La Valenciana, San Luis de la Paz, and Santa Rosa) did not have significant differences among them (Table 8).

In the third canonical root, San Luis de la Paz population showed the highest positive value (Table 8) and it was statistically different to the other populations; El Derramadero population showed significant differences with San Miguel de Allende and Dolores Hidalgo populations but no differences with Santa Rosa and La Valenciana, these last four populations did not have significant differences among them (Table 8).

In the dendrogram (Figure 4) was found that the eastern Guanajuato populations were clustered and these po-

CUADRO 2. Estadísticos básicos de las características de semillas de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch colectadas en el estado de Guanajuato.
TABLE 2. Basic statistics of the seed traits of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, collected in the State of Guanajuato.

Área	Perímetro		Longitud del Eje Mayor		Longitud del Eje Menor		Índice de Alargamiento		Índice de Redondez		Diámetro Feret		Índice de Compactación		Radio de Redondez			
	Media ±EE ^z	CV ^y	Media ±EE	CV	Media ±EE	CV	Media ±EE	CV	Media ±EE	CV	Media ±EE	CV	Media ±EE	CV	Media ±EE	CV		
San Miguel de Allende	7.76±0.15	13.57	11.14±0.11	6.79	4.18±0.04	7.41	2.38±0.03	9.99	1.77±0.02	9.65	0.78±0.01	6.14	3.14±0.03	6.95	0.75±0.005	4.35	0.57±0.01	9.46
San Luis de la Paz	8.48±0.13	11.13	11.78±0.08	4.78	4.57±0.03	4.74	2.39±0.03	8.85	1.92±0.02	8.09	0.77±0.01	5.36	3.28±0.03	5.59	0.72±0.004	3.79	0.52±0.01	8.10
Dolores Hidalgo	7.09±0.15	15.12	11.22±0.11	6.97	4.43±0.04	7.08	2.07±0.03	11.70	2.17±0.04	12.49	0.70±0.01	7.56	3.00±0.03	7.56	0.68±0.005	4.78	0.47±0.01	10.43
La Valenciana	11.10±0.20	12.59	14.66±0.13	6.15	5.51±0.04	5.33	2.75±0.04	11.44	2.03±0.03	10.95	0.65±0.01	6.48	3.75±0.03	6.27	0.68±0.005	5.49	0.50±0.01	11.31
El Derramadero	10.24±0.19	13.28	14.03±0.15	7.57	5.32±0.05	6.29	2.59±0.04	10.58	2.08±0.03	11.00	0.65±0.01	7.30	3.60±0.03	6.72	0.68±0.005	5.13	0.49±0.01	10.41
Santa Rosa	11.65±0.25	15.32	15.09±0.18	8.37	5.64±0.06	7.55	2.79±0.05	13.57	2.06±0.05	15.72	0.64±0.01	7.79	3.84±0.04	7.65	0.68±0.006	6.64	0.50±0.01	14.57

^zEE = Error estándar; ^yCV = Coeficiente de variación (%)
^xEE= Standard error; ^yCV = coefficient of variation (%)

CUADRO 3. Prueba de resustitución para determinar el porcentaje de individuos típicos y atípicos basado en el análisis discriminante canónico de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, colectadas en el estado de Guanajuato mediante variables de semilla.

TABLE 3. Resubstitution test to determinate the percentage of typical and atypical individuals based on the canonical discriminant analysis of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, collected in the State of Guanajuato by means seed traits.

Población	Dolores Hidalgo	San Luis de la Paz	San Miguel de Allende	Santa Rosa	El Derramadero	La Valenciana	Total
	34^z	12	1	0	3	0	50
Dolores Hidalgo	68 % ^y	24 %	2 %	0 %	6 %	0 %	100 %
	7	37	6	0	0	0	50
San Luis de la Paz	14 %	74 %	12 %	0 %	0 %	0	100 %
	2	12	35	0	1	0	50
San Miguel de Allende	4 %	24 %	70 %	0 %	2 %	0 %	100 %
	0	0	0	25	16	9	50
Santa Rosa	0 %	0 %	0 %	50 %	32 %	18 %	100 %
	1	2	0	7	29	11	50
El Derramadero	2 %	4 %	0 %	14 %	58 %	22 %	100 %
	0	0	0	11	15	24	50
La Valenciana	0 %	0 %	0 %	22 %	30 %	48 %	100 %
	44	63	42	43	64	44	300
Total reclasificado	14.67	21	14	14.33	21.33	14.67	100 %
Porcentajes Iniciales	16.67	16.67	16.67	16.67	16.67	16.67	100 %

En filas se encuentran los datos originales de cada población y de acuerdo a sus características a la población a la que deberían pertenecer. ^zNúmero de individuos, ^yPorcentaje de individuos.

In the lines are the original data of each population and according to their characteristics to the population they should belong. ^zNumber of individuals, ^yPercentage of individuals.

CUADRO 4. Valores propios y varianza explicada de las raíces canónicas del análisis discriminante canónico de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, colectadas en el estado de Guanajuato mediante variables de semilla.

TABLE 4. Eigenvalues and explained variance of the canonical roots of the canonical discriminant analysis of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, collected in the State of Guanajuato by means seed traits.

Raíz Canónica	Valor Propio	Varianza Explicada Acumulada		Radio de Probabilidad	Valor de F aproximado	P > F
1	4.7337	0.7929	0.7929	0.0662	23.7800	<0.0001
2	0.8537	0.1430	0.9358	0.3798	9.9400	<0.0001
3	0.2467	0.0413	0.9772	0.7041	5.1200	<0.0001
4	0.1103	0.0185	0.9956	0.8778	3.2400	0.0002
5	0.0260	0.0044	1.0000	0.9747	1.5100	0.1871

CUADRO 5. Estructura canónica total del análisis discriminante canónico de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, colectadas en el estado de Guanajuato mediante variables de semilla.

TABLE 5. Total canonical structure of the canonical discriminant analysis of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, collected in the State of Guanajuato by means seed traits.

Variable	Can1 ^z	Can2	Can3
Área	0.8299	0.3405	0.1520
Perímetro	0.9491	0.2058	0.0336
Longitud del Eje Mayor	0.9550	0.0581	0.1083
Longitud del Eje Menor	0.6081	0.5115	0.1744
Índice de Alargamiento	0.2766	-0.5881	-0.1501
Índice de Redondez	-0.8146	0.2898	0.3218
Diámetro Feret	0.8319	0.3571	0.2015
Índice de Compactación	-0.5023	0.6158	0.0981
Radio de Redondez	-0.2994	0.6406	0.0644

^z Can i = Raíz canónica i

^z Can i = Canonical root i

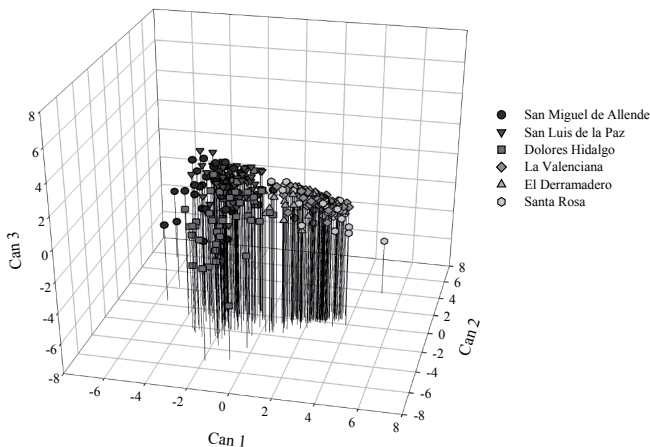


FIGURA 3. Representación tridimensional de seis poblaciones de *Amelanchier. denticulata* (Kunth) Koch, en las tres primeras raíces canónicas del Análisis Discriminante Canónico mediante variables de semilla.

FIGURE 3. Three-dimensional representation of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, in the first three conical roots of the canonical discriminant analysis by means seed traits.

CUADRO 6. Distancia de Mahalanobis (arriba de la diagonal principal) y sus valores de probabilidad (P) de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* K. Koch, colectadas en el estado de Guanajuato mediante variables de semilla.

TABLE 6. Mahalanobis distance (above the main diagonal) and probability values (P) of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, collected in the State of Guanajuato by means seed traits.

Población	Dolores Hidalgo	San Luis de la Paz	San Miguel de Allende	Santa Rosa	El Derramadero	La Valenciana
Dolores Hidalgo		4.7153	11.2064	21.1127	14.0922	19.2221
San Luis de la Paz	<0.0001		14.9280	52.5664	33.9582	46.6039
San Miguel de Allende	<0.0001	<0.0001		81.3413	62.8934	76.1716
Santa Rosa	<0.0001	<0.0001	<0.0001		5.8199	2.5276
El Derramadero	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001		2.2755
La Valenciana	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0084	0.0178	

CUADRO 7. Análisis de varianza multivariado de las tres primeras raíces canónicas del análisis discriminante canónico de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, colectadas en el estado de Guanajuato mediante variables de semillas.

TABLE 7. Multivariate analysis of variance of the first three conical roots of the canonical discriminant analysis of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, collected in the State of Guanajuato by means seed traits.

Variable dependiente	Cuadrado medio	Valor de F	R ²
Can 1	278.3395	278.34**	0.8256
Can 2	50.1990	50.20**	0.4605
Can 3	14.5068	14.51**	0.1979

** Significativo con una $P \leq 0.01$

**Significant at $P \leq 0.01$

CUADRO 8. Prueba de medias estandarizadas de Tukey para comparar, en cada raíz canónica, las seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, originarias de Guanajuato.

TABLE 8. Tukey's standardized means test to compare, in each conical root, the six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, from Guanajuato.

Población	Can 1 ^z	Can 2	Can 3
Dolores Hidalgo	-1.6499 c	-1.7143 c	-0.4606 c
San Luis de la Paz	-1.7581 c	-0.0883 b	0.9528 a
San Miguel de Allende	-2.8990 d	1.3894 a	-0.4301 c
Santa Rosa	2.4353 a	0.3035 b	-0.3137 bc
El Derramadero	1.6267 b	-0.0946 b	0.2144 b
La Valenciana	2.2450 a	0.2044 b	0.0372 bc

^z Valores en columnas con la misma letra no difieren con una $P \leq 0.05$

^z Values in columns with the same letter do not differ statistically at $P \leq 0.05$

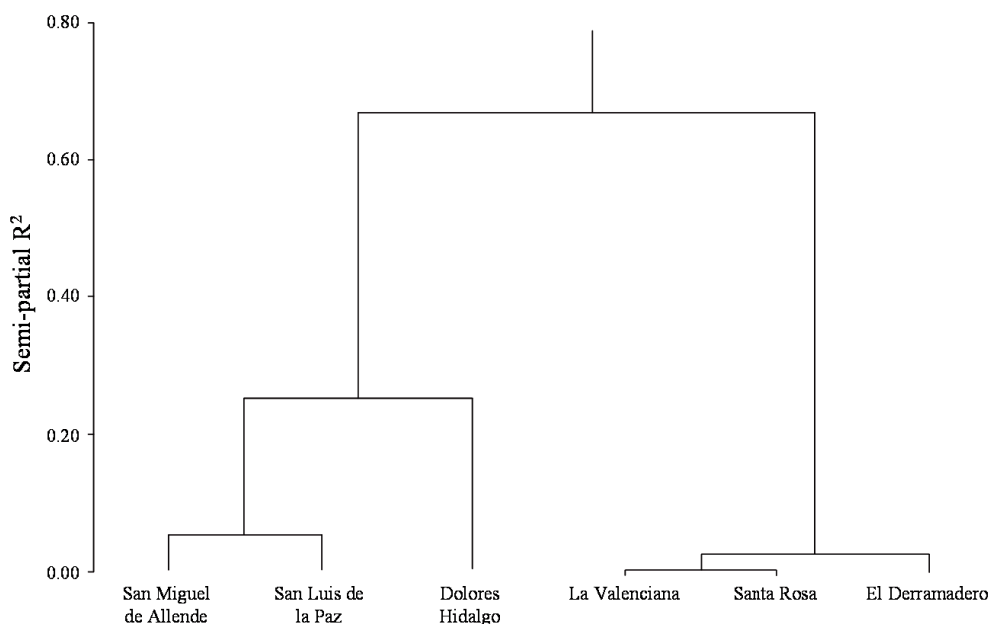


FIGURA 4. Dendrograma de seis poblaciones de *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, obtenido de variables de semillas mediante la distancia Euclidiana y el método de Ward.

FIGURE 4. Dendrogram of six populations of *Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch, obtained from seed traits by means of the Euclidean distance and the Ward's method.

presenta diferencias altamente significativas.

En el análisis de MANOVA sobre las raíces canónicas se encontraron diferencias entre las poblaciones en las tres primeras raíces canónicas (Cuadro 7). En la prueba de medias estandarizadas de Tukey se encontró que en la raíz canónica 1 las poblaciones de Santa Rosa y La Valenciana son estadísticamente iguales con los valores positivos promedio más altos (Cuadro 8); la población del Derramadero presentó diferencias significativas con todas las otras poblaciones, aunque presentó también un valor positivo (Cuadro 8). Por el contrario, las poblaciones de Dolores Hidalgo y San Luis de la Paz no presentaron diferencias significativas entre ellas y tuvieron valores negativos. La población de San Miguel de Allende presentó el valor negativo más alto, así como diferencias significativas con todas las otras poblaciones (Cuadro 8).

En esta misma prueba, en la raíz canónica 2, se mostró que la población de San Miguel de Allende presentó el valor positivo más alto, así como diferencias significativas con las demás poblaciones (Cuadro 8); caso contrario, la población de Dolores Hidalgo mostró el valor negativo más alto, así como diferencias significativas con las otras poblaciones (Cuadro 8); las poblaciones restantes (El Derramadero, La Valenciana, San Luis de la Paz y Santa Rosa) no presentaron diferencias estadísticas entre sí (Cuadro 8).

En la raíz canónica 3, la población de San Luis de la Paz presentó el valor positivo más alto (Cuadro 8) y fue estadísticamente diferente a las otras poblaciones; la población del Derramadero mostró diferencias significativas con las de San Miguel de Allende y Dolores Hidalgo, pero no con las poblaciones de Santa Rosa y La Valenciana; estas últimas cuatro poblaciones no mostraron diferencias significativas entre sí (Cuadro 8).

En el dendrograma obtenido (Figura 4) se encontró que las poblaciones del oriente de Guanajuato formaron un grupo y están más estrechamente relacionadas que las del occidente, las cuales formaron otro grupo; asimismo, se observó que en el grupo del oriente de Guanajuato las poblaciones de San Miguel de Allende y San Luis de la Paz son las más relacionadas y la de Dolores Hidalgo está más separada, lo que se traduce en que esta población presentó una mayor disimilitud en sus caracteres de semilla.

DISCUSIÓN

De acuerdo con Campbell *et al.* (1987), Campbell y Wright (1996) y Weber y Campbell (1989), el género *Amelanchier* puede ser apomítico o sexual, dependiendo de la especie e incluso de la población; la presencia de apomixis en este género se denota mediante una baja variabilidad intrapoblacional (Campbell y Wright, 1996). De acuerdo a los resultados, existió alta variación tanto intra como interpoblacional, lo que sugiere que esta especie puede ser de reproducción sexual, ya que todas las

poblaciones are more closely related among them than the western populations, the western populations were clustered in other group; In addition, the populations from San Miguel de Allende and San Luis de la Paz are closely related while Dolores Hidalgo's population is more distant, that means the Dolores Hidalgo population had more dissimilarity in its seed traits.

DISCUSSION

According to Campbell *et al.* (1987), Campbell and Wright (1996), and Weber and Campbell (1989), the genus *Amelanchier* has apomictic or sexual, depending to the species and even the population; the presence of apomixis in this genus are denoted by low intra-population variability (Campbell and Wright, 1996). According to our results, high variability are present, both intra and inter-population variability, which suggested that this species could have sexual reproduction because all populations showed intra-population variability in different degrees even the most homogeneous population, which was San Luis de la Paz population. Nevertheless, more detailed studies to determine apomixis in *A. denticulata* are needed and also it is necessary corroborate the morphological heterogeneity, mainly by conserved genes sequencing, to dismiss the effect to the environment-genotype interaction, like Campbell *et al.* (1999), who used this techniques for North American species of *Amelanchier*.

Likewise, Campbell (1999) reported a high degree of hybridization among several North American species of this genus, but in the case of *A. denticulata* there are not information about the reproductive system, because it is priority to develop cytogenetic studies to know its reproductive system.

The several shape and size seed traits were discriminating to distinguish the different populations of *A. denticulata*, these results agree with the previous study that was done in seed traits of *Crataegus*, which is also a Rosaceae (Nieto-Ángel *et al.*, 2009); nonetheless, the genus *Crataegus* shows hardened endocarps that it is not present in *Amelanchier*, that is why a lower number of traits can be measured; in this sense, Nieto-Ángel *et al.* (2009) reported 24 traits of which only eight were from seeds and the others were from endocarp.

In our case, the seed size distinguished the populations from eastern Guanajuato with the western populations; these two regions showed different climate (Núñez-Colín, 2010) and the evolution of *A. denticulata* in this two environments makes very likely that the populations from each region could have several adaptations of seed size into their genome (Dobzhansky, 1970); that means it is possible could have at least two different genetic pools in the state of Guanajuato. This result could be an advantage in a breeding program because it is very probable that individuals of contrasting populations may be genetically distant, and whether intercross the probability to obtain inbreeding

poblaciones presentaron en diferentes grados variación intra-poblacional, aun la población más homogénea, que fue la de San Luis de la Paz. Sin embargo, se necesitan estudios más detallados para determinar la incidencia de apomixis en *A. denticulata* y corroborar la heterogeneidad morfológica mediante técnicas moleculares, principalmente mediante la secuenciación de genes conservados, para descartar el efecto de la interacción genotipo-ambiente, como lo hicieron Campbell *et al.* (1999) para especies norteamericanas de *Amelanchier*.

Asimismo, Campbell (1999) reportó un alto grado de hibridación entre las diferentes especies norteamericanas de este género, pero en el caso de *A. denticulata* no existe información sobre su sistema reproductivo, por lo que resulta prioritario hacer estudios citogenéticos para conocer su sistema reproductivo.

Las distintas características sobre forma y tamaño de la semilla fueron discriminantes para distinguir las diferentes poblaciones de *A. denticulata*, lo cual concuerda con estudios hechos en características de semillas del género *Crataegus*, que también es una Rosaceae (Nieto-Ángel *et al.*, 2009); no obstante, a diferencia del género *Crataegus*, el género *Amelanchier* no presenta endocarpios endurecidos por lo que las características que pueden medirse disminuyen en comparación con los que se pueden medir en *Crataegus*, donde Nieto-Ángel *et al.* (2009) reportaron 24 características de las cuales sólo ocho fueron de semillas y el resto fueron del endocarpio.

En este caso, el tamaño de la semilla distingue las poblaciones del oriente del estado de Guanajuato de las del occidente; ambas regiones presentan climas diferentes (Núñez-Colín, 2010) y su evolución en estos dos ambientes hace muy probable que estas poblaciones puedan tener esta adaptación de tamaño de semilla dentro de su genoma (Dobzhansky, 1970), lo que significa que se pueden tener al menos dos diferentes acervos genéticos dentro del estado. Este resultado puede ser favorecedor en un programa de mejoramiento genético porque es muy probable que individuos de poblaciones contrastantes sean genéticamente distantes, lo que significa que al cruzarlos se tienen pocas probabilidades de obtener individuos endogámicos y se espera que haya alta heterosis (Wright, 1978).

A. denticulata ha sido incluido en varios estudios filogenéticos tanto del género *Amelanchier* (Campbell *et al.*, 1995) como de la subtribu *Pyrinae* -anteriormente la subfamilia Maloideae- (Campbell *et al.*, 2007), pero considerándolo por su nombre sinónimo de *Malacomeles denticulata* (H. B. K.) Jones; estos estudios fueron hechos utilizando marcadores moleculares; sin embargo, los individuos utilizados en estos estudios pueden no representar la variabilidad total de esta especie de acuerdo a la alta variabilidad en caracteres morfológicos de semilla encontrada en este estudio.

individuals is low and also it is expected a high heterosis (Wright, 1978).

A. denticulata has been included in several phylogenetic studies both in genus *Amelanchier* (Campbell *et al.*, 1995) and in subtribe *Pyrinae* —formerly the subfamily Maloideae— (Campbell *et al.*, 2007) but it is considered by its synonym name of *Malacomeles denticulata* (H. B. K.) Jones, these studies were done using molecular markers. However, in these studies, the used individuals could be not representing the total variability of this species, according to the high variability of morphological seed traits found in this study.

CONCLUSIONS

The studied populations of *A. denticulata*, collected in the Bajío region of Guanajuato, showed high both intra and inter-population variability

The seed size and shape traits were discriminating to distinguish the studied population, mainly the size traits. And it can be concluded that at least two different genetic pools exist in Guanajuato, which is an advantage to do breeding in this species

ACKNOWLEDGMENTS

To the Guanajuato's Science and Technology Council (CONCYTEG) for part of the financial support by mean the agreement 09-24-k662-092-A02 and the Mexico's National Science and Technology Council (CONACYT) for the financial support granted by the fund I0003 by mean the project CB2009/134193: "Estudios básicos sobre diversidad y potencial agroalimentario del membrillo cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) en el centro de México". The authors also thanks to the anonymous referees and the editor for their thoughtful comments.

End of English Version

CONCLUSIONES

Las poblaciones estudiadas, colectadas en el Bajío Guanajuatense, de *A. denticulata* presentaron alta variación tanto intra como interpoblacional.

Las variables de tamaño y forma de semilla fueron discriminantes para distinguir las poblaciones, por lo que se puede suponer que existen al menos dos acervos genéticos diferentes en Guanajuato, lo que favorecería hacer cruza entre individuos de estos acervos para mejorar la especie.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato (CONCYTEG), por parte del financiamiento otorgado mediante el convenio 09-24-k662-092-A02, y

al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por parte del financiamiento otorgado por el fondo I0003 mediante el proyecto CB2009/134193: "Estudios básicos sobre diversidad y potencial agroalimentario del membrillo cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) en el centro de México". Asimismo, los autores agradecen a los árbitros y al editor anónimo sus atinados comentarios.

LITERATURA CITADA

- CAMPBELL, C. S. 1999. The evolutionary role of hybridisation in angiosperm agamic complexes, with special emphasis on *Amelanchier* (Rosaceae), pp. 341-357. In: Plant Evolution in man-made habitats. VAN RAAMSDONK, L. W. D.; DEN NIJS, J. C. M. (eds.). Institute for Systematics and Ecology, Amsterdam, the Netherlands.
- CAMPBELL, C. S.; ALICE, L. A.; WRIGHT, W. A. 1999. Comparison of within-population genetic variation in sexual and agamospermous *Amelanchier* (Rosaceae) using RAPD markers. *Plant Systematics and Evolution* 215: 157-167.
- CAMPBELL, C. S.; DONOGHUE, M. J.; BALDWIN, B. G.; WOJCIECHOWSKI, M. F. 1995. Phylogenetic relationships in Maloideae (Rosaceae): evidence from sequences of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA and its congruence with morphology. *American Journal of Botany* 82: 903-918.
- CAMPBELL, C. S.; EVANS, R. C.; MORGAN, D. R.; DICKINSON, T. A.; ARSENAULT, M. P. 2007. Phylogeny of subtribe Pyrinae (formerly the Maloideae, Rosaceae): limited resolution of a complex evolutionary history. *Plant Systematics and Evolution* 266: 119-145.
- CAMPBELL, C. S.; GREENE, C. W.; BERGQUIST, S. E. 1987. Apomixis and sexuality in three species of *Amelanchier*, Shadbush (Rosaceae, Maloideae). *American Journal of Botany* 74: 321-328.
- CAMPBELL, C. S.; WRIGHT, W. A. 1996. Apomixis, hybridization, and taxonomic complexity in eastern North American *Amelanchier* (Rosaceae). *Folia Geobotanica and Phytotaxonomica* 31: 345-354.
- DOBZHANSKY, T. 1970. Genetics of the evolutionary process. Columbia University Press. New York, USA. 505 p.
- FAO. 2001. Tratado Internacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Versión en español. Resolución 3/2001. United Nations Food and Agriculture Organization. Roma, Italia. 27 p. Disponible en el enlace electrónico <ftp://ftp.fao.org/ag/cgrfa/it/ITPGRs.pdf>
- GONZÁLEZ-ANDRÉS, F.; ORTIZ, J. M. 1995. Seed morphology of *Cytisophyllum*, *Cytisus*, *Chamaecytisus* and *Genista* (Fabaceae: Genistaceae) species for characterization. *Seed Science and Technology* 23: 289-300.
- JOHNSON, D. E. 1998. Métodos Multivariados Aplicados al Análisis de Datos. International Thomson Editores. D. F., México. 566 p.
- NIETO-ÁNGEL, R.; PÉREZ-ORTEGA, S. A.; NÚÑEZ-COLÍN, C. A.; MARTÍNEZ-SOLÍS, J.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. 2009. Seed and endocarp traits as marker of the biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from Central and Southern Mexico. *Scientia Horticulturae* 121: 166-170.
- NÚÑEZ-COLÍN, C. A. 2010. Distribución y caracterización eco-climática del membrillo cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16 (3): 195-206.
- NÚÑEZ-COLÍN, C. A.; BARRIENTOS-PRIEGO, A. F. 2006. Estimación de la variabilidad interna de muestras poblacionales, mediante el análisis de componentes principales. *Interciencia* 31: 802-806.
- NÚÑEZ-COLÍN, C. A.; NIETO-ÁNGEL, R.; BARRIENTOS-PRIEGO, A. F.; SAHAGÚN-CASTELLANOS, J.; SEGURA, S.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. 2008. Variability of three regional sources of germplasm of Tejocote (*Crataegus* spp.) from central and southern Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55: 1159-1165.
- PHIPPS, J. B.; ROBERTSON, K. R.; SMITH, P. G.; ROHRER, J. R. 1990. A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 2209-2269.
- ROBERTSON, K. R. 1974. The genera of Rosaceae in the southeastern United States (part 3). *Journal of the Arnold Arboretum* 55: 611-662.
- RZEDOWSKI, J.; CALDERÓN DE RZEDOWSKI, G. 2005. Flora del Bajío y regiones adyacentes. Fascículo 135, Rosaceae. Instituto de Ecología A. C. y CONABIO. Morelia, Michoacán, México. 157 p.
- STANDLEY, P. C.; STEYERMARK, J. A. 1946. Flora of Guatemala. Chicago Natural Museum, Chicago, USA. 493 p.
- VIBRANS, H.; HANAN ALIPI, A. M.; MONDRAGÓN PICHARDO, J. Y TENORIO LEZAMA, P. 2006. Ficha técnica de *Amelanchier denticulata* (Kunth) K. Koch. In: Malezas de México. VIBRANS, H. (ed.) Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO). Disponible en el enlace electrónico: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/rosaceae/amelanchier-denticulata/fichas/ficha.htm#1.%20Nombres>.
- WARD, J. H. Jr. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of American Statistical Association* 58: 236-244.
- WEBER, J. E.; CAMPBELL, C. S. 1989. Breeding system of a hybrid between a sexual and an apomictic species of *Amelanchier*, shadbush (Rosaceae, Maloideae). *American Journal of Botany* 76: 341-347.
- WILCOX, D.; DOVE, B.; MCDAVID, D.; GREER, D. 1995. Image tool. Version 3: Users' Guide. University of Texas Health Science Center. San Antonio, USA. 62 p.
- WRIGHT, S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations. University of Chicago Press. Chicago, USA. 580 p.