

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Caracterización molecular de las variedades de café *Coffea arabica* con relevancia comercial en Guatemala de las fincas experimentales de la Asociación Nacional del Café (Anacafé): Buena Vista, Retalhuleu, y Las Flores, Santa Rosa

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentada por Rebecca Lucía Xitumul Cruz para optar al grado académico de Licenciada en Biotecnología Molecular

Guatemala,

2024



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Caracterización molecular de las variedades de café *Coffea arabica* con relevancia comercial en Guatemala de las fincas experimentales de la Asociación Nacional del Café (Anacafé): Buena Vista, Retalhuleu, y Las Flores, Santa Rosa

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentada por Rebecca Lucía Xitumul Cruz para optar al grado académico de Licenciada en Biotecnología Molecular

Guatemala,

2024

Vo.Bo.

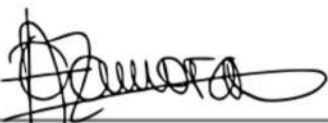
(f) Patty Herrera

MSc. Martha Patricia Herrera

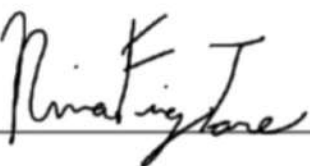
Tribunal examinador:

(f) Patty Herrera

MSc. Martha Patricia Herrera

(f) 

Dra. Alejandra Zamora

(f) 

Lcda. Nina Figueroa

Fecha de aprobación: Guatemala, 9 de diciembre de 2024

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a Dios por darme la sabiduría y perseverancia necesaria para completar este trabajo. Su guía ha sido fundamental en cada etapa de mi carrera universitaria.

A mi asesora de tesis, Patricia Herrera, por su valiosa orientación y apoyo a lo largo de este proceso. Sus conocimientos y sugerencias fueron fundamentales para el desarrollo de esta investigación.

A la Fundación Juan Bautista Gutiérrez (FJBG), que, a través de la beca otorgada, me brindó el apoyo financiero necesario para acceder a una educación de calidad en la Universidad del Valle de Guatemala (UVG). Además, su valioso acompañamiento en forma de *coaching* durante mi recorrido académico fortaleció mi crecimiento personal y profesional.

A la Junta Directiva de la Asociación Nacional del Café (Anacafé), por su apoyo y colaboración en la realización de este estudio, proporcionando los recursos y el acceso necesario para llevar a cabo el análisis genético de las variedades de café. Quiero expresar un agradecimiento especial a Daniel Martínez y Carlos Yucuté, del laboratorio Analab en Anacafé, y a la Lic. Margarita Palmieri, su apoyo fue invaluable durante el desarrollo de este estudio. Su experiencia y disposición fueron clave para llevar a cabo los análisis.

A mi familia, por su constante apoyo emocional y motivación. Por su comprensión en los momentos de mayor desafío y por ser mi mayor fuente de inspiración. También un agradecimiento especial a mi gata, que pasó sus noches conmigo mientras trabajaba y por calmar mis nervios con su ronroneo.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron con sus conocimientos y experiencia a la culminación de esta tesis.

## ÍNDICE

Agradecimientos .....	v
Lista de figuras.....	vii
Lista de cuadros .....	vii
Resumen.....	ix
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	2
III. Justificación .....	4
IV. Objetivos .....	5
V. Marco teórico.....	6
VI. Metodología .....	17
VII. Resultados .....	23
VIII. Discusión.....	31
IX. Conclusiones.....	36
X. Recomendaciones.....	37
XI. Referencias.....	38
XII. Anexos .....	45

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Distribución de cultivo de café en el Cinturón cafetero</i> .....	6
<b>Figura 2.</b> <i>Morfología planta de café.</i> .....	7
<b>Figura 3.</b> <i>Representación esquemática del marcador SRAP.</i> .....	16
<b>Figura 4.</b> <i>Pasos del diseño experimental implementado en el estudio</i> .....	19
<b>Figura 5.</b> <i>Combinaciones de cebadores SRAP visualizadas en geles de agarosa al 2 %.</i> 25	
<b>Figura 6.</b> <i>Dendograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de la combinación B (Me2 y Em4) de SRAP en 18 genotipos de café.</i> .....	26
<b>Figura 7.</b> <i>Dendograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de la combinación D (Me3 y Em3) de SRAP en 18 genotipos de café.</i> .....	27
<b>Figura 8.</b> <i>Dendograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de la combinación H (Me9 y Em10) de SRAP en 18 genotipos de café.</i> .....	28
<b>Figura 9.</b> <i>Dendograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de las combinaciones B, D y H de SRAP en 18 genotipos de café.</i> .....	29
<b>Figura 10.</b> <i>Ejemplo de electroferograma de la muestra 2878AC que representa las tres combinaciones de cebadores B, D y H cargados en el secuenciador SeqStudio Genetic Analyzery analizados con el software GeneMapper.</i> .....	48

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> <i>Variables de variedades de C. arabica con importancia comercial</i> .....	18
<b>Cuadro 2.</b> <i>Cebadores SRAP utilizados para el análisis de fragmentos</i> .....	21
<b>Cuadro 3.</b> <i>Combinaciones de marcadores SRAP para la amplificación y el análisis de fragmentos</i> .....	21
<b>Cuadro 4.</b> <i>Descripción de las variedades de Coffea arábica de importancia comercial en Guatemala utilizadas para la caracterización molecular</i> .....	23
<b>Cuadro 5.</b> <i>Número de bandas visualizadas en gel de agarosa 2 % para cada combinación de cebadores SRAP directo e indirecto en las 6 variedades analizadas</i> .....	24
<b>Cuadro 6.</b> <i>Análisis de diversidad mediante el índice de Shannon</i> .....	30
<b>Cuadro 7.</b> <i>Clasificación de las hojas según su largo y ancho para la caracterización morfológica de las variedades de Coffea arábica</i> .....	45
<b>Cuadro 8.</b> <i>Matriz de presencia/ausencia de los alelos obtenidos a partir de los electroferogramas del análisis de fragmentos con la combinación D (Me3 y Em3)</i> .....	46
<b>Cuadro 9.</b> <i>Matriz de presencia/ausencia de los alelos obtenidos a partir de los electroferogramas del análisis de fragmentos con la combinación H (Me9 y Em10)</i> .....	46
<b>Cuadro 10.</b> <i>Matriz de presencia/ausencia de los alelos obtenidos a partir de los electroferogramas del análisis de fragmentos con la combinación B (Me2 y Em4)</i> .....	47

## RESUMEN

El cafeto arábigo (*Coffea arabica*) es la especie más cultivada en Guatemala, pero hay escasa información sobre su perfil molecular, lo que dificulta la distinción de variedades y el desarrollo de programas de mejoramiento genético. Por ello, este estudio tiene como objetivo describir la diversidad genética de las variedades comerciales de *Coffea arabica* en Guatemala, utilizando marcadores moleculares SRAP. Se evaluaron 10 combinaciones de cebadores SRAP para generar patrones genéticos en geles de agarosa para las variedades Catuái, Anacafé 90, Catucaí, Anacafé14 y Obatá. Los resultados del análisis de fragmentos mostraron que los marcadores SRAP pueden diferenciar las seis variedades en grupos genéticos, destacando que la combinación de cebadores Me2-Em4(B), Me3-Em3(D) y Me9-Em10(H) logró la mayor separación. Mientras que, a nivel de electroforesis en gel, la combinación H permite distinguir más variedades que la B y D. Se sugiere explorar más combinaciones de marcadores SRAP para optimizar la caracterización de las variedades de café en Guatemala.

# I. INTRODUCCIÓN

El café es un cultivo de alta importancia económica a nivel mundial, especialmente en los países en vías de desarrollo en los que constituye una de las fuentes principales de ingresos (Juárez, 2018). En Guatemala, desempeña un papel clave, ya que en la temporada de 2019/2020 aportó 3,6 millones de los 165 millones de sacos producidos que representa el 1.2-1.8 % del producto interno bruto (PIB) y en la temporada de 2023 aportó el 3-3.5 % de PIB (De León y Rodríguez, 2021). El género *Coffea* incluye más de 100 especies, cada una con rasgos genéticos y fenotípicos influenciados por la región y clima. De este se destaca el café arábigo (*Coffea arabica*), el cual representa el 60 % de la producción mundial y es preferido por sus granos de alta calidad (Ngugi, Jerono y Ogutu, 2021; Velásquez, 2021). El 62.2 % de las variedades cultivadas de *C. arábica* en Guatemala pertenecen a variedades tradicionales conocidas como Típica, Bourbon, Caturra y Catuai, las cuales han mutado o cruzado de manera natural introduciendo así nuevas variedades híbridas como Catimores y Sachimores, relevantes por su resistencia a plagas y enfermedades de impacto económico (Velásquez, 2021).

A nivel mundial se han empleado marcadores moleculares de ADN para elaborar un mapa genético de las especies y analizar la diversidad genética de manera eficiente; pero en Guatemala solo se han realizado caracterizaciones morfológicas mediante descriptores, los cuales se ven limitados a características fenotípicas y se ven afectados por el ambiente (López, 2006; Suazo, 2020; Yunita et al., 2020). Por tanto, esta investigación busca explorar la diversidad genética de las variedades de *C. arábica* cultivadas en Guatemala mediante los marcadores moleculares SRAP (por sus siglas en inglés, *Sequence-related Amplified Polymorphism*). Esto con el fin de detectar de manera temprana y distinguir con precisión entre especies que están estrechamente relacionadas (Yunita et al., 2020). Además, facilitar la gestión y conservación eficaz de estas variedades en beneficio de los caficultores, a la vez que se promueve la rentabilidad y sostenibilidad de este cultivo (Velásquez, 2021; Zhang et al., 2021).

## II. ANTECEDENTES

El café es uno de los productos agrícolas con alta importancia económica a nivel mundial, particularmente en los países del hemisferio sur, especialmente en aquellos en vías de desarrollo, donde es una de las fuentes principales de ingresos (Juárez, 2018). La producción del café ha experimentado un aumento del 50 % durante las últimas dos décadas, siendo América del Sur el principal productor (48 %), seguido de Asia y Oceanía (28 %), México y Centroamérica (12 %) y África (10 %) (Peralta, Sánchez y Vilimelis, 2023). En este contexto, Guatemala se destaca como un importante líder en la producción y exportación del café contribuyendo significativamente a la economía del país. Ya que en la temporada de 2019/2020 aportó 3.6 millones de los 165 millones de sacos de café producidos y representa entre el 1.2 % a 1.8 % del producto interno bruto (PIB) (De León y Rodríguez, 2021).

La diversidad botánica del café, género *Coffea*, abarca más de 100 especies, donde cada una posee características genéticas únicas de acuerdo con la región y el clima de origen (Davis et al., 2006; Velásquez, 2021). Cada especie se diferencia por el porte y forma de la planta, tamaño y color del fruto, resistencia a enfermedades o plagas, sabor de bebida y productividad (Velásquez, 2021). Entre estas, el café arábigo (*Coffea arabica*) y el café robusta (*Coffea canephora*) son las más cultivadas comercialmente (Juárez, 2018). Siendo así que el café arábigo representa el 60 % de la producción debido a que produce granos de mayor calidad y sabor. En cambio, el café robusta posee mayor contenido de cafeína y por lo tanto un sabor pobre con alto contenido de amargor. Aunque este último produce granos con mayor resistencia a factores abióticos y es más tolerante a plagas y enfermedades (Ngugi, Jerono y Ogutu, 2021; Velásquez, 2021).

En el sector cafetalero de Guatemala, el 62.2 % de las variedades de *C. arabica* cultivadas son las variedades tradicionales Típica, Bourbon, Caturra, Catuai, Pache, Pache Colís, Mundo Novo y Pacamara (Velásquez, 2021). Cabe mencionar que, las variedades Típica y Bourbon fueron las que dieron origen a las demás variedades tradicionales debido a mutaciones naturales y por cruzamientos espontáneos o inducidos; de manera que, existe una estrecha relación genética entre todas ellas (Velásquez, 2021). Adicional a estas, en los últimos años se ha incrementado el establecimiento de variedades híbridas (*C. arabica* x *C. robusta*) que poseen resistencia a la roya (enfermedad provocada por el hongo *Hemileia vastatrix*) como los Catimores y Sachimores (López, 2021).

Tomando en cuenta lo anterior, para diferenciar las variedades de café en función a sus requerimientos organolépticos para el mercado nacional e internacional y para el manejo, conservación y mejoramiento de nuevas variedades es necesaria la caracterización de estas (López, 2006; Zhang et al., 2021). Para ello se han empleado descriptores morfológicos que permiten clasificar según características fenotípicas (visuales) y marcadores moleculares que permiten medir la variación genética a nivel poblacional. Los marcadores moleculares de ADN ofrecen ventajas sobre los morfológicos al no verse afectados por el ambiente, ser universales, permitir la detección temprana y distinguir entre especies que están estrechamente relacionadas (Yunita et al., 2020). Por lo que su uso ha incrementado a lo largo de los años, llegando a presentarse diversas técnicas que puedan detectar estas variaciones genéticas.

Los marcadores de polimorfismo de ADN nuclear como microsatélites o SSR (repetición de secuencias simples) y SRAP (por sus siglas en inglés, *Sequence-related Amplified Polymorphism*) se han utilizado con mayor frecuencia ya que permiten elaborar un mapa genético de las especies y permite un análisis de diversidad genética más eficiente (Suazo, 2020; Yunita et al., 2020). Las cuales son técnicas fundamentales para mejorar la comprensión de la composición genética de las variedades de café.

### III. JUSTIFICACIÓN

*Coffea arabica*, también denominado cafeto arábigo, es una de las especies con mayor actividad productiva comercial en Guatemala, representando el 60 % de la producción mundial del café (López, 2021). También es de las más cultivadas ya que sus variedades como: Caturra, Catuai, Pache, Pache Colís, Bourbon y Pacamara producen granos de alta calidad y sabor que permiten la producción de bebida en alta cantidad y con cualidades organolépticas que la posicionan en mercados nacionales e internacionales (López, 2006; Velásquez 2021). Adicional a estas, en los últimos años se ha incrementado el establecimiento de variedades híbridas (*C. arabica* x *C. robusta*) como Catimor, Icatú, Catuai y Anacafé14 con el fin de fortalecer su competitividad en estos mercados, ya que sobresalen no solo por su calidad de taza, sino también por su tolerancia a sequía y su capacidad de superar daños por la roya, una enfermedad fúngica de alta importancia económica (López, 2021; Velásquez, 2021).

Sin embargo, la falta de información acerca del perfil molecular de *Coffea arabica* en Guatemala plantea un desafío al momento de distinguir entre las variedades de café; por lo que es necesario el uso de técnicas moleculares que aborden el problema. Esto es esencial para diseñar programas de mejoramiento genético y mantenimiento de un conjunto genético específico (Yunita et al., 2020). Además, facilita a los caficultores el manejo, monitoreo de polinización cruzada, conservación y mejoramiento de nuevas variedades. Proporcionando así una herramienta para eficientizar los recursos y asegurar una rentabilidad sustentable en las unidades productivas (Velásquez, 2021; Zhang et al., 2021).

Por tanto, debido a la importancia comercial del café y el desarrollo de estas líneas híbridas resistentes a patógenos y factores abióticos, la necesidad de la caracterización molecular de estos se hace más evidente. Se ha encontrado que el uso de marcadores moleculares representa una técnica eficiente para distinguir entre las poblaciones de plantas, evaluar la pureza e identidad de los cultivares (Kumar y Singh, 2023). De estos, se ha encontrado que los marcadores de polimorfismo amplificado relacionado con la secuencia (SRAP) tienen la habilidad de revelar la diversidad genética en varios niveles taxonómicos y analizar las poblaciones de híbridos inter e intraespecíficos (Robarts y Wolfe, 2014). Por lo que, en conjunto con la Asociación Nacional del Café (Anacafé) se está buscando realizar este proyecto utilizando los marcadores moleculares SRAP para establecer el perfil molecular de las variedades de café de líneas tradicionales e híbridas de la especie *Coffea arabica* con importancia económica nacional.

## IV. OBJETIVOS

### A. General

Describir la diversidad genética de las variedades de *Coffea arabica* de relevancia comercial en Guatemala, seleccionadas por su alto rendimiento y su composición fisicoquímica, utilizando los marcadores moleculares SRAP dirigidos a las secuencias genómicas codificantes.

### B. Específicos

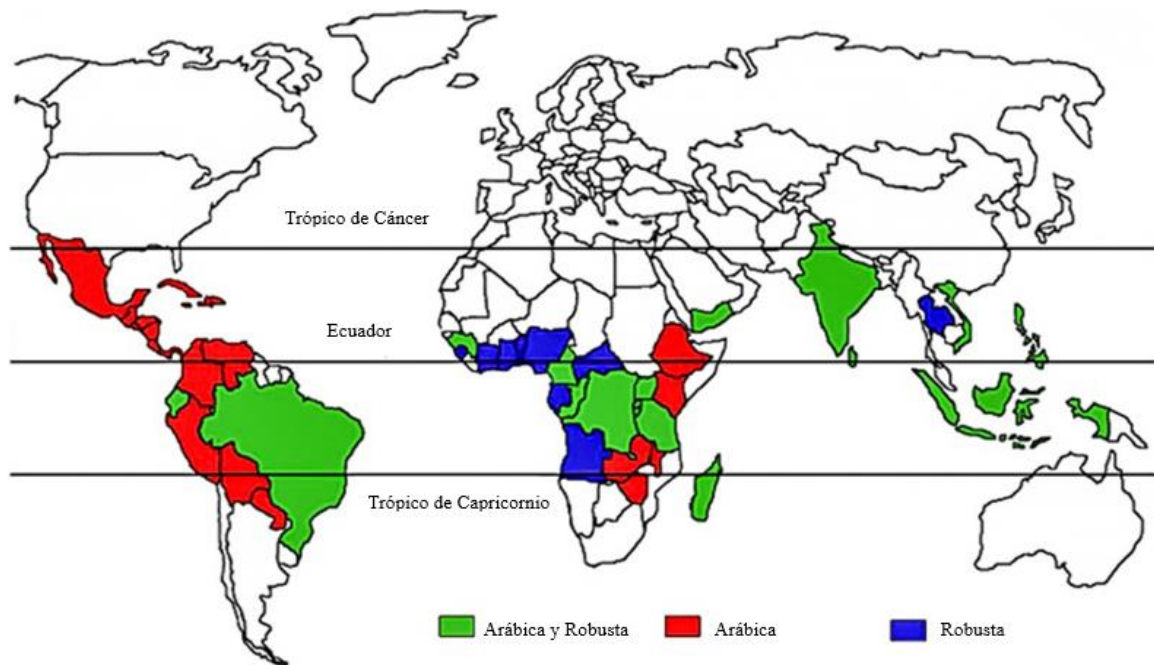
- Evaluar la efectividad de marcadores moleculares, SRAP, para caracterizar la diversidad genética de las variedades de *Coffea arabica* en Guatemala.
- Establecer la diversidad genética de las variedades de café con importancia económica en Guatemala: Caturra, Catuaí, Anacafé 90, Catucaí, Anacafé14 y Obatá, utilizando un par de cebadores o la combinación de pares de cebadores.

## V. MARCO TEÓRICO

### A. Generalidades del café

#### 1. Aspectos generales

El árbol de café, denominado cafeto, pertenece a la familia botánica *Rubiaceae*, subfamilia *Ixoroideae* y género *Coffea* que comprende al menos 125 especies (Ferreira et al., 2019). Estas especies se distribuyen mayormente en el continente africano (Guinea a Tanzania, Etiopía a Mozambique, Madagascar e islas cercanas), y en menor cantidad en Asia (resultado de la fusión del subgénero *Coffea* y género *Psilanthus*) y América Latina (Ferreira et al., 2019; Simon-Gruita et al., 2019). Su cultivo es exclusivo entre el trópico de Cáncer (23.43695  N) y el trópico de Capricornio (23.43695  S), región denominada como “Cinturón cafetero” debido a que requiere de condiciones ambientales específicas de las zonas tropicales (*Figura 1*) (Ferreira et al., 2019; Franca y Oliveira, 2019).



**Figura 1.** Distribución de cultivo de café en el Cinturón cafetero  
Nota. Adaptado de Franca y Oliveira (2019, p. 414)

De acuerdo con la especie y la variedad, la forma del cafeto puede variar morfológica y genéticamente. Las características que permiten diferenciar a las especies de *Coffea* de

otros arbustos son: un solo tronco principal de madera dura y densa; ramificaciones horizontales o casi horizontales primarias, secundarias y terciarias; hojas opuestas decusadas (90° del nudo adyacente) con posición cruzada entre pares de hojas; inflorescencias pareadas, axilares; y cálices truncados ondulados o ligeramente lobulados (*Figura 2*) (Davis et al., 2006; Farah y Ferreira dos Santos, 2015). Estos arbustos alcanzan generalmente una altura de 3 a 3.5 m y producen flores hermafroditas generalmente con corolas blancas, lóbulos sobrepuestos y estilo extendido (Davis et al., 2006; Simon-Gruita et al., 2019).

Los frutos cuentan con surco profundo en el lado plano, característico del “grano de café”, y dependiendo de la especie de cafeto, el desarrollo y maduración completa en una baya con dos semillas, puede ser de pocas semanas (10-12 para *C. racemosa*), meses (6-8 para *C. arabica* y 9-11 para *C. canephora*) o incluso más de un año (*C. liberica*) (Davis et al., 2006; De Castro y Marraccini, 2006).



**Figura 2.** *Morfología planta de café*

*Nota.* Adaptado de Farah y Ferreira dos Santos (2015, p. 7)

## **2. Especies con mayor relevancia comercial**

De los cientos de especies de café, únicamente tres son utilizadas para la producción de la bebida de café: *C. arabica* (café arábica/arábigo/cafeto arábigo), *C. canephora* (café robusta) y *C. liberica* (café liberiano/café liberica) (Davis et al., 2006). De las tres especies mencionadas, solo las primeras dos tienen relevancia comercial debido a su alto rendimiento y su composición fisicoquímica que incluye niveles óptimos de cafeína, así como sabores y aromas deseables que contribuyen positivamente en la calidad de taza (Marroquín, 2014; Pokharel et al., 2023). El café arábica, con sus 70 variedades, destaca como la más significativa puesto que representa el 60-70 % de la producción mundial, seguido del café robusta que representa el porcentaje restante (~30 %) (de Castro y Marraccini, 2006; López, 2021).

### **a. *Coffea arabica***

Producto del cruce natural entre *C. canephora* y *C. eugenioides*, se originó en los bosques tropicales del sudeste de Etiopía a una altitud de 1000-2000 metros sobre el nivel del mar (m s.n.m) en un clima templado (De Castro y Marraccini, 2006; Leite et al., 2021). Presenta un crecimiento próspero a altitudes elevadas con precipitación de 400 a 600mm por temporada debido a su sensibilidad a la humedad (López, 2021; Ngugi et al., 2021). Es la única especie de café del género *Coffea* que es tetraploide (44 cromosomas,  $2n=4x$ ) por lo que puede auto polinizarse, pero su diversidad genética es limitada; lo cual la hace susceptible a enfermedades como la roya y a plagas de insectos como la broca (De Castro y Marraccini, 2006; López, 2021).

Los arbustos de *C. arabica* pueden crecer hasta 6 m de altura y producen granos con bajo contenido de cafeína y alto contenido de sacarosa (6-8.5 %) (De Castro y Marraccini, 2006; Farah y Ferreira dos Santos, 2015; Leite et al., 2021). Estos compuestos son importes para la calidad de la taza, ya que al ser degradados durante el tostado dan como resultado la formación de precursores del sabor (ácidos alifáticos) y aroma (compuestos aromáticos) (De Castro y Marraccini, 2006; López, 2021). Los granos de este café se caracterizan por sus cualidades afrutadas, ácidas y suaves que se atribuyen a sus propiedades organolépticas (Alonso-Salces et al., 2009). Por lo que es considerado como un café de alta calidad para la bebida; sin embargo, este parámetro puede verse influenciado por otros factores como lo es la zona cafetalera. El café arábico de Centroamérica se considera más prestigioso que el de Brasil, principalmente debido a diferencias en los métodos de cosecha y prácticas de procesamiento (Alonso-Salces et al., 2009).

### **b. *Coffea canephora***

Se originó en África occidental en las regiones de Guinea hasta el Congo en los bosques tropicales del bajo Congo a una altitud menores a los 700 m s.n.m. con precipitación de 1500-2000 mm anual (López, 2021; Luna, 2021). Los árboles pueden medir hasta 10 m de altura, aunque su crecimiento vegetativo generalmente se ve limitado por ser cultivados a latitudes bajas; posee flores blancas de dos racimos y sus granos maduros presentan coloración amarilla o marrón (Luna, 2021; Ngugi et al., 2021). Tolera climas cálidos con altas temperaturas y tiene mayor resistencia a las enfermedades que generalmente atacan al café como la roya del café y barrenador blanco del tallo (De Castro y Marraccini, 2006; Farah y Ferreira dos Santos, 2015; Luna, 2021). Es una planta diploide (22 cromosomas,  $2n=2x$ ) que presenta un sistema gametofítico controlado que la hace autoincompatible (no se puede auto polinizar) por lo que presenta mayor diversidad genética y, por tanto, facilita la mejora genética de la planta con técnicas de reproducción tradicionales que mejoren su resistencia a factores bióticos y abióticos (De Castro y Marraccini, 2006).

Sus granos son pequeños, ovalados y tienen un alto contenido de cafeína y ácidos clorogénicos con un característico olor a paja; los cuales, al ser tostados toman un color oscuro y presentan un sabor amargo y fuerte en la bebida (De Castro y Marraccini, 2006; Leite et al., 2021; Luna, 2021). Se le denomina café crudo o neutro y es utilizado para producir café instantáneo y mezclas de expreso debido a su sabor débil con amargor fuerte y pronunciado (Alonso-Salces et al., 2009; Leite et al., 2021; Bermudez et al., 2022). Presenta un perfil de taza con mucho cuerpo, pero su sabor hace que la calidad de la taza sea inferior y presente un valor de mercado menor en comparación con arábica (Farah y Ferreira dos Santos, 2015).

## **B. Producción de café**

### **1. Producción global de café**

El café es uno de los productos más comercializados mundialmente; producido y exportado en más de 60 países tropicales y subtropicales (Mengistu, Workie y Mohammed, 2020). Esta industria adquirió relevancia considerable a principios del siglo XX en países africanos y América Latina y ha evolucionado en un sector rentable a lo largo de los años; siendo así que para 2020 generó un valor de 102 mil millones de dólares a nivel mundial (Quintero y Rosales, 2014; Bermudez et al., 2022). Para el periodo de 2021 a 2026 se proyecta que la tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) sea de al menos 4.28 %; generando implicaciones significativas para el empleo a nivel mundial, con aproximadamente 125 millones de personas involucradas en su cadena de valor (Bermudez et al., 2022). Adicional, la exportación de este representa una fuente crucial de ingresos y constituye una parte significativa del producto interno bruto (PIB) para números países (Figueroa-Hernández et al., 2019).

El cultivo de café globalmente se lleva a cabo en aproximadamente 12.5 millones de fincas (Bermudez *et al.*, 2022). En 1930, los líderes productores eran Brasil, Colombia, México y Guatemala; mientras que en los últimos 15 años los que destacan son Brasil, Vietnam y Colombia puesto que representan cerca del 55 % de la producción total de café (Quintero y Rosales, 2014; Figueroa-Hernández et al., 2019). De esta producción, el café arábigo (*C. arabica*) representa a nivel mundial el 60-75 % y a nivel de América Latina el 85 % debido a su bajo contenido de cafeína, sabor y aroma deseables (Van der Vossen et al., 2015; Pokharel et al., 2023). Mientras que el café robusta (*C. canephora*) representa el 24 % y el café liberica el 1 % de la producción global del café (Pokharel et al., 2023). Debido a la calidad superior de la bebida de *C. arabica* generalmente se vende al doble del precio del robusta (Van der Vossen et al., 2015). No obstante, estos tienen costos de producción más altos ya que requieren de condiciones climáticas y de suelo más estrictas, manejo de cultivo y control de plagas y enfermedades que generalmente atacan al cafeto y pueden ser destructivas como la roya (CLR; *Hemileia vastratrix*) y la cerezas del café (CBD; *Colletotrichum kahawae*) (Van der Vossen et al., 2015).

## 2. Producción de café en Guatemala

En Guatemala, durante los años cafetaleros de 2001 a 2021 la producción de café ha variado entre 3.3 a 4.1 millones de sacos lo cual se ha visto influenciado por la superficie limitada de hectáreas designadas para este cultivo (International Coffee Organization, 2023). En 2023 el área de cultivo aumentó a 376,019 hectáreas como producto de la cobertura del 76 % del país (261 de los 340 municipios) (Asociación Nacional del Café, 2023). Siendo que la producción del café está distribuida a lo largo del país en 21 de los 22 departamentos; donde los mayores representantes son Santa Rosa con el 20 %, San Marcos el 14.7 % y Huehuetenango el 11 % (De León y Rodríguez, 2021).

El país se destaca como un importante líder en la producción y exportación del café contribuyendo significativamente a la economía. En la temporada de 2019/2020 aportó 3.6 millones de los 165 millones de sacos de café producidos y en 2023 representó entre el 3 % a 3.5 % del PIB (De León y Rodríguez, 2021; Asociación Nacional del Café, 2023). Adicional a esto, el café es el segundo producto de importancia en las exportaciones totales y es el primer producto de exportación agroindustrial representando un 33 % del total; asimismo, en el mercado internacional obtuvo el noveno puesto de los países exportadores (Asociación Nacional del Café, 2023). No obstante, se debe destacar que se presentó una disminución en el valor de las exportaciones de café del 16.4 % (\$163.3 millones de dólares) que a su vez disminuyó el volumen y precio de exportación en un 8 % debido a que Brasil tuvo condiciones climáticas favorables que incrementaron la oferta del grano en el mercado internacional (Departamento de Análisis Macroeconómico y Pronósticos, 2023).

Del área designada para el cultivo de café, *C. arabica* representa el 98.5 % y el 1.5 % restante es *C. canephora* (López, 2021). La producción en mayoría de arábica se debe a una estrategia comercial y de diferenciación que, como el resto de los países centroamericanos, emplea para destacar en el mercado y compensar su limitada capacidad productiva y las crisis que ha experimentado el sector cafetalero. De manera que, se han enfocado en producir cafés de alta calidad que cumplan con rigurosos estándares y elaborados siguiendo prácticas sociales y ambientales atractivas para los mercados de destino (Juárez, 2018; Peralta et al., 2023). Por ello se ha utilizado el bosque como sombra para mejorar el rendimiento y calidad del cultivo y el proceso de lavado; aunque esto requiere de mayor mano de obra y más agua que los métodos secos, pero permite que el café se cotice a un mayor precio que el promedio (Juárez, 2018; De León y Rodríguez, 2021). Del cafeto arábico se cultivan diversas variedades tradicionales e híbridas provenientes de las líneas originales Típica y Bourbon (Van der Vossen et al., 2015; López, 2021). Las tradicionales Caturra, Catuaí, Pache, Pache Colís, Bourbon y Pacamara que contribuyen a la producción nacional en términos de cantidad y calidad de bebida; y las variedades híbridas que son resistentes a la roya como Catimor y Sarchimor (López, 2021).

## **C. Líneas tradicionales y nuevas variedades con resistencia genética de importancia económica en Guatemala**

El cafeto arábigo al ser alotetraploide se ha adaptado a diversos ambientes a lo largo del cinturón cafetero (Van der Vossen et al., 2015). Tanto que algunas de las semillas de plantas de Etiopía son las que han dado origen a las variedades tradicionales de Latinoamérica (Marroquín, 2014). Por tanto, la producción de estas se basa en cultivares desarrollados hace mucho tiempo mediante la selección de las líneas originales Típica y Bourbon (Van der Vossen et al., 2015).

Dado que el crecimiento del cafeto se ve influenciado por factores ambientales como altitud, temperatura, precipitaciones, suelo y luz solar, se han producido mutaciones o cruces naturales como mecanismo de adaptabilidad o bien, se han realizado de manera dirigida para favorecer la supervivencia (López, 2006; Marroquín, 2014; Ngugi et al., 2021). Generando así los descendientes tradicionales: Caturra, Mundo Novo, Catuaí, Pache, Villa Sarchí, Pacas y Maragogipe (Marroquín, 2014).

Si bien, estos cultivares tradicionales de arábica presentan un alto rendimiento y excelente calidad de taza en las condiciones ambientales y manejo de cultivo adecuadas, en su mayoría son susceptibles a enfermedades y plagas del café (Marroquín, 2014). Por lo que, se buscó utilizar especies similares a arábica para mejorarla y facilitar su mantenimiento evitando inversiones económicas extras y retos ecológicos (Etienne et al., 2002; Van der Vossen et al., 2015). De manera que, se utilizó a *C. canephora* como fuente de resistencia genética, específicamente contra la roya, para generar nuevas variedades de porte bajo, productivas y resistentes como los Catimores y Sarchimores (Marroquín, 2014; Velásquez, 2021). De los cuales las variedades Catuaí, Pacamara, Catimor, Sarchimor y Castillo son las más conocidas comercialmente y representan el 34.1 % del total de parque cafetalero en Guatemala (Marroquín, 2014; Velásquez, 2021). Adicionalmente, estas variedades se han cruzado para obtener plantas con mejor calidad de taza, tolerancia a sequía, resistencia a ataque de plagas y fitoparásitos y que fortalezcan la productividad; entre ellas: Anacafé 14 e Icatú (Velásquez, 2021).

### **1. Variedades tradicionales en Guatemala**

#### **a. Caturra**

Variante de la mutación de Bourbon descubierta en Brasil a principios del siglo XX e introducida a Guatemala, específicamente en la Finca Chocolá en Suchitepéquez, en la década de los cuarenta (Marroquín, 2014). Se adapta bien en prácticamente todos los rangos altitudinales, siendo óptimo su rendimiento a 1,300m; por tanto, puede ser cultivado en las diferentes regiones del país (López, 2021). Posee porte bajo con una altura de 1.8m, un eje principal grueso poco ramificado, ramas secundarias abundantes que le proveen apariencia compacta a la planta y un buen vigor vegetativo, y cuenta con entrenudos cortos

característicos (Marroquín, 2014; López, 2021). Sus hojas son grandes, onduladas y anchas, con un color verde oscuro y textura poco áspera. Sus frutos son rojos o amarillos, predominando en Guatemala la producción de frutos rojos con granos medianos (López, 2021). Se caracteriza por su forma ligeramente angular, compacta, con buen potencial de rendimiento, alta producción y calidad estándar en Centroamérica; aunque, es muy susceptible a la tota, nemátodos y antracnosis de la cereza (Marroquín, 2014; López, 2021).

#### **b. Catuai**

Producto entre el cruce artificial entre las variedades Mundo Novo y Caturra; llevado a cabo en el Instituto Agronómico (IAC) en Brasil e introducido en Guatemala en 1970 (Marroquín, 2014). Se desarrolla de manera óptima en altitudes desde los 690 hasta los 1,371 m s.n.m en las regiones de Boca Costa (San Marcos a Jutiapa) y a 1,067 a 1,675 m s.n.m en las zonas central, oriental y norte del país (Orozco y Hernández, 2017). Se caracteriza por ser una variedad de porte bajo, ligeramente más grande que Caturra, sus ramas laterales forman un ángulo cerrado con el tallo principal y presenta entrenudos cortos (Marroquín, 2014). Las hojas presentan forma redondeada y un color cerde claro a oscuro; produce frutos rojos y amarillos, aunque en Guatemala predomina la variedad roja con grano mediano (Velásquez, 2021). Esta variedad es reconocida por su gran vigor y alta producción en comparación con Bourbon; aunque es susceptible a la roya, nemátodos y CBD y requiere de un sólido programa de manejo (Velásquez, 2021; World Coffee Research, 2024).

#### **c. Anacafé 90 o Ihcafe 90**

Surgió de la descendencia del Catimor T-5175 proveniente del cruce entre el híbrido de Timor 832/1 con Caturra (Velásquez, 2021; World Coffee Research, 2024). El cafeto es un arbusto de porte bajo de 2.20 m de altura, con entrenudos cortos y ramas largas, hojas anchas y oscuras, brotes bronceados y con buen vigor vegetativo. Sus frutos tienen un color rojo con tamaño de grano mediano y son de maduración intermedia. Posee productividad alta y una buena calidad de taza (Velásquez, 2021). Es susceptible a la roya, nemátodos, ojo de gallo y CBD, pero está bien adaptada a latitudes arriba de los 1000 m s.n.m (Velásquez, 2021; World Coffee Research, 2024).

### **2. Nuevas variedades con resistencia genética en Guatemala**

#### **a. Anacafé 14**

Variedad que surge del cruce natural entre la variedad Catimor (T-5175, Anacafé 90 o Timor Híbrido 832/1x Caturra) y Pacamara alrededor de 1980 en el departamento de Chiquimula, y fue hasta 2014 que empezó a ser comercializada (Velásquez, 2021; World Coffee Research, 2024). Es producida en la región oriente del país, por lo que se encuentra a 1,200m s.n.m, en suelos franco-arenosos con precipitación anual entre 1,500 a 1,800 mm y temperatura que oscila entre 15-32°C (Velásquez, 2021). La planta posee un porte medio

y frondoso, vigor notable y con abundantes ramificaciones; sus frutos son ovalados y grandes por lo que le permiten generar una alta productividad (Orozco y Hernández, 2017; Velásquez, 2021). Además, esta es resistencia a la enfermedad de la roya, aunque es susceptible a nemátodos y CBD (World Coffee Research, 2024).

#### **b. Catucaí**

Originado por el cruzamiento natural entre Icatú y Catuaí, seleccionado por primera vez en 1988 por el Instituto Brasileño del Café (IBC) (Orozco y Hernández, 2017). Se caracteriza por su porte medio de 2.40 m, ramificaciones secundarias abundantes, entrenudos cortos y brotes de color verde o bronce y adaptabilidad a zonas medias o altas. Los frutos que pueden ser rojos o amarillos poseen un tamaño mediano y un ciclo de maduración intermedio. Presenta vigor y productividad alta, buena capacidad de rebrote y una buena calidad de bebida, similar a la de Catuaí (Orozco y Hernández, 2017; Velásquez, 2021). Generalmente su resistencia a la roya y al CBD es moderada por lo que el daño es menor; aunque es susceptible a los nemátodos (Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional, 2023).

#### **c. Obatá**

Resultado del cruce realizado en 1967 en Portugal entre el híbrido Timor (832/2) y Villa Sarchí. Introducida en Brasil en 1971 para que la descendencia se desarrollara y en el año 2000 el Instituto Agronómico de Campinas (IAC) lanzó oficialmente la variedad obtenida con la mejor productividad y resistencia a la roya (Velásquez, 2021). Está adaptado para una buena producción en altitudes bajas a medias entre 700-1300 m s.n.m (World Coffee Research, 2024). Se destaca por su porte bajo y compacto, entrenudos cortos, ramificaciones secundarias, hojas grandes y anchas con bordes ligeramente ondulados y sus brotes verdes. Sus características de altura y diámetro son similares a las de Catuaí (2.20 m) y sus frutos son rojos y grandes presentan una maduración tardía (Velásquez, 2021). Son productivos, de alto vigor y la calidad de bebida es muy buena. Además, presentan resistencia a la roya; aunque son susceptibles a nemátodos y se desconoce su susceptibilidad a CBD (Velásquez, 2021; World Coffee Research, 2024).

### **D. Evaluación de la diversidad con caracterización molecular**

#### **1. Diversidad genética**

Es la variabilidad genética existente entre individuos de una misma población dentro de una especie. Surge por la combinación de material genético (ADN) durante la herencia, mutación, flujo y deriva genética (Kumar y Singh, 2023). Al proporcionar información sobre la diversidad dentro y entre los individuos permite identificarlos y diferenciarlos según sus características (Yirga, 2021).

En el caso del café, la composición genética del cafeto impacta en la calidad de los granos ya que influye en los genes responsables de compuestos químicos y precursores de aroma (Mengistu et al., 2020). Tomando en cuenta esto, las variaciones genéticas pueden desempeñar un papel importante en la utilización eficiente de las plantas; especialmente ya que estas pueden verse afectadas por elementos del ambiente como la altitud, y temperatura, patrones de lluvia y química del suelo (Mengistu et al., 2020; Yirga, 2021). Por tanto, la diversidad genética puede utilizarse para mejorar los cultivos para seleccionar variedades resistentes y altamente productivas (Bekele y Endashaw, 2014).

## **2. Tipos de caracterización**

Los procesos de mejora de los recursos genéticos de los cultivos dependen de cruces continuas de parientes silvestres, variedades tradicionales y mediante técnicas modernas de crías. Para ello, se puede medir a nivel morfológico, bioquímico y molecular (Bekele y Endashaw, 2014).

### **a. Morfológica**

Consiste en puntuar caracteres que puedan detectarse fácilmente y que tengan una alta heredabilidad basada en la forma y estructura del organismo. Se basa en las características morfológicas como hábitat de crecimiento, tipo de hoja, características florales y forma de frutas; por lo que puede ayudar a clasificar según su taxonómica y botánica, características que afectan su manejo agronómico y su reacción a condiciones ambientales (Bekele y Endashaw, 2014; Pokharel et al., 2023). Para esta se utilizan descriptores, los cuales cuentan con caracteres que se consideran importantes y útiles para describir una población en la especie (Bekele y Endashaw, 2014). Sin embargo, tiene algunas limitaciones porque está influenciada por el entorno y requiere de una evaluación continua durante el ciclo de crecimiento (Weldemichael, 2023). En Guatemala, se han utilizados descriptores de caracterización morfológica basados en el propuesto por el Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) con modificaciones que incluyen los caracteres más importantes de la planta de café, como: características de hoja, tallo, arquitectura de planta, ramas, semillas y frutos (Miranda, 2017).

### **b. Molecular**

Permite caracterizar la variabilidad que no puede ser detectada mediante la observación visual (Bekele y Endashaw, 2014). Por tanto, se han desarrollado herramientas poderosas en forma de marcadores moleculares; los cuales pueden señalar la posición de un gen en particular en una ubicación específica del genoma (Pacotaype, 2017). Estos marcadores son independientes de factores ambientales y son más numerosos que los marcadores morfológicos por lo que pueden dar información más clara sobre la variación genética del organismo (Weldemichael, 2023).

### **3. Marcadores moleculares**

#### **a. Definición**

Los marcadores moleculares son pequeñas regiones de secuencias de ADN que muestran un polimorfismo (delección, inserción o sustitución de bases) entre diferentes individuos (Weldemichael, 2023). Estos son utilizados en el mapeo genético para: identificar directamente genes de interés, detectar híbridos de células somáticas y mapeo físico de los genes mediante hibridación *in situ*. Además, pueden utilizarse en varias sondas de ADN, técnicas de cribado y construcción de mapas mediante análisis de ligamiento (Marwal et al., 2014). Dado a su largo alcance, estos se encuentran constantemente en desarrollo y han evolucionado desde los sistemas de marcadores de primera y segunda generación: RFLPs, RAPDs, SSRs y AFLPs, hacia los de tercera y cuarta generación, que incluyen SNPs y ensayos DArT (Kumar et al., 2020).

#### **b. Ventajas de la utilización de los marcadores moleculares en la cafcicultura**

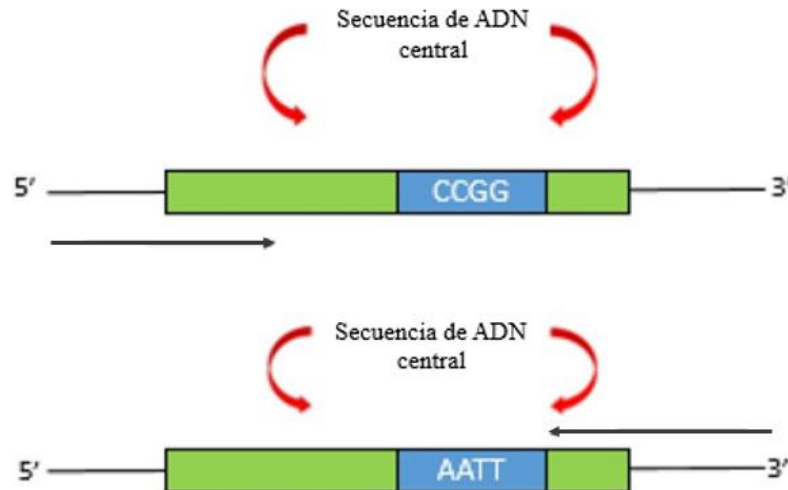
Debido a que los marcadores moleculares cuentan con secuencias cortas que funcionan como códigos de barra, que son independientes del entorno y la etapa de la vida de la planta, permiten una identificación más eficiente del organismo (Yunita et al., 2020). Por tanto, permiten abordar cuestiones relacionadas con las relaciones filogenéticas, mapear loci y rastrear rasgos adaptativos; así como también diferenciar entre especies y cultivares que están estrechamente relacionados (Robarts y Wolfe, 2014; Yunita et al., 2020). Específicamente, los marcadores moleculares dominantes basados en PCR como RAPD (ADN polimórfico amplificado aleatoriamente), ISSR (repetición de secuencia intersimple) y AFLP (polimorfismo de longitud de fragmento amplificado) son una herramienta valiosa debido a que permiten discernir entre relaciones de orden superior y niveles taxonómicos de variación más superficial (Robarts y Wolfe, 2014). En *C. arábica* estos marcadores han identificado con éxito germoplasmas y cultivares, diversidad y mapeo genético; además, facilitan la certificación de cruces controlado en programas de mejoramiento (Medeiros et al., 2021).

### **4. Marcador molecular basado en la PCR con polimorfismo amplificado relacionado con la secuencia (SRAP)**

#### **a. Generalidades**

Marcador dominante basado en la PCR con polimorfismo amplificado relacionado con la secuencia (SRAP, por sus siglas en inglés) capaz de generar fragmentos de todo el genoma con alta reproducibilidad y versatilidad. Este se emplea para amplificar secciones codificantes de ADN utilizando cebadores específicos para marcos de lectura abiertos (ORF) (Robarts y Wolfe, 2014). En comparación con otros marcadores, la amplificación preferencial de los ORF tiene el potencial de fortalecer la relación entre los polimorfismos de ADN y los rasgos morfológicos que caracterizan morfotipos (Li et al., 2014).

Los cebadores que se utilizan tienen una longitud de 17 a 18 pares de bases, de las cuales las primeras 10 u 11 bases del extremo 5' son secuencias sin composición específica (denominadas de relleno), seguidas de una secuencia CCGG (adelante o *forward*) o AATT (reversa o *reverse*) y por último tres nucleótidos selectivos (aleatorios) en el extremo 3' (Robarts y Wolfe, 2014) (Figura 3). Estos permiten no solo amplificar el intervalo entre genes y sus regiones flanqueantes no codificantes, sino que también se vinculan a genes reales; por tanto, permiten un aislamiento fácil de sus bandas para la secuenciación (Li et al., 2014).



**Figura 3.** Representación esquemática del marcador SRAP.  
Nota. Adaptado de Choudhury, Kharbyngar y Rani (2022)

### **b. Ventajas sobre otros marcadores moleculares**

Los marcadores SRAP se destacan por su simplicidad y eficacia para revelar la variación genética en diversos niveles taxonómicos y entre las poblaciones de híbridos intra e interespecíficos (Robarts y Wolfe, 2014). Además, estos son más rentables ya que pueden generar una mayor variedad puesto que sus cebadores adelante y reversa pueden combinarse (Yunita et al., 2020). Estudios comparativos han demostrado que estos marcadores ofrecen niveles similares de variación con respecto a los marcadores AFLP, pero con menor esfuerzo técnico y costo (Robarts y Wolfe, 2014). Adicionalmente, a diferencia de otros sistemas estos tienen la capacidad de ser multilocus y multialélicos por lo que son más eficientes para analizar la diversidad genética, mapeo de genes y genotipado (Yunita et al., 2020).

## **VI. METODOLOGÍA**

### **A. Sitio de estudio**

Las muestras fueron recolectadas en la finca Buena Vista en San Sebastián, Retalhuleu, y en la finca Las Flores en Barberena, Santa Rosa.

### **B. Sujeto de estudio**

El sujeto de estudio es el genoma de variedades de café de la especie *Coffea arabica* de importancia económica en Guatemala. En las que se incluyen variedades tradicionales como: Caturra, Catuaí, Anacafé 90; y nuevas variedades con resistencia genética resultado del cruce de otras ya mejoradas como Catucaí, Anacafé 14 y Obatá.

### **C. Diseño, enfoque y tipo de investigación**

Diseño descriptivo de tipo transversal.

### **D. Tipo y tamaño de muestra**

Se muestreó en la finca Buena Vista las variedades Anacafé 14 y Obatá y en la finca Las Flores las variedades Caturra, Catuaí, Anacafé 90 y Catucaí. De las cuales se recolectaron muestras foliares de la parte media de 3 cafetos de cada variedad para un total de 18 cafetos.

### **E. Criterios de inclusión y exclusión**

#### **1. Criterios de inclusión**

- Las muestras provienen de la finca Las Flores (Barberena, Santa Rosa) o de la finca Buena Vista (San Sebastián, Retalhuleu).
- Los cafetos analizados deben tener al menos 1 año en campo o 1 año en producción.
- Los cafetos deben pertenecer a las variedades Caturra, Catuaí, Anacafé 90, Catucaí, Obatá o Anacafé 14.

#### **2. Criterios de exclusión**

- Las muestras no provienen de la finca Las Flores o de la finca Buena Vista

- Los cafetos analizados tienen menos de 1 año en campo o 1 año en producción
- Los cafetos son de variedades distintas a las variedades: Caturra, Catuaí, Anacafé 90, Catucaí, Obatá o Anacafé 14.

## F. Variables

Las variables que están involucradas en este trabajo se describen en el *Cuadro 1*.

**Cuadro 1.** *Variables de variedades de C. arabica con importancia comercial*

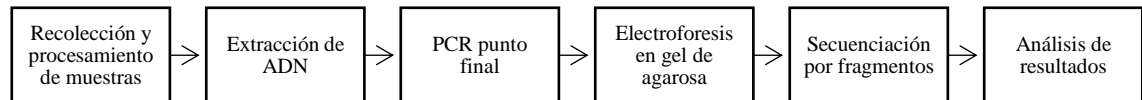
Variable	Definición	Indicador	Dimensiones	Instrumento de medición
<b>Variedades tradicionales</b>	Cultivares de las líneas originales Típica y Bourbon, y de descendientes generados por cruces naturales o dirigidas entre padres arábigos genéticamente distintos.  Presentan un alto rendimiento y excelente calidad de taza, pero son susceptibles a plagas y enfermedades del café.	Caturra: forma ligeramente angular y compacta; porte bajo (~1.8 m); hojas verdes grandes, anchas con textura un poco áspera y bordes ondulados.  Catuaí: porte medio (~2.25 m); hojas verdes, redondas y brillantes.  Anacafé 90: porte bajo (~2.20 m) y medianamente compacta; hojas anchas verde oscuro con brotes bronce.	Nombre de las variedades: Caturra, Catuaí, Anacafé 90)	Descriptor morfológico
<b>Variedades con resistencia genética</b>	Cultivares con resistencia genética tomada de <i>C. canephora</i> que fortalecen la productividad del café.  Presentan resistencia a roya, sequía y/o ataques de plagas.	Anacafé 14: porte bajo (~2.20 m) y compacto; hojas verdes.  Catucaí: porte medio (~2.40 m) con brotes verdes o bronce.  Obatá: porte bajo (~2.20 m) con hojas grandes, anchas y de bordes ligeramente ondulados	Nombre de las variedades: Anacafé 14, Catucaí y Obatá	Descriptor morfológico
<b>Perfil molecular con el marcador SRAP</b>	Marcador basado en la PCR con polimorfismo amplificado relacionado con la secuencia capaz de generar fragmentos de las secuencias codificantes del genoma	Patrones de bandas distintos que caractericen a las variedades  Picos que representan alelos en electroferograma que caractericen las variedades.	Presencia/ausencia de bandas de amplificación  Picos definidos y >100RFU por encima del ruido del electroferograma	Bandas visualizadas mediante electroforesis en gel.  Picos visualizados mediante electroferograma

*Nota.* Elaboración propia

## G. Hipótesis

El marcador molecular SRAP puede establecer el perfil molecular de las variedades de café *Coffea arabica*, independientemente del sitio geográfico donde se encuentre, debido a su capacidad para generar fragmentos de todo el genoma con alta reproducibilidad y versatilidad.

## H. Metodología



**Figura 4.** Pasos del diseño experimental implementado en el estudio

### 1. Recolección y procesamiento de muestras

Las muestras se recolectaron en las fincas Buena Vista, Retalhuleu, y Las Flores, Santa Rosa. Para esto se dividió la planta de café en 3 partes de manera horizontal y de la parte de en medio se identificó los cuatro puntos de recolección (adelante, atrás, izquierda y derecha). De las bandolas de café seleccionadas de los cuatro puntos se recogió del tercer y cuarto par de hojas 1-2 hojas verdes para un total de 6-8 hojas por cafeto. Se verificó que estas se encontraran libres de daños por plagas y/o enfermedades y se almacenaron en bolsas herméticas retirando todo el aire de la bolsa antes de sellarla para evitar la oxidación de las hojas. Cada bolsa fue etiquetada con un identificador, variedad y fecha de recolección. Posteriormente, se midió la altura de cada cafeto con ayuda de un metro. Para la descripción de las hojas, se observó el color y se clasificaron como verdes o bronceadas según lo que se observaba en cada caso. Esta clasificación se basó en los colores típicos asociados a los brotes descritos en la Guía de variedades de café de Guatemala (Velásquez, 2021). Adicionalmente, con una regla se tomaron las mediciones de largo y ancho de tres hojas.

Estas muestras se colocaron en una hielera con hielo para su transporte y se almacenaron a 4° C. Al ingresar al laboratorio las muestras fueron limpiadas con agua corriente y agua destilada, secadas y ultracongeladas a -80 °C por un día. Posteriormente, estas se liofilizaron en el equipo FreeZone (LabConco™) por 48 horas a 0.060 mbar; al finalizar se molieron las muestras para obtener un polvo fino que permitió los análisis posteriores y el almacenamiento de estas en tubos de 2 mL con rosca en cajas con sílica gel para mantener un ambiente de baja humedad (>50 %).

## 2. Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN basado en el método de extracción de Doyle y Doyle (1990) con modificaciones. Se usó 20 mg de tejido liofilizado al que se le añadió 700 uL de buffer de extracción de CTAB 2 % (CTAB 2 %, 1.4M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH=8), 0.03 % de metabisulfito de sodio) previamente calentado a 65°C y se pasó a un vortex para homogeneizar. Se incubó a 65 °C por 45 minutos con agitación constante y se centrifugó a 14000 rpm por 15 minutos. Al sobrenadante extraído se le añadió 600 uL de solución cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y se mezcló invirtiendo el tubo varias veces. Se centrifugó a 14000 rpm por 15 minutos; se extrajo el sobrenadante y se le añadió 2 veces el volumen del sobrenadante de isopropanol frío y se dejó incubando 1 hora a -20 °C.

Luego se centrifugó a 14000 rpm por 25 minutos a 4 °C y se descartó el sobrenadante. El pellet se lavó con 600 uL de etanol 70 % frío, se centrifugó a 14000 rpm por 8 minutos y se descartó el sobrenadante. Se realizó otro lavado de la misma manera con 600 uL de etanol al 95 % frío. Por último, se dejó secar el tubo invertido sobre papel filtro hasta que no se observara humedad. Una vez seco, se reconstituyó en 100uL de buffer TE con 4 uL de ARNasa (10 mg/mL), se incubaron los tubos 37 °C por 30 minutos y luego se colocaron inmediatamente en hielo.

## 3. Cuantificación y determinación de pureza de ADN

Para cuantificar el ADN se utilizó el espectrofotómetro NanoDrop® One C (Thermo Fisher Scientific) utilizando la opción dsDNA y se determinó la pureza usando las relaciones A260/A280 (rango de 1.8-2.0) y A260/A230 (rango de 2.0-2.2) en los rangos considerados como óptimos.

## 4. Amplificación de los cebadores SRAP por PCR punto final

Los cebadores (o *primers*) SRAP utilizados consistieron en 7 cebadores directos (o *forward*) y 7 indirectos (o *reverse*) propuestos por Li y Quiros (2001). Los cebadores directos fueron marcados en el extremo 5' con los colorantes 6-FAM, VIC, PET y NED (cuadro 2) para su posterior análisis de fragmentos; siendo estos seleccionados dado a la calibración del equipo. Las combinaciones de primer utilizados se muestran en el *Cuadro 3*. La amplificación de ADN se llevó a cabo según lo descrito por Kumar et al. (2011) con modificaciones en un volumen de reacción de 25 uL que contenía: máster mix GoTaq® G2 Hot Start a una concentración 1X, 10 mM de cada cebador, agua y 70-100 ng de ADN genómico. El programa en el termociclador SimpliAmp™ empleado fue de 4 etapas: desnaturalización inicial a 96 °C por 4 minutos; 5 ciclos de 94 °C por 1 minuto, 35 °C por 1.15 minutos y 72 °C por 2 minutos; 30 ciclos a 94 °C por 1 minuto, 50 °C por 1.15min y 72 °C por 2 minutos; y extensión final a 72 °C por 10 minutos. Los productos amplificados se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % (p/v) usando tampón TAE 1X.

**Cuadro 2.** Cebadores SRAP utilizados para el análisis de fragmentos

Cebador directo			Cebador indirecto	
Nombre	Secuencia (5' a 3')	Colorante	Nombre	Secuencia (5' a 3')
<b>Me1</b>	TGAGTCCAAACCGGATA	6-FAM	<b>Em1</b>	GACTGCGTACGAATTAAT
<b>Me2</b>	TGAGTCCAAACCGGAGC	VIC	<b>Em2</b>	GACTGCGTACGAATTTGC
<b>Me3</b>	TGAGTCCAAACCGGAAT	NED	<b>Em3</b>	GACTGCGTACGAATTGAC
<b>Me4</b>	TGAGTCCAAACCGGACC	PET	<b>Em4</b>	GACTGCGTACGAATTTGA
<b>Me9</b>	TGAGTCCAAACCGGAGG	6-FAM	<b>Em10</b>	GACTGCGTACGAATTCAT
<b>Me10</b>	TGAGTCCAAACCGGAA	VIC	<b>Em12</b>	GACTGCGTACGAATTCTC
<b>Me11</b>	TGAGTCCAAACCGGAAC	NED	<b>Em13</b>	GACTGCGTACGAATTCTG

*Nota.* Adaptado de Kumar et al. (2011, p. 609)

**Cuadro 3.** Combinaciones de marcadores SRAP para la amplificación y el análisis de fragmentos

ID de la combinación	Directo	Indirecto
<b>A</b>	Me1	Em12
<b>B</b>	Me2	Em4
<b>C</b>	Me3	Em1
<b>D</b>	Me3	Em3
<b>E</b>	Me3	Em4
<b>F</b>	Me4	Em3
<b>G</b>	Me4	Em10
<b>H</b>	Me9	Em10
<b>I</b>	Me10	Em13
<b>J</b>	Me11	Em10

*Nota.* Elaboración propia

## 5. Secuenciación

Para el análisis de fragmentos se mezcló 1uL del producto amplificado con 0.4 uL del estándar de tamaño GeneScan 600LIZ (Applied Biosystems®) y 9.6 uL de Hi-Di formamida. La mezcla se desnaturalizó y cargó en el secuenciador SeqStudio Genetic Analyzer®. Se analizaron los datos con el software de análisis *GeneMapper* (Applied Biosystems®).

## 6. Análisis de los datos empleando bioinformática y estadística

Los datos se recopilaron en formato binario: presencia (1) o ausencia (0), para cada variedad de café analizada con cada combinación de cebadores. Para la identificación de fragmentos se estableció que debía tener 100 unidades de fluorescencia relativa (UFR) sobre el nivel del ruido y estar definido; de manera que, picos definidos con más de 100UFR se les asignó un 1 y a los que no cumplían estos requisitos se les asignó un 0. De esto se obtuvieron cuatro matrices binarias: combinación B (Me2 y Em4), combinación D (Me3 y Em3), combinación H (Me9 y Em10) y de unificación de las matrices binarias de las

combinaciones B, D y H. Siendo esta última obtenida al reunir los datos de las matrices de cada combinación para analizarlas como un todo.

A partir de cada una de las matrices binarias obtenidas se generaron las matrices de similitud con el método de Jaccard para analizar la relación genética entre los genotipos y se construyó un dendograma a través del método de agrupamiento jerárquico aglomerativo simple promedio (UPGMA; Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) utilizando el paquete Vegan (Oksanen et al., 2024) en RStudio (4.3.2) (Khaled et al., 2021; Keles et al., 2022). Finalmente, se utilizó el paquete ape en RStudio (4.3.2) para descargar los dendogramas rectangulares en formato newick y con ayuda de iTOL se convirtieron a circulares para facilitar la interpretación.

Por otro lado, con las cuatro matrices binarias obtenidas se estimó como parámetro de diversidad el índice de Shannon utilizando Excel (Microsoft 365). Para ello, con cada combinación de cebadores, se determinó para cada alelo reportado (s) el número de veces que se observó en las 18 muestras de las variedades de café; es decir, su frecuencia. A partir de esto, se calculó la proporción ( $p_i$ ) como la fracción de veces en que aparece en alelo con relación al total de observaciones. Por último, se calculó el índice de Shannon aplicando la fórmula:

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \log p_i$$

(Nolan y Callahan, 2006)

Donde s es el número de alelos reportados en la combinación analizada y  $p_i$  es la proporción del alelo con relación al total de observaciones.

## VII. RESULTADOS

### A. Descripción morfológica de las variedades de *Coffea arábica*

Para la descripción morfológica de las variedades de *Coffea arábica* de importancia comercial en Guatemala se tomó en cuenta la altura de la planta, color y tamaño de hoja, tal como se muestra en el *Cuadro 4*. Esto con el fin de establecer si existía una diferencia entre las variedades de café analizadas utilizando como criterio estos tres parámetros.

**Cuadro 4.** Descripción de las variedades de *Coffea arábica* de importancia comercial en Guatemala utilizadas para la caracterización molecular

Localización	Variedad	ID	Características				
			Años en campo	Años de producción	Altura (m)	Color del brote	Tamaño de la hoja
Buena Vista, San Sebastián, Retalhuleu, Guatemala.	Anacafé 14	2878AC	2	1	0.89	Verde	Grande
		3071AC	2	1	1	Verde	Grande
		1049AC	2	1	0.9	Verde	Grande
238° SO. Altitud:400 m	Obatá	915OB	7	1	1.85	Verde	Grande
		916OB	7	1	2.45	Verde	Grande
		918OB	7	1	2.45	Verde	Grande
	Caturra	901CR	12	1	1.84	Verde	Mediana
		903CR	12	1	2.05	Verde	Mediana
		904CR	12	1	1.80	Verde	Mediana
Las Flores, Barberena, Santa Rosa, Guatemala.	Catuaí	906CA	10	1	2.08	Verde	Pequeña
		907CA	10	1	2.10	Verde	Mediana
		908CA	10	1	2.30	Verde	Mediana
223° SO. Altitud: 1200 m	Catucaí	917CT	10	1	1.53	Verde	Pequeña
		918CT	10	1	1.54	Verde	Pequeña
		920CT	10	1	1.60	Verde	Mediana
	Anacafé 90	914AN	10	1	1.84	Verde	Pequeña
		915AN	10	1	1.82	Verde	Pequeña
		916AN	10	1	1.60	Verde	Pequeña

**Nota.** Tamaño de hoja: pequeña:  $\leq 14 \times 8$  cm; mediana:  $> 14 \times 8$  cm y  $< 17 \times 8$  cm; grande:  $\geq 17 \times 8$  cm. El tamaño de hoja se clasificó según el promedio del largo y ancho de la misma (ver *Cuadro 7 en Anexos*).

Del cuadro anterior se identificó con las tres características analizadas se logra una identificación preliminar de la mayoría de las variedades, siendo algunas similares en tamaño y color de brote, pero distintas en altura. Según el descriptor del IPGRI (1996) modificado (2017) estas diferencias en el alto de la planta permiten una clasificación de los cafetos en: muy bajas, bajas y altas (Miranda, 2017). En el caso de Anacafé 14 y Obatá tienen hojas verdes y grandes, pero difieren en su altura, ya que Anacafé 14 es clasificada como muy baja (0.93 m) y Obatá como alta (2.25 m). Por otro lado, Caturra y Catuaí presentan hojas verdes y medianas, sin embargo, se diferencian en que Caturra es baja (1.90 m) y Catuaí de alta (2.16 m). Mientras que, Catucaí y Anacafé 90 tienen hojas verdes y pequeñas, y son de altura baja con 1.56 m y 1.75 m, respectivamente.

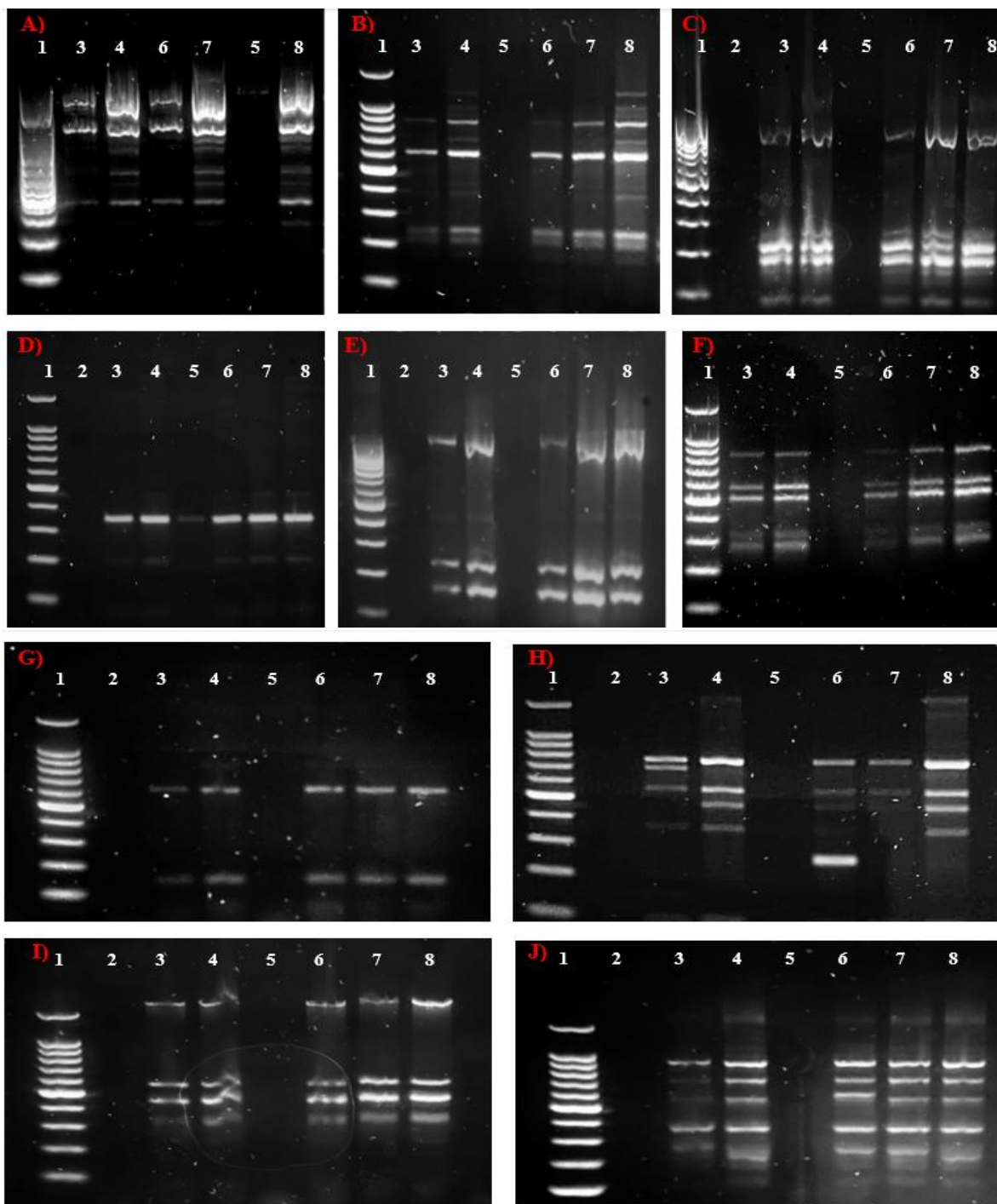
## **B. Amplificación de los cebadores SRAP mediante PCR punto final**

Para realizar la amplificación de los cebadores SRAP se estableció un total de 10 posibles combinaciones elegidas al azar. Las 10 combinaciones mostraron la presencia de al menos 1 amplicón, sin importar la intensidad de la banda, en alguna de las 6 variedades analizadas como se muestra en el *Cuadro 5*.

**Cuadro 5.** *Número de bandas visualizadas en gel de agarosa 2 % para cada combinación de cebadores SRAP directo e indirecto en las 6 variedades analizadas*

<b>ID de la combinación</b>	<b>Bandas visualizadas</b>
A	8
B	9
C	4
D	3
E	3
F	5
G	2
H	7
I	4
J	6

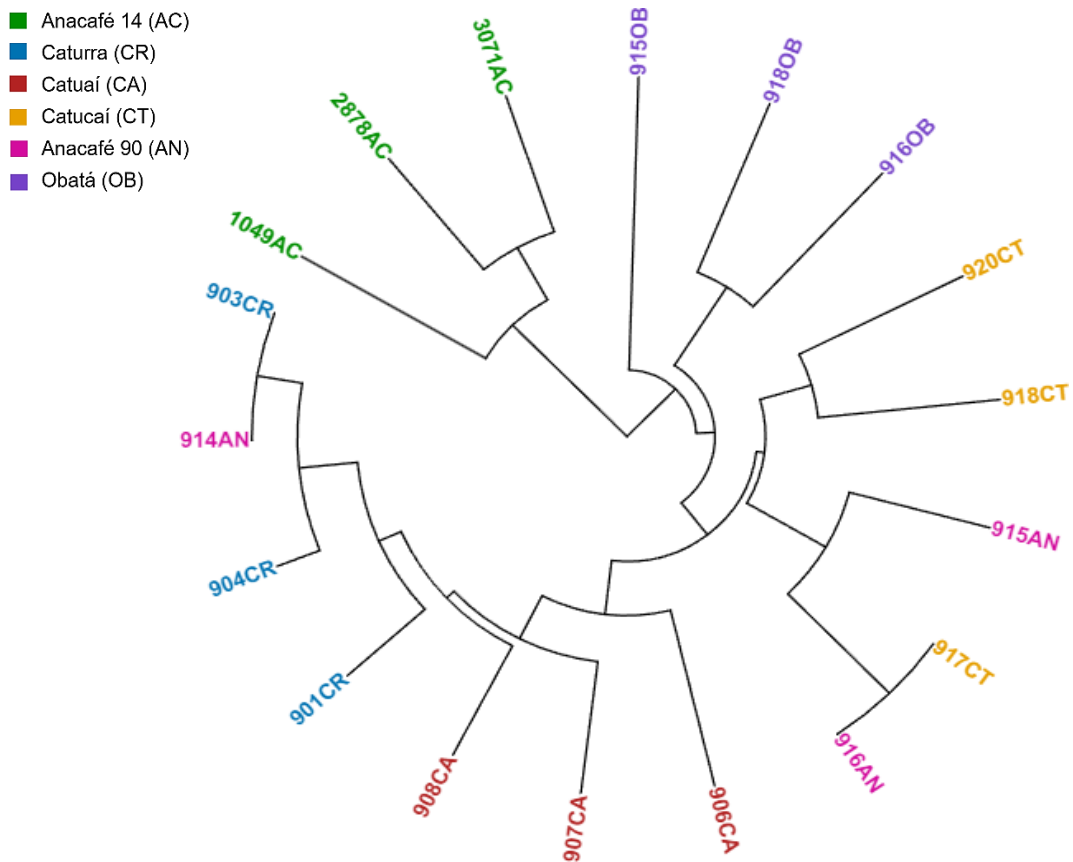
Del cuadro anterior, las combinaciones B, D y H son las únicas que presentan alguna diferencia visible en el patrón de bandas para al menos una de las variedades establecidas como se muestra en la *Figura 5*. Por consiguiente, estas combinaciones fueron seleccionadas para el análisis de fragmentos, mediante el cual se identificarán los alelos amplificados de cada variedad a partir de los picos que se observen; siendo estos picos generados gracias a la excitación del fluorocromo que marca los productos de PCR.



**Figura 5.** Combinaciones de cebadores SRAP visualizadas en geles de agarosa al 2 %.  
 Nota. A) Combinación Me1 con Em12; B) combinación Me2 con Em4; C) combinación Me3 con Em1; D) combinación Me3 con Em3; E) combinación Me3 con Em4; F) combinación Me4 con Em3; G) combinación Me4 con Em, H) combinación Me9 con Em10; I) combinación Me10 con Em13; J) combinación Me10 con Em11. Donde 1) Escalera molecular 100bp; 2) blanco (en los geles que aplica); 3) Anacafé 14 (id. 1049AC); 4) Anacafé 90 (id. 914AN); 5) Obatá (id. 918OB); 6) Catucaí (id. 918CT); 7) Catucaí (id.908CA); 8) Caturra (id. 901CR).

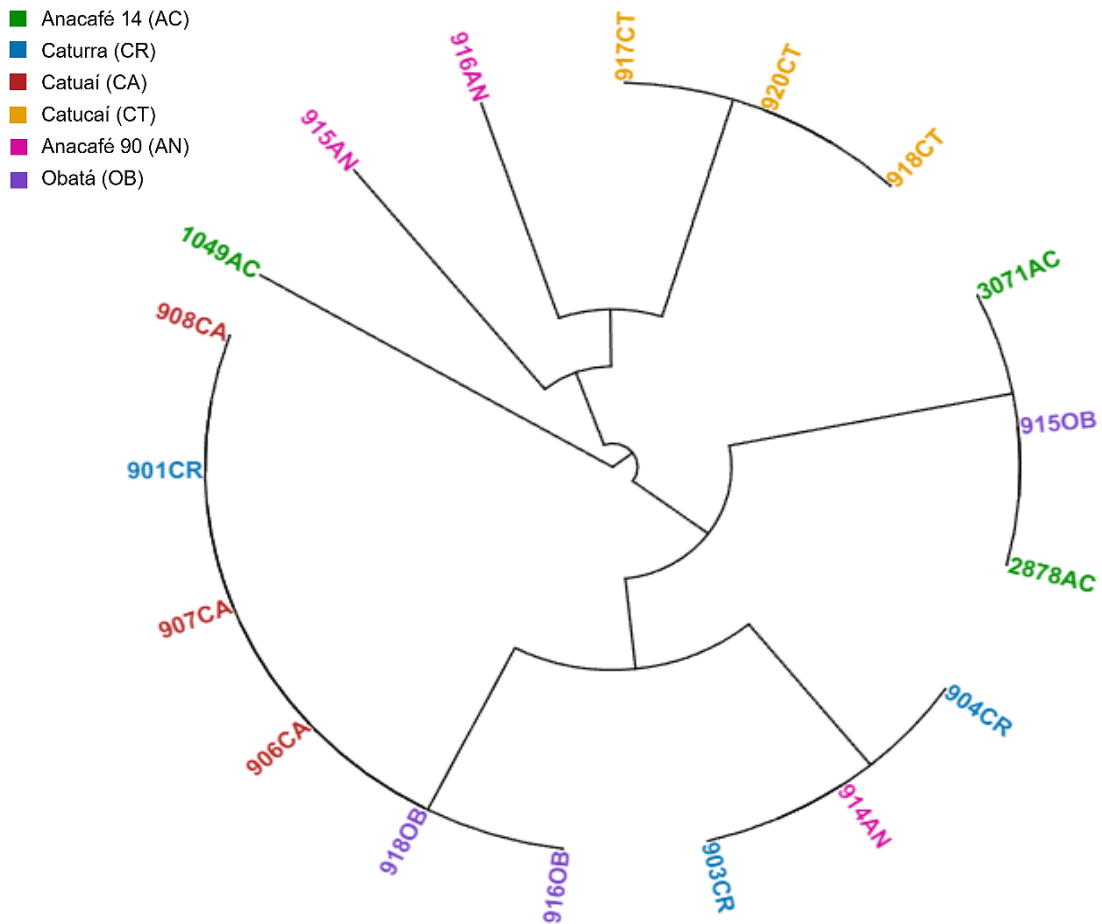
### C. Análisis de diversidad para las combinaciones de cebadores SRAP que mostraron una diferencia en gel de agarosa 2 %

Para el análisis de fragmentos se utilizaron las combinaciones B, D y H debido a la diferencia entre variedades en los patrones de bandas visualizados mediante la electroforesis en gel de agarosa. De estas, los electroferogramas obtenidos (ver *Figura 10* en anexos) muestran los patrones de bandas como picos que representan diferentes alelos. Estos fueron clasificados en matrices de presencia/ausencia como se observa en los *Cuadros 8, 9 y 10* en anexos. Para evaluar la similitud se obtuvo las distancias de Jaccard y con el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA) se crearon los dendogramas como se presentan en las *Figuras 6, 7, 8 y 9*.



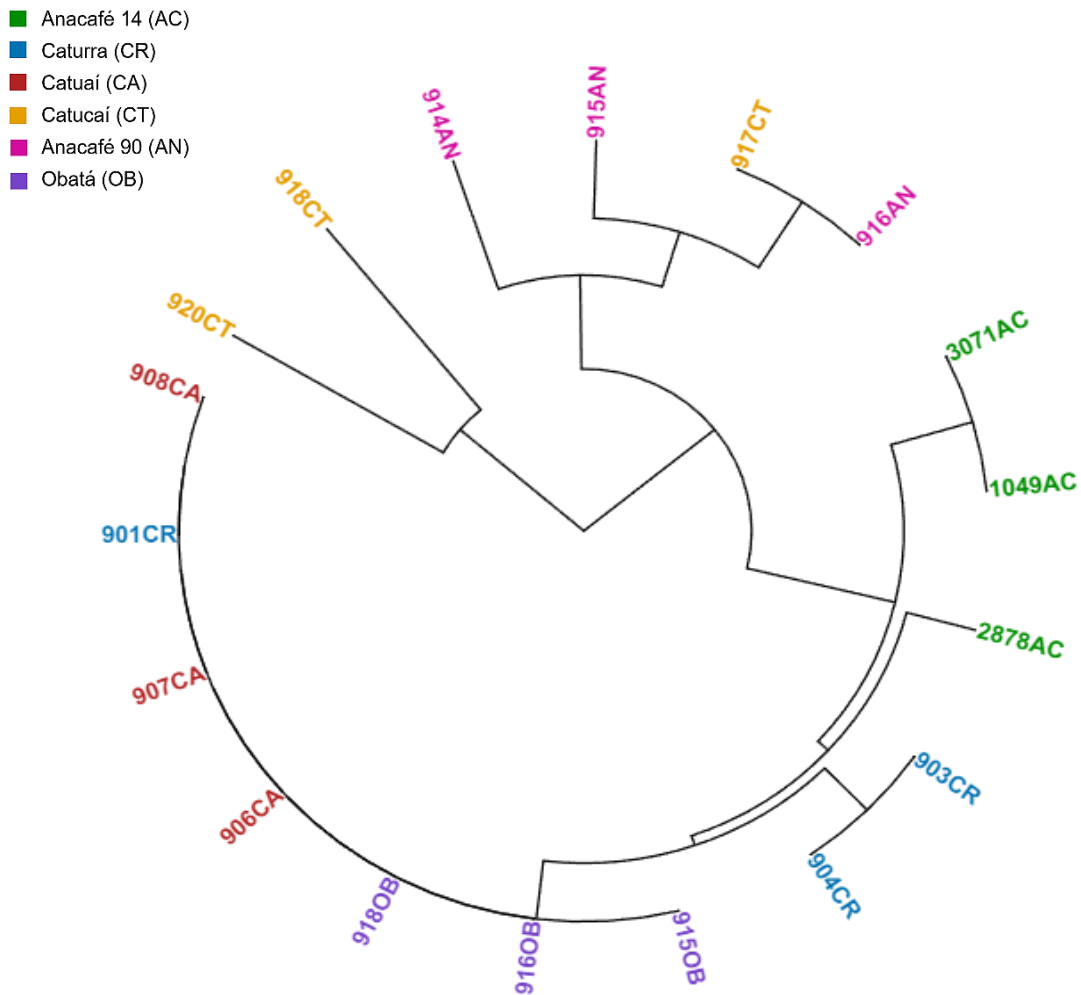
**Figura 6.** Dendograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de la combinación B (Me2 y Em4) de SRAP en 18 genotipos de café

En la *Figura 6* se puede observar que con la combinación B, aunque se encuentren diferentes niveles, las variedades Anacafé 14 y Obatá con sus tres repeticiones y Catucaí y Anacafé 90 con dos repeticiones pudieron ser clasificadas en diferentes grupos. Mientras que, Catuai y Caturra no se logran separar con totalidad hasta muchos niveles después.



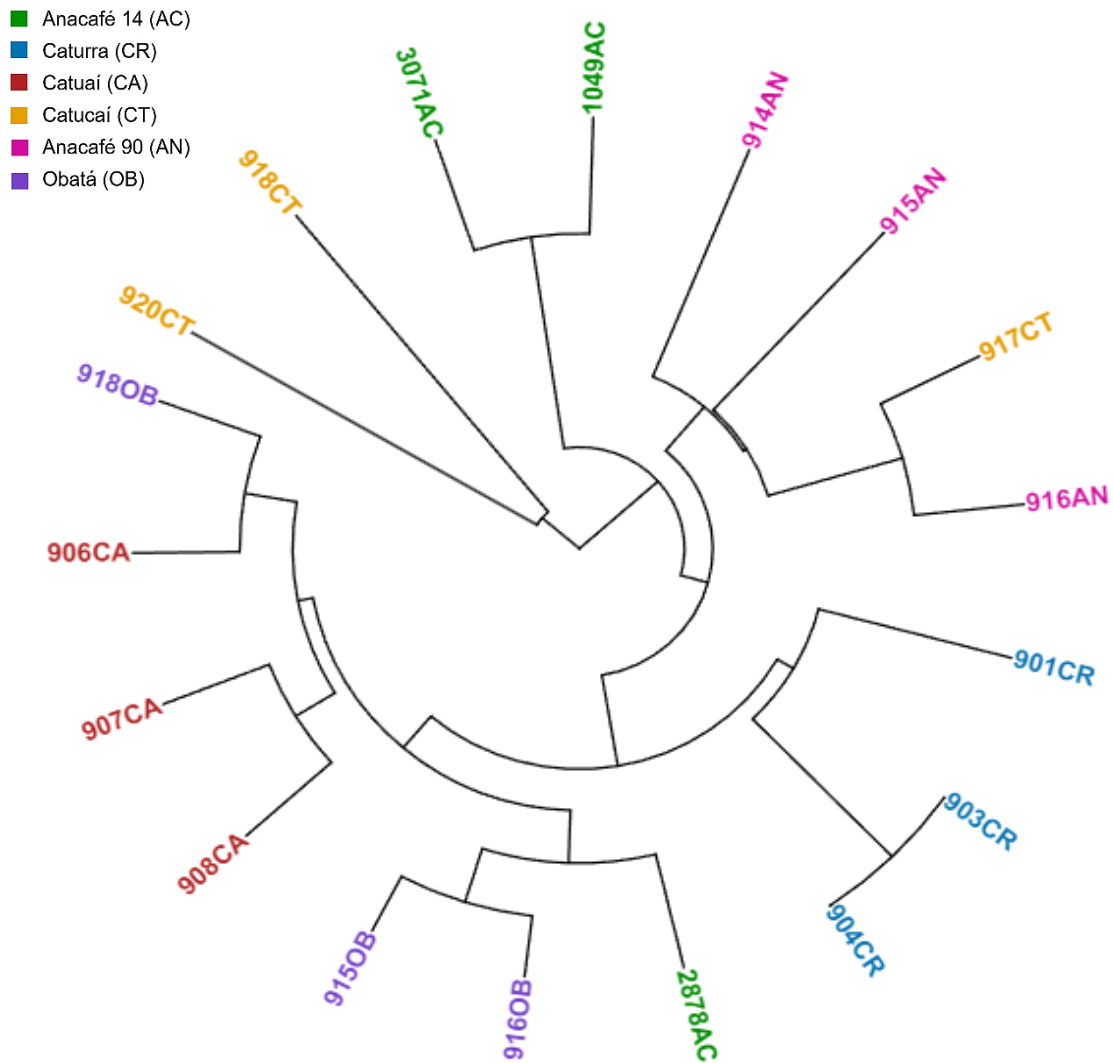
**Figura 7.** Dendrograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de la combinación D (Me3 y Em3) de SRAP en 18 genotipos de café

En la combinación D (Figura 7), la separación en grupos se logró en su totalidad para Catuai con sus tres repeticiones y parcialmente, dos repeticiones, para Anacafé 14, Caturra y Anacafé 90. Sin embargo, las variedades Catuai y Obatá se mantienen en el mismo nivel.



**Figura 8.** Dendrograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de la combinación H (Me9 y Em10) de SRAP en 18 genotipos de café

En la *Figura 8*, en la que se muestra la combinación H, dos repeticiones de las variedades Catucaí, Anacafé 90, Anacafé 14 y Caturra logran dividirse. Pero, las variedades Catuai y Obatá se mantienen en el mismo nivel; similar a lo observado en la combinación anterior (D).



**Figura 9.** Dendrograma radial producido por el coeficiente de Jaccard y el método de agrupamiento por pares no ponderados con promedio aritmético (UPGMA), basado en los datos de las combinaciones B, D y H de SRAP en 18 genotipos de café

Al analizar en conjunto las combinaciones B, D y H como se observa en la *Figura 9*, se logró la separación de al menos dos repeticiones de cada variedad para las seis variedades investigadas.

Adicionalmente, para completar el análisis de diversidad se calculó el índice de Shannon para cada una de las combinaciones de cebadores, como se muestra en el *Cuadro 6*. Este permitió evaluar la diversidad obtenida de la combinación de cebadores empleada, así como también cuando estos eran analizados de forma global.

**Cuadro 6.** *Análisis de diversidad mediante el índice de Shannon*

<b>Combinación de cebadores</b>	<b>Índice de Shannon</b>
Me2 y Em4 (B)	2.99
Me3 y Em3 (D)	1.57
Me9 y Em10 (H)	2.11
Combinación B, D y H	3.50

Se obtuvo que la mayor riqueza la presenta la combinación global de cebadores (B, D y H), seguida de la combinación B, luego la combinación H y por último la combinación D. De acuerdo con Medrano et al. (2017), el índice de Shannon varía entre 1 a 5. Siendo que, valores menores a 2 indican baja diversidad, valores entre 2 y 3.5 diversidad media, y valores mayores a 3.5 reflejan una alta diversidad. Basado en este criterio, los resultados revelan que la combinación Me3 y Em3 (D) presenta una baja diversidad; mientras que el resto de las combinaciones cuentan con una diversidad media.

## VIII. DISCUSIÓN

Se buscaba describir la diversidad genética de las variedades de *Coffea arabica* de relevancia comercial en Guatemala, seleccionadas por su alto rendimiento y su composición fisicoquímica, utilizando los marcadores moleculares SRAP dirigidos a las secuencias genómicas codificantes. Para ello, primero se realizó la descripción morfológica (ver *Cuadro 4*) de cada individuo y variedad en la que utilizando los datos de la altura, color y tamaño de hojas con el fin de evaluar preliminarmente si se podían diferenciar entre sí con estos parámetros. De esto se pudo observar que el tamaño de las hojas y la altura de las plantas de café varía dependiendo de la variedad. No obstante, según lo reportado por Velásquez (2021) en la *Guía de variedades de café*, algunas no cumplen con la altura esperada. Por ejemplo, se esperaba un porte alto para Anacafé 14, Anacafé 90 y Catucaí, con alturas de 2.20 m para las primeras dos y 2.40 m para la última.

Esta diferencia puede deberse a diferentes factores, entre ellos factores ambientales como diferencia de precipitación, humedad del suelo y disponibilidad de radiación solar; factores de manejo del cafetal, como el descope que influye en la altura; o factores del ciclo de crecimiento, siendo que la edad de la planta afecta directamente en su altura (Arcila, 2007; Palma, 2017). Este último se considera como el responsable de la baja estatura de Anacafé 14 ya que, como se evidencia en la sección de años en campo en el *Cuadro 4*, este cafeto era muy joven (2 años) por lo que no se había desarrollado completamente; factor que no es considerado en los descriptores morfológicos. De manera que, queda evidenciado que estas guías fenotípicas cuentan como limitante que se ven influenciados por el entorno y requieren de una evaluación continua durante el ciclo de crecimiento para que estos puedan ser aplicados de manera que sí puedan dar información de la planta investigada (Weldemichael, 2023).

Tomando en cuenta las limitaciones presentadas en la descripción morfológica, se realizó la caracterización molecular con SRAP para apoyar la diferenciación entre variedades a nivel genético. Las 10 combinaciones de cebadores SRAP probados mostraron diferentes patrones de bandas entre sí. Siendo la combinación G la que menor cantidad de bandas presentó (2) y B la de mayor cantidad (9), como se observa en el *Cuadro 5*. Las combinaciones A, C, E, F, G, I y J presentan el mismo patrón de bandas en todas las variedades, con excepción de Obatá; mientras que las combinaciones B, D y H presentan diferencias en los patrones de bandas en al menos una de las variedades como se ve en la *Figura 5*. De manera que, B presentaba patrones de 4, 5 y 9 bandas, D patrones de 1 y 3

bandas y H patrones de 5 y 3 bandas, siendo el patrón de 5 bandas representado de 3 diferentes formas.

Esto es debido a que los cebadores de los marcadores moleculares SRAP son de marco de lectura abierto (ORF) dirigidos a secciones codificantes de ADN; por tanto, pueden generar múltiples fragmentos de ADN resultando en polimorfismos amplificados (Robarts y Wolfe, 2014). Por tanto, los resultados indican que las combinaciones B, D y H generan fragmentos polimórficos que pueden llegar a considerarse como distintivos para algunas de las variedades estudiadas. De estas, la combinación H es la que, visualmente, permite diferenciar entre más variedades; seguido de la combinación B. Esto basado en que, como se observa en el panel H de la *Figura 5* el patrón de bandas para Anacafé 14, Catucaí y Catuaí son únicos para cada variedad; pero Anacafé 90 y Caturra comparten un mismo patrón y Obatá no presenta un patrón perceptible. Mientras que, en el panel B de la *Figura 5* se puede ver dos patrones diferentes, uno para Anacafé 14, Catucaí y Catuaí y otro para Anacafé 90 y Caturra; aunque, nuevamente en Obatá no se percibe un patrón.

La similitud en el patrón de bandas reportado entre Anacafé 90 y Caturra se debe a que la primera proviene de una línea de Caturra con Híbrido de Timor 832/1 (WCR, 2024). Mientras que, la similitud entre Anacafé 14, Catucaí y Catuaí está relacionada a que tienen como ancestro en común a Caturra; aunque se esperaría una relación mayor entre Catucaí y Catuaí ya que la primera proviene de la segunda cruzada con Icatú (Velásquez, 2019). A pesar de estas relaciones genéticas, se puede apreciar que algunas combinaciones de los marcadores SRAP sí logran diferenciar a nivel de geles de agarosas entre variedades; aunque no logra su separación cuando estas están estrechamente relacionadas.

Con el fin de confirmar lo observado en los geles de agarosa 2 %, se seleccionaron las combinaciones B, D y H debido a su capacidad para amplificar genes polimórficos y se realizó una secuenciación de análisis de fragmentos para generar matrices de presencia/ausencia de alelos. De esto se encontró que la combinación B mostró 24 alelos (ver *cuadro 10* en anexos), la D 5 alelos (ver *cuadro 8* en anexos) y la H 9 alelos (ver *cuadro 9* en anexos). Estos valores difieren con los reportados en el *cuadro 5*. para los geles de agarosa, siendo así que en este análisis se observaron más.

Esto está relacionado con que en la matriz de agarosa al 2 % se pueden separar tamaños de fragmentos de ADN en un rango de 0.05 a 2 kb; mientras que mediante el análisis de fragmentos usando el SeqStudio Analyzer se puede detectar hasta el cambio de un par de bases (Kalof *et al.*, 2015; Thermo Fisher, 2022). Por ejemplo, este segundo pudo detectar para B en la región entre 200-300 pares de bases 9 fragmentos que, en el gel de agarosa no son perceptibles. Esto último también es relevante ya que al tratarse de una especie

alopoliploide, resultante de la hibridación de especies diploides estrechamente relacionadas, se puede encontrar un máximo de cuatro alelos en un locus (De Silva et al., 2005; Scalabrin et al., 2020); por tanto, identificar polimorfismos en estos es clave para analizar la diversidad genética.

Cabe mencionar que, en el gel de agarosa los fragmentos detectados llegan a ser de mínimo 100 bp y máximo 1500 bp (ver *Figura 5*) con una estimación relativamente exacta para este rango de pares de bases. Sin embargo, al haberse utilizado LIZ 600 como el estándar de tamaño, esta solo puede detectar con exactitud 36 fragmentos entre 20 a 600 bp; por tanto, aquellos fragmentos reportados por encima de este rango para los marcadores B y H (ver *Cuadros 9 y 10* en Anexos) son tamaños de fragmentos extrapolados en el software (Thermo Fisher, 2024a). Por tanto, estos son menos precisos y, por consiguiente, podría explicar la diferencia en los tamaños esperados en el gel de agarosa y los obtenidos para la secuenciación de fragmentos. Para obtener los tamaños reales de todos los fragmentos y por realizar una comparación más exacta entre lo obtenido en los geles de agarosa y la secuenciación por análisis de fragmentos se recomienda utilizar LIZ 1200, ya que esta puede indicar el tamaño de 68 fragmentos de ADN en el intervalo de 20 a 1200 nucleótidos (Thermo Fisher, 2024b).

Dentro de este marco, particularmente para la variedad Obatá se encontraron resultados diferenciales entre la electroforesis en gel y el análisis de fragmentos. Siendo así que, en la matriz de agarosa se evidenciaron bandas tenues o incluso imperceptibles (*Figura 5*), mientras que en el análisis de fragmentos los alelos pudieron ser identificados bajo los criterios establecidos de 100RFU y definición (*Cuadros 8, 9 y 10*). Esta discrepancia puede ser por la baja abundancia de las secuencias diana como resultado de la recombinación de ADN, mutación o segregación aleatoria de los cromosomas durante la meiosis durante el proceso de hibridación que creó la variedad o bien, por compuestos de metabolitos secundarios presentes en las hojas de café que afectaron la calidad del ADN (Kumar et al., 2011 y Ramlan et al., 2024). Los cuales afectan directamente la visualización de los productos del PCR en los geles de electroforesis.

Sin embargo, la detección de los alelos, indistintamente de su cantidad o calidad, fue posible debido a la sensibilidad diferencial de los umbrales de detección de ambas técnicas. Esto debido a que se ha encontrado que el análisis de fragmentos tiene aproximadamente el doble de sensibilidad que el análisis del PCR mediante electroforesis en gel (Sakaguchi et al., 2020). Esta sensibilidad explica por qué las muestras de Obatá pudieron ser caracterizadas exitosamente a través del análisis de fragmentos, aunque no pudieran visualizarse en la electroforesis. De igual forma, se recomienda que, para mejorar la calidad y consistencia general del análisis se puede mejorar la extracción del ADN realizando 3 veces la etapa de precipitación y separación con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) con la finalidad de eliminar la presencia de metabolitos secundarios, proteínas y polisacáridos que afectan la pureza del ADN (Ramlan et al., 2024).

Continuando con los análisis, con las matrices obtenidas por el análisis de fragmentos se realizaron cuatro dendogramas para analizar si estos marcadores pueden diferenciar entre los diversos grupos genéticos de las variedades de café. Para ello se utilizó el análisis de distancias de Jaccard y el método UPGMA, el cual ha sido reportado anteriormente por Robarts y Wolfe (2014) y Alghamdi et al. (2012) para evaluar la diversidad molecular empleando los marcadores SRAP. La elección de este enfoque se basa en la generación de distancias calculadas como el promedio aritmético de las medidas de disimilitud entre pares de objetos pertenecientes a diferentes grupos. Además, se caracteriza por introducir una distorsión mínima en la distancia entre agrupamientos en comparación con la matriz original (Delfino et al., 2011; Cruz et al., 2014).

En la *Figura 6* se puede observar que, aunque se encuentren diferentes niveles, las variedades Anacafé 14 y Obatá con sus tres repeticiones y Catucaí y Anacafé 90 con dos repeticiones pudieron ser clasificadas en diferentes grupos. Mientras que, Catucaí y Caturra parecen estar más relacionadas, por lo que su diferenciación en grupos no se logró con totalidad; aunque Catucaí logro separar casi al final sus tres repeticiones del resto de Caturra. La dificultad en esta última división puede deberse a que Catucaí proviene de la mezcla de Caturra con Mundo Novo; por consiguiente, es de esperarse que ambas, al pertenecer a un mismo grupo genético de Borbón y Típica (WCR, 2024) presenten una relación más cercana y que esta sea percibida en el dendograma.

Por otro lado, en la *Figura 7* la separación en grupos se logró en su totalidad para Catucaí con sus tres repeticiones y parcialmente para Anacafé 14 (3071, 2878), Caturra (903, 904) y Anacafé 90 (915, 916) con sus dos repeticiones; cabe mencionar que para esta última incluso se separaron en dos grupos sus repeticiones, aunque provienen de un mismo grupo un nivel arriba. Sin embargo, para las variedades de Catucaí y Obatá no se logró una diferenciación en ningún nivel. De manera similar, en el dendograma de la combinación H (ver *Figura 8*) se puede observar que las variedades Catucaí, Anacafé 90, Anacafé 14 y Caturra logran dividirse eventualmente en grupos en los que se incluye al menos sus dos repeticiones, pero nuevamente las variedades Catucaí y Obatá no se muestran en diferentes niveles. Indicando así que estos marcadores no son útiles para identificar las variedades de Catucaí y Obatá, aunque sí pueden ayudar a diferenciar el resto de las variedades, especialmente Catucaí.

Se esperaba que las variedades de Catucaí y Obatá no se presentaran con tanta similitud ya que, aunque ambas provienen del Instituto Agronómico (IAC), Brasil, Catucaí pertenece a un grupo genético de Borbón y Típica relacionado de la familia de Mundo Novo x Caturra; mientras que Obatá es una introgresión de la familia de Timor Híbrido 832/2 x Villa Sarchí CIFC 971/10 (WCR, 2024). Por consiguiente, a nivel genético no comparten una variedad ancestral en común; sin embargo, como se observa en los *Cuadros 8 y 9* comparten la presencia de ciertos alelos como: 70, 193, 196, 343 en D y 89, 192 y 671 en H. Esto a nivel de dendograma con el análisis de distancias de Jaccard y el método UPGMA

se traduce en una relación más cercana (Jakó et al., 2009). Colocándolos así más próximos y, en este caso, complicando su separación en diferentes grupos.

Dado a estos resultados, se buscó determinar si el análisis de estos tres pares de cebadores como un panel, unificando las matrices binarias en una sola, podría diferenciar de mejor manera entre estos grupos de variedades. Como se observa en la *Figura 9* con este enfoque se logró la separación, en algún nivel, de al menos dos repeticiones de cada variedad para las seis variedades investigadas. Siendo las mejor diferenciadas Anacafé 90 (914, 915 y 916) y Caturra (901, 903 y 904), seguidas de Catucaí (920 y 918), Anacafé 14 (3071, 1049), Obatá (915, 916) y Catucaí (907 y 908). Si bien, la separación no se logró en su totalidad y tomó varios niveles, la combinación de estos cebadores logró una mejor diferenciación de los grupos de las variedades a como lo hacen los marcadores por separado.

Esto también puede verse reflejado en el *Cuadro 6* ya que la combinación de todos los cebadores presenta el índice de Shannon más alto (3.5), indicando así que no solo hay una alta diversidad de especies, sino que estas están distribuidas de una manera uniforme (Lee et al., 2023). De igual forma se debe mencionar que, el conjunto de cebadores Me2 y Em4 (combinación B) presentó el segundo valor más alto (2.11), posicionándolo como el candidato más prometedor, entre las tres combinaciones analizadas, para diferenciar casi todas las variedades. Tomando en cuenta estos resultados y los dendogramas, se sugiere analizar cada combinación de cebadores de manera independiente y luego integrarlas en la matriz de distancias. Esto permitirá crear un panel de cebadores que potencie la capacidad de estos marcadores para evaluar la diversidad molecular.

En conjunto, estos resultados demuestran que los marcadores SRAP son capaces de diferenciar en sus grupos genéticos a las seis variedades con importancia económica en Guatemala. Siendo, según la técnica de análisis de fragmentos, la combinación de los marcadores Me2- Em4 (B), Me3- Em3 (D) y Me9- Em10 (H) aquella que logró la mayor separación de estos. Aunque, si se desea una caracterización rápida a nivel de geles de agarosa 2 %, la combinación H es la que visualmente permite diferenciar entre más variedades. Por tanto, dependiendo del enfoque que se utilice se puede elegir entre la utilización de una combinación de cebadores o el uso de varios.

## IX. CONCLUSIONES

- Los marcadores moleculares SRAP demostraron ser efectivos para diferenciar las seis variedades comerciales de *Coffea arabica* en grupos genéticos.
- Se determinó que la combinación H (Me9-Em10) permite la diferenciación de al menos 3 variedades mediante electroforesis en gel, lo cual facilita la identificación rápida de estas.
- Se identificó que la combinación de los cebadores Me2-Em4 (B), Me3-Em3 (D) y Me9-Em10 (H) logró la mayor separación entre las variedades. Lo que sugiere que la elección de los cebadores es crucial para el análisis de la diversidad genética.
- La combinación de todos los cebadores muestra un alto índice de Shannon (3.5), indicando una significativa diversidad genética y distribución uniforme de las variedades.
- El análisis independiente de cada combinación de cebadores, seguido de su integración en una matriz de distancias, es crucial para crear un panel de cebadores que potencie la capacidad de estos marcadores para evaluar la diversidad molecular de *Coffea arabica*.

## X. RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, como siguientes pasos se recomienda probar el resto de las combinaciones (~ 62) entre los marcadores SRAP para evaluar si existe alguno que pueda diferenciar entre las variedades mejor que H a nivel de geles de agarosa, o que la combinación de B, D y H en el análisis de fragmentos. Asimismo, se sugiere analizar los demás marcadores a nivel de análisis de fragmentos, usando un estándar de tamaño más grande, como LIZ1200, para evaluar la presencia de alelos que no puedan ser visualizados simplemente con los geles de agarosa. O bien, emplear geles de acrilamida, los cuales pueden separar las moléculas de ADN con diferencias de 1 pb (0.1 %), similar al límite de detección mediante análisis de fragmentos (Green y Sambrook, 2020). Así como también considerar no solo el uso de un par de cebadores, sino diferentes combinaciones de los marcadores SRAP, con el fin de generar un panel que permita una identificación y diferenciación más exacta de las variedades. Por último, se establece que para futuras investigaciones sería ideal realizar el análisis con un tamaño de muestra más grande, de al menos 15 cafetales por variedad. Además, considerar recolectar una misma variedad en diferentes fincas, con el fin de comparar los resultados obtenidos y establecer un banco oficial que identifique las variedades más "puras".

## XI. REFERENCIAS

- Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional [USAID] (2023). *Guía varietal de café de Oaxaca*. [https://pdf.usaid.gov/pdf\\_docs/PA00ZXZ4.pdf](https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PA00ZXZ4.pdf)
- Alghamdi, S. S., Al-Faifi, S. A., Migdadi, H. M., Muhammad Altaf Khan, EL-Harty, E. H., y Ammar, M. H. (2012). Molecular Diversity Assessment Using Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) Markers in *Vicia faba* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 16457–16471. <https://doi.org/10.3390/ijms131216457>
- Alonso-Salces, R. M., Serra, F., Reniero, F., y HÉberger, Ká. (2009). Botanical and Geographical Characterization of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): Chemometric Evaluation of Phenolic and Methylxanthine Contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(10), 4224–4235. <https://doi.org/10.1021/jf8037117>
- Arcila, J. (2007). Crecimiento y desarrollo de la planta de café. En J. Arcila Pulgarín, F. Farfán Vásquez, A. M. Moreno Beltrán, L. F. Salazar Giraldo, y E. Hincapié Giraldo (Eds.), *Sistemas de producción de café en Colombia* (pp. xx-xx). Cenicafé. [https://www.cenicafe.org/es/publications/sistemas\\_de\\_produccion.pdf](https://www.cenicafe.org/es/publications/sistemas_de_produccion.pdf)
- Asociación Nacional del Café [Anacafé]. *Café de Guatemala en cifras. Datos actividad cafetalera Nacional*. [https://www.anacafe.org/uploads/file/471e555079484370b7e618d52ac73828/Infografia-Cafe-en-cifras\\_2022-2023.pdf](https://www.anacafe.org/uploads/file/471e555079484370b7e618d52ac73828/Infografia-Cafe-en-cifras_2022-2023.pdf)
- Bekele, A., Endashaw, B. (2014). Full Length Review Article Overview: Morphological and Molecular Markers role in Crop Improvement Programs. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 3 (3), 35-42. [https://www.researchgate.net/publication/342476132\\_Full\\_Length\\_Review\\_Article\\_Overview\\_Morphological\\_and\\_Molecular\\_Markers\\_role\\_in\\_Crop\\_Improvement\\_Programs#:~:text=Morphological%20markers%20allow%20assessment%20of,occurring%20polymorphisms%20in%20DNA%20sequences](https://www.researchgate.net/publication/342476132_Full_Length_Review_Article_Overview_Morphological_and_Molecular_Markers_role_in_Crop_Improvement_Programs#:~:text=Morphological%20markers%20allow%20assessment%20of,occurring%20polymorphisms%20in%20DNA%20sequences)
- Bermudez, S., Voora, V., y Larrea, C. (2022). Coffee prices and sustainability SUSTAINABLE COMMODITIES MARKETPLACE SERIES. <https://www.iisd.org/system/files/2022-09/2022-global-market-report-coffee.pdf>
- Choudhury, A., Deb, S., Kharbyngar, B. y Rani, V. (2022). Dissecting the plant genome: through new generation molecular markers. *Genet Resour Crop Evol*, 69, 2661–2698. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01441-3>

- Cruz, C. D., Salgado, C. C., y Bhering, L. L. (2014). Biometrics Applied to Molecular Analysis in Genetic Diversity. *Elsevier EBooks*, 47–81. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-418672-9.00003-9>
- Davis, A. P., Govaerts, R., Bridson, D. M., y Piet Stoffelen. (2006). An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152(4), 465–512. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00584.x>
- De Castro, R. D., y Marraccini, P. (2006). Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 175–199. <https://doi.org/10.1590/s1677-04202006000100013>
- De León, P. y Rodríguez, R. (2021). *La importancia del café en la economía de Guatemala: Productividad, Sostenibilidad, Migración y Huella*. Central American Business Intelligence (CABI). <https://www.anacafe.org/uploads/file/755c7c3b498c4b3e8a4acfc94b2dd3ad/Estudio-Cabi-2022.pdf>
- De Silva, H. N., Hall, A. J., Rikkerink, E., McNeilage, M. A., y Fraser, L. G. (2005). Estimation of allele frequencies in polyploids under certain patterns of inheritance. *Heredity*, 95(4), 327–334. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800728>
- Delfino, L., Piñeiro, V., Mai, P., Mourelle, D., Garay, A., y Guido, A. (2011). Florística y fitosociología de bosques psamófilos en tres sectores de la costa de Uruguay, según el gradiente de influencia fluvio-marino. *Iheringia Série Botânica*, 66(2), 175–188. [https://www.researchgate.net/publication/269391436\\_Floristica\\_y\\_fitosociologia\\_de\\_bosques\\_psamofilos\\_en\\_tres\\_sectores\\_de\\_la\\_costa\\_de\\_Uruguay\\_segun\\_el\\_gradiente\\_de\\_influencia\\_fluvio-marino](https://www.researchgate.net/publication/269391436_Floristica_y_fitosociologia_de_bosques_psamofilos_en_tres_sectores_de_la_costa_de_Uruguay_segun_el_gradiente_de_influencia_fluvio-marino)
- Departamento de Análisis Macroeconómico y Pronósticos (2023). *Informe de política monetaria*. [https://www.banguat.gob.gt/sites/default/files/banguat/Publica/comunica/informe\\_pol\\_mon\\_sep2023.pdf](https://www.banguat.gob.gt/sites/default/files/banguat/Publica/comunica/informe_pol_mon_sep2023.pdf)
- Doyle y Doyle (1990), Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Rev. FOCUS*, 12(1), 13-15.
- Etienne, H., Anthony, F., Dussert, S., Fernandez, D., Lashermes, P., y Bertrand, B. (2002). Biotechnological applications for the improvement of coffee (*Coffea arabica* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 38(2), 129–138. doi:10.1079/ivp2001273
- Farah, A. y Ferreira dos Santos, T. (2015). La Planta del Café y el Frijol. *El café en la salud y la prevención de enfermedades*, 5–10. doi:10.1016/b978-0-12-409517-5.00001-2
- Ferreira, T., Shuler, J., Rubens Guimarães, y Farah, A. (2019). CHAPTER 1. Introduction to Coffee Plant and Genetics. *Royal Society of Chemistry EBooks*, 1–25. <https://doi.org/10.1039/9781782622437-00001>
- Figueroa-Hernández, E., Pérez-Soto, F., Godínez-Montoya, L., y Perez-Figueroa, R. A. (2019). Los precios de café en la producción y las exportaciones a nivel mundial. *Revista Mexicana de Economía Y Finanzas*, 14(1), 41–56. <https://doi.org/10.21919/remef.v14i1.358>

- Franca, A. S., y Oliveira, L. S. (2019). Coffee. *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*, 413–438. doi:10.1016/b978-0-12-814138-0.00017-4
- Guilherme, Cleide Nascimento Campos, Marcus Vinicius Salomon, Angélica Prela Pantano, y Andrea, J. (2021). Coffea arabica L: History, phenology and climatic aptitude of the state of São Paulo, Brazil. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 88. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000602020>
- International Coffee Organization [ICO] (2023). *Coffee Report and Outlook*. [https://icocoffee.org/documents/cy2022-23/Coffee\\_Report\\_and\\_Outlook\\_April\\_2023\\_-\\_ICO.pdf](https://icocoffee.org/documents/cy2022-23/Coffee_Report_and_Outlook_April_2023_-_ICO.pdf)
- Jakó, E., Ari, E., Péter Ittész, Horváth, A., y János Podani. (2009). BOOL-AN: A method for comparative sequence analysis and phylogenetic reconstruction. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(3), 887–897. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.04.019>
- Juárez, F. (2018). *El café guatemalteco: Un enfoque en el mercado mundial y su productividad*. <https://camcig.org/userfiles/2019/01/2018.-DICE-El-caf%C3%A9-guatemalteco-un-enfonque-en-el-mercado-mundial-y-su-productividad-1.pdf>
- Kalof, A. N., Evans, M. F., Kossivi Dantey, y Cooper, K. (2015). Special Diagnostic Techniques in Surgical Pathology. *Elsevier EBooks*, 1–40. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4557-7013-7.00001-2>
- Keles, H., Pinar, H., Unlu, M., Ilhan, G., Bozhuyuk, M. R., y Ercisli, S. (2022). MOLECULAR CHARACTERIZATION OF WILD CAROB (*Ceratonia Siliqua* L.) GENOTYPES BY SEQUENCE-RELATED AMPLIFIED POLYMORPHISM (SRAP) TECHNIQUES IN TURKEY. *Genetika*, 54(2), 613–624. <https://doi.org/10.2298/GENSR2202613K>
- Khaled, A. G. A., Elameen, T. M., Ahmed, A. Y. M., Mohiy, M., y Elshazly, I. F. O. (2021). SRAP Molecular Markers Linked to Three Morphological Traits in Egyptian Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *SVU-International Journal of Agricultural Sciences*, 3(3), 133–145. <https://doi.org/10.21608/svuijas.2021.78975.1113>
- Kumar, A., Dr. Swapnil, Singh, R. S., y Singh, D. N. (2020). *Prospect of molecular markers in precision plant breeding*. Recent advances in Chemical Sciences and Biotechnology, New Delhi Publishers. [https://www.researchgate.net/publication/342420171\\_Prospect\\_of\\_molecular\\_markers\\_in\\_precision\\_plant\\_breeding#fullTextFileContent](https://www.researchgate.net/publication/342420171_Prospect_of_molecular_markers_in_precision_plant_breeding#fullTextFileContent)
- Kumar, M., Suresh, N., Bhat, A. M., Suryaprakash, N., Kumar, S., Kumar, A., y Jayarama. (2011). Genetic molecular analysis of *Coffea arabica* (Rubiaceae) hybrids using SRAP markers. *Revista de Biología Tropical*, 59(2), 607–617. [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442011000200007](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442011000200007)
- Kumar, R. y Singh, B. (2023). Genetic Diversity, Conservation, and Utilization of Plant Genetic Resources. *Genes*, 14(1), 174–174. <https://doi.org/10.3390/genes14010174>

- Lee, H. B., Jeong, D. H., Cho, B. C., y Park, J. S. (2023). Comparative analyses of eight primer sets commonly used to target the bacterial 16S rRNA gene for marine metabarcoding-based studies. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1199116>
- Li, G. and Quiros, C.F. (2001) Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP), a New Marker System Based on a Simple PCR Reaction: Its Application to Mapping and Gene Tagging in Brassica. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 455-461. <http://dx.doi.org/10.1007/s001220100570>
- Li, X. Y., Li, J., Zhao, Z. J., Yang, F., Fu, Q. W., Liu, H. S., Wang, D. D., Yang, Y. C., and Wang, R. Y. (2014). Sequence-related amplified polymorphism (srp) for studying genetic diversity and population structure of plants and other living organisms: A protocol. In *J. Anim. Plant Sci*, 24(5). <https://thejaps.org.pk/docs/v-24-5/27.pdf>
- López, P. (2021). *Análisis de la calidad organoléptica de café (Coffea arábica L.) orgánico producido por miembros de la asociación unidos para vivir mejor – ASUVIM–, diagnóstico y servicios realizados en Santa Clara La Laguna, Sololá, Guatemala, C.A* [trabajo de graduación, Universidad San Carlos de Guatemala]. <http://fausac.usac.edu.gt/tesario/tesis/T-03738.pdf>
- López, R. (2006). *Caracterización de tres variedades de café (Coffea arabica) en tres zonas ecológicas del país* [Tesis de grado, Universidad San Carlos de Guatemala]. [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01\\_2266.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2266.pdf)
- Luna, N. (2021). *Caracterización, crecimiento, rendimiento y rentabilidad económica en sistema de café robusta (Coffea canephora P.), finca El Encanto, Nueva Guinea, RACCS 2017-2021* [tesis de grado, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/4394/1/tnf621961.pdf>
- Marroquín, L. (2014). *Evaluación del perfil de taza y de las características químicas de cultivares de café derivados de la variedad Catimor resistentes a la roya del cafeto (Hemileia vastatrix), comparados con las variedades utilizadas comúnmente, en Las Verapaces*. Tesis de grado, Universidad del Valle de Guatemala]. <https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/bitstream/handle/123456789/356/TESIS%20LES LIE%20MARROQUÍN.pdf?sequence=1>
- Marwal, A., Kumar, A., y Gaur, R. K. (2014). Molecular Markers. Elsevier *EBooks*, 289–305. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-416002-6.00016-x>
- Medeiros, A. C., Caixeta, E. T., Oliveira, A. C. B. de, Sousa, T. V., Stock, V. de M., Cruz, C. D., Zambolim, L., y Pereira, A. A. (2021). Combining Ability and Molecular Marker Approach Identified Genetic Resources to Improve Agronomic Performance in Coffea arabica Breeding. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.705278>
- Medrano, M., Hernández, F. J., Rivas, S. C., y Abel, J. (2017). Diversidad arbórea a diferentes niveles de altitud en la región de El Salto, Durango. *Revista Mexicana de*

- Ciencias Forestales*, 8(40), 57–68.  
<https://www.redalyc.org/journal/634/63454557005/html/#B6>
- Mengistu, M. W., Workie, M. A., y Mohammed, A. S. (2020). Biochemical compounds of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) varieties grown in northwestern highlands of Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1741319.  
<https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1741319>
- Miranda, E. (2017). *AGROMORFOLÓGICOS, RESISTENCIA A PLAGAS, ENFERMEDADES Y CALIDAD DE TAZA* [Informe final, Instituto de Investigación Agronómicas]. <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puicb/INF-2017-15.pdf>
- Nolan, K., y Callahan, J. (2006). Beachcomber biology: The Shannon-Weiner Species Diversity Index. *Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*, 27, 334-338.  
[https://www.ableweb.org/biologylabs/wp-content/uploads/volumes/vol-27/22\\_Nolan.pdf](https://www.ableweb.org/biologylabs/wp-content/uploads/volumes/vol-27/22_Nolan.pdf)
- Ngugi, K., Jerono, J. y Ogutu, C. (2021). *Organoleptic, Sensory and Biochemical Traits of Arabica Coffee and Their Arabusta Hybrids*. IntechOpen eBooks.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.95520>
- Oksanen, J., Blanchet, F., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., Minchin, P., O'hara, R., Simpson, G., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E., y Maintainer, H. (2024). *Package “vegan”*. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>
- Orozco, E. y Hernández, C. (2017). *Selección de cultivares de café (Coffea Arabica L.) adaptados a las regiones cafetaleras de Guatemala basados en caracteres agromorfológicos, resistencia a plagas, enfermedades y calidad de taza* [Informe final, Universidad San Carlos de Guatemala].  
<https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puicb/INF-2017-15.pdf>
- Pacotaype, Y. (2017). *Caracterización agromorfológica y evaluación molecular de café (Coffea arabica L.), anexo Villa Libertad (1440 msnm) -Ayna - La Mar-Ayacucho* [tesis de grado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].  
[https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/3084/1/TESIS%20AG1205\\_Pac.pdf](https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/3084/1/TESIS%20AG1205_Pac.pdf)
- Palma, M. (2017). *Poda de Cafe*. Ihcafe. <https://www.ihcafe.hn/mdocs-posts/poda-de-cafe/>
- Peralta, L., Sánchez, L. y Vilimelis, S. (2023). *Innovación para la comercialización del café en El Salvador y Guatemala*. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). <https://repositorio.cepal.org/server/api/core/bitstreams/4606c00e-a5bf-4ae2-ae34-09fc72368599/content>
- Pokharel, S., Basnet, S., Basnet, A., Mainali, A., Rijal, S., Shrestha, A., ... y Pandey, G. R. (2023). MOLECULAR IDENTIFICATION OF *Coffea arabica* VARIETIES IN NEPAL: INSIGHTS FROM PHYLOGENETIC ANALYSIS. *AGRO-BIODIVERSITY FOR LIFE AND ENVIRONMENT*, 167. <https://moald.gov.np/wp->

- content/uploads/2023/08/The-Journal-of-Agriculture-and-EnvironmentVol-24-June-2023.pdf#page=176
- Quintero Rizzuto, ML y Rosales, M. (2014). El mercado mundial del café: tendencias recientes, estructura y estrategias de competitividad. *Visión Gerencial*,(2), 291-307. <https://www.redalyc.org/pdf/4655/465545897005.pdf>
- Ramlan, R. R., Harnelly, y Fitri, L. (2024). DNA Extraction and PCR Optimization of Coffea arabica L. and Coffea canephora Pierre ex A. Froehner. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 10, 53–58. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v10ispecialissue.7881>
- Robarts, D. y Wolfe, A. D. (2014). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers: A potential resource for studies in plant molecular biology. *Applications in Plant Sciences*, 2(7). <https://doi.org/10.3732/apps.1400017>
- Sakaguchi, M., Nakajima, N., Yamaguchi, H., Yuho Najima, Katsuhiko Shono, Atsushi Marumo, Omori, I., Fujiwara, Y., Terada, K., Yui, S., Wakita, S., Miho Mitaya, Arai, K., Kitano, T., Doki, N., Ohashi, K., y Koiti Inokuchi. (2020). The sensitivity of the FLT3-ITD detection method is an important consideration when diagnosing acute myeloid leukemia. *Leukemia Research Reports*, 13, 100198–100198. <https://doi.org/10.1016/j.lrr.2020.100198>
- Scalabrin, S., Toniutti, L., Gaspero, G. D., Scaglione, D., Magris, G., Vidotto, M., Pinosio, S., Federica Cattonaro, Magni, F., Jurman, I., Cerutti, M., Furio Suggi Liverani, Navarini, L., Terra, L. D., Pellegrino, G., Ruosi, M. R., Vitulo, N., Valle, G., Pallavicini, A., y Graziosi, G. (2020). A single polyploidization event at the origin of the tetraploid genome of Coffea arabica is responsible for the extremely low genetic variation in wild and cultivated germplasm. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61216-7>
- Simon-Gruita, A., Pojoga, M. D., Constantin, N., y Duta-Cornescu, G. (2019). Genetic Engineering in Coffee. *Caffeinated and Cocoa Based Beverages*, 447–488. doi:10.1016/b978-0-12-815864-7.00014-3
- Suazo, T. (2020). *Caracterización morfológica y molecular de café (Coffea arabica L.) variedad Catrenic proveniente de las fincas CENECOOP Fedecaruna y El Rosal de Nicaragua, Laboratorio de Biotecnología, UNAN-Managua, 2018-2020* [tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua]. <https://repositorio.unan.edu.ni/14575/1/14575.pdf>
- Thermo Fisher (2022). [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018646\\_SeqStudioInstSW\\_UG.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018646_SeqStudioInstSW_UG.pdf)
- Thermo Fisher (2024a). <https://www.fishersci.es/shop/products/genescan-600-liz-dye-size-standard-v2-0/15849846>
- Thermo Fisher (2024b). <https://www.fishersci.es/shop/products/genescan-1200-liz-dye-size-standard/15959202>

- Van der Vossen, H., Bertrand, B., y Charrier, A. (2015). Next generation variety development for sustainable production of arabica coffee (*Coffea arabica* L.): a review. *Euphytica*, 204(2), 243–256. doi:10.1007/s10681-015-1398-z
- Velásquez, R. (2021). *Guía de variedades de café y selección de semilla*. Asociación Nacional del Café -Anacafé.  
<https://www.anacafe.org/uploads/file/4f91ff8c819a44548ce5f54900fb4e88/Guia-variedades-y-seleccion-semilla.pdf>
- Weldemichael, G. (2023). Review on Coffee (*Coffea arabica* L.) Genetic Diversity Studies Using Molecular Markers. *Journal of Plant Sciences*, 11 (5), 164-170. doi: 10.11648/j.jps.20231105.14
- World Coffee Research [WCR] (2024). *Arabica*.  
<https://varieties.worldcoffeeresearch.org/arabica/varieties>
- World Coffee Research. (2024). *Arabica*.  
<https://varieties.worldcoffeeresearch.org/arabica/varieties>
- Yirga, M. (2021). Phenotypic Characterization of Coffee (*Coffea Arabica* L.) Germplasm, in Ethiopia. *American Journal of BioScience*, 9(2). 34-41. doi: 10.11648/j.ajbio.20210902.11
- Yunita, R., Oktavioni, M., Chaniago, I., Syukriani, L., Setiawan, M. y Jamsari, J. (2020). Analysis of genetic diversity of Arabica coffee [*Coffea arabica* L.] in Solok Regency by SRAP molecular markers. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 497.  
<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/497/1/012018/pdf>
- Zhang, C., Zhu, L., Wang, M., Tang, Y., Zhou, H., Sun, Q., Yu, Q., y Zhang, J. (2022). Evaluation of SRAP markers efficiency in genetic diversity of *Aspergillus flavus* from peanut-cropped soils in China. *Oil Crop Science*, 7(3), 135–141.  
<https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2022.08.005>
- Zhang, D., Vega, F. E., Solano, W., Su, F., Infante, F., y Meinhardt, L. W. (2021). Selecting a core set of nuclear SNP markers for molecular characterization of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) genetic resources. *Conservation Genetics Resources*, 13(3), 329–335. <https://doi.org/10.1007/s12686-021-01201-y>

## XII. ANEXOS

**Cuadro 7.** Clasificación de las hojas según su largo y ancho para la caracterización morfológica de las variedades de *Coffea arábica*

Variedad	ID	Largo (cm)	Ancho (cm)	Prom. largo (cm)	Prom. ancho (cm)	Clasificación
Anacafé 14	2878AC	16.5	7.3	17	8	Grande
		18	8.7			
		17.5	8.7			
	3071AC	18	10	18	9	Grande
		17	9			
		18	8			
1049AC	18	8.4	18	8	Grande	
	17	7.5				
	18	8.5				
Obatá	915OB	17	9	17	9	Grande
		16.5	7.5			
		17.3	9			
	916OB	17.5	8.3	18	9	Grande
		20	9.5			
		17	8			
918OB	18.5	9	19	9	Grande	
	19	9				
	18	8.7				
Caturra	901CR	17	7.5	16	7	Mediana
		14	6.5			
		17	7.9			
	903CR	16.5	7	16	7	Mediana
		15	6.7			
		16	6.5			
904CR	16.5	8.2	16	8	Mediana	
	15.3	8				
	16.5	8				
Catuaí	906CA	13.5	6.3	13	6	Pequeña
		11.5	5.5			
		13	5.5			
	907CA	16	7	17	7	Mediana
		17.5	7.1			
		16	6.8			
908CA	16	5.9	17	6	Mediana	
	17	6				
	16.5	6.3				
Catucaí	917CT	13	7	14	7	Pequeña
		14.7	6.8			
		14.5	6.3			
	918CT	14.3	6.3	16	7	Mediana
		17	7.2			
		18	8			
920CT	16	7	16	7	Mediana	
	15	6.7				
	15.5	7				
Anacafé 90	914AN	14	6	14	7	Pequeña
		14	6.8			
		13	7			
	915AN	12	6	12	6	Pequeña
		12.5	5.6			
		12	6			
916AN	14	7.1	14	7	Pequeña	
	14	6.5				
	13.8	6				

**Nota.** La clasificación de pequeña, mediana y grande se realizó según el promedio del largo y ancho de las hojas y los rangos fueron establecidos bajo criterio propio con el fin de clasificarlas en tres grupos. Se estableció como: pequeña:  $\leq 14 \times 8$ cm; mediana:  $> 14 \times 8$ cm y  $< 17 \times 8$ cm; grande:  $\geq 17 \times 8$ cm.

**Cuadro 8.** Matriz de presencia/ausencia de los alelos obtenidos a partir de los electroferogramas del análisis de fragmentos con la combinación D (Me3 y Em3)

Variedad	ID	70	193	196	280	343
Anacafé 14	1049AC	1	1	0	1	1
	3071AC	1	1	0	1	1
	2878AC	1	1	0	1	1
Obatá	915OB	1	0	1	0	1
	916OB	1	1	1	1	0
	918OB	1	1	0	0	1
Catuaí	906CA	0	1	1	0	1
	907CA	1	1	1	0	1
	908CA	1	1	1	1	1
Caturra	901CR	1	1	1	1	1
	904CR	1	1	1	0	1
	903CR	1	1	1	1	1
Anacafé 90	914AN	1	1	0	1	1
	915AN	1	1	0	1	1
	916AN	1	1	0	1	1
Catucaí	917CT	1	1	0	0	1
	918CT	1	1	0	0	1
	920CT	1	1	1	0	1

**Nota.** 1= presencia y 0= ausencia. Los números distintos a 1/0 presentados en la primera fila representan el tamaño de los alelos determinados mediante el análisis de fragmentos. Siendo reportados un total de 5 alelos para este marcador.

**Cuadro 9.** Matriz de presencia/ausencia de los alelos obtenidos a partir de los electroferogramas del análisis de fragmentos con la combinación H (Me9 y Em10)

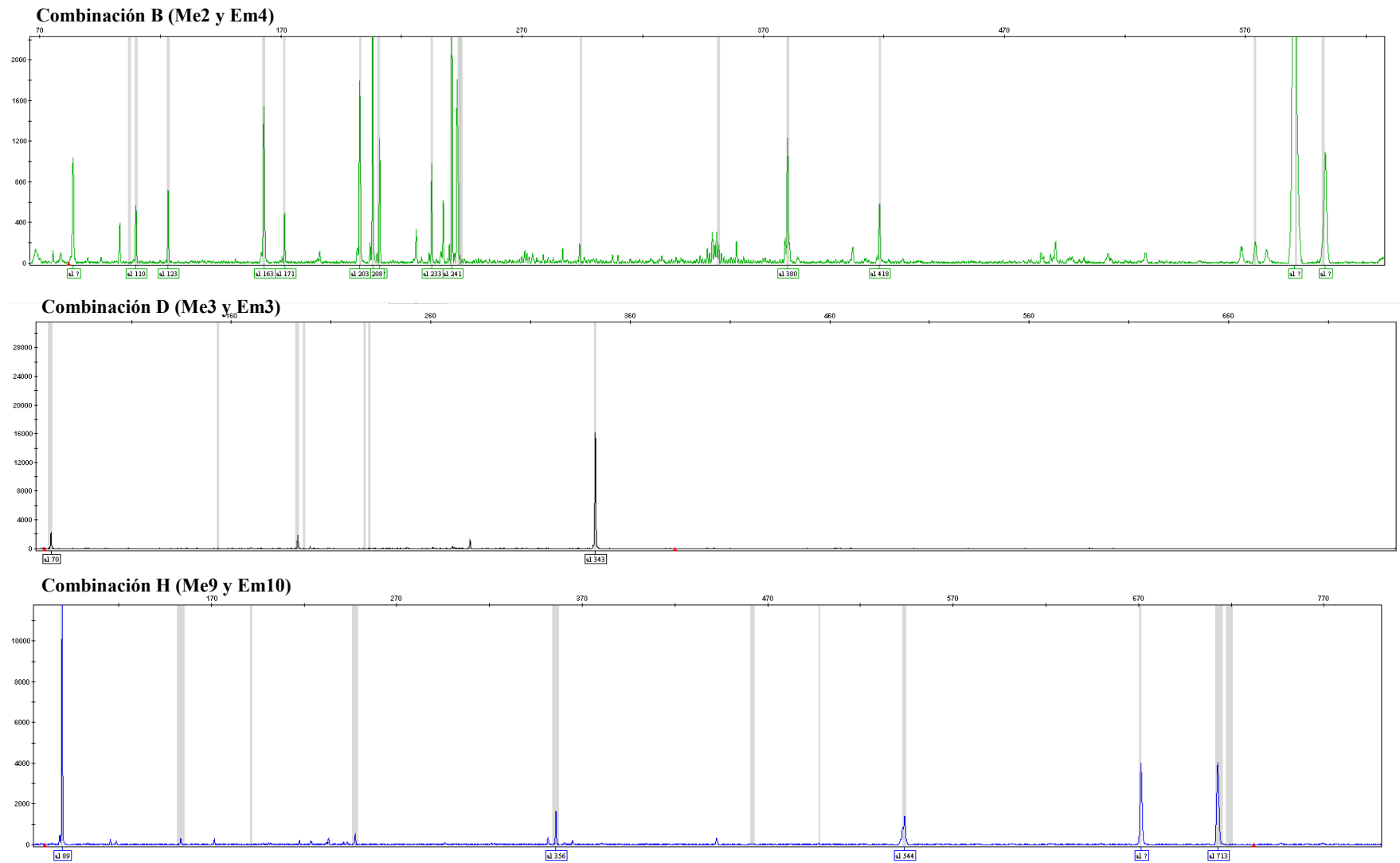
Variedad	ID	89	154	192	248	356	462	544	671	713
Anacafé 14	1049AC	1	0	1	0	1	0	1	1	1
	3071AC	1	0	1	0	1	0	1	1	1
	2878AC	1	0	0	0	1	0	1	1	1
Obatá	915OB	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	916OB	1	0	0	0	1	0	1	0	1
	918OB	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Catuaí	906CA	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	907CA	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	908CA	1	1	1	1	1	1	1	0	1
Caturra	901CR	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	904CR	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	903CR	1	1	0	1	1	1	1	1	1
Anacafé 90	914AN	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	915AN	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	916AN	1	0	0	1	1	1	1	0	1
Catucaí	917CT	1	1	1	1	1	1	1	0	1
	918CT	1	0	0	1	1	1	1	0	1
	920CT	1	1	0	1	1	1	1	0	1

**Nota.** 1= presencia y 0= ausencia. Los números distintos a 1/0 presentados en la primera fila representan el tamaño de los alelos determinados mediante el análisis de fragmentos. Siendo reportados un total de 9 alelos para este marcador.

**Cuadro 10.** Matriz de presencia/ausencia de los alelos obtenidos a partir de los electroferogramas del análisis de fragmentos con la combinación B (Me2 y Em4)

Variedad	ID	203	208	211	232	241	243	245	248	294	380	418	590	603	640	652	671	742	744	752-755	778-781	782-784	786	789	793
Anacafé 14	1049AC	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0
	3071AC	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	2878AC	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Obatá	915OB	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	916OB	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
	918OB	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Catuaí	906CA	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	907CA	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	908CA	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Caturra	901CR	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
	904CR	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0
	903CR	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1
Anacafé 90	914AN	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0
	915AN	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0
	916AN	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
Catucaí	917CT	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
	918CT	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
	920CT	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0

**Nota.** 1= presencia y 0= ausencia. Los números distintos a 1/0 presentados en la primera fila representan el tamaño de los alelos determinados mediante el análisis de fragmentos. Siendo reportados un total de 24 alelos para este marcador.



**Figura 10.** Ejemplo de electroferograma de la muestra 2878AC que representa las tres combinaciones de cebadores B, D y H cargados en el secuenciador SeqStudio Genetic Analyzer y analizados con el software GeneMapper.