
MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA APLICADA AL ESTUDIO DE LA HOJA DE *THEOBROMA* CACAO**GEOMETRIC MORPHOMETRIC APPLIED TO THE STUDY OF *THEOBROMA* CACAO LEAF**Lic. Frank Ernesto Soto Gómez¹, Dr. C. Igor Bidot Martínez²

¹Facultad de Educación. Universidad Guantánamo. Cuba. <https://orcid.org/0000-0002-4379-4395>. e-mail: frankernesto@cug.co.cu.²Centro de Estudios de Tecnologías Agropecuarias y Forestales. Facultad Agroforestal Universidad de Guantánamo. Cuba. <https://orcid.org/0000-0002-1262-7674>. e-mail ibidot@cug.co.cu.**Recibido:** 22 de febrero de 2022**Aceptado:** 16 de marzo de 2022**RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue analizar los patrones de variación de la forma de la hoja de cacao mediante la morfometría geométrica para identificar los genotipos tradicionales. Se fotografiaron 490 hojas de siete genotipos y se colocaron 14 puntos clave. Se les realizó análisis procrustes, un ajuste con el análisis de componentes principales y un análisis canónico. A partir de estos puntos clave se obtuvo la forma consenso de las hojas de cacao evaluadas, donde se resumió la información de la forma. Estos resultados permitieron mostrar variabilidad morfológica en cuanto alaforma del cacao tradicional, distintiva en comparación con los genotipos comerciales analizados, lo cual permitió una diferenciación preliminar entre ellos.

Palabras clave: Componentes principales; Análisis canónico; Morfometría geométrica; Puntos clave.

ABSTRACT

The objective of the work was to analyze the patterns of variation of the shape of the cocoa leaf by means of geometric morphometry to identify traditional genotypes. 490 leaves of seven genotypes were photographed and 14 key points were placed. Procrustean analyzes were performed, an adjustment with the principal component analysis and a canonical analysis. From these key points, the consensus form of the evaluated cocoa leaves was obtained, where the information of the form was summarized. These results allowed showing morphological variability in terms of the shape of traditional cocoa, distinctive in

comparison with the commercial genotypes analyzed, which allowed a preliminary differentiation between them.

Key words: Principal component; Canonical analysis; Geometric morphometric; Key points.

INTRODUCCIÓN

Con el empleo de la morfometría geométrica se evalúan, desde una nueva perspectiva, los caracteres más variables en la sistemática de plantas (Siegel y Benson 1982). Es el conjunto de métodos y procedimientos, con base geométrica, para el análisis de los patrones de forma, donde las mediciones usualmente derivan de contornos y puntos morfológicos claves. Consta de tres etapas: (1) obtención de los datos morfométricos, (2) obtención de la información de la forma pura y (3) análisis exploratorios y confirmatorios de covariación de la forma y factores causales (Bookstein 1991). Para su procesamiento se capturan y analizan datos de matrices de morfocoordenadas que representan la geometría de un espécimen (Adams, Rohlf y Slice 2004).

A pesar de sus amplias potencialidades, la aplicación de la morfometría geométrica en plantas de cultivo de importancia económica es aún poco extendida. En la sistemática de plantas uno de los principales aspectos es la morfología foliar. La forma de la hoja, presenta numerosas variantes a considerar para hacer un análisis biométrico de las partes con mayor variabilidad (Henderson 2006).

En el cacao, la diversidad de las hojas y la compleja distribución en los cultivares tiene un valor potencial para la identificación de genotipos, sin embargo no se identificaron estudios publicados en este sentido. Basado en estos antecedentes el objetivo del presente trabajo fue: Analizar los patrones de variación de la forma de la hoja de cacao mediante la morfometría geométrica para identificar los genotipos tradicionales

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los datos morfométricos

Las muestras analizadas se tomaron en el banco de germoplasma de cacao que se localiza en el Instituto de Investigaciones Agroforestales, Unidad de Ciencia y Técnica de Baracoa. La zona tiene un promedio de precipitación anual superior a 2200 mm, el más alto del país. Las características topográficas tienen un 95 % del relieve montañoso.

Se tomaron dos grupos de plantas: dos genotipos tradicionales (K 250 y K 251) y cinco genotipos comerciales (UF 12, UF 29, UF 221, UF 613 y UF 296). Se seleccionaron al azar

75 hojas maduras por genotipo sin daños en el margen, las cuales se digitalizaron con una cámara con resolución de 18 Mpx, sobre un fondo con papel milimetrado y una regla como referencia para el tamaño. Las hojas se orientaron con la parte axial hacia el observador y el ápice hacia la parte inferior de la imagen (Hearn 2009).

El procesamiento de las imágenes se realizó con los programas de la serie TPS (Rohlf y Marcus 1993). Con el programa TpsUtils se creó el proyecto y con el programa TpsDigs se ubicaron en la imagen los puntos clave y se determinaron sus coordenadas cartesianas. En cada imagen de las hojas se colocaron 14 puntos clave, dos de tipo anatómicos correspondientes al ápice y a la base de la hoja y 12 del tipo 2 (Bookstein 1991), distribuidos de manera uniforme en el borde de las hojas (Figura 1).

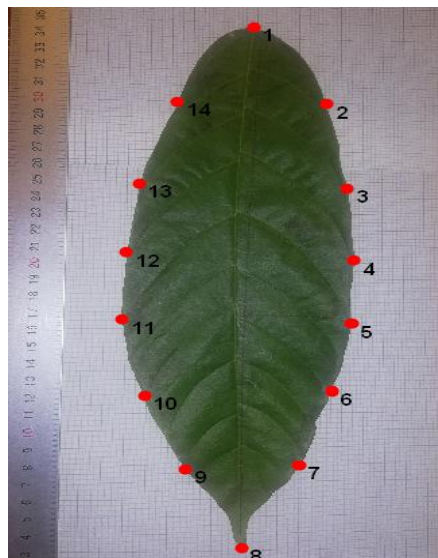


Figura 1: Ubicación de los puntos clave en las hojas de cacao

Obtención de la información que describe la forma pura

Para obtener la forma consenso de las hojas de cacao y el conjunto de puntos que representan la tendencia central de los puntos clave de las hojas de cacao se utilizó el análisis de procrustes. En este análisis, los puntos claves dispuestos en el borde, base y ápice de las hojas de cacao se ajustaron por el método de mínimos cuadrados y de sus respectivas coordenadas matriciales.

Posteriormente, se redujo la dimensionalidad de los datos mediante un análisis de componentes principales, lo cual permitió obtener la forma consenso de la hoja de cacao. Los resultados se representaron mediante una figura con los vectores de movimiento entre la forma consenso y la media del cambio de la forma de las hojas, una figura con la media

del análisis de componentes principales de los puntos clave de las hojas de cacao y un gráfico de dispersión de dos dimensiones con los componentes principales que explicaron el mayor porcentaje de la varianza.

A partir de los resultados del análisis de componentes principales, se maximizó la separación entre los genotipos mediante el análisis canónico. Los resultados obtenidos se representaron mediante dos gráficos de dispersión de los grupos genéticos diferenciados según la forma de la hoja y una figura para comparar la forma consenso de la hoja de cacao con el ajuste del análisis canónico. Todos los análisis se realizaron con el programa MorphoJ (Zelditch, Swiderski y Sheets 2012).

Análisis exploratorios y confirmatorios de covariación de la forma y factores causales

Para maximizar las diferencias, se calculó la media de los análisis de procrustes, componentes principales y análisis canónicos obtenidos en el epígrafe anterior, mediante 10000 permutaciones de cadenas de Markov y la distancia de Mahalanobis (Jolliffe 2002). La media de estos análisis se comparó con los resultados de los mismos análisis y los resultados se representaron como se explicó en el epígrafe Obtención de la forma pura. Todos los análisis se realizaron con el programa MorphoJ (Zelditch, Swiderski y Sheets 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de los datos morfométricos

Se obtuvo la forma consenso de la hoja de cacao de los genotipos analizados y el conjunto de puntos que representan los puntos clave utilizados (Rohlf y Slice 1990 ; Robinson et al. 2001).

Obtención de la información que describe la forma pura

En el análisis de componentes principales, los primeros componentes mostraron un alto porcentaje de correlación de Pearson. En los componentes principales del 1 al 10, el grado de correlación fue superior al 0,7; valor a partir del cual se consideran altamente correlacionados (Zelditch, Swiderski y Sheets, 2012). Con estos diez primeros componentes principales se obtuvieron los vectores de movimiento entre la forma consenso de la hoja y formación de los vectores de movimiento obtenidos en el resultado del análisis de componentes principales y el desplazamiento de los puntos de tipo 1 y 2 de las hojas

analizadas (Lattin, Carroll y Green 2003). Este resultado permite estimar el desplazamiento horizontal y vertical de cada región en la imagen.

El análisis de componentes principales permite comparar la forma consenso obtenida (línea azul) con la media del cambio de la forma de la hoja (línea roja) (Figura 2).

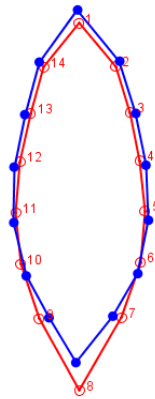


Figura 2: Media de análisis de componentes principales de los puntos clave de las hojas de cacao

Los resultados obtenidos en el análisis de componentes principales se representaron mediante un gráfico de dispersión de los diferentes genotipos evaluados con respecto a la forma de la hoja (Figura 3).

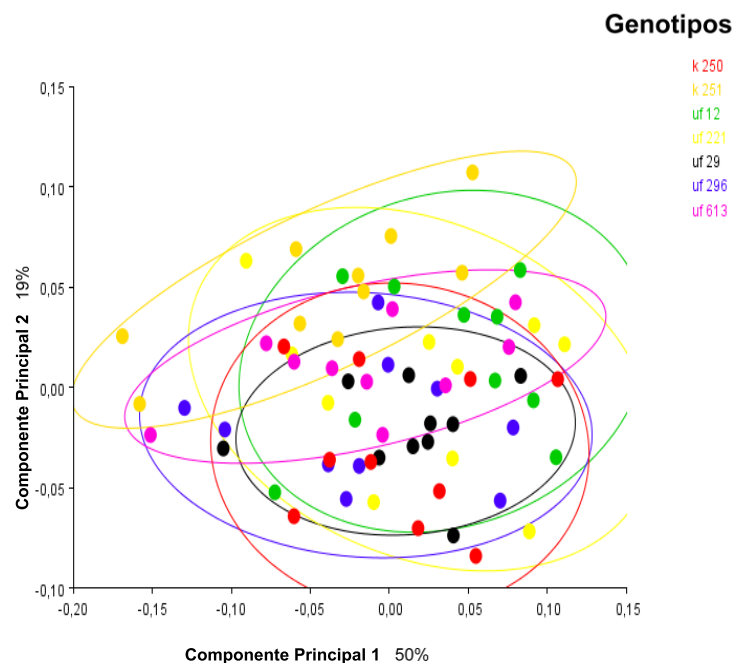


Figura 3: Gráfico de dispersión obtenido mediante el análisis de componentes principales.

Los resultados obtenidos muestran un grado elevado de similitud entre grupos, con algunas diferencias entre grupos, por ejemplo, el grupo K 251 con respecto a los demás. Se observó un solapamiento entre las formas de las hojas de cacao, aunque con un bajo nivel de variabilidad entre los genotipos.

Debido a las pequeñas diferencias observadas, se realizó un análisis canónico de las variables (Lele y Richtsmeier 2001). Los seis componentes principales que más aportaron a la variación tuvieron una significación superior al 0,05. Los resultados del análisis canónico con estos seis componentes (línea azul) se compararon con la forma consenso (línea roja) (Figura 4).

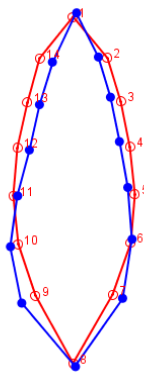


Figura 4: Forma consenso de la hoja de cacao obtenida con el análisis canónico

Análisis exploratorios y confirmatorios de covariación de la forma y factores causales

La comparación de la media del análisis procrustes (línea roja) con la media del análisis procrustes (línea azul) se muestra en la Figura 5.

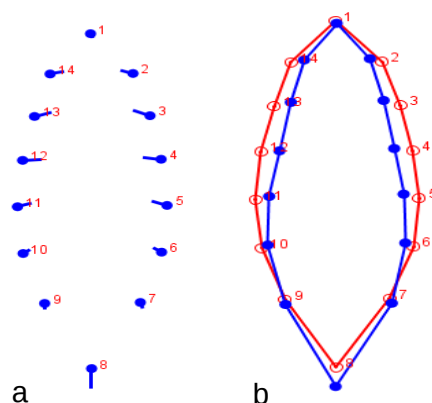


Figura 5: Análisis de los vectores de movimiento de la media Procrustes (a) comparados con la media procrustes (b)

El promedio de la matriz covarianza de los seis componentes principales que más aportan a la varianza se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores promediados de la matriz covarianza.

Componentes Principales	Valores Propios	Porcentaje de Varianza
1	0,00105492	57,253
2	0,00042018	22,804
3	0,00024123	13,092
4	0,00007866	4,269
5	0,00002830	1,536
6	0,00001927	1,046

Con los dos componentes principales que más aportan a la varianza se realizó un gráfico de dispersión de los genotipos de cacao analizados (Figura 6).

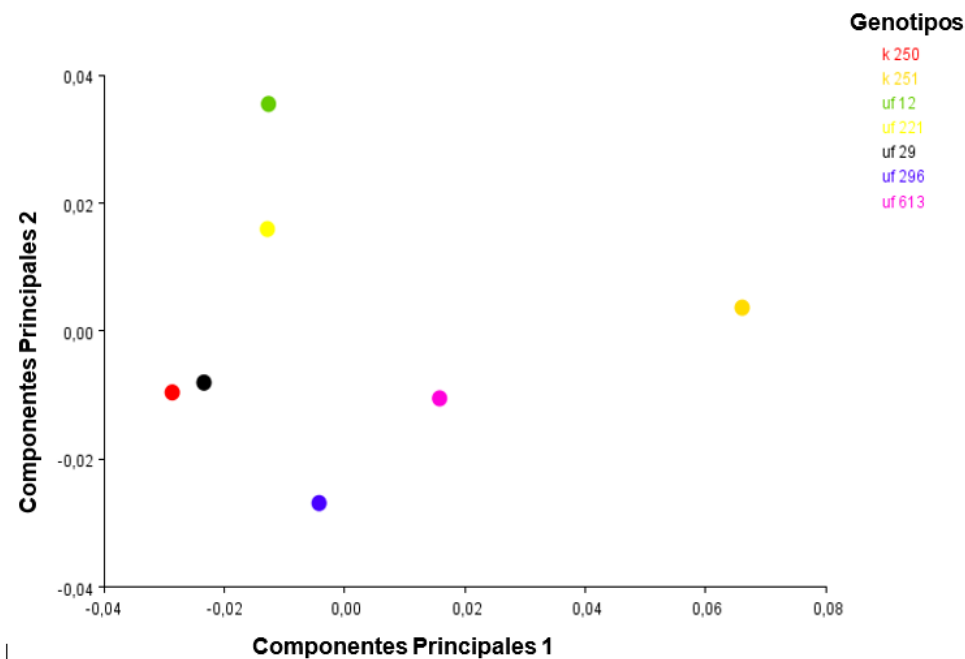


Figura 6: Comparación entre los dos componentes principales y las separaciones por grupos

Estos resultados resaltan las diferencias significativas entre los genotipos. Estas diferencias, aunque existentes, no son completamente evidentes hasta realizar análisis exhaustivos. Los resultados indican que, aunque baja, existe variabilidad en la forma de las hojas, que potencialmente pueden utilizarse para la identificación de genotipos. Sin embargo, se requieren tomar muestras mayores y combinarlos con análisis de otros

órganos de la planta, como el fruto por su alta variabilidad e importancia en la clasificación de la especie.

El comportamiento solapado de la forma de las hojas de los genotipos se evaluó nuevamente, para demostrar diferencias no evidentes entre los grupos. Los resultados indican que existe variabilidad en la forma de las hojas, más evidente con un nuevo análisis de la media Procrustes, ajuste de la varianza y del análisis de la media de componentes principales (Figura 7).

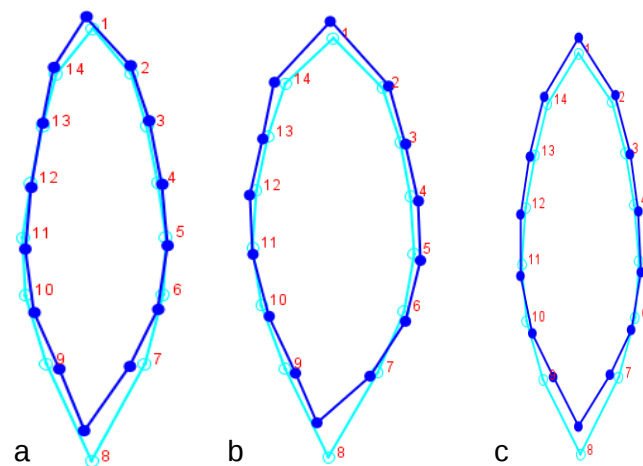


Figura 7: Variación del tamaño de las hojas basada en la media del ajuste Procrustes

Los resultados indicaron que la forma presenta altavariabilidad. Esto podría responder a que los genotipos estudiados se encuentran por sus características genéticas y caracteres morfológicos asociados a factores adaptativos (Krzanowski 1988). Los genotipos analizados presentaron marcadas diferencias en el tamaño foliar. La forma consenso de K 250, K 251, presentó hojas más grandes, mientras los otros genotipos comerciales se agruparon con una forma consenso de hojas de menor tamaño.

Los resultados indicaron la importancia de los caracteres morfométricos como apoyo a los estudios interespecíficos de cacao. La investigación combina por primera vez el análisis de puntos anatómicos mediante morfometría geométrica utilizando caracteres morfométricos. Este estudio permitió una comparación entre el cambio de forma establecido por ordenación del análisis canónico de la variable para inferir el cambio de forma (Kaliontzopoulou, Carretero y Llorente 2007).

Este trabajo documenta que la estimación del cambio de forma es más apropiada para enfoque filogenético, para el análisis de las configuraciones de coordenadas después de la

superposición Procrustes y el cálculo de las deformaciones relativas (Viscosi et al. 2009). Los resultados descritos, indican que la morfometría geométrica de las hojas de cacao es una herramienta idónea en la discriminación de genotipos, además de un método de fácil aplicación y con validación estadística. Con 14 puntos anatómicos en las hojas, se diferencian los genotipos de cacao comercial y tradicional, aunque las diferencias no son grandes. Debido a este resultado, aún es necesario realizar análisis adicionales que incluyan otros grupos genéticos, con el fin de evaluar los cambios de forma de las hojas para los 10 genotipos existentes de cacao.

Como se han publicado estudios con métodos morfométricos en las hojas de varias especies vegetales, pero no se ha hecho nada hasta la fecha con hojas de cultivares de cacao, los resultados obtenidos representan un paso para la identificación de genotipos por medios morfogeométricos. Por primera vez se mostró la aparición de diferencias en las formas de las hojas mediante la morfometría geométrica.

Estos resultados constituyen una primera aproximación a la utilización de la morfometría geométrica para la identificación de cultivares de cacao. Esta técnica presenta ventajas debido a la obtención de resultados de forma rápida y con bajo coste, de esta manera puede ser una primera aproximación para caracterizar la biodiversidad de un grupo de especies. Esta puede constituir una herramienta útil para este objetivo, teniendo en cuenta las dificultades para identificar los cultivares, debido a las semejanzas que existen entre ellos. Además, pueden ampliarse para utilizarse a otras especies de interés agrícola o forestal.

CONCLUSIONES

Los 14 puntos claves identificados en las hojas de cacao de los genotipos evaluados permitió realizar el análisis de la forma de las hojas. A partir de estos puntos clave se obtuvo la forma consenso de las hojas de cacao evaluadas, donde se resumió la información de la forma. Estos resultados permitieron mostrar variabilidad morfológica en cuanto a la forma del cacao tradicional, distintiva en comparación con los genotipos comerciales analizados, lo cual permitió una diferenciación preliminar entre ellos.

BIBLIOGRAFÍA

1. ADAMS, D.C., ROHLF, F.J. y SLICE, D.E., 2004. Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'revolution'. En: 190 citations (Crossref) [2021-11-14], *Italian Journal of Zoology*, vol. 71, no. 1, pp. 5-16. ISSN 1125-0003, 1748-5851. DOI 10/cm9f7h.

2. BOOKSTEIN, F.L., 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge: Cambridge University Press.
3. HEARN, D.J., 2009. Shape analysis for the automated identification of plants from images of leaves. En: 43 citations (Crossref) [2021-11-14], *TAXON*, vol. 58, no. 3, pp. 934-954. ISSN 00400262. DOI 10/gnggc2.
4. HENDERSON, A., 2006. Traditional morphometrics in plant systematics and its role in palm systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society*, vol. 151, no. 1, pp. 103-111. DOI 10/cpzwbj.
5. JOLLIFFE, I.T., 2002. *Principal Component Analysis*. 2nd. S.I.: Springer New York.
6. KALIONTZOPOULOU, A., CARRETERO, M.A. y LLORENTE, G.A., 2007. Multivariate and geometric morphometrics in the analysis of sexual dimorphism variation in Podarcis lizards. En: 80 citations (Crossref) [2021-11-14], *Journal of Morphology*, vol. 268, no. 2, pp. 152-165. ISSN 1097-4687. DOI 10/cbzn9r.
7. KRZANOWSKI, W.J., 1988. *Principles of multivariate analysis: A user's perspective*. Oxford: Clarendon Press.
8. LATTIN, J., CARROL, J.D. y GREEN, P.E., 2003. *Analyzing Multivariate Data* [en línea]. Pacific Grove: Thomson Learning, Inc. [Consulta: 14 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.proquest.com/openview/3a7cd62a2f71bc323759e27558bac796/1?pq-origsite=gscholar&cbl=34668>.
9. LELE, S.R. y RICHTSMEIER, J.T., 2001. *An Invariant Approach to Statistical Analysis of Shapes*. S.I.: CRC Press. ISBN 978-1-4200-3617-6.
10. ROBINSON, D.L., BLACKWELL, P.G., STILLMAN, E.C. y BROOK, A.H., 2001. Planar Procrustes analysis of tooth shape. En: 18 citations (Crossref) [2021-11-14], *Archives of Oral Biology*, vol. 46, no. 3, pp. 191-199. ISSN 00039969. DOI 10/dbgw9t.
11. ROHLF, F.J. y MARCUS, L.F., 1993. A revolution morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, vol. 8, no. 4, pp. 129-132. DOI 10/dt6pzz.
12. ROHLF, F.J. y SLICE, D., 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic biology*, vol. 39, no. 1, pp. 40-59.

13. SIEGEL, A.F. y BENSON, R.H., 1982. A robust comparison of biological shapes. *Biometrics*, pp. 341-350. DOI 10/csqfmd.
14. VISCOSI, V., LEPAIS, O., GERBER, S. y FORTINI, P., 2009. Leaf morphological analyses in four European oak species (*Quercus*) and their hybrids: A comparison of traditional and geometric morphometric methods. *Plant Biosystems*, vol. 143, no. 3, pp. 564-574.
15. ZELDITCH, M.L., SWIDERSKI, D.L. y SHEETS, H.H., 2012. *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. S.l.: Academic Press.