

Caracterización morfológica y molecular de  
*Pelargonium graveolens* y determinación del  
perfil fitoquímico de su aceite esencial en  
El Salvador, Centro América.

Autor: Felipe Alfredo Cerón Martí

---

Tesis doctoral UDC / Año 2023

Directores: Vianney Castañeda Monroy

Eva Vidal Vázquez

Programa Oficial de Doctorado en Investigación Agraria y Forestal



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

**Programa Oficial de Doctorado en Investigación Agraria y Forestal**

## **Tesis Doctoral**

Caracterización morfológica y molecular de  
*Pelargonium graveolens* y determinación del  
perfil fitoquímico de su aceite esencial en  
El Salvador, Centro América.

**Felipe Alfredo Cerón Martí**

2023

## **Dedicatoria.**

A Dios, el Supremo Hacedor, por el reto de vivir.

Como homenaje póstumo a mis padres Felipe Cerón y Dora M. de Cerón.

A la memoria de mis hermanos Gladys y Víctor Manuel.

A Mariana Sofía, mi nieta, con verdadero amor y especial reconocimiento, escribiéndole a ella ahora, que con franqueza esta otra etapa en mi preparación académica - a mi edad-, ha sido como un desafío para mí, esperando que ella con todas sus posibilidades llegue todavía mucho más allá.

A mi hermano Francisco, sobrinos y demás familiares.

A los Agricultores de El Salvador, quienes sin esperar nada a cambio, sin ningún premio ni reconocimiento de nadie, todos los días, con lluvia, con sol, como sea, pero con muy buena voluntad, son los responsables de que quienes existimos aquí en El Salvador, tengamos el alimento necesario para mantenernos con vida.

## **Agradecimientos.**

Al Doctor Antonio Paz González, mi Tutor incondicional. Inicialmente por confiar en mí desde el año 2016, por su apoyo y dirección de principio a fin para que al final cumpliera con este reto personal tan satisfactorio.

A la Doctora Vianney Castañeda Monroy de Abrego, mi plena Asesora en este Proyecto. Por su paciencia, por su dirección y colaboración académica, técnico-científica y humana. Realmente un "Ángel" muy especial que Dios puso en mi camino.

A la Doctora Eva Vidal Vázquez, Directora de este estudio, docente e investigadora de Universidad de La Coruña, quien muy amablemente tuvo a bien revisar y sugerir recomendaciones en este trabajo de investigación en afán de tener finalmente el mejor de los resultados.

A los propietarios de las empresas NOBS HidroDifusión S.A. de C.V. y ProInnova S.A. de C. V., en particular a los Ingenieros Javier Francés y Gerardo Francés.

A mis compañeros Agrónomos de la Promoción XIX año 1976 de la Escuela Nacional de Agricultura de El Salvador (ENA), en especial a Mauro Córdova Guzmán y José Antonio Galdámez Guardado.

A la Licenciada Delia Esperanza Arriola Juárez, ExTécnica laboratorista del Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas de la Universidad Mariano Gálvez, Guatemala; alguien muy capaz pero también muy humana que con mucha paciencia, dedicación y conocimiento técnico-científico, tuvo la consideración de explicarme y guiarme por ese mundo tan especializado de los análisis físico-químicos en los componentes de los aceites esenciales de los vegetales.

A la Licda. M.Sc. Martha Patricia Herrera y Licda. Indhira Mezalina Vásquez del Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle, Guatemala, muchas gracias por su siempre oportuna colaboración técnica y administrativa.

A todas las personas anónimas unas y otras muy conocidas para mí, que cuando las busqué, también las encontré.

A Carlos Guerra, agricultor de Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, por permitir hacer este trabajo en su parcela de trabajo así como por su colaboración en las diversas actividades que se realizaron para desarrollar esta investigación.

A la Escuela Nacional de Agricultura ENA de El Salvador, origen de mis conocimientos agrícolas con verdadero agradecimiento.

A la Asociación de Agrónomos de El Salvador, SAENA, por su acompañamiento y por darme siempre cabida dentro del grupo de Agrónomos que conforman a la agrupación.

A los Doctor@s : Dra. Odette Marie Varela Milla, Directora General de Escuela Nacional de Agricultura de El Salvador (ENA) ; Dr. Marvin J. Núñez, Profesor e Investigador de Universidad Nacional de El Salvador (UES) ; Dr. Edgardo Reyes Calderón, Director Ejecutivo del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal CENTA de El Salvador y Dr. Miguel Ángel Hernández Martínez, Profesor e Investigador de la Universidad Nacional de El Salvador (UES); a quienes cuando busqué su apoyo para formar parte como miembros del Tribunal de Tesis para cumplir con ese requisito ante Universidad de La Coruña, España, todos muy amables y colaboradores me mostraron su disposición a participar incondicionalmente.

A mi patria El Salvador, donde nací, he vivido y espero terminar.

## Resumen

El geranio con olor o esencia a rosa, *Pelargonium graveolens* L'Hérit (Geraniaceae), es una planta muy importante económicamente en el mundo, por sus usos en perfumería, cosmética, medicina y alimentación (como saborizante).

En esta investigación, se realizaron análisis empleando marcadores moleculares, perfiles fitoquímicos y caracteres morfológicos foliares y florales para comparar plantas “madres” de dos cultivares de *Pelargonium graveolens* que se tienen en siembras comerciales en una zona agrícola localizada en Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador, Centro América.

Los marcadores moleculares utilizados fueron ITS, RAPD, rbcL, trnH-psbA, trnT-trnL, trnL-trnL y trnL-trnF con los cuales se determinó genéticamente que ambos clones pertenecen al Género *Pelargonium*, especie *Pelargonium graveolens*.

El análisis de 16 descriptores morfológicos aplicados a cinco plantas “madres” de cada clon evidenció clara y fenotípicamente dos materiales diferentes sobre todo, por sus hábitos de crecimiento, presencia o no de flores, diferenciación estructural en sus hojas y presencia y naturaleza de los tricomas; pudiéndose afirmar con esta parte de la investigación, que se tienen dos clones denotados como A y B diferentes entre sí, destacando que el Clon A muestra características propias de la variedad Bourbón.

Los resultados de los perfiles fitoquímicos que se resumen en los aceites esenciales obtenidos mediante análisis dual de solventes por cromatografía gaseosa con detector de masas (MSD) y detector de ionización de llama (FID), mostraron la complejidad de los aceites analizados, por la cantidad de compuestos químicos que los conforman así como porque algunos de esos componentes persisten en su presencia, destacando que predominan en ambos clones linalool, geraniol y citronelol, evidenciando la muy buena calidad de los dos aceites esenciales evaluados en ambos clones, reafirmando la determinación de *Pelargonium graveolens* y en uno de ellos, caracterizado como variedad Bourbón.

**Palabras clave:** *Pelargonium graveolens*, aceite esencial de geranio, marcadores moleculares, citronelol, geraniol.

## Resumo

O xeranio con aroma ou esencia de rosa, *Pelargonium graveolens* L'Hérit (Geraniaceae), é unha planta de gran importancia económica no mundo, polos seus usos en perfumería, cosmética, medicina e alimentación (como aromatizantes). Nesta investigación realizáronse análises mediante marcadores moleculares, perfís fitoquímicos e caracteres morfolóxicos foliares e florais para comparar plantas "nai" de dous cultivares de *Pelargonium graveolens* que se cultivan comercialmente nunha zona agrícola situada no Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador, Centroamérica.

Os marcadores moleculares empregados foron ITS, RAPD, *rbcl*, *trnH-psbA*, *trnT-trnL*, *trnL-trnL* e *trnL-trnF* cos que se determinou xeneticamente que ambos os clons pertencen ao xénero *Pelargonium*, especie *Pelargonium graveolens*. A análise de 16 descritores morfolóxicos aplicados a cinco plantas "nais" de cada clon mostrou de forma clara e fenotípica dous materiais diferentes, sobre todo, polos seus hábitos de crecemento, presenza ou ausencia de flores, diferenciación estrutural nas súas follas e presenza e natureza de tricomas; podendo afirmar con esta parte da investigación, que hai dous clons denotados como A e B diferentes entre si, destacando que o Clon A presenta características propias da variedade Bourbon.

Os resultados dos perfís fitoquímicos que se resumen nos aceites esenciais obtidos por análise de dobre disolvente por cromatografía de gases con detector de masas (MSD) e detector de ionización de chama (FID), mostraron a complexidade dos aceites analizados, debido á cantidade de compostos químicos que os compoñen, así como porque algúns destes compoñentes persisten na súa presenza, destacando que predominan en ambos os clons linalol, xeraniol e citronelol, evidenciando a moi boa calidade dos dous aceites esenciais avaliados en ambos os clons, reafirmando a determinación de *Pelargonium graveolens* e nun deles, caracterizado como variedade Bourbon.

**Palabras chave:** *Pelargonium graveolens*, aceite esencial de xeranio, marcadores moleculares, citronelol, xeraniol.

## Summary

Geranium with the scent or essence of rose, *Pelargonium graveolens* L'Hérit (Geraniaceae), is a very economically important plant in the world, due to its uses in perfumery, cosmetics, medicine and food (flavouring).

In this research, analyzes were carried out using molecular markers, phytochemical profiles and foliar and floral morphological characters to compare "mother" plants of two cultivars of *Pelargonium graveolens* that are grown commercially in an agricultural area located in Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador, Central America.

The molecular markers used were ITS, RAPD, rbcL, trnH-psbA, trnT-trnL, trnL-trnL and trnL-trnF with which it was genetically determined that both clones belong to the *Pelargonium* genus, *Pelargonium graveolens* species.

The analysis of 16 morphological descriptors applied to five "mother" plants of each clone clearly and phenotypically evidenced two different materials, above all, due to their growth habits, presence or absence of flowers, structural differentiation in their leaves and presence and nature of the trichomes; Being able to affirm with this part of the investigation, that there are two clones denoted as A and B different from each other, highlighting that Clone A shows characteristics of the Bourbón variety.

The results of the phytochemical profiles that are summarized in the essential oils obtained by dual solvent analysis by gas chromatography with mass detector (MSD) and flame ionization detector (FID), showed the complexity of the analyzed oils, due to the quantity of chemical compounds that make them up, as well as why some of these components persist in their presence, highlighting that they predominate in both clones: Linalool, Geraniol and Citronellol, evidencing the very good quality of the two essential oils evaluated in both clones, reaffirming the determination of *Pelargonium graveolens* and in one of them, characterized as a Bourbón variety.

**Keywords:** *Pelargonium graveolens*, geranium essential oil, molecular markers, citronellol, geraniol.



## Índice de contenidos.

<b>1. Introducción.</b>	<b>1</b>
<b>1.1.</b> Antecedentes y Justificación.	1
<b>1.2.</b> Problema científico.	5
<b>1.3.</b> Hipótesis.	5
<b>1.4.</b> Objetivo General.	5
<b>1.5.</b> Objetivos Específicos.	5
<b>1.6.</b> Resultados concretos esperados.	6
<b>2. Revisión de Literatura.</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Plantas aromáticas, saborizantes, medicinales y condimentarías (PASMIC).</b>	<b>7</b>
2.1.1. Definición.	7
2.1.2. Formas comerciales de las PASMIC.	7
2.1.3. Consumo y uso de las PASMIC.	8
2.1.4. Las PASMIC en Latinoamérica.	8
2.1.4.1. Cultivo y uso de PASMIC en El Salvador.	9
2.1.4.2. Cultivo y uso de <i>Pelargonium graveolens</i> en El Salvador.	10
<b>2.2. Clasificación científica y descripción botánica de <i>Pelargonium graveolens</i>.</b>	<b>11</b>
2.2.1. Botánica.	11
2.2.2. Taxonomía.	14
2.2.3. Filogenia.	15
2.2.4. Hábitos de crecimiento, hojas, tallos, inflorescencias, raíces, tricomas.	16
2.2.5. Cultivares y Variedades.	18
2.2.5.1. Diferenciación morfológica y taxonómica entre Cultivares y Variedades.	19
<b>2.3. Constituyentes químicos de los aceites esenciales en las plantas aromáticas, saborizantes y medicinales.</b>	<b>21</b>
2.3.1. Constituyentes químicos del aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> .	23
2.3.2. Perfiles fitoquímicos de aceites esenciales en <i>Pelargonium graveolens</i> .	24

2.3.3. Diferenciación en composición química de aceites esenciales entre cultivares o variedades comerciales de <i>Pelargonium graveolens</i> .	26
2.3.4. Usos tradicionales y/o comerciales del aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> .	29
<b>2.4. Caracterización genética de <i>Pelargonium graveolens</i> mediante marcadores moleculares.</b>	<b>31</b>
2.4.1. Análisis de laboratorio mediante marcadores moleculares para la caracterización genética de plantas cultivadas.	31
2.4.2. Principales marcadores moleculares utilizados en <i>Pelargonium graveolens</i> para su caracterización genética.	34
2.4.3. Código de Barras de ADN para la identificación de <i>Pelargonium graveolens</i> .	36
2.4.3.1. Concepto de Barcoding. "DNA Barcoding".	36
<b>3.0. Materiales y Métodos.</b>	<b>40</b>
<b>3.1. Información climática y agrobiológica del área con cultivo de <i>Pelargonium graveolens</i> en El Salvador.</b>	<b>40</b>
3.1.1. Ubicación geográfica. Generalidades del país.	40
3.1.2. Factores abióticos en área de trabajo.	40
3.1.2.1. Ubicación geográfica del área de trabajo de investigación.	41
3.1.3. Factores bióticos.	48
3.1.3.1. Flora.	48
3.1.3.2. Fauna.	48
<b>3.2. Material vegetal a utilizar.</b>	<b>49</b>
3.2.1. Selección y colecta de las dos accesiones de <i>Pelargonium graveolens</i> para estudio morfológico, molecular y fitoquímico.	49
<b>3.3. Estudio de tricomas en accesiones de dos cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> mediante microscopio electrónico de barrido.</b>	<b>52</b>
3.3.1. Colecta y preparación inicial de muestras de tejido vegetal en el campo. Conservación y traslado del área de trabajo al Laboratorio de microscopía electrónica.	52

3.3.2. Observación en microscopio electrónico de barrido de los tricomas en estructuras foliares y florales en las accesiones de los dos Cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> .	53
<b>3.4. Estudio comparativo de la morfología de plantas de <i>Pelargonium graveolens</i> en los dos clones en estudio.</b>	<b>54</b>
3.4.1. Selección y preparación en el campo del material vegetal de <i>Pelargonium graveolens</i> a estudiar.	54
3.4.2. Análisis morfológico aplicando formulario con descriptores para <i>Pelargonium graveolens</i> a nivel de estructuras foliares y florales.	54
<b>3.5. Análisis del perfil fitoquímico del aceite esencial de Geranio de Olor obtenido en los dos clones de <i>Pelargonium graveolens</i> en estudio.</b>	<b>55</b>
3.5.1. Selección y colecta del material vegetativo de Geranio en el campo para extraer su aceite esencial (AEG).	55
3.5.2. Extracción del aceite esencial de Geranio en laboratorio y/o Planta industrial extractora.	56
3.5.3. Análisis en Laboratorio de Universidad Mariano Gálvez UMG, Guatemala, del aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> mediante análisis dual de solventes por cromatografía gaseosa con detector de masas (MSD) y detector de ionización de llama (FID).	56
3.5.4. Obtención del perfil fitoquímico de los aceites esenciales provenientes de los dos cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> en estudio.	57
<b>3.6. Análisis genético mediante técnicas de RAPD e ITS y “DNA Barcoding”.</b>	<b>58</b>
3.6.1. Selección, colecta, preparación y traslado de las muestras vegetativas para extracción y análisis del ADN en los dos clones de <i>Pelargonium spp.</i>	58
3.6.2. Proceso de extracción del ADN genómico de <i>Pelargonium graveolens</i> .	59
3.6.3. Determinación de calidad y cuantificación del ADN extraído.	64
3.6.4. Análisis molecular de accesiones de <i>Pelargonium graveolens</i> de los dos clones en estudio mediante marcadores RAPD’s.	65
3.6.5. Condiciones de amplificación mediante PCR para RAPD’s.	66
3.6.6. Visualización y análisis de productos obtenidos en PCR mediante electroforesis en agarosa.	67
3.6.7. Determinación del perfil de polimorfismos de RAPD’s.	67

3.6.8. Identificación de <i>Pelargonium graveolens</i> en las accesiones de los dos clones mediante “DNA Barcoding”.	67
3.6.8.1. Condiciones de amplificación de secuencias consensuadas como marcadores para <i>Pelargonium graveolens</i> mediante PCR: rbcL, trnH-psbA e ITS.	70
3.6.8.2 Condiciones de secuenciación bidireccional de fragmentos de genes consensuados para el análisis de código de barras de ADN de <i>Pelargonium graveolens</i> .	71
3.6.8.3. Construcción de Árboles filogenéticos de las muestras secuenciadas empleando las regiones trnH-psbA, rbcL e ITS.	71
3.6.8.4. Análisis de secuencias con bases de datos de referencia internacional.	72
<b>4.0. Resultados y Discusión.</b>	<b>74</b>
4.1. Análisis ultra estructural de tipos de Tricomas encontrados en los dos Cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> .	74
4.2. Diferenciación morfológica mediante descriptores de plantas, hojas, tallos y flores en los dos Cultivares estudiados de <i>Pelargonium graveolens</i> .	82
4.3. Perfil fitoquímico del aceite esencial de Geranio de Olor de los dos Cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> .	91
4.4. Perfil de marcadores RAPD’s aplicados en las dos accesiones de los dos Cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> .	100
4.5. Filogenia de muestras secuenciadas aplicadas a las dos accesiones de los dos Cultivares de <i>Pelargonium graveolens</i> empleando las regiones de los genes trnH-psbA, rbcL e ITS.	105
<b>5.0. Conclusiones en Español.</b>	<b>116</b>
<b>6.0 . Conclusiones in English.</b>	<b>118</b>
<b>7.0. Recomendaciones.</b>	<b>121</b>
<b>8.0. Bibliografía.</b>	<b>123</b>
<b>9.0. ANEXOS.</b>	<b>133</b>
<b>10.0. Glosario de términos.</b>	<b>218</b>

## Índice de Tablas.

<b>Tabla 1.</b> Cuadro resumen con información climatológica Estación Los Andes, MARN. Valores promedios obtenidos durante 8 años. Años 2015-2022.	44
<b>Tabla 2.</b> Cuadro resumen con resultados de análisis químico de suelos realizados durante tres años, parcela cultivo Geranio en Finca “Guadalupe”, Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, Centro América.	47
<b>Tabla 3.</b> Cuadro con descripción morfológica de plantas en clones A y B de cultivo de geranio de olor <i>Pelargonium graveolens</i> . Parcela cultivo Geranio de olor, Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Ciclo Agrícola 2021-2022.	89
<b>Tabla 4.</b> Cuadro resumen comparando los principales valores porcentuales encontrados para los dos clones estudiados en muestras A1, A3, B1 y B3 respecto a sus principales componentes del aceite esencial de geranio (AEG) y la relación Citronelol/Geraniol.	95
<b>Tabla 5.</b> Cuadro resumen con principales componentes de aceite esencial en muestras A1, A3, B1 y B3 con valores porcentuales por análisis Dual de solventes por cromatografía de gases y detector de masas (MSD) y detector de ionización de llama (FID).	97
<b>Tabla 6.</b> Cuadro comparativo con principales componentes fitoquímicos de aceites esenciales de geranio de olor. Resume resultados análisis en clones A y B de geranio de olor cultivados en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, comparando con resultados de investigaciones relacionadas en el Mundo.	99
<b>Tabla 7.</b> Número total de amplicones, amplicones monomórficos y polimórficos revelados por RAPD de seis “primers” en tres accesiones del clon A y tres accesiones del clon B del cultivar de <i>Pelargonium graveolens</i> en estudio en Cantón Palo de Campana, Santa Ana.	102
<b>Tabla 8.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2015.	134

<b>Tabla 9.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2016.	135
<b>Tabla 10.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2017.	136
<b>Tabla 11.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2018.	137
<b>Tabla 12.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2019.	138
<b>Tabla 13.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2020.	139
<b>Tabla 14.</b> Información climatológica mensual obtenida en Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador en estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Santa Ana. Año 2021.	140
<b>Tabla 15.</b> Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela A, año 2022.	141
<b>Tabla 16.</b> Informe de resultados análisis detección porcentaje de humedad presente en suelo, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela A, Año 2022.	142
<b>Tabla 17.</b> Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela B, año 2022.	143
<b>Tabla 18.</b> Informe de resultados análisis detección porcentaje de humedad presente en suelo, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela B, Año 2022.	144

<b>Tabla 19.</b> Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela A (#1), año 2019.	145
<b>Tabla 20.</b> Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela B (#2), año 2019.	146
<b>Tabla 21.</b> Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela A, año 2017.	147
<b>Tabla 22.</b> Informe de resultados análisis químico de suelos realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela B, año 2017.	148
<b>Tabla 23.</b> Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A1 con todos los componentes. Realizado en laboratorio I <sup>2</sup> QB <sub>3</sub> , Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 21/10/2021.	149
<b>Tabla 24.</b> Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A1r con principales componentes. Realizado en laboratorio I <sup>2</sup> QB <sub>3</sub> , Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.	154
<b>Tabla 25.</b> Cuadro con nombres químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A1r con principales componentes. Realizado en laboratorio I <sup>2</sup> QB <sub>3</sub> , Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.	157
<b>Tabla 26.</b> Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B1 con todos los componentes. Realizado en laboratorio I <sup>2</sup> QB <sub>3</sub> , Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 21/10/2021.	161
<b>Tabla 27.</b> Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B1r con principales componentes. Realizado en laboratorio I <sup>2</sup> QB <sub>3</sub> , Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.	167
<b>Tabla 28.</b> Cuadro con nombres químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B1r con principales componentes. Realizado en laboratorio I <sup>2</sup> QB <sub>3</sub> , Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.	170

**Tabla 29.** Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencia de Geranio, muestra A3 con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022. 174

**Tabla 30.** Cuadro con nombres químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A3 con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022. 177

**Tabla 31.** Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B3 con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022. 181

**Tabla 32.** Cuadro con nombres químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B3 con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022. 183

**Tabla 33.** Cuadro con resultados de primera extracción y análisis de ADN en tres réplicas de muestras de plantas de Clon A y B de geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala. 26/11/2020-01/12/2020. 186

**Tabla 34.** Cuadro con resultados de segunda extracción y análisis de ADN en clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E. A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala, 04/02/2021-12/03/2021. 188

**Tabla 35.** Cuadro comparativo para evaluar porcentajes de similitud entre clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de olor cultivadas en cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle UVG, Guatemala. 04/02/2021-12/03/2021. 189



- Tabla 36.** Cuadro con análisis comparativo de secuencias de la región ITS para Clones A y B y tres plantas por Clon de geranio de olor en comparación con seis especies de *Pelargonium spp* obtenidas como accesiones en GenBank NCBI/EUA. 04/02/2021-12/03/2021. 190
- Tabla 37.** Cuadro con resultados de tercera extracción y análisis de ADN en clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E. A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala, 14/07/2021-12/10/2021. 191
- Tabla 38.** Cuadro con análisis comparativo de similitudes entre secuencias empleando la región ITS para clones A y B y tres plantas por clon de plantas de geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. 14/07/2021-12/10/2021. 192
- Tabla 39.** Cuadro con análisis comparativo de similitudes entre secuencias empleando la región rbcL para clones A y B y tres plantas por clon en plantas de geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. 14/07/2021-12/10/2021. 193
- Tabla 40.** Cuadro con análisis comparativo de similitudes entre secuencias empleando la región trnL-psbaA para clones A y B y tres plantas por clon en plantas de geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. 14/07/2021-12/10/2021. 194
- Tabla 41.** Cuadro con resultados de cuarta extracción y análisis de ADN en clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E. A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala, 18/10/2021-15/02/2022. 198
- Tabla 42.** Cuadro con secuencias para Género *Pelargonium spp*, otros Géneros y especies con código de acceso obtenidas como accesiones genéticas del NCBI/EUA y utilizadas para construir árbol filogenético para las regiones trnT-trnL y trnL-trnL 18/10/2021-15/02/2022. 204
- Tabla 43.** Cuadro con secuencias para Género *Pelargonium spp* y especies con código de acceso obtenidas como accesiones genéticas del NCBI/EUA y utilizadas para construir árbol filogenético para la región trnL-trnF. 18/10/2021-15/02/2022. 207

**Tabla 44.** Cuadro con resultados de quinta extracción y análisis de ADN en clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de Olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E. A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala, 21/03/2022-26/04/2022. 212

**Tabla 45.** Cuadro con secuencias para Género *Pelargonium spp* y especies con código de acceso obtenidas como accesiones genéticas del NCBI/EUA y utilizadas para construir árbol filogenético para las regiones trnL-trnL 21/03/2022-26/04/2022. 214

## Índice de Figuras.

- Figura 1.** Fotografía de flor característica de *Pelargonium graveolens* obtenida de cultivo con Geranio de Olor clon A en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, C.A. 13
- Figura 2.** Fotografía de inflorescencia en conformación tipo Umbela en cultivo de plantas de *Pelargonium graveolens* clon A, Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, C.A. 17
- Figura 3.** Fotografía que muestra las diferencias en morfología de la lámina foliar en tres Cultivares de *Pelargonium graveolens* L´Herit.). 20
- Figura 4.** Fotografía mostrando las características del limbo foliar de hojas en diferentes especies y Cultivares de *Pelargonium spp.* 21
- Figura 5.** Dibujo a tinta china mostrando características morfológicas en haz y envés de lámina foliar de planta clon A *Pelargonium graveolens* cultivado en El Salvador, C.A. 39
- Figura 6.** Ubicación geográfica de El Salvador en Centro América. 42
- Figura 7.** Ubicación geográfica exacta en El Salvador del área donde se realizó la investigación en Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador, C.A. 42
- Figura 8.** Acercamiento geográfico del lugar de la investigación en Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador, C.A. 43
- Figura 9.** Vista general de plantación y distribución de las plantas “madres” de *Pelargonium graveolens* por clon en el campo. 50
- Figura 10.** Plano de campo de parcela con cultivo de geranio de olor (*Pelargonium graveolens*) con la distribución de las plantas “madres” de clones A y B en área de trabajo. 51
- Figura 11.** Planta “madre” número uno del Clon B de *Pelargonium graveolens* identificada en el área de trabajo. 52
- Figura 12.** Toma fotográfica general de la plantación con Geranio de olor *Pelargonium graveolens* en la parcela correspondiente al Clon A. 55
- Figura 13.** Muestras foliares por Clon y planta colectadas en parcela correspondiente para extracción de su ADN en el Laboratorio. 59

- Figura 14.** Dibujo a tinta china con características morfológicas en haz y envés de lámina foliar de planta clon B *Pelargonium graveolens*. 73
- Figura 15.** Vista al estereomicroscopio (40x) de los principales órganos en plantas de clones A y B. 74
- Figura 16.** Tricomas glandulares (GI) de forma globosa (flecha roja) y no glandulares (NG) como pelos (flecha negra) presentes en la lámina foliar de hojas en los clones A y B de *Pelargonium sp.*, vistos al estereomicroscopio (40X). 75
- Figura 17.** Vista al estereomicroscopio (40X) del envés de la lámina foliar de accesiones de los clones A y B de *Pelargonium graveolens*. 75
- Figura 18.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de la lámina foliar en corte transversal en clon A (A) a 200x y clon B (B) 169x. 76
- Figura 19.** Microfotografías con microscopio electrónico de barrido (SEM) con tipos morfológicos de tricomas glandulares vistos en lámina foliar y tallo tanto en accesiones del clon A como de B de *Pelargonium spp.* 77
- Figura 20.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de la morfología de tricoma glandular capitado tipo I. 78
- Figura 21.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de la morfología de tricoma glandular capitado tipo II. 78
- Figura 22.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de morfología de tricomas glandulares capitado tipo III (1) 370x y de tricoma glandular tipo peltado sésil (2) 950x. 79.
- Figura 23.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de tricomas no glandulares de *Pelargonium sp.* Clones A y B vistos en lámina foliar (1) y en tallo (2). 80
- Figura 24.** Fotografía mostrando una planta perteneciente al clon A, cultivar el cual posee floración definida. 83
- Figura 25.** Fotografías mostrando características propias de la inflorescencia tipo umbela simple en *Pelargonium graveolens* de accesión del clon A. 85

- Figura 26.** Fotografía con vista del haz de la lámina foliar de accesiones de los clones A y B. 86
- Figura 27.** Fotografía mostrando envés de la lámina foliar de accesiones de los clones A y B. 87
- Figura 28.** Distribución de los principales componentes fitoquímicos del aceite esencial de Geranio para los clones A y B muestras A1, A3, B1 y B3 del cultivar de *Pelargonium graveolens* en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, C.A. 96
- Figura 29.** Gráfica con gel de agarosa al 1.8% mostrando perfil RAPD para las accesiones de *Pelargonium graveolens* clon A (A1, A2, A3) y clon B (B1, B2, B3) con “primers” C1, P13, N8, B12 y P8. 102
- Figura 30.** Gráfica con patrones de bandas encontradas para los “primers” OPB4, OPB5 y OPB12 en geles de acrilamida al 10% con accesiones de clones A y B de *Pelargonium graveolens*. 104
- Figura 31.** Gráfica de patrón de RAPD de seis accesiones de dos clones (A y B) de *Pelargonium graveolens* con los OPB: 04,05,19 y 13 para la identificación de variedades. 114
- Figura 32.** Dibujo a tinta china con detalles de flor en planta de Clon A de *Pelargonium graveolens*. 115
- Figura 33.** Dibujo a tinta china en acercamiento con detalles en flor de planta Clon A de *Pelargonium graveolens*. 120
- Figura 34.** Cromatograma con resultado de análisis del perfil fitoquímico de aceite esencial de geranio AEG, muestra A1r con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 09/02/2022. 160
- Figura 35.** Cromatograma con resultado de análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de geranio AEG, muestra B1r con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 09/02/2022. 173
- Figura 36.** Cromatograma con resultado de análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de geranio AEG, muestra A3 con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 13/06/2022. 180
- Figura 37.** Cromatograma con resultado de análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de geranio AEG, muestra B3 con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 13/06/2022. 185

**Figura 38.** Fotografía de bandas observadas como resultado de primer proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa en tres réplicas de los clones A y B de geranio de olor realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 27/11/2020. 187

**Figura 39.** Árbol filogenético construido como resultado del tercer proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa incluyendo las relaciones de *Pelargonium spp* y especies varias en los clones A y B y tres plantas por cada clon, utilizando la secuencia consenso del gen *trnH-psbA*, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 12/10/2021. 195

**Figura 40.** Árbol filogenético construido como resultado del tercer proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis por agarosa incluyendo las relaciones de *Pelargonium spp* y especies varias en los clones A y B y tres plantas por cada clon, utilizando la secuencia consenso del gen *rbcl*, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 12/10/2021. 196

**Figura 41.** Árbol filogenético construido como resultado del tercer proceso de de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis por agarosa incluyendo las relaciones de *Pelargonium spp* y especies varias en los clones A y B y tres plantas por cada clon, utilizando la secuencia consenso del gen *ITS*, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 12/10/2021. 197

**Figura 42.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a varios Géneros y varias especies de Geraniales con los clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de Olor, utilizando la secuencia consenso del gen *trnL-trnL*, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022. 199

**Figura 43.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a varios Géneros y varias especies de Geraniales con los clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de Olor, utilizando la secuencia consenso del gen *trnL-trnF*, realizados en laboratorio de Protección

Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022. 200

**Figura 44.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a *Pelargonium spp* y varias especies de dicho Género con los clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de Olor, utilizando la secuencia consenso del gen trnT-trnL, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022. 201

**Figura 45.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a *Pelargonium spp* y varias especies de dicho Género con los clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de Olor, utilizando la secuencia consenso del gen trnL-trnL, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022. 202

**Figura 46.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a *Pelargonium spp* y varias especies de dicho Género con los clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de Olor, utilizando la secuencia consenso del gen trnL-trnF, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022. 203

**Figura 47.** Árbol filogenético construido como resultado del quinto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a *Pelargonium spp* y varias especies de dicho Género con los clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de Olor, utilizando la región del cloroplasto trnL-trnL, realizados en laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 21/03/2022-26/04/2022. 213

**Figura 48.** Gráfico con ubicación geográfica de República de El Salvador en el Mundo. 217

**Figura 49.** Mapa oficial de República de El Salvador, Centro América. 217

## **1. Introducción.**

### **1.1. Antecedentes y Justificación.**

Varios estudios en el Mundo evidencian la variabilidad genética, morfológica y fitoquímica que en diversos casos, presenta la Familia Geraniaceae y dentro de ésta, en los Géneros y especies que la conforman. El Género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens* al ser investigado, igualmente también tiene muchas variaciones en las características inicialmente expresadas. En El Salvador, hay muchas especies de los comúnmente llamados “Geranios” que se tienen silvestres ó bien cultivados, principalmente ornamentales y como medicinal en algunos casos. Dentro de éstos, se tiene al llamado como Geranio ó Geranio de Olor considerado inicialmente como *Pelargonium graveolens*, y que no ha sido estudiado como tal, ni como Género ni como especie en El Salvador. No obstante, aunque escasos, hay reportes escritos de zonas en El Salvador en donde se encuentran presentes varios tipos de Geranio, informes en los cuales se menciona su uso además de decorativo, más que todo como medicinal para afecciones gastrointestinales y dermatológicas (Guzmán, D.J. 1975); (Mena Guerrero, M. G., 1994); (Rivera Ayala, R.E. y Flores Martínez, J.A., 2016).

Aquí en El Salvador, independiente de lo anterior, y tomando en cuenta la gran importancia que en el mundo tiene el Aceite Esencial de Geranio (AEG) especialmente para perfumería, cosmética, medicinal, repelente de insectos, industria alimenticia y como saborizante, hay especial interés por parte de una empresa agroindustrial salvadoreña en cultivar comercialmente y en gran escala esta planta ya plenamente identificada para posteriormente extraer su valioso aceite y exportarlo al exterior. Con el cultivo en mayores proporciones se estaría favoreciendo económicamente a los productores y personal agrícola de apoyo en las zonas donde ecológica y técnicamente se puedan desarrollar las plantaciones. Siendo, además la exportación del aceite esencial una fuente adicional de divisas para El Salvador. Todo lo anterior, resume el interés e importancia que se tiene en caracterizar genética, morfológica y químicamente el mejor material vegetativo con que inicialmente se trabaja en las zonas donde se tienen algunas plantas cultivadas, para su posterior uso como “Pie de cría” y de aquí su propagación masiva para establecer entonces, las plantaciones comerciales que servirán de material vegetativo como fuente de materia prima para la extracción y producción de AEG de la mejor calidad fitoquímica y que es lo que requieren las diversas industrias correspondientes en el Mundo.

La Familia Geraniaceae comprende 7 géneros aceptados y 22 pendientes de ser admitidos y más de 805 especies. Son plantas generalmente herbáceas o subarborescentes, anuales o perennes, con frecuencia pubescentes y glandulosas, erectas o rastreras, solitarias o



coloniales, a veces formando “cojines” densos; con hojas simples o compuestas, opuestas o alternas con o sin estípulas, láminas usualmente palmatilobadas, ocasionalmente pinnatífidas o trifidas, raramente sin lóbulos, márgenes generalmente aserrados ; flores con 5 sépalos y 5 pétalos libres; androceo con 5-15 estambres (a veces pueden abortar tres estambres como en el género *Pelargonium*) , gineceo súpero con 5 carpelos ; flores actinomorfas a veces zigomorfas; frutos esquizocarpos o cápsulas que son dehiscentes en su parte media. Con dispersión geográfica ampliamente distribuida principalmente en regiones templadas y subtropicales. (Chávez-Rendón, C. y Medina-Lemos, R., 2019); (Universidad Pública de Navarra, España, 2019); (Universidad de la República UDELAR, Uruguay,2017).

El Género *Pelargonium spp* L. Hér, comprende más de 270 especies, originándose la mayoría de las conocidas en el sur de África, países cercanos y también de Europa. Varias de las especies dentro del Género, tienen notables aplicaciones comerciales debido a su característico aceite esencial. El aceite esencial destilado, obtenido de las plantas tiene un alto valor económico en el mundo. El aceite esencial de Geranio llamado aceite esencial rosa o aceite esencial con olor a rosa, tiene una fuerte fragancia agradable con olor a rosa y un toque de menta, que es muy utilizado como sustituto del costoso aceite de rosa, llegando incluso a conocerse como “aceite de rosa del pobre”. En general, el aceite esencial de geranio con aroma a rosa es empleado principalmente como agente saborizante en alimentos, cosméticos, perfumería e industria farmacéutica. (Nanorliya, L.K. et al., 2019) ; (Blerot, B., et al ., 2016) ; (Lis-Balchin, M.T., 2004).

Etimológicamente *Pelargonium* es el nombre genérico que deriva de la palabra griega “Pelargos” que significa “cigüeña” aludiendo al fruto de la planta con la forma del pico de esa ave; de hecho, varios de los miembros de esta familia toman sus nombres de aves de pico largo como lo es Pelargos (Cigüeña), Geranio (Grulla) y Erodios (Garza). (Roca, M.G., 2013).

En el género *Pelargonium sp*, las plantas pueden tener hábitos de arbustos, subarbustos, plantas trepadoras, hierbas anuales o perennes, caulescentes o acaules; algunos táxones extraibéricos tienen plantas a menudo con vellos y glándulas más o menos aromáticas, glabrescentes, a veces espinosas. (Crespo, M.B., s.f.). Con frecuencia son leñosas en la base de la planta y ramas con madera blanda y otras suculentas. Varias de esas plantas son aromáticas, con hojas usualmente pecioladas y por lo general pubescentes, regularmente con glándulas aromáticas; las flores raras veces solitarias, zigomorfas, pentámeras con usualmente 5 pétalos coloreados; el fruto es esquizocarpo rostrato (es decir que el fruto

termina en una punta parecida al pico de un ave), con una semilla, más o menos oblongo-ovoide, sin endosperma y embrión curvo (Strlic, M., 2017).

Dentro del género *Pelargonium* hay varias especies, variedades ó cultivares, las cuales son utilizadas para la producción comercial de aceite de geranio (Tamai, T., et al.,1958). Dentro de las especies, unas se cultivan como ornamentales por su belleza, otras especies como *Pelargonium graveolens* se utilizan en la industria de perfumería para destilar y obtener su aceite esencial. Aunque existen especies con aromas cítricos, mentolados o frutales, las variedades con aroma a rosa son los más comercializadas e igualmente demandadas. Los destilados y absolutos de Pelargonio comúnmente conocidos como aceite aromatizado de geranio, se utilizan en ocasiones como suplemento o adulterante de los costosos aceites de rosas. Además de su uso en perfumería, cosmética y ornamental, *Pelargonium graveolens* tiene propiedades medicinales como antifúngico, antioxidante, antiinflamatorio, antibacteriano, con potencial actividad en enfermedades metabólicas y en general, como un efectivo antimicrobiano. (Hamidpour, R. et al., 2017); (Neagu, A.F. et al., 2018); (Boukhatem, M.N., et al., 2013); (Kabera, J. et al., 2013) ; (Dzamic, A.M. et al., 2014); también es utilizado como aditivo alimenticio saborizante. (USDA, ARS, National Genetic Resources Program, 2009).

El Geranio ornamental ó de jardín (*P. x hortorum* ; sinónimo *P. zonale*) , es una de las plantas ornamentales más comúnmente cultivada en macetas y con más de 200 variedades.

Otra clasificación más estricta divide a los Geranios cultivados en tres tipos : a) Geranio zonal ó *Pelargonium x hortorum*, *Pelargonium x peltatum*, *Pelargonium x grandiflorum* ó *Pelargonium x domesticum* (En realidad, son el resultado de numerosas hibridaciones con hojas y flores de diversos colores ); b) Pelargonios de hojas olorosas (*Pelargonium capitatum*, *Pelargonium crispum*, *Pelargonium graveolens*, *Pelargonium radens*, *Pelargonium odoratissimum*, *Pelargonium tomentosum*, entre otros) y c) Pelargonios de hojas con mezclas de varios colores o Pelargonios de fantasía (InfoAgro, s.f.).

El AEG es extraído de plantas que pertenecen a especies del género *Pelargonium* principalmente la especie *Pelargonium graveolens* (L) comúnmente conocido como geranio rosa ó geranio con esencia olor a rosa. Otras fuentes incluyen *P. odoratissimum* Ait., *P. capitatum* Ait., *P. crispum* (L.), *P. rádula* (Cav.), *Geranium maculatum* (L.) denominado aceite de geranio de Argelia y *Geranium macrorhizum* (L.) o sea, aceite de geranio Búlgaro o de Bulgaria. (Baker, B.P. y Grant, J.A., 2018).

La producción mundial del aceite esencial de Geranio está estimada en 250-300 toneladas mientras que su demanda es más de 500 toneladas anualmente (Srinivasa, I.V.,2011); (Dasuki, U.A.,2016). Las fuentes primarias u originales de AEG han sido países como Egipto,

China y Comoras con alguna reciente producción de plantas cultivadas en la India y sur de África. También otros países que producen aceite esencial de Geranio son Argelia, Marruecos, España, Francia, Reino Unido y Ruanda. (Baker B.P. y Grant, J.A.,2018).

Se sabe que las plantas productoras de este aceite esencial fueron originalmente cultivadas en el sur de Francia, Marruecos y Túnez. (Lis-Balchin, M.T., 2004).

Ya comercialmente, el mercado mundial del AEG ha sido segmentado en 4 regiones claves: Europa, Norte América, zona del Pacífico de Asia y resto del Mundo. También está dividido por tipo de aceite, por su aplicación o uso, por canal de distribución y por región geográfica (Transpagrency Market Research, 2017).

En el pasado, el principal productor comercial de material vegetal de *Pelargonium graveolens* y su aceite esencial fue la Isla de Reunión; actualmente, China es el principal productor en cuanto a cantidades del aceite se refiere. Otros grandes productores ya más recientes son Egipto, Marruecos, Reunión, India y la Unión soviética (Dasuki, U. A., 2016).

En el caso de El Salvador, en definitiva, no se cultiva comercialmente como tal, posiblemente hay eventuales plantas que se tienen como silvestres y esporádicamente en algunos lugares considerada como planta ornamental y posiblemente medicinal, excepto es el caso de dos pequeñas plantaciones consideradas como comerciales que se tienen en la zona del Volcán de Santa Ana; existiendo en este lugar un gran potencial por las áreas factibles alrededor así como por los productores locales interesados en el cultivo. Estas dos plantaciones se pueden considerar como producto de la aplicación o el uso concreto de la bioprospección que se define como la exploración de la biodiversidad para fines comerciales, lo cual se ha convertido en los últimos años en una potencial estrategia mediante la cual, los países ricos en biodiversidad pueden aumentar sus capacidades endógenas para realizar actividades de Ciencia y Tecnología, en especial mediante la interacción con otros países de mayor desarrollo tecnológico. (Duarte, Torres, O., Velha. L., 2009).

## **1.2. Problema científico.**

Caracterizar plena y científicamente por sus componentes genéticos, morfológicos y fitoquímicos a las plantas de *Pelargonium* sp que se están cultivando comercialmente en El Salvador para obtener su aceite, siendo entonces identificado como aceite esencial de Geranio (AEG) ó aceite esencial con olor a rosa.

## **1.3. Hipótesis.**

De acuerdo a la caracterización morfológica, genética, y química, al menos uno de los dos clones de Geranio cultivados para obtener aceite esencial de geranio en El Salvador pertenece al Género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens*.

## **1.4. Objetivo General.**

Caracterizar morfológica, molecular y químicamente a dos Clones de plantas inicialmente estimadas como Geranio de olor (*Pelargonium spp*) cultivadas en zona geográfica del Volcán de Santa Ana, Cantón Palo de Campana, Departamento de Santa Ana en El Salvador, C. A.

## **1.5. Objetivos Específicos.**

- Definir a nivel morfológico y molecular sí la población de plantas que están siendo cultivadas en área de estudio en El Salvador corresponde al género *Pelargonium*, especie *Pelargonium graveolens* (Llamada comúnmente Geranio rosa o Geranio con olor a esencia de rosa).
- Determinar a nivel de laboratorio, los diversos componentes que conforman el perfil fitoquímico del Género y especie caracterizado.
- Cuantificar en el aceite esencial del género y especie definidos, los contenidos porcentuales de Geraniol y Citronelol y de aquí, las proporciones de ambos componentes para determinar fitoquímicamente la calidad del aceite de Geranio obtenido.

## 1.6. Resultados concretos esperados.

- Definir género y especie de los dos clones cultivados de geranio de olor en Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador. Centro América.
- De los dos materiales genéticos en estudio, definir cual Clon de *Pelargonium spp* tiene mejor calidad del aceite esencial de Geranio obtenido por sus contenidos en los diferentes componentes químicos encontrados.
- Al observar su morfología, poder diferenciar que especie de *Pelargonium spp* se tiene de acuerdo a los dos tipos de plantas que se están cultivando.
- Definir integralmente, cual material genético es el mejor por todo lo analizado y de aquí, promover su cultivo para su expansión en el área de estudio y en otras más factibles agronómicamente en el país, pretendiendo disponer de suficiente material vegetativo para en lo posterior, extraer su aceite esencial y su exportación.
- Con los resultados obtenidos en las tres valorizaciones, pero en especial por la caracterización química-molecular, disponer del respaldo legítimo necesario para proteger legalmente al material vegetativo de *Pelargonium spp* a utilizar masivamente en El Salvador, y por tanto, también su protección en el mercado exterior del aceite esencial de Geranio (AEG) obtenido y a comercializar.

## **2.0. REVISIÓN DE LITERATURA.**

### **2.1. Plantas aromáticas, saborizantes, medicinales y condimentarías (PASMIC).**

#### **2.1.1. Definición.**

Las plantas aromáticas, saborizantes, condimentarías y medicinales son un grupo extenso de plantas utilizadas por sus beneficios medicinales, saborizantes y aromatizantes, teniendo este grupo de plantas como característica común, un elevado contenido de sustancias o principios activos con propiedades químicas, bioquímicas y organolépticas muy específicas que permiten su uso con finalidades terapéuticas, aromáticas, gastronómicas, entre otras. (INTAGRI, 2021).

El Sistema de información sobre Comercio Exterior SICE dependiendo de la Organización de Estados Americanos OEA, clasifica a los aromatizantes/saborizantes naturales como aquellos obtenidos exclusivamente mediante métodos físicos, microbiológicos o enzimáticos, a partir de materias primas aromatizantes/saborizantes naturales. Entendiéndose por materias primas aromatizantes/saborizantes a los productos de origen animal o vegetal normalmente utilizados en la alimentación humana, que contengan sustancia odoríferas y/o sápidas, ya sea en su estado natural o después de un tratamiento adecuado (tal como torrefacción, cocción, fermentación, enriquecimiento enzimático, entre otros).

Los aromatizantes/saborizantes naturales comprenden: aceites esenciales; extractos; bálsamos, oleorresinas y oleogomorresinas; y sustancias aromatizantes/saborizantes aisladas. Definiéndose por aceites esenciales a los productos volátiles de origen vegetal obtenidos por un proceso físico (destilación por arrastre con vapor de agua, destilación a presión reducida u otro adecuado). Los aceites esenciales pueden presentarse aisladamente o mezclados entre sí; rectificados, desterpenados o concentrados. (Sistema de Información sobre comercio exterior, SICE/OEA., 2022).

#### **2.1.2. Formas comerciales de las PASMIC.**

La FAO, incluye a todas las PASMIC en un grupo de productos denominados Productos Forestales No Madereros PFM, definiéndose a éstos como los bienes de origen biológico, distintos de la madera, derivados del bosque, de otras áreas forestales y de los árboles fuera de los bosques (Fernández, A. A., 2006).

(Grande Tovar, C.D. y Delgado Ospina, J. 2015), cita a Rugeles et al., para aseverar que en Colombia, los ingredientes naturales que pueden incluirse dentro de las PASMOC es muy amplio y comprende en general las siguientes categorías : tintes y colorantes, condimentos y especias, aromatizantes, aceites esenciales, principios activos para el tratamiento de enfermedades (Fitoterapia), grasas, ceras y mantecas, savias, gomas resinas y oleoresinas, jugos, pulpas, extractos, zumos y concentrados , harinas y almidones.

### **2.1.3. Consumo y uso de las PASMOC.**

Walster S. y Lampietti, J.A. citados por (FAO., 1996), calculan que el valor de las PASMOC en el mundo, puede ser muy similar al valor de la madera. Vantomme P. citado por (Fernández, A.A.,2006) estima en unos 150 ejemplares de PFNM que son de gran trascendencia en el comercio internacional. Este mismo autor, citando fuentes de las Naciones Unidas para el Comercio y el Desarrollo UNCTAD, estima el comercio mundial de esos productos en 11 mil millones de dólares. Dentro del marco de las PFNM, las PASMOC se encuentran entre los productos más trascendentales en cuanto al valor de la producción y del comercio mundial. (Fernández, A. A.,2006).

Según la FAO, los productos forestales no madereros (PFNM), incluyen a todo producto tangible diferente a la madera en pie, en rollo, leña y carbón vegetal que provienen de bosques o de cualquier superficie de tierra bajo uso similar, así como de plantas leñosas.

Las PFNM incluyen una variedad de productos que caen en las amplias categorías de alimentos y aditivos alimentarios, alimento para animales, fibra y sedas, fertilizantes (biomasa), productos fitoquímicos y químicos aromáticos, aceites, látex, resinas y otros exudados, materiales orgánicos para construcción, artículos decorativos y productos animales. (FAO, 1996).

### **2.1.4. Las PASMOC en Latinoamérica.**

El cultivo de plantas aromáticas es uno de los recursos alternativos más empleados en la actividad agropecuaria de todos los países independientemente de que sean desarrollados o en vías de desarrollo. Su injerencia en las economías regionales de este último grupo de países es lógicamente mayor, debido a la normalmente reducida importancia de otras producciones industriales o agrícolas. Si se toman como parámetros de comparación los volúmenes de exportación de plantas aromáticas, especias y productos relacionados, e incluso la demanda del mercado interno en cada uno de los países latinoamericanos, surgen

rápidamente tres o cuatro países como líderes no solamente de la región sino en el contexto internacional: Brasil, Argentina, México y Perú merecen estar en este plano (DellaCassa, E., 2010).

La mayoría de los países en América latina exportan plantas aromáticas y medicinales, el problema es la escasez de datos estadísticos en relación con el tipo de planta, volúmenes exportados y el valor FOB. En América Central destacan al respecto Costa Rica, Nicaragua, Guatemala y Honduras. (Ocampo, R.A., 2002). Sobresale, sin embargo, México en donde el uso de las plantas medicinales está ampliamente difundido y muchas de ellas son objeto de un activo comercio a nivel nacional e internacional. Se han utilizado como materia prima para la elaboración de preparaciones tradicionales con la finalidad de controlar la prevalencia de ciertas enfermedades infecciosas, resolver problema de resistencia de los microorganismos y los efectos colaterales de algunos antimicrobianos sintéticos. (Espinosa, M.J., et al., 2017).

#### **2.1.4.1. Cultivo y uso de PASMIC en El Salvador, C.A.**

Desde épocas de la Colonia, se han cultivado de forma rústica algunas hierbas y especias que se utilizaban para fines culinarios y medicinales. En los años 60 ya se identificaba una oportunidad de mercado y se consideraban algunas debilidades como la ausencia de investigación para la introducción de nuevos cultivos y la falta de técnicos especializados en esta área. A pesar de esta situación, se consideraba que era importante desarrollar cultivos de nuevos productos que proveyeran al país de nuevas fuentes de ingreso y diversificación agrícola.

En la década de los 70, se identificaron cuatro zonas climáticas en el país, estimándose que las áreas ubicadas en aquel entonces como de zona media (De 800 a 1200 metros sobre el nivel del mar msnm) con topografía ondulada quebrada y cultivada principalmente por café, se consideraba la zona más promisoría para la siembra de plantas aromáticas. En ese entonces, especias identificadas como de posible cultivo en el país fueron: jengibre, canela, pimienta “gorda”, pimienta negra o de castilla, vainilla, hierba buena, orégano, clavo de olor, chile picante y cardamomo.

En años recientes hasta llegar a la actualidad, según consultas realizadas en la Dirección general de Economía Agropecuaria y la Dirección de Agronegocios del Ministerio de Agricultura y Ganadería, en el país no existe producción comercial de especias, ya que la mayoría de estos cultivos se dan a nivel casero, en áreas dispersas y muy pequeñas.



La mayoría de especias que se consumen localmente son importadas; sin embargo, hay algunas zonas en las que se han identificado cultivos a pequeña escala de hierbas aromáticas y especias como cilantro, perejil, orégano, pimienta negra, cúrcuma, achiote (Umaña, G., 2009).

#### **2.1.4.2. Cultivo y uso de *Pelargonium graveolens* en El Salvador, C.A.**

Rivera Ayala R.E. y Flores Martínez, J.A. en su trabajo de investigación realizado en zona de San Ignacio, Chalatenango, reportan haber encontrado a lo que ellos llaman Geranio de olor; sin embargo, por como lo denominan y por las características reportadas, se considera que no es el Geranio olor a rosa del Género *Pelargonium* y especie *Pelargonium graveolens*. (Rivera Ayala, R.E. y Flores Martínez, J.A., 2016).

El Geranio de Olor o con esencia u olor a rosa, y denominado como *Pelargonium graveolens*, por sus hábitos de crecimiento y requerimientos edafoclimáticos, ecológica y agronómicamente podría cultivarse en diversas zonas de El Salvador; siendo interesante y factible su cultivo en áreas de topografía inclinada como lo son muchas zonas volcánicas y montañosas en el país. Por todo esto, se realizaron en el país expediciones de campo en la búsqueda de material vegetativo de dicho Género, encontrándose inicialmente una pequeña plantación de Geranio con dos fenotipos de plantas y con definidas diferencias entre sí, en la zona del Volcán de Santa Ana, específicamente en el Caserío Guadalupe, Cantón Palo de Campana, municipio de Santa Ana, Departamento de Santa Ana con altitud promedio de 1745 metros sobre el nivel del mar. Podría afirmarse que el origen o la procedencia de estas plantas proviene de introducciones que hace muchos años hicieron agricultores progresistas o visionarios con apoyo de empresas perfumistas francesas. Arctander, S. (Arctander, S., 1994), sin mencionar lugares, áreas, ni otra información, reporta el cultivo de *Pelargonium* spp en El Salvador con intervención y financiamiento Francés para la favorable producción de aceite esencial de Geranio, agregando que el aceite esencial fue aprobado exitosamente en su fase experimental, llegando entonces a tener expectativas de poder producir anualmente de 20 a 50 toneladas métricas de aceite de Geranio, agregando que dicho aceite no había sido comercializado como aceite esencial de Geranio de El Salvador (Arctander, S., 1994); presumiéndose que todo esto se refiere a los vestigios de las plantas que como antes se mencionó, fueron encontradas en la zona del Cantón Palo de Campana y donde se realizó el trabajo de investigación que aquí se reporta.

Independientemente de lo anterior, en El Salvador hay varias especies, variedades y/o cultivares de los Géneros *Pelargonium* y *Geranium* cultivadas algunas en forma casera y otras silvestres, que se utilizan como ornamentales y medicinales más que todo.

## **2.2. Clasificación científica y descripción botánica de *Pelargonium graveolens*.**

### **2.2.1. Botánica.**

Los miembros de la familia Geraniaceae se distribuyen por todo el mundo, encontrándose tanto en zonas frías como en zonas tropicales: Europa, zona del Mediterráneo, Asia Central, Australia, África, Norte América, Centro América y Suramérica.

En lo que se refiere al Género *Pelargonium*, más de un 90 por ciento de las aproximadamente 280 especies dentro del género y en lo que coinciden diversos autores, son originarias del sur de África, mientras que las especies pertenecientes al género *Geranium* proceden principalmente de Asia Central.

Taxonómicamente el Geranio se clasifica dentro de la Familia Geraniaceae Juss. Según varios autores, esta familia incluye entre cinco y once géneros a los que pertenecen unas 750 especies. Los géneros más conocidos son *Erodium* y *Geranium* a nivel de plantas silvestres y *Pelargonium* en cuanto a plantas de jardines o sean cultivadas.

Cuando se refiere a Geranio, en realidad se está hablando de numerosas especies y dos géneros distintos: *Pelargonium* y *Geranium*. Los nombres de estos géneros normalmente se confunden debido a que el término “Geranio” es el nombre común y generalizado de ciertas especies de *Pelargonium*. La diferencia entre ambos géneros fue establecida por L’Héritier, destacando que las principales características que los distinguen son la presencia en *Pelargonium* de un tubo nectario y la diferencia en el número de estambres. Los nombres de cada Género proceden del griego y se refieren a las formas semejantes a los picos de aves que adquieren sus frutos. Así, la palabra “*Geranium*” proviene de geranos que significa grulla y “*Pelargonium*” deriva de Pelargos, que significa cigüeña.

El gran número de especies incluidas dentro del género *Pelargonium* L., se divide en la actualidad en dieciséis subgéneros o secciones. La clasificación de los individuos pertenecientes a este género varía a medida que se van realizando estudios para conocer mejor las relaciones que existen entre ellos. Estas dificultades se deben a que muchos de los geranios que actualmente conocemos, son híbridos con una herencia compleja que proceden de cruzamientos realizados entre diferentes especies durante siglos (Roca, M.G., 2013).

Botánicamente la familia Geraniaceae está formada por plantas herbáceas, aunque también pueden ser arbustos o semi-arbustos con tallos gruesos y carnosos. Las plantas del Género *Pelargonium spp* son plantas vivaces de follaje perenne (a diferencia de las plantas pertenecientes al Género *Geranium*), casi siempre arbustivas. Tienen una base leñosa a semileñosa, pero los nuevos brotes son tiernos y de coloración verde. En condiciones favorables pueden alcanzar más de un metro de altura. Hay algunas variedades llamadas “variedades enanas” que no alcanzan más de 25 centímetros de altura y hay otras aún más pequeñas llamadas “miniaturas”.

Toda la planta está cubierta por una fina capa pilosa. Los pelos glandulares del tallo, pecíolo y hoja producen las características fragancias por los terpenos presentes en estas especies. El tallo es grueso, más ramificado en la base de la planta. Presenta parejas de estípulas verdes en forma de triángulos que se unen de forma persistente en la zona de la yema. Las hojas son gruesas, curvadas en la base y con un aspecto aterciopelado. Pueden llegar a tener más de diez centímetros de envergadura, son palmeadas y tienen de tres a cinco lóbulos poco profundos con un borde ondulado. Se unen al tallo mediante un pecíolo largo. Las hojas se sitúan en el tallo de forma alterna en la parte superior y opuesta en la zona inferior. Las tonalidades verdes varían en función de la variedad y en algunos casos pueden tener una “zona” característica en el centro del haz y paralela al borde de la hoja, y es esta característica a la que le debe su nombre específico el Geranio Zonal (*Pelargonium x hortorum*). La banda es debida a la presencia de antocianinas y puede ser de color negro, castaño, rojo, bronce o carmín (color rojizo-purpúreo). Algunas especies destacan por sus hojas teñidas de blanco o amarillo, pueden ser variegadas, bicolors e incluso tricolors.

Las especies del Género *Pelargonium*, tienen una inflorescencia compuesta redondeada situada al final de un pedúnculo floral. Las inflorescencias se conforman por docenas de flores pentámeras y están agrupadas en umbelas densas y compactas. Las flores pueden ser de tres tipos: simples, con 5 pétalos, semidobles que tienen de 6 a 15 pétalos y dobles donde se observan más de 16 pétalos. Los colores de las flores son claros y brillantes con tonalidades muy variadas que incluyen colores como blanco, crema, naranja, rosa, salmón, rojo, malva, morado y combinaciones de estos. En muchas ocasiones poseen un color más intenso en el interior de los pétalos (Figura 1). Los frutos tienden a curvarse en forma de pico y son esquizocarpos, que es una forma de fruto entre dehiscente e indehiscente donde cada uno de los cinco mericarpos o sea que cada porción del fruto, contiene una semilla. Cuando los frutos maduran se escinden y pueden ser diseminadas las semillas por el viento o por animales. La cápsula del fruto tiene un color verde y cuando madura se torna marrón (Guillot, O.D., 2012); (Roca, M.G., 2013).



**Figura 1.** Fotografía de flor característica de *Pelargonium graveolens* obtenida de cultivo con Geranio de olor clon A en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, C.A.

Las especies de este género son muy diversas, por su apariencia en general, por el color de las flores, pero especialmente por la morfología de las hojas. (Salama, A.M. et al., 2016). La especie *Pelargonium graveolens*, es una planta arbustiva, bien ramificada con hojas relativamente largas, bordes recortados y con presencia de pelos que le confieren una textura aterciopelada. Esos pelos poseen a las glándulas responsables del almacenamiento del aceite esencial y que le confiere un aroma único debido más que todo a la presencia de Citronelol y Geraniol (Goncalves Rabelo, P., 2014). Botánicamente, los pelos mencionados son llamados tricomas, existiendo dos grandes grupos de tricomas: los protectores y los glandulares, pudiendo ser ambos unicelulares o pluricelulares. Los tricomas glandulares tienen un tallo que sostiene una cabeza secretora que puede ser igualmente uni o pluricelular (Universidad de Vigo, 2022).

### 2.2.2. Taxonomía.

*Pelargonium graveolens* L'Hér, 1789 que corresponde a Geranio rosa o geranio con olor a rosa, es una especie sufruticosa perteneciente a la familia de las Geraniaceae, desde el punto de vista sistemático, pertenece a:

Dominio	Eucariota
Reino	Plantae
Subarign	Tracheobionta
Superdivisión de	Espermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Geraniales
Familia	Geraniaceae
Género	<i>Pelargonium</i>
Especie	<i>Pelargonium graveolens</i> .

Los siguientes términos son sinónimos:

*Geranospermum terebinthenaceum* (Cav.) Kuntze;

*Geranium graveolens* (L'Hér.) Thunb ;

*Geranio rádula* Roth :

*Geranio terebinthinaceum* Cav. ;

*Hoarea intermixta* Sweet ;

*Pelargonium asperum* Exrh. Ex Willd ;

*Pelargonium intermedium* R. Knuth ;

*Pelargonium terenbinthinaceum* Pequeño.

(Bissanti, G., 2021); (Integrated taxonomic Information System, ITIS.,2022); (Naciona Center for Biotechnology Information, NCBI., 2020).

La familia Geraniaceae contiene siete Géneros (*Geranium*, *Pelargonium*, *Erodium*, *Monsonia*, *Hypseocharis*, *Rhynchotheca* y *Sarcocaulon*). El Género *Pelargonium* consta de unas 280 especies y contiene un amplio rango de variación en cuanto a su morfología floral y formas de vida. Dentro de las 16 secciones del Género *Pelargonium*, dos son extremadamente importantes para el mercado de plantas ornamentales. La sección *Pelargonium* es cada vez más importante bajo el término de las ventas o el comercio, por

los olores o el perfume de la esencia de *Pelargonium*. (Rivera Ayala, R.E. y Flores Martínez, J.A., 2016); (Plgaschil, S. et al., 2016).

### 2.2.3. Filogenia.

*Pelargonium spp* es el segundo género más grande de las Geraniaceae, llegando a contener de 200 a 280 especies. También es el tercer género más grande en la región del Cabo Florístico en Sud Africa. Estudios previos han estimado relaciones filogenéticas de *Pelargonium* por medio de marcadores a nivel de plástidos, mitocondriales y nucleares; sin embargo, al respecto, el muestreo taxonómico fue limitado a sólo 20 de entre las especies incluidas y solo estaban secuenciadas para tres marcadores. (Weng, M.L., et al., 2012) trabajaron en la filogenia de 58 especies de *Pelargonium* usando cinco marcadores plastidos (rbcl, matK, ndhF, rpoC1, trnL-F) y un gen mitocondrial (nad5). Los resultados confirmaron la monofilia de los tres mayores clados y cuatro subclados dentro de *Pelargonium* pero también indicaron la necesidad de revisar algunas clasificaciones seccionales.

La planta surafricana predominante del Género *Pelargonium spp* L'Hér (Geraniaceae) muestra una notable diversidad morfológica, varios números básicos de cromosomas así como altos niveles de reordenamientos genómicos de organelos, y representa el séptimo más grande clado de la región florística del cabo surafricano. En lo morfológico su diversidad varía en formas de vida que van desde plantas anuales herbáceas, arbustos a subarbustos leñosos, plantas geófitas, hierbas en rosetas a tallos suculentos y una bien marcada variación morfológica en lo floral y en sus hojas. *Pelargonium* también se caracteriza por una extensa variabilidad genómica con seis diferentes números básicos de cromosomas, sustancial variación en el tamaño del genoma nuclear, la ocurrencia independiente de varias series de poliploides y sin precedentes niveles en la variación de los genomas en organelos. Además, muchas especies presentan herencia biparental e incompatibilidad citonuclear (Van de Kerle, S.J., et al.; 2019).

(Bakker, F.T. et al., 2004). mencionan hipótesis filogenéticas para el más grande Género de *Pelargonium* en el sur de África y es que se derivaron de la secuencia de ADN con datos de regiones del núcleo, cloroplastos y mitocondriales. Se encontró que *Pelargonium* consta de cinco clados principales, algunos con patrones evolucionarios contrastantes con respecto a su distribución biogeográfica, capacidad de dispersión, polinización y diversidad cariológica. Los cinco principales clados están estructurados en otros dos clados (subgéneros) que correlacionan con el tamaño de los cromosomas. Uno de estos clados incluye un clado de invierno lluvioso que contiene a más del 70 % de todas las especies de *Pelargonium spp*

actualmente descritas y que están restringidas a la región del invierno con mucha lluvia del Cabo Sudafricano.

(Roeschenbleck, J. et al., 2014), resumen que los estudios filogenéticos moleculares previos de *Pelargonium* no han sido concluyentes con respecto a los patrones de ramificación de los principales linajes infragenéricos, con la excepción de una división casi genérica que refleja diferencias en la longitud de los cromosomas. Debido a ésto y a la falta de caracteres morfológicos claramente diferenciados, hasta ahora no se ha realizado una apropiada clasificación sub-genérica.

#### **2.2.4. Hábitos de crecimiento, hojas, tallos, inflorescencias, raíces, tricomas.**

Las plantas de *Pelargonium graveolens* son arbustos o hierbas sufruticasas o sea que son plantas herbáceas, generalmente muy ramificadas; erectas, pubescentes, con tallo cilíndrico leñoso más que todo en su base, que es verde cuando joven y se va volviendo color café lignificándose cuando envejece. Las hojas son alternas, estipuladas, simples, pecioladas, con limbo elíptico-orbicular, palmapartido, con cinco lóbulos primarios y secundarios densamente pubescentes. La inflorescencia es una umbela (Figura 2) con bráctea membranosa y con vellosidades; las flores son hermafroditas o bisexuales, zigomorfas, pentámeras, hipóginas. Cáliz con sépalos soldados en la base. Corola con pétalos libres, rosados, unguiculados (O sea que son pétalos terminados en una estructura semejante a una garra ó uña), los dos pétalos superiores con venas púrpuras marcadas. Androceo de 10 estambres con filamentos que son igualmente unidos en su base; las anteras son siete, el ovario es peludo, superior, pentacarpelar y sincarpo, el estilo también es peludo, que rompe distalmente dentro de 5 estigmas; gineceo de 5 carpelos soldados, fruto es esquizocarpo (Srinivasa, I.V., 2011).



**Figura 2.** Fotografía de inflorescencia en conformación tipo **Umbela** en cultivo de plantas de *Pelargonium graveolens* clon A, Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, C.A.

Como en la mayoría de especies de la Familia Geraniaceae, la superficie de órganos vegetativos y reproductivos de *P. graveolens* tienen tricomas glandulares y no glandulares. Varios autores citados por Blerot, et al. 2016, mencionan que las hojas de *Pelargonium* están cubiertas con tricomas, siendo conocido que corresponden a adaptaciones de la planta ante “stress” biótico y abiótico.

Los tricomas son apéndices epidérmicos de diversa forma, estructura y función. A pesar de la variedad de sistemas que existen para clasificar los diversos tipos de tricomas, recientemente hay una clasificación que los subdivide en tipo glandular con una función secretoria y como pelos o vellosidades que sólo recubren (no glandulares) sin función secretoria (Oosthuizen, L.M. y Coetzee, J.L., 1983).

(Boukhris M. et al., 2013) en trabajo de investigación realizado en Túnez, encontraron dos tipos de tricomas: glandulares y no glandulares. Los tricomas no glandulares fueron observados en todas las partes aéreas de la planta (lámina foliar, pecíolo, tallo, pedicelo, brácteas, sépalo, estilo y estigma). Ellos fueron rectos o inclinados con la superficie suave o granular y puntiagudo en el ápice. En la hoja y sépalo fueron más numerosos en la parte abaxial que en la superficie adaxial. También fueron encontrados sobre las venas de los márgenes de la lámina foliar. Los tricomas glandulares fueron clasificados por su morfología



en dos tipos (capitados y peltados) y pueden ser distinguidos por el tamaño de la cabeza y por la longitud del tallo. Están compuestos o formados por un tallo basal y células secretorias. Algunas veces se ha observado una estrecha célula de cuello corto. Los tricomas capitados fueron encontrados en tres tipos con diferentes estructuras y formas. Algunos tipos están en todas las porciones aéreas de la planta y otras sólo en lámina foliar, tallo y sépalo. Para el caso de los tricomas peltados, tienen una cabeza engrandecida debido a la acumulación del aceite esencial dentro del espacio subcuticular. Vesículas secretorias granulares fueron observadas dentro del espacio subcuticular. Este tipo de tricomas fueron especialmente observados en el tallo y el cáliz. Como producto de la investigación se detectó que los tricomas glandulares fueron más numerosos en las hojas (cara abaxial, cara adaxial y pecíolo) y de ser responsables de la producción de los metabolitos secundarios o sea el aceite esencial, lo que está de acuerdo en el resultado de que mayores cantidades de aceite esencial fueron encontradas en el orden de las hojas, en las flores y muy poco en los tallos. Siendo notable la presencia de tricomas glandulares particularmente de tricomas peltados.

#### **2.2.5. Cultivares y Variedades.**

Cantidad diversa de variedades y/o cultivares de *Pelargonium graveolens* son plantadas en varios países en el mundo, destacando entre estos India, China, Francia, Reunión, Egipto, España, Marruecos, Argelia, Túnez y otros más. (Boukhris, M., et al., 2013).

Entre las principales variedades ó cultivares de *P. graveolens* en el Mundo encontramos: Bourbón, Rosé, Kelkar, Bio-G-171, CIM-Pawan, Reunión, Narmada, Argeliano, Tunesino, Egipto, principalmente. (Boukhris, M., et al., 2013); (Rajeswara, B.R. y Bhattacharya, A.K., 1992); (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010); (Kumar, D., et al., 2021); (Demarne, F. y Van Der Walt, J.J.A., 1989).

Generalizando en el comercio mundial, son tres los tipos de AEG que son reconocidos, los cuales son denominados como Reunión o Bourbón, Africano o Egipto y Chino. (Kulkarni, P.N., et al., 2000). La calidad ó tipo de aceite de geranio está muy relacionada con su origen genético donde también, la variedad o cultivar es determinante.

### 2.2.5.1. Diferenciación morfológica y taxonómica entre Cultivares y Variedades.

**Cultivar o Variedad Bourbón:** cultivada en la India, es un arbusto erecto de unos 90 centímetros de alto y 100 centímetros de diámetro. Las hojas son palmadas con lóbulos secundarios pinnados, los márgenes son segmentados, algunas veces vellosos; la inflorescencia es una umbela, teniendo de 3 a 7 flores por cada pseudumbela; en la planta se encuentran pelos no glandulares de un solo tipo y 2 tipos de pelos glandulares, uno del tipo pequeño y el otro más grande o largo (Rajeswara, B.R. y Bhattacharya, A.K., 1992). (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A.; 2010) consideran a Bourbón como uno de los Cultivares élites de *Pelargonium graveolens* L' Herit. que son estudiados y cultivados en la India, destacando que el cultivar se caracteriza por tener hojas dentadas o partidas y con menos pubescencia en la lámina foliar; el rendimiento del aceite esencial obtenido en Bourbón fue de 0.4 % considerado como intermedio y con valores promedios estimados como altos en los componentes del aceite esencial específicamente para Geraniol con 19.12 %, 31.58 % de Citronelol y 4.45 % para Linalool.

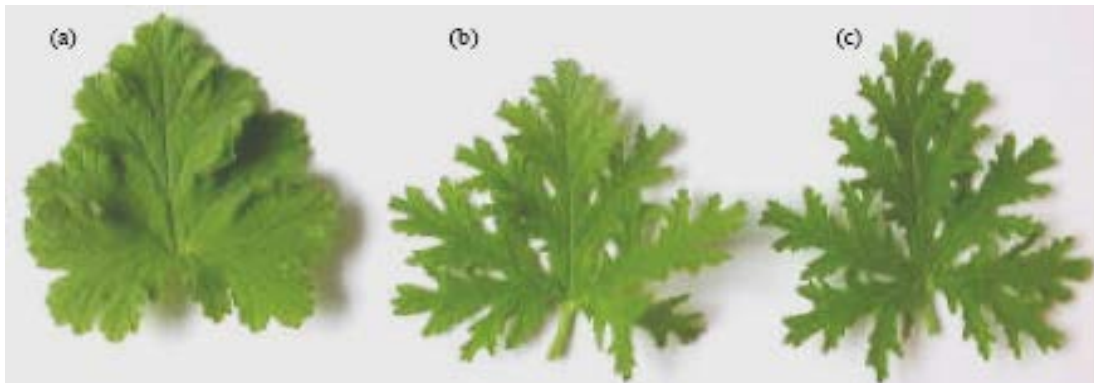
(Verma, R.S., et al., 2013), investigando en la India sobre la composición del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* en cultivares cosechados en diferentes temporadas, encontraron que el Cultivar Bourbón tuvo rendimientos de 0.05 a 0.20 % en relación a la biomasa fresca, encontrando también que los porcentajes logrados en los componentes mayoritarios del aceite fueron 14.1 a 34.6 % para Geraniol, 15.2 a 31.3 % para Citronelol y 2.9 a 9.2 % para Linalool.

**Cultivar Reunión:** ~~que tiene~~ hábito de crecimiento robusto, con un menor crecimiento internodal, así como que sus hojas son gruesas y menos dentadas que otras variedades de *Pelargonium*, siendo también característico que la lámina foliar del Cultivar Reunión es más pubescente por el gran crecimiento de sus pelos glandulares. El Cultivar Reunión morfológicamente si puede diferenciarse sobre la base de su pubescencia y hojas más delgadas y menos dentadas (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010). La Isla de Reunión ha sido reconocida desde 1886 por la producción de aceite esencial de Geranio con olor a esencia de rosa, conociéndose localmente que las plantas que son allí cultivadas, como del Cultivar Rosé. Este cultivar destaca por tener las características siguientes: es más o menos un arbusto erecto, parecido en su crecimiento a la especie de *P. graveolens*, con sus hojas menos pilosas o sea un poco más ásperas ; sus hojas son palmeadas parecido a la especie *P. graveolens* , sus márgenes foliares se encorvan por sus bordes hacia el envés o cara

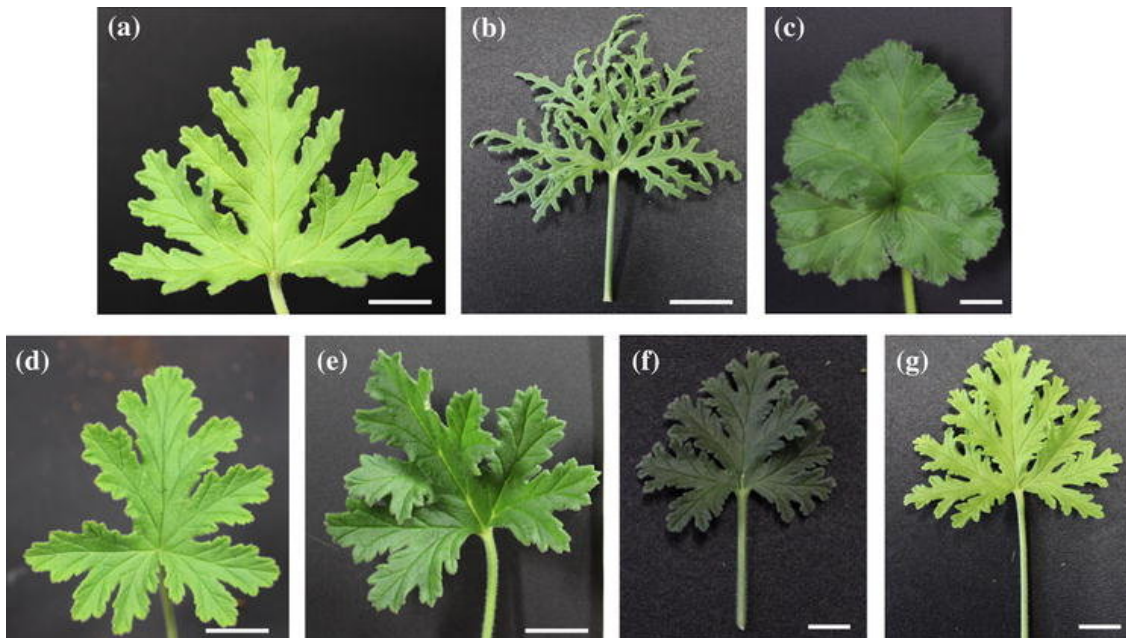
inferior, o sea a lo llamado botánicamente en revolutu ; sus inflorescencias son un capítulo, con 5 a 10 flores por pseudo umbela considerándose un número intermedio entre las diversas especies del género *Pelargonium* (Demarne, F. y Van Der Walt, J.J.A., 1989).

**MAP/GER-SA 44:** es un Clon derivado de una variación somaclonal de *P. graveolens* Cultivar Bourbon cultivado en la India y de donde se originó la variedad llamada Narmada. Entre las características de esta Variedad tenemos que sus hojas son pubescentes como Bourbon pero menos que el Cultivar Argelino. Tiene ramas tupidas con flores en racimos axilares. Con cáliz pubescente y cinco sépalos. La corola de color morado con manchas violeta oscuro en los labios superiores y 5 pétalos en total. El androceo tiene 5 estambres fusionados en la base; el estigma es filamentosos y ramificado; el gineceo tiene 5 carpelos; no hay formación de semillas (Kulkarni, P.N., et al., 2000).

**Variedad ó Cultivar Egipto:** es cultivada comercialmente en varios países, destacando en la India en donde se le considera como cultivar élite y se le denomina Kunti, que se estima proviene de la anterior variedad local llamada Kelkar. (Rajeswara, B.R.,2000). Siendo notorio que en trabajo de investigación realizado por (Tembe R.P. y Deodhar, M.A.,2010), lograron diferenciar que morfológicamente las plantas del cultivar Reunión fueron diferentes a los cultivares Bourbon y Egipto y que estos dos materiales genéticos, fueron morfológicamente muy similares entre sí, destacando las diferencias en las hojas, las cuales fueron mucho más pubescentes, más gruesas y menos dentadas en Reunión que en los otros dos cultivares, como se observa en Figuras 3 y 4 . (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010).



**Figura 3.** Fotografía que muestra las diferencias en morfología de la lámina foliar en tres Cultivares de *Pelargonium graveolens* (L'Herit.). (a) Cultivar: Reunión, (b) Cultivar: Bourbon y (c) Cultivar: Egipto. Tomado de Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010.



**Figura 4.** Fotografía mostrando las características del limbo foliar de hojas en diferentes especies y cultivares de *Pelargonium spp.* a) *P. graveolens* b) *P. radens* c) *P. capitatum* d) *P. x hybridum* cv. “Rosat Egipcio”. e) *P. x hybridum* cv. “Rosat Bourbón”. f) *P. x hybridum* cv. “Rosat Chino”. g) *P. x hybridum* cv. “Rosat Grasse”. Tomado de Blerot, B., et al., 2016. [https://www.researchgate.net/figure/Scented-Pelargonium-species-or-cultivars-leaves-aP-graveolens-bP-radens-cP\\_fig4\\_284076113](https://www.researchgate.net/figure/Scented-Pelargonium-species-or-cultivars-leaves-aP-graveolens-bP-radens-cP_fig4_284076113)

### 2.3. Constituyentes químicos de los aceites esenciales en las plantas aromáticas, saborizantes y medicinales.

Los aceites esenciales (AEs) se definen como la porción volátil que se obtiene a partir de una droga de origen vegetal o planta cuando se somete a un proceso de destilación en corriente de vapor de agua, o por prensado como es en el caso del pericarpio de las especies del género *Citrus*, no considerándose dentro de la definición a otros métodos de obtención (esencia concreta, absoluta o deterpenada) como oficiales según la Farmacopea. (Pitarch, C.S., 2000).

El aroma y la fragancia de un aceite esencial depende de sus componentes (Narnoliya, L.K., et al., 2019). Dependiendo de la especie, se calcula que un aceite esencial puede contener entre 50 a más de 300 componentes químicos, los cuales pertenecen a los grupos de hidrocarburos terpénicos, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, ésteres, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, entre otros.

Guenther, E.,1982), define a los aceites esenciales como a un material volátil que se ha derivado u obtenido de un proceso físico a partir de material vegetal oloroso de una forma única y especie y que concuerdan en sus nombres y olores. Los AEs generalmente constituyen los principios olorosos de las plantas en las cuales ellos están o existen. En casos excepcionales, el aceite esencial puede ser formado durante el procesamiento cuando el tejido de la planta entra en contacto con el agua. Un poco de los aceites esenciales representan productos volátiles, que son formados durante la destilación destructiva de la materia prima natural.

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas que no son imprescindibles para desempeñar sus funciones vitales. No obstante, pueden servirles de protección frente a virus, bacterias, hongos y una amplia variedad de herbívoros, o incluso disminuir el efecto negativo que pueden originar las fluctuaciones de temperatura sobre las plantas. Además, repelen a insectos dañinos y pueden estar involucrados en la acción de polinizadores con el fin de incrementar la dispersión del polen e incluso la de las semillas. (Romero, A. M., 2018). Otro autor (Herrera, L., 2017) coincide al afirmar que los aceites esenciales son mensajeros químicos que las plantas aromáticas utilizan para interactuar con su entorno. Los aceites esenciales permiten alejar las enfermedades y los parásitos de los posibles hospederos, pero también tienen un papel protector frente a los rayos del sol. Los aceites esenciales tienen un efecto importante en la reproducción y dispersión de las especies vegetales que permiten atraer a los insectos polinizadores.

Desde un punto de vista químico, los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles que sintetizan algunas plantas y que son responsables del olor característico de éstas. Generalmente hay dos o tres componentes principales en una concentración más elevada (20-70 %), mientras que los restantes, pueden llegar a estar representados únicamente por trazas. (Romero, A.M., 2018).

Los aceites esenciales son líquidos volátiles que se obtienen de las plantas y que contienen su aroma porque concentran las sustancias responsables del olor del vegetal. Son tremendamente aromáticos y tienen una composición química muy compleja (Guenther, E., 1982).

Generalmente, son líquidos aromáticos de aspecto fluido o espeso y de color variable, según las plantas de los que sean extraídos. Son segregados por células especializadas que se pueden encontrar en hojas, flores, raíces, semillas u otras porciones vegetales.

Los aceites esenciales permiten alejar enfermedades o parásitos, pero también pueden tener un papel protector frente a los rayos del sol. También pueden tener un papel

importante en la reproducción y dispersión de las especies vegetales que permiten o inducen atraer a los insectos polinizadores (Romero, A.M., 2018).

Los aceites esenciales son extractos vegetales aromáticos muy complejos y concentrados. Pueden contener más de un centenar de moléculas o componentes aromáticos en proporciones muy variables. Son estas distintas combinaciones de esos componentes los que aportan a los aceites esenciales sus propiedades particulares y las causantes de su olor característico. También son numerosos los factores que entran en juego en la calidad de los aceites esenciales, entre estos destacan tipo de planta, momento de la recolección, empleo de pesticidas u otros productos químicos. La extracción debe de realizarse en condiciones rigurosas controlando los parámetros de temperatura y otros, así como su almacenamiento que debe de ser en recipientes adaptados a los aceites esenciales, mantenidos alejados de la luz y a temperaturas que en promedio no superen los 25 °C (Romero, A.M., 2018).

### **2.3.1. Constituyentes químicos del aceite esencial de *Pelargonium graveolens*.**

La calidad de un aceite esencial está determinada o es medida por análisis en que se determinan su composición química así como sus elementos físicos (Rajeswara, R.B.R., 2000).

Las plantas de la familia Geraniaceae son plantas generalmente herbáceas ramificadas perennes que crecen en climas subtropicales y de clima temperado o mediterráneo que tienen buenos rendimientos de aceites esenciales con diversos usos como medicinales, aromáticos, entre otras utilidades. La familia comprende muchos géneros entre los cuales sobresale el Género *Pelargonium* y sus diversas especies. Hay muchas especies pero destacan *P. graveolens*, *P. odoratissimum*, *P. radens* y *P. capitatum* que son las más comúnmente cosechadas para obtener aceites esenciales (AEs). (Narnoliya, L.K. et al., 2019).

*Pelargonium graveolens* también conocido como Geranio con olor a esencia de Rosa ó Geranio rosa, es una valiosa planta aromática que es nativa de la Provincia del Cabo del sur de Africa.

El aceite de Geranio está dentro del grupo de los 20 principales aceites esenciales en el mundo, teniendo amplia aplicación en perfumería, cosmética y la industria de saborizantes (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010). También tiene usos medicinales como antidepresivo, antiséptico, antioxidante, antifúngico y antibacterial. (Dzamic, A.M. et al., 2014).

De acuerdo a los datos disponibles de la composición química del aceite esencial de *Pelargonium graveolens*, sus componentes volátiles principales son Citronelol, Geraniol y formato de citronelil (Dzamic, A.M. et al., 2014).

(Lis-Balchin, M.T., 2004), menciona que el aceite esencial de *Pelargonium* spp y sus cultivares, es muy complejo y consta principalmente de Geraniol, Citronelol, ésteres de Citronelil y Geranil, Limonene, Linalool y de sesquiterpenes característicos como  $\gamma$ -epi-eudesmol en el caso del aceite Egipcio o de guaia-6,9- diene en los aceites Bourbon y en el de origen Chino.

Actualmente, los tres mayores tipos de aceite esencial de Geranio que son: Argeliano, Bourbon y el de Marruecos, están principalmente compuestos de una mezcla de alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas. El contenido de los alcoholes es de un 60-70 % con los alcoholes monoterpenoides L-Citronelol y el Geraniol como los más abundantes y con menores cantidades de Linalool y alcohol fenetil o alcohol fenílico que es un alcohol primario aromático con cierto olor a rosa muy utilizado en cosmética, perfumería y cuidado personal. Estos terpenoides son los que se cree que son los componentes activos principales. El aceite de geranio contiene ésteres en un 20-30 % y está conformado mayormente de ésteres de Geranil y Citronelil. Otros ésteres encontrados en el aceite de geranio incluyen acetato de geranil, tiglatos de geranil, formato de citronelil y acetato de Citronelil. Los demás componentes son carotenoides y otros hidratos de carbono como formatos y tiglatos. Un número de alcoholes aromáticos encontrados en geranio son clasificados como terpenoides, aldehídos y cetonas que pueden ser fuente de energía celular e incluyen l-isomentona, citronellal, citral y decil aldehído. (Baker, B.P. y Grant, J.A., 2018).

### **2.3.2. Perfiles fitoquímicos de aceites esenciales en *Pelargonium graveolens***

La organización Internacional para estandarizaciones (ISO), define al Aceite de Geranio como el aceite obtenido por destilación con vapor de las partes herbáceas frescas ó ligeramente marchitas de *Pelargonium graveolens* L'Heritier ex Aiton, *Pelargonium roseum* Willdenow y otros híbridos, sin definir cuáles son los que han dado lugar a diferentes ecotipos en las diversas áreas geográficas (International Standard 4731:1972). Esta misma estandarización ha establecido para el contenido en el caso de Citronelol de 42 % y máximo de 55 % para el aceite esencial de Geranio Bourbon; 35/58 % para el Marroquí ; 40/58 % para el Egipcio y 40/58 por ciento para el aceite Chino (Lis-Balchin, M.T., 2004). Este mismo autor detalla que el rango normal en porcentaje de los

principales componentes del aceite esencial de geranio comercialmente son : Citronelol 28-58 %, Geraniol 7-19 %, Linalool 3-10 %, Isomentona 4-7 %, Formate de Citronelil 5-12 % y Formate de Geranil 1-4 %.

El número CAS 8000-46-2 y con nombre Aceite esencial de tallos y hojas de *Pelargonium graveolens*, lo define como el aceite obtenido de hojas y tallos de *Pelargonium graveolens* ubicándolo dentro de la categoría de agentes o sustancias para sabores y fragancias. Teniendo características como una apariencia líquida con color verde amarillo a verde claro, peso por galón de 7.298 a 7.481 libras; vida en anaquel de 24 meses o más si es almacenado apropiadamente en lugares frescos y secos, en recipientes herméticamente cerrados y protegido del calor y de la luz; insoluble en agua, con olor término medio, describiéndose el olor como floral, verde y fuerte como rosa rosada-roja, el sabor se describe como floral, herbáceo, verdoso, rosa roja y cítrico ceroso (TGSC Information System, 2021).

Otro investigador detalla que el aceite esencial de Geranio (AEG) tiene una compleja composición química, siendo porcentualmente los principales constituyentes : Linalool (0.4.-3.1 %), Citronelol (14.2 – 22.8 %), Formato de citronelil (11.40 %), mentona (2.0 %), Geraniol (26-50 %), Geranial (0.8 %), Valerato de Geranil (0.4 %), Nerol (0.3 %), Citral (0.65 %), Isomentona (5.44 %), Y-cadinene (0.5 %),  $\alpha$ -muurolene (0.2 %),  $\alpha$ - humulene (0.3 %),  $\alpha$ -pinene (1.08 %), limonene (0.19 %),  $\gamma$ -terpinene (2.41 %),  $\gamma$ -eudesmol (11.23 %), ledene (1.13 %), Germacrene (1.71 %), 6,9-guaiadiene (4.6 %), ácido decanoico (3.4 % ) y trazas de canfeno y m-cymene (Neagu , A.F., et al., 2018) . Diversos estudios igualmente han mostrado que el aceite esencial de geranio contiene como constituyentes mayoritarios Citronelol (19.3-40.2 %) y Geraniol (6.55-18.4 %)

Varios autores entre ellos (Arctander, S.,1994), coinciden en que los aceites de geranio son destilados de plantas cultivadas, siendo el rendimiento muy poco, usualmente es de 0.1 a 0.3 por ciento a partir del material vegetal de la planta, promediando con menos del 0.2 por ciento.

En trabajo de investigación realizado con *P. graveolens* y sin especificar con que Variedad, para determinar los metabolitos secundarios volátiles presentes en hojas cosechadas en plantas de 6 y 12 meses de edad, se determinó que el elemento encontrado en mayor cantidad de acuerdo a la edad fue Citronelol con 17.89 % y Geraniol con 15.92 % respectivamente. Citronelol es un alcohol terpénico con intenso olor a rosas de gran interés en la industria de perfumería y cosmética; además estaba



presente el Geraniol, muy utilizado en la industria química para la síntesis de citronelol, citral, acetato de geraniol y otros compuestos de interés perfumístico.

Se debe de mencionar que la proporción Citronelol: Geraniol es un parámetro a tener muy en cuenta para determinar la calidad del AEG. Como resultado en este trabajo, se determinó que la calidad del AEG para los aceites esenciales obtenidos a los 6 y 12 meses de crecimiento de las plantas tomando como referencia las proporciones entre sí, fueron de (2.4:1) y (2.3:1) respectivamente, por lo cual se podría decir que tiene características similares al producido en China (Mendivelso, P.D.L., et al., 2007).

El aceite esencial de geranio con olor o esencia a rosa, está compuesto por complejos fitoquímicos volátiles, producidos como metabolitos secundarios tales como terpenos, ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes y fenoles. Generalmente ellos juegan un papel crucial en ajustes ecológicos y de protección por ataque de patógenos y herbívoros. Así, los componentes del aceite esencial son sustancias claves del geranio con olor a rosa para la defensa de su propio sistema.

El aceite esencial de geranio está conformado por más de 120 fitoconstituyentes, los cuales comprenden monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y otros compuestos aromáticos de bajo peso molecular. Dentro de todo esto, hay tres principales componentes: Linalool, Citronelol y Geraniol y sus ésteres, los cuales constituyen más del 60 % del total del aceite esencial y ellos son los responsables para determinar su olor. Otros componentes son mentona, nerol, isomentona, óxido de rosa, terpineol y mircene. Así, los terpenos son los mayores contribuyentes en el aceite esencial con olor a rosa, y estos terpenos son biosintetizados a través de la vía o ruta de los terpenoides (Narnoliya, L.K., et al 2019).

Otro reporte muestra que el aceite esencial de Geranio consta principalmente de Geraniol, Citronelol, ésteres de citronelil y geraniol, limonene, linalool y sesquiterpenos característicos como  $\gamma$ -epi-eudesmol en el aceite esencial Egipcio ó bien , con guaia-6-9-diene en el Bourbón y en aceites de China (Lis-Balchin, M.T., 2004).

### **2.3.3. Diferenciación en composición química de aceites esenciales entre y cultivares y variedades comerciales de *Pelargonium graveolens*.**

Hay diversidad de variedades ó cultivares de *Pelargonium graveolens* que son cultivadas comercialmente para obtener el llamado aceite esencial de geranio ó esencia con olor a rosa. Está plenamente determinado que hay variaciones en la producción y

calidad de productos agrícolas dependiendo éstos de la genética, medio ambiente, interacción genotipo/ambiente, manejo agronómico, entre otros factores participantes.

Como ya ha sido antes mencionado, el AEG es muy complejo en su composición físico-química, teniendo más de 100 distintos elementos que lo conforman, encontrándose entonces, la gran diferenciación tanto en sus componentes como en sus porcentajes de composición.

En la India, son dos los principales genotipos comercialmente cultivados, ellos son el Argelino o Tunesino y el Bourbon o Reunión; también cultivan aunque en menor proporción a un tercer material llamado Kelkar o Egipcio. Estos tienen follaje muy parecido, diferenciándose más que todos por su olor y por su composición química. Bourbon y Egipcio se diferencian por presencia de sesquiterpenos como 6,9-guaiadiene y 10-epi- $\gamma$ -eudesmol respectivamente y ambos, algunas veces presentes en el cultivar Bourbon. El aceite de Kelkar contiene bastante Geraniol con 34 a 44 por ciento y con bajo contenido de Citronelol de 8 a 11 por ciento. Para compararlos se han dividido en dos tipos: Reunión e Indio, con valores de ésteres de 65-75 y 50-76 % respectivamente. Los porcentajes de Isomentona en relación al peso han sido los máximos de 13 y 16 correspondientemente. La composición de los dos genotipos principales varía algunas veces cuando las plantas crecen en lugares diferentes, pero aún así, ambos son más aceptables en el mercado que la Variedad Kelkar (Rajeswara, B. R., 2002).

(Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010), trabajando en la India, escriben que tienen tres diferentes cultivares de *P. graveolens* llamados Argeliano (Hemanti), Bourbon (Bipuli) y Egipcio (Kunti); estos autores al hacer estudios sobre la base de las relativas proporciones de Geraniol y Citronelol, con análisis por cromatografía de gases específicamente y los cultivares : Reunión, Bourbon y Egipcio, determinaron inicialmente que el rendimiento en aceite fue de 0.2, 0.4 y 0.6 % respectivamente; también observaron que la coloración verde amarillenta del aceite se vio incrementada en el orden de Reunión, Bourbon y el Egipcio (más verde amarillenta el egipcio y menos el de Reunión). Como en otros estudios, el aceite esencial extraído fue sujeto al análisis por cromatografía de gases (GC), éste mostró que la mayoría de todos los componentes fueron geraniol, citronelol, óxido de rosa, isomentona, linalool, 6-9-guaiadiene y 10-epi- $\gamma$ -eudesmol. Los menores componentes como Geranil formato, formato de citronelil, geranil tiglato, citronelil tiglato, propianato de geranil y propianato de citronelil también estuvieron presentes ; sin embargo, Mentona que ha sido mencionado en otros reportes, estuvo ausente en todas las muestras. Al final, la relación Geraniol a Citronelol (G/C) fue de 1:1, 1:2 y 1:4 en Reunión, Bourbon y Egipcio respectivamente. Los otros

componentes que estaban afectando la nota rosa fueron 6-9-guaiadiene y 10-epi- $\gamma$ -eudesmol. Los óxidos de rosa fueron muy altos en Reunión seguido por Bourbón y después el Egipto. Los Formatos de Geranil y Citronelil estaban presentes en Reunión y Bourbón mientras que en el Egipto estaban totalmente ausentes (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010).

Informes de calidad medidos sobre parámetros cromatográficos de *P. graveolens* variedad Egipto, indican que los principales componentes de calidad son Citronelol con 25-36 %, Geraniol con 10-18 % y Linalool con 4-8.5 %.

(Fekri, N., et al., 2019), trabajando con una variedad sin definir de *P. graveolens* en Egipto, muestran que los principales componentes obtenidos fueron de Iso-mentona (15.71 %), epi- $\alpha$ -cadinol (15.49 %) , iso-mentol (6.46 %), formato (6.22 %), Geraniol (6.16 %) y Citronelol (5.53 %), destacando que el contenido de Geraniol fue más alto en hojas jóvenes y por el contrario, el contenido de Citronelol se incrementó con el aumento en la edad de las hojas.

(Blerot B., et al., 2016) mencionan que ha sido muy estudiada la composición química del aceite esencial en varios cultivares de *Pelargonium* spp, siendo los principales: Bourbón rosa, Chino rosa, Egipto rosa y Argelia rosa, señalando que de éstos, en los tres primeros, el aceite esencial de *Pelargonium* rosa está constituido principalmente de monoterpenos y sesquiterpenos. Los ocho principales componentes de este aceite son Citronelol, Geraniol, formato de citronelil, formato de geranil, linalool, isomentona, 6,9-guaiadiene y 10-epi- $\gamma$ -eudesmol. Estos autores mencionan que las mismas características de los aceites esenciales de geranio son importantes en el seguimiento a su origen geográfico. Primero, la relación Geraniol/Citronelol (G/C) es diferente de un cultivar a otro. La más alta proporción o relación está en *Pelargonium x hybridum* cv. Rosat bourbón (~ 0.8) y el más bajo es el cv. Rosat Chino (~ 0.2). Por esto, es que el AEG Chino es principalmente usado para obtener Citronelol por fraccionamiento. Los sesquiterpenos 10-epi- $\gamma$ -eudesmol y 6-9-guaiadiene son componentes claves al seguir el origen del aceite esencial, lo cual es muy determinante en algo como lo es el precio, que puede variar dependiendo del origen, siendo esto importante ya que la fluctuación puede ser de hasta el doble. También está determinado que 10-epi- $\gamma$ -eudesmol está más concentrado en el cultivar Rosat Egipto que en el Cv Rosat Bourbón y que en el Rosat Chino y por el contrario, 6,9-guaiadiene es un componente importante de los aceites del Cv Rosat Bourbón y del Cv Rosat Chino pero está presente en cantidades limitadas, más bien como trazas en el Cv Rosat Egipto.

#### **2.3.4. Usos tradicionales y/o comerciales del aceite esencial de *Pelargonium graveolens*.**

Se dice que la producción comercial de aceite esencial de Geranio inició a partir de plantaciones cultivadas en Grasse, región localizada en el sur meridional de Francia durante las primeras décadas del siglo XIX (Guenther, E., 1982).

El principal uso del AEG es como fragancia en perfumes y cosméticos incluyendo jabones, cremas y lociones. También es usado extensivamente como agente saborizante en alimentos y bebidas. (Baker, B.P. y Grant, J.A., 2018).

En medicina no tradicional como la aromaterapia, el AEG exhibe muy buena acción antioxidante así como potenciales efectos para incrementar inmunidad en Humanos (Saraswathi, J., et al., 2011). Diversos estudios o investigaciones en el mundo le han encontrado acción medicinal en Humanos, en combate de hongos fitopatógenos, así como repelente para plagas insectiles entre otras acciones.

(Romero, A.M., 2018), menciona que tradicionalmente el AEG se ha usado para tratar problemas de la piel como acné o dermatitis, debido a sus propiedades astringentes y bactericidas. También indica que dicho aceite tiene una potente actividad antimicrobiana y fungicida.

Otro trabajo de investigación determinó que el AEG tiene usos medicinales, como es el caso del estudio que confirmó su efecto antibacteriano en enfermedades como placa bacteriana y caries dental en humanos (Flores, H. K.V. y Laime, S.S., 2008).

(Keville, K., 1998), sugiere varios usos medicinales del AEG, destacando como vulnerario, antiséptico, hemostático, para problemas cutáneos, infecciones fúngicas y bacterianas en la piel. También menciona su uso en alimentos como jaleas y helados como aromatizantes de éstos, así como un magnífico repelente de insectos.

Aceite de geranio destilado de varias especies, cultivares e híbridos de *Pelargonium* cultivados en Inglaterra y Sur de Africa han sido empleados en estudios de laboratorio para inhibir 25 especies de microorganismos, incluyendo bacterias Gram-negativas y Gram-positivas así como a hongos. (Baker, B.P y Grant J.A., 2018).

Varios autores e investigadores en diversos países del Mundo, igualmente avalan y recomiendan actualmente el uso de este aceite para infecciones por hongos, levaduras,

como fungicida, con efectos antimicrobial, antiparasitario e insecticida, entre otras acciones benéficas. (Lanas, T. G.A. y Navas, O. E, P., 2017); (Marcén, L. J.J., 2000); (Aguirre, F.A.D. , 2014); (Pedroso, F.V., 2017).

El uso que se haga del AEG estará muy relacionado a los diversos componentes que integran al aceite, destacando entre esos elementos el Geraniol, que es un alcohol monoterpeno acíclico de mucha importancia comercial, ya que es una de las moléculas más importante en las industrias de fragancias y saborizantes; agregando a su olor agradable, sus propiedades repelentes e insecticidas, siendo usado como agente natural para el combate de plagas exhibiendo baja toxicidad en mamíferos y muy biodegradable. También se ha sugerido que geraniol representa una nueva clase de agentes quimiopreventivos para el cáncer. Otras de sus actividades biológicas tales como antimicrobial, antioxidante, antiinflamatorio y algunos efectos vasculares que también han sido investigados. (Chen, W. y Viljoen, A. M. 2010).

Recientemente (Ruiz, A.M. 2021), en revisión bibliográfica realizada, incluye a *Pelargonium graveolens* dentro de los antivirales de origen natural, que puede ser útil para hacer frente a los síntomas de SARS-CoV-2. Se explica este efecto porque se sabe que hay varios fenoles monoterpenoides, incluido el Geraniol (componente importante del aceite esencial de geranio), que tienen el potencial de impedir la unión de la glicoproteína “spike” (S) viral a la célula huésped. Siendo entonces el objetivo clave de los fármacos antivirales novedosos, determinar sus efectos inhibidores en función de sus afinidades en el acoplamiento, encontrando de esta manera que se trata de agentes antivirales eficaces que tienen el potencial de bloquear la acción de la proteína viral “spike”.

Seguramente por los múltiples e importantes usos que el aceite de Geranio tiene, la tendencia en el mundo es que el consumo y mercado mundial de este aceite va en aumento, esto lo evidencia un estudio en donde se analizó y pronosticó que en seis años, las ventas pasarán de 880 millones de dólares en el año 2021 a 1410 millones de dólares en el año 2027 ; considerándose que la región de América del norte (específicamente Estados Unidos y Canadá) tengan la mayor participación en el mercado del aceite esencial de Geranio. Su gran demanda mundial es debido a sus efectos antibacterianos, antiinflamatorio, antiséptico cicatrizantes y antidepresivos, también por su mayor empleo en cosméticos de lujo, productos de aromaterapia así como otros usos medicinales. También se utiliza como conservante y saborizante en varias categorías de alimentos, bebidas alcohólicas y refrescos teniendo un efecto extra de aliviar la inquietud, la irritación y el estrés (Maximize Market Research Private Limited, 2021).

## **2.4. Caracterización genética de *Pelargonium graveolens* mediante marcadores moleculares.**

### 2.4.1. Análisis de laboratorio mediante marcadores moleculares para la caracterización genética de plantas cultivadas

Cada vez se hace más común la incorporación de términos como gen, ADN, diversidad genética, genoma, marcadores moleculares, prueba del ADN y otros; dada la importante aplicación que tienen en la actualidad en diversas áreas de las ciencias (medicina, botánica, agricultura, entre otras).

Las estrategias clásicas para la detección de variación (anatomía, morfología, embriología y fisiología comparada) han sido completadas con técnicas moleculares. Dentro de éstas, se encuentran los marcadores moleculares que son una serie de métodos de análisis genético-moleculares que se basan en la detección de polimorfismos en proteínas y ADN, cuyos principios y técnicas se han utilizado para resolver problemas específicos en genética y ecología de poblaciones, evolución de sistemas reproductivos, mapeo genético de caracteres de interés agronómico, procesos de hibridación e introgresión, determinación de patrones biogeográficos, resolución e identificación de relaciones taxonómicas, reconstrucción de filogenias y biología de la conservación (Otero, A.A., et al., 1997).

Un marcador es un carácter o un gen el cual, debido al ligamiento, puede usarse para indicar la presencia de otro gen; es decir, cualquier característica A (sea un gen, una proteína, tipo de hoja, etc) que está asociada a la presencia o expresión de una característica B (como vigor, altura, resistencia a enfermedades, entre otras cualidades) puede considerarse como un marcador, pues la presencia de A necesariamente implica la de B.

La importancia de los marcadores radica en que ofrecen la posibilidad de estudiar poblaciones de organismos y seleccionar aquellos que presentan rasgos de interés para el Hombre. Gracias al empleo de marcadores ha sido posible mejorar muchas especies que son la base de la alimentación del mundo.

Hay dos tipos principales de marcadores: los marcadores morfológicos y los marcadores moleculares. Los marcadores morfológicos fueron el primer tipo de diferenciadores que el hombre utilizó. Se consideran marcadores morfológicos a los caracteres de un individuo que se expresan en un ambiente específico y que el hombre identifica con un objetivo determinado. Este tipo de marcadores son muy utilizados para estimar la variación morfológica existente en una población.

Los marcadores moleculares corresponden a cualquier gen cuya expresión permite un efecto cuantificable u observable (características fenotípicas), que además puede detectarse fácilmente. Existen dos tipos de marcadores moleculares: los marcadores bioquímicos y los marcadores de ADN. Los marcadores bioquímicos incluyen a las proteínas y las isoenzimas o aloenzimas y constituyen la primera generación de marcadores moleculares.

Los marcadores de ADN constituyen la nueva generación de marcadores moleculares y solucionaron el problema de la carencia de marcadores que tenían las isoenzimas, pues son capaces de generar una cantidad virtualmente infinita de marcadores. Existen varias técnicas para diferenciar a los diversos tipos de marcadores de ADN, agrupándose en tres categorías: las de hibridación, las de reacción de polimerización en cadena (PCR) y las que combinan PCR o sus productos de ADN con las de hibridación.

Un procedimiento científico para estimar la diversidad genética o la determinación de un género y sus especies en un vegetal determinado, es la metodología de la amplificación por medio de la PCR, que es la reacción en cadena de la polimerasa, con la cual se engrandecen regiones específicas del genoma y entonces se procede a hacer las comparaciones entre individuos, poblaciones, géneros o especies diferentes. La técnica PCR o reacción en cadena de la polimerasa, es una tecnología utilizada para multiplicar (sintetizar) *in vitro* fragmentos específicos de ADN con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma del individuo en estudio. Dentro de esta metodología se encuentran los marcadores llamados RAPD (ADN polimórfico amplificado al azar), PCR iniciada con microsatélites (MP-PCR), AFLP (polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados) y DAF (amplificación de huellas del ADN), entre otros-.

Cuando por alguna razón no se disponen de suficientes datos genómicos previamente publicados o bien puede ser que se quiera obtener información genética de manera rápida, relativamente económica y que no involucre metodologías complicadas, se pueden emplear marcadores moleculares inespecíficos. Estos marcadores usan iniciadores (también llamados oligonucleótidos, primers o “cebadores”) que amplifican al azar diferentes regiones en el genoma y generan un patrón o un standard de productos de PCR o huella genética que se pueden visualizar posteriormente mediante electroforesis en geles de agarosa o acrilamida (Cornejo, R.A., et al., 2014).

En general, los marcadores de ADN son muy ventajosos ya que no son afectados por el ambiente, están presentes en cualquier estadio del individuo, permiten una detección temprana, son universales, muy abundantes, se requiere poca cantidad de ADN para los análisis y el ADN es muy estable y específico para cada individuo (Huella génica).

En el caso de los análisis genéticos y en el mejoramiento de las plantas, el uso de los marcadores moleculares ha tenido una aceptación y difusión extremadamente rápida. Las principales aplicaciones incluyen la obtención de huellas genéticas (fingerprinting) genómicas de individuos, variedades y poblaciones; el análisis de la estructura y diversidad genética en poblaciones naturales y de mejoramiento y bancos de germoplasma ; el establecimiento de relaciones filogenéticas entre diferentes individuos y especies; la construcción de mapas genéticos de alta cobertura genómica y la localización de genes de interés económico, mapeo de características de herencia cuantitativa y de selección auxiliada por marcadores (Solís, R. L.Y. y Andrade, T.A., 2005).

Los marcadores moleculares son secuencias de ácido desoxirribonucleico ADN que se han constituido en herramientas valiosas para la detección y el uso de la diversidad genética, con su consecuente aplicación en programas de selección genética de plantas, animales y microorganismos. (Rocha, S., P.J., 2003).

La aparición de los marcadores moleculares está ayudando a eliminar tanto los inconvenientes de una selección basada en el análisis exclusivo del fenotipo, como la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa y repetitiva. Los marcadores moleculares son biomoléculas que se pueden relacionar con un rasgo genético. Las biomoléculas que pueden ser marcadores moleculares son las proteínas (Antígenos e isoenzimas) y el DNA (genes conocidos o fragmentos de secuencia y función desconocida). Las aplicaciones de los marcadores moleculares son muy diversas y es de esperar que cada vez más se les encuentran nuevos usos. Por ahora se vienen empleando en la diferenciación de individuos, discriminación entre clones, análisis filogenéticos y taxonómicos, mapeos de genomas, cuantificación de variabilidad génica intra e interespecífica, mejoras genéticas, detección de infecciones o propensión a sufrirlas, localización de resistencia a enfermedades y dispersión de especies. (Claros, D., M.G.,1998).

Los productores de semillas y los usuarios finales de éstas que son los agricultores, necesitan conocer la identidad de sus plantas, especies y cultivares disponibles. Los mejoradores genéticos de plantas deben por lo tanto, describir las especies cultivadas y conocer su origen, así como, explicar y monitorear en detalle, las líneas, cultivares e híbridos generados; porque al final, son los productores, quienes tienen una mayor inversión en dinero, tiempo y trabajo como resultado del mejoramiento genético realizado.

El uso continuo de datos morfológicos para describir genotipos agrónomicamente importantes, indican que estos datos retienen popularidad como descriptores de especies de plantas; sin embargo, surge la necesidad de su descripción más detallada por métodos de laboratorio basados en la bioquímica y lo molecular. No sólo por la caracterización



morfológica sino también por la combinación de aspectos morfológicos, bioquímicos y moleculares en la identificación y descripción de genotipos importantes agrónomicamente, y esto es posible al revelar sus perfiles genéticos únicos como por ejemplo con las huellas dactilares. (Galovic, V., et al., 2006).

#### 2.4.2. Principales marcadores moleculares utilizados en *Pelargonium graveolens* para su caracterización genética.

Diversos tipos de técnicas para marcadores moleculares y con objetivos múltiples han sido usadas para el Género *Pelargonium* y varias de sus especies.

Dentro de las opciones o herramientas útiles para el estudio genético de individuos o poblaciones, destacan los marcadores conocidos como RAPDs del inglés Random Amplified Polymorphic DNA o sea, ADN polimórfico amplificado al azar. Los RAPDs es una técnica que consiste en la amplificación de segmentos de ADN con iniciadores pequeños (generalmente de 10 nucleótidos de longitud) de secuencias aleatorias con contenidos porcentuales de Guanina y Citosina entre 50 y 80 %. La secuencia del iniciador o primers es elegida *a priori* de manera arbitraria y sólo se utiliza un iniciador por reacción, que actuará al mismo tiempo como iniciador con sentido y anti-sentido (forward y reverse). Los fragmentos amplificados serán visualizados como un patrón con una banda característica propia de los individuos en estudio (Cornejo, R. A., et al., 2014). En nuestro caso, las bandas obtenidas fueron posteriormente observadas en un transiluminador con luz ultravioleta.

Sobre lo anterior, destaca el trabajo realizado por (Lesur, C., et al., 2000), quienes trabajando con siete técnicas de marcadores moleculares diferentes para identificar y proteger a materiales genéticos de *Pelargonium spp* concluyeron en su momento, que los mejores resultados los obtuvieron con RAPD, AFLP y STMS, buscando llegar a tener información como huellas dactilares de ADN que fueran útiles para la protección y detección de la propagación fraudulenta de cultivares como un derecho legal para los fitomejoradores de *Pelargonium spp*.

Otro trabajo de investigación realizado por (Barcaccia, G., et al., 1999), con *Pelargonium peltatum* y utilizando RAPD y AFLP como técnicas para marcadores moleculares, obtuvieron resultados favorables, destacando que los marcadores AFLP pueden ser adoptados para conceder incluso derechos de obtención o de propiedad para proteger a nuevas variedades de *Pelargonium* en forma específica y eficaz.

Otra técnica de marcadores moleculares que ha sido usada en *Pelargonium spp* ha sido la técnica con Microsatélites, la cual permitió que al estudiar dos variedades de *Pelargonium*,

se detectaran niveles altos de polimorfismo entre los materiales , así como la existencia de una matriz u origen genético muy variable, al final, se logró determinar la eficacia de los microsatélites para identificar accesiones individuales entre un conjunto de variedades de *Pelargonium spp* disponibles comercialmente (Becher, S.A., et al., 2000).

(Tembe,R. P. y Deodhar , M. A., 2010), al trabajar con tres cultivares diferentes de *Pelargonium graveolens* (L'Herit.) , mencionan lo dificultoso que es lograr diferenciarlos sólo sobre la base morfológica, complementando ellos, la facilidad que se logra para distinguirlos haciendo uso de los marcadores moleculares, ya que al emplear el método de marcador molecular RAPD, lograron diferenciar efectivamente y concluir en que los tres cultivares en estudio eran diferentes entre sí .

(Blerot, B., et al., 2016) resume lo investigado por varios autores, afirmando que al aplicar RAPD (ADN Polimórfico amplificado al azar) en materiales genéticos de *Pelargonium*, se ha demostrado que los híbridos que son cultivados tienen diferentes genotipos y que podrían originarse de diferentes cruzamientos, concluyendo que una apropiada selección del mejor cultivar que integre la más alta calidad y cantidad del aceite y produciendo importante biomasa, podría ayudar a los agricultores a maximizar entonces el rendimiento de la planta, la producción del aceite esencial y por lo tanto la rentabilidad.

Los marcadores moleculares ISSR y RAPD también han sido usados para analizar a *Pelargonium graveolens* en estudios de poblaciones genéticamente diferentes y para comparar los antecedentes genéticos de las diferencias entre individuos diploides (esquejes o ramas) y plántulas poliploides. Los resultados demostraron en ambos marcadores moleculares que habían mutaciones tanto en los esquejes como en las plántulas poliploides. También se demostró que diferencias genéticas pueden ser observadas por los dos marcadores moleculares, aunque no existían diferencias o evidencias fenotípicas en el campo de ambos tipos de plantas como es el de esquejes diploides y las plántulas poliploides. La tendencia de los dos marcadores es consistente y es evidente que las diferencias genéticas individuales en las plantas de esquejes, es más grande que las que suceden en las plántulas poliploides. Sugiriendo los resultados que las plántulas poliploides ya dentro de una población, son relativamente uniformes y muy replicables en las producciones (Qing-Yuan ,Y., et al., 2018).

Otro trabajo de investigación realizado, con marcadores mostrando polimorfismo para la amplificación de regiones blanco u objetivo TRAP (Target Region Amplification Polymorphism) fue utilizado para caracterizar la colección de cultivares, líneas de mejoramiento y especies silvestres del género *Pelargonium* que se tienen en el centro de germoplasma de plantas ornamentales OPGC en Ohio, Estados Unidos , obteniéndose

finalmente el resultado de que TRAP es un método muy efectivo para la caracterización molecular de colecciones de plantas ornamentales (Palumbo, R., et al., 2007).

#### 2.4.3. Código de Barras de ADN para la identificación de *Pelargonium graveolens*.

##### 2.4.3.1. Concepto de Barcoding (DNA Barcoding).

Técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), junto con la comparación de secuencias de distintos tipos de ADN (cloroplasto, mitocondrial, nuclear), se han convertido hoy en día en una metodología fundamental en el estudio de la botánica, genética, medicina, y otras ciencias.

En los últimos años, el concepto de código de barras genético (“DNA barcoding”), surge como una nueva y efectiva herramienta para la investigación taxonómica en plantas. Basada en la reacción en cadena de la polimerasa PCR (Por sus siglas en inglés Polymerase Chain Reaction) , junto con la comparación de secuencias de distintos tipos de ADN (cloroplasto, mitocondrial, nuclear) permite analizar poblaciones y especies amenazadas, estudiar muestras de especímenes ya extintos, identificar ejemplares dudosos y describir nuevas especies; también al final, permitirá que los especialistas que trabajan en ello, puedan mejorar y proteger la diversidad biológica. (Cires, R. E., 2010). Además de ser un sistema más eficaz para identificar rápida y eficientemente especies, también facilita la conservación, conocimiento y uso sustentable de la biodiversidad (Paz, A., et al., 2011).

El código de barras del ADN, identifica la especie a la cual pertenece un espécimen biológico, usando una secuencia corta de ADN proveniente de una región estandarizada, la cual se compara con una secuencia de referencia en el “GenBank”.

Los “DNA barcodes” son secuencias relativamente cortas dentro de los genomas de las especies, que se obtienen fácilmente mediante amplificación por PCR. Para que sean precisas, las secuencias “DNA barcode”, deben poseer baja variabilidad intraespecífica y alta variabilidad interespecífica (Vera M, S.P., et al., 2012).

Conceptualmente los códigos de barra moleculares son secuencias ortólogas cortas, (es decir que son aquellas similares entre sí, pero localizadas en especies diferentes por haberse originado en un ancestro común) de una región estandarizada del genoma que pueden ser aisladas y caracterizadas fácilmente, las cuales funcionan a manera de etiquetas, cuyo fin es la correcta identificación de las especies biológicas.

Actualmente, esta herramienta práctica y poderosa se aplica entre otros usos, a la autenticación de plantas medicinales coadyuvando al control de la calidad de las especies vegetales comercializadas internacionalmente.

En general, los principales marcadores moleculares utilizados en la codificación genética son las regiones génicas e intergénicas: matK, rbcl, rpl32-trnL, trnH-psbA e ITS2. (Niizawa, S. C., 2020).

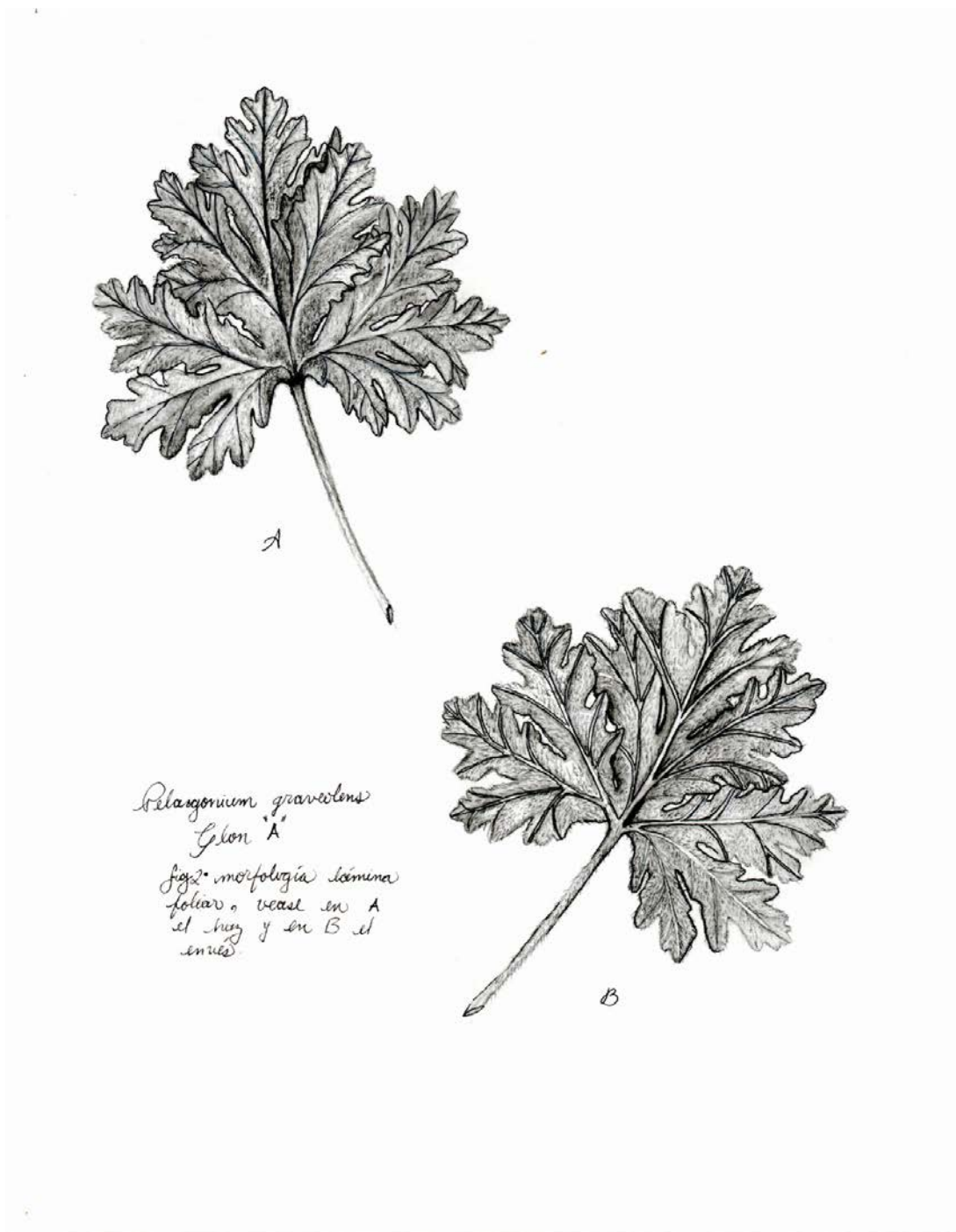
Es de todos sabido que el mercado de productos botánicos se incrementa a nivel mundial debido a la preferencia de los consumidores por los productos naturales. Esto hace que sean blanco de adulteración, lo cual es más común y difícil de detectar en los derivados industrializados, siendo crítico contar con procedimientos confiables que permitan su autenticación, sin embargo, la estrategia del código de barras de ADN puede ser una herramienta muy útil y accesible que permite la clasificación en grupos de materiales vegetales interesantes, si bien su desempeño se ve acotado por la representación de las especies en las bases de datos, lo cual es claramente reportado por (Rey Bentos, F. y Capdevielle Sosa, F. 2020) en su artículo “Aplicación del código de barras de ADN (DNA Barcoding) para la identificación de especies vegetales de interés industrial”.

Haciendo uso de marcadores moleculares específicamente DNA polimórfico amplificado al azar (RAPD), (Salama, A. M. et al., 2016) trabajando con seis especies de *Pelargonium* se logró determinar las relaciones taxonómicas entre las diversas especies, determinando dos grandes grupos, uno conformado por *P. zonale* y *P. grandiflorum* y el resto de las especies en otro grupo, entre ellos *P. graveolens*, mostrando la efectividad de la metodología para el agrupamiento taxonómico de los materiales genéticos estudiados.

(Tembe, R.P. y Deodhar, M. A., 2010) en la India, utilizando la técnica de marcadores moleculares por RAPD, al ocupar inicialmente 20 primers o “cebadores”, llegaron finalmente a seleccionar un set de seis primers, que fueron los más informativos en el estudio, logrando efectivamente diferenciar que los cultivares de *Pelargonium graveolens*: Reunión, Bourbon y Egipto, eran genéticamente diferentes entre sí por el uso del marcador molecular aplicado.

(Pandith, S.A. et al., 2017) evaluaron la estabilidad genética de calliclones de *Pelargonium graveolens*, al aplicar marcadores moleculares con tecnología de RAPD (ADN polimórfico amplificado al azar) y medir así, la base genética de la variabilidad; además, confirmaron la identidad genética de *Pelargonium* por medio de análisis de DNA Barcode, empleando como base, los barcoding loci ITS, rbcl, y psbA/trnH, indicando lo anterior que pueden ser usados efectivamente como un sistema de referencia standard para la

identificación varietal y protección de derechos de propiedad intelectual (IPR), todo como resultado del uso de la tecnología innovadora del Barcoding DNA.



**Figura 5.** Dibujo a tinta china mostrando características morfológicas en haz y envés de lámina foliar de planta clon A *Pelargonium graveolens* cultivado en El Salvador, C.A.

### **3.0. Materiales y Métodos.**

#### **3.1. Información climática y agrobiológica del área con cultivo comercial de *Pelargonium graveolens* en El Salvador.**

##### **3.1.1. Ubicación geográfica. Generalidades del país.**

El Salvador está localizado en América Central entre el norte y el sur del Continente Americano. Limita al oeste con Guatemala, al norte con Honduras, al este con Honduras y Nicaragua en el Golfo de Fonseca y al sur con el Océano Pacífico. (Figura 5). La extensión del país es de aproximadamente 21.040.79 kilómetros cuadrados, con 296 kilómetros de litoral en el Pacífico que se extiende a lo largo del territorio. Geográficamente el país se encuentra ubicado en latitud del hemisferio norte. Sus coordenadas geográficas son entre 13° 24' y 14° 24' Latitud Norte y entre 87° 39' y 90° 8' Longitud Occidental.

La precipitación anual en el país oscila entre 1200 y 2800 milímetros con un promedio nacional por año de 1784 milímetros y una temperatura media anual entre 12.7 °C y 26.9 °C con un promedio nacional diario de 24.5 °C.

Como en toda el área centroamericana, se tienen dos épocas estacionales de lluvias: la seca y la lluviosa. Por lo general, en El Salvador, corresponde a los meses de enero y febrero como la época más seca del verano, siendo septiembre el mes más lluvioso de la estación denominada como invierno. (Ministerio de Medioambiente y Recursos Naturales (MARN), El Salvador, 2018).

##### **3.1.2. Factores abióticos en área de trabajo.**

Para disponer de la información básica en lo referente a latitud, Longitud, altitud, temperatura, humedad relativa, precipitación pluvial, composición y estructura junto al estado nutricional de los suelos se hizo revisión bibliográfica a disposición en lo posible. así como fue adquirida económicamente la información climática de ocho años (Tablas 6,7,8,9,10,11,12) en la oficina de Gestión de Datos e Información de la Dirección General del Observatorio Ambiental que dependen del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) de El Salvador; con la información obtenida se preparó cuadro que consolida los parámetros de lluvia total por año, temperaturas media, máxima y mínima promedio por día en el año correspondiente en grados Celsius y el porcentaje promedio diario de humedad relativa (Tabla 1).

Al referirnos al suelo en su contenido químico y de humedad, se extrajeron muestras de ese factor abiótico durante tres ocasiones (años 2017, 2019 y 2022, Tablas 15, 16, 17,18, 19,20, 21 y 22), solicitándose la ejecución del análisis químico y de la humedad contenida en el Laboratorio de Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES), institución privada que proporciona estos servicios especializados; con los resultados obtenidos, se realizó cuadro que consolida dicha información (Tabla 2).

Para la obtención de las muestras de suelo, en los tres años, la parcela cultivada con geranio por sus características topográficas, fue dividida en dos porciones, correspondiendo la muestra A a la zona relativamente plana y la muestra B que considera el área con topografía inclinada. En todos los casos y para cada muestra, se obtuvieron al azar en el terreno de 12 a 15 submuestras que se depositaron en un recipiente plástico nuevo en cada oportunidad, se hizo la mezcla para obtener una muestra homogénea, de aquí se obtuvo la porción representativa de 500 gramos en cada caso, se depositó en una bolsa plástica nueva , muy bien identificada (tanto dentro como por fuera de la misma); mientras eran conducidas al laboratorio, las muestras fueron colocadas dentro de una “hielera”tratando de conservar la humedad

contenida en el suelo ya que era uno de los parámetros importantes a ser medido, siendo finalmente entregadas las muestras al laboratorio en cada año en evaluación. Posteriormente fueron retirados los resultados con los cuales se conformó el cuadro correspondiente.

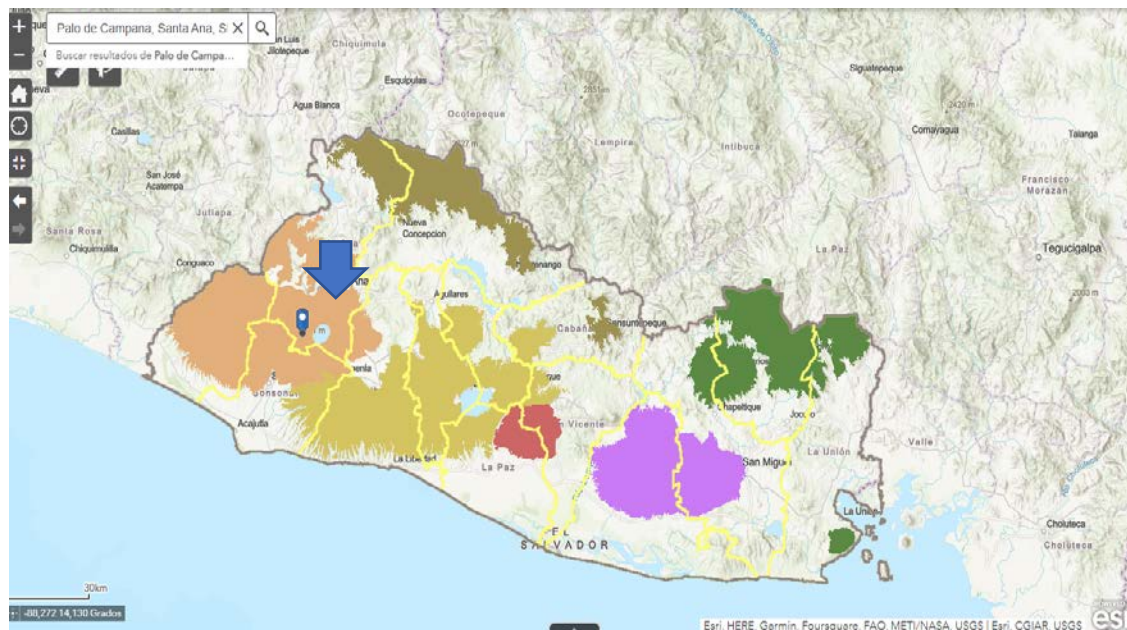
### 3.1.2.1. Ubicación geográfica del área del trabajo de investigación.

La investigación propiamente dicha, se llevó a cabo en Caserío Guadalupe, Cantón Palo de Campana (Figuras 6, 7 y 8), jurisdicción del Municipio de Santa Ana, Departamento de Santa Ana en El Salvador, Centro América.

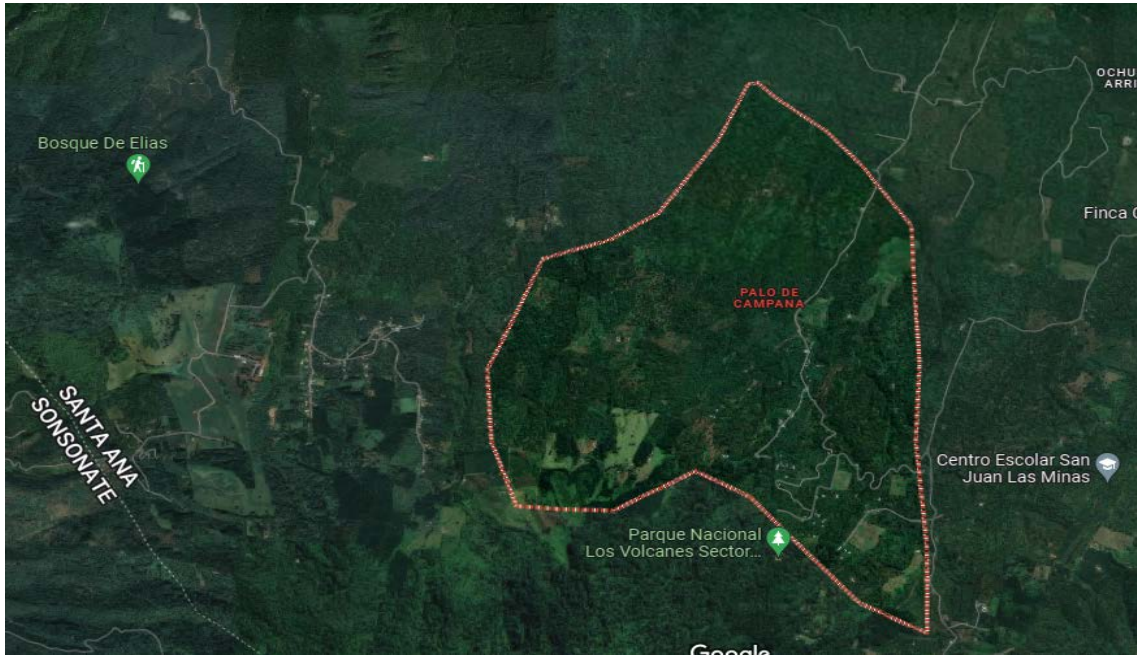




**Figura 6.** Ubicación geográfica de El Salvador en Centro América.



**Figura 7.** Ubicación geográfica exacta en El Salvador, del área donde se realizó la investigación en Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana.



**Figura 8.** Acercamiento geográfico del lugar de la investigación en Finca Guadalupe, Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador.

Las coordenadas geográficas que corresponden al lugar de trabajo son latitud Norte  $13^{\circ} 8667$  y Longitud Occidental  $- 89^{\circ} 61$ . Está ubicado a una altitud promedio de 1720 metros sobre el nivel del mar y a 68 kilómetros de distancia de la capital.

El lugar propiamente, se catalogaría según la clasificación climática de Köeppen – Geiger (Peel, M.L., Finlay, B.L. y McMahon, T.A. 2007), como clima tropical con verano seco, ya que se tienen varios meses en el año con menos de 60 milímetros de lluvia. En el año, el mes más seco tiene una precipitación menor al resultado de aplicar la fórmula  $[100 - (\text{Precipitación anual} / 25)]$ . De donde, al aplicar la ecuación resulta que  $100 - 2109.73/25 = 15.61$ . Según información meteorológica recabada en la estación climatológica denominada Finca Los Andes del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) (Tablas 8, 9,10, 11,12,13 y 14), resulta que hay más de un mes que tiene “0” milímetros de precipitación, con lo cual se cumple este requerimiento.

En la zona, el área de la presente investigación, como ya se mencionó, está aledaña a la Estación climatológica Finca Los Andes, infraestructura dependiente de la Gerencia de Meteorología, Dirección General del Observatorio de Amenazas y Recursos Naturales del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador (MARN), por lo cual se solicitó y se adquirió la información técnica que fue contabilizada durante ocho

años y finalmente resumida en Tabla 1; detallándose que la lluvia varió de 1490.20 a 2701.50 milímetros con un promedio de 2127.16 milímetros de lluvia por año; con temperatura media por día de 17.04 °C variando de 15.83 a 17.57 °C; con temperatura máxima promedio por día de 21.58 °C, oscilando estos desde 20.28 a 22.23 °C de temperatura máxima por día y temperatura mínima promedio por día de 12.84 °C variando estas temperaturas mínimas desde 11.83 °C hasta 13.33 °C, el porcentaje de humedad relativa por día tiene un promedio de 82.78 variando desde 75.92 hasta 85.00; los rumbos de los vientos son predominantes del Este en la estación seca y en la estación lluviosa, durante la noche se desarrolla un sistema local nocturno del viento con rumbos desde las montañas y colinas cercanas, con velocidades medias de 9 kilómetros por hora.

**Tabla 1. Cuadro resumen con información climatológica Estación Los Andes, MARN. Valores promedios obtenidos durante 8 años. Años 2015-2022.**

Año	Total lluvia mms/año	T° media/Día °C/año	T°. Máxima Prom./Día °C/año	T° Prom. Mínima Prom./Día °C año	% Prom.Hum. relativa Prom./Día/año
2015	2121.20	17.18	21.90	13.33	84.83
2016	1910.10	17.28	21.98	13.28	85.00
2017	1956.10	17.10	21.48	12.88	83.75
2018	2479.30	17.12	21.44	12.58	83.00
2019	1510.40	15.83	20.28	11.83	75.92
2020	2701.50	17.57	22.23	13.28	84.00
2021	2231.70	17.22	21.77	12.72	83.42
2022 *	1254.60	17.33	18.82	12.49	82.29

\* Información climática oficial obtenida al 31 julio 2022 (Promedio de siete meses).

La mayoría de los suelos que forman el territorio de El Salvador son de origen volcánico y aluvial. Se pueden distinguir varios grupos de suelos en función de su desarrollo. Los suelos jóvenes poco desarrollados están formados por materiales arenosos de origen marino,

localizados en los cordones litorales (regosoles halomórficos); materiales de origen aluvial reciente (en las planicies de ríos, lagos y lagunas) y volcánicos (Andosoles). Estos últimos ocupan desde áreas planas hasta pendientes escarpadas y las faldas de los volcanes.

También encontramos que han evolucionado por efectos de los procesos erosivos (Leptosols). Otros suelos salvadoreños son los Vertisoles que son muy arcillosos y oscuros, pegajosos y plásticos cuando son humedecidos, pero cuando están secos, son muy duros y agrietados. Generalmente se tienen en áreas cubiertas con vegetación arbustiva.

Dentro del grupo de suelos con un nivel más elevado de desarrollo podemos encontrar los Luvisols, coloridos, por la presencia de minerales de hierro de diferentes tipos y grados de oxidación, a lo largo de las pendientes medias a difíciles o muy fuertes, con textura superficial franco arcillosa y subsuelo arcilloso. Son muy pedregosos y su material de origen es lava o lodo volcánico. También podemos encontrar Acrisols y Nitisols semejantes a los anteriores, aunque son más profundos, antiguos, más ácidos y consecuentemente más pobres en nutrientes. Estos últimos están distribuidos en los territorios de la región norte y de las tierras más altas del país, en las montañas. Aunque pueden ser aptos para cultivar pequeñas áreas con flores, hortalizas y frutas, su uso más adecuado es el forestal.

En general, en El Salvador, uno de los principales problemas en sus suelos es la erosión, que es causada por diversos agentes entre los que tenemos lluvia (erosión hídrica) y por las condiciones de uso y manejo del suelo por el hombre. Muchas áreas que anteriormente eran ocupadas por bosques nativos fueron deforestadas y convertidas en cultivos anuales lo que dio por resultado en la pérdida del suelo.

Aproximadamente el 65 por ciento de la superficie nacional presenta suelos degradados por efecto de la combinación de la erosión, prácticas inadecuadas del manejo del suelo y la deforestación. La degradación de ese suelo ha producido al mismo tiempo, el empeoramiento de las condiciones socio-económicas y ambientales.

En El Salvador, apenas un tercio de las tierras son adecuadas para la agricultura intensiva y mecanizada. En ellas se cultiva principalmente caña de azúcar, arroz, frutales, café, sorgo, maíz y frijol. En tanto, dadas las características de los suelos, otra tercera parte de las tierras aptas para la agricultura, podrían ser destinadas a una agricultura más productiva y sustentable, implementando siempre las buenas prácticas agrícolas, evitando, por ejemplo, el cultivo en las pendientes fuertes con topografía inclinada.

Al referirnos específicamente al tipo de suelo en la zona geográfica aledaña a donde se desarrolló esta investigación, corresponde en general de Andosoles a Regosoles; predominando en la parcela en estudio, el tipo Andosol, seguramente originado de cenizas volcánicas, mostrando coloración negra y con alta presencia de materia orgánica; con topografía de ondulada a alomada, buen drenaje; son suelos con un desarrollo aceptable y

con perfiles de texturas medias a moderadamente finas, también son suelos profundos no pedregosos, variando de arcillosos a limosos. En cuanto a su potencial agrícola es de alta a muy alta productividad. (Gardi, C., et al., 2015; Ministerio de Medioambiente y Recursos Naturales (MARN), El Salvador, 2012).

Como ya sabemos, el uso de la tierra implica el uso o empleo actual que hagamos de la tierra, ya sea agrícola o no, en donde el suelo es localizado (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO, 2012). Según este concepto, la mayoría de las tierras en el área de la investigación y sus alrededores, son apropiadas para una agricultura intensiva: suelos medianamente profundos, pH's aceptables, altos contenidos de materia orgánica, contenidos favorables de macro y micro elementos químicos; encontrándose en estos suelos cultivos comerciales de hortalizas y flores de diversas especies, café y algunos bosques más que todo de coníferas.

**Tabla 2.** Cuadro Resumen con resultados de análisis químico de suelos realizados durante tres años, parcela cultivo Geranio en Finca “Guadalupe”, Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, Centro América.

Elemento analizado	Año 2017		Año 2019		Año 2022	
	Suelo A	Suelo B	Suelo A	Suelo B	Suelo A	Suelo B
Textura	FCA	FCA	CA	CA	FCA	FCA
pH	6.0	6.1	5.6	5.6	5.8	5.7
% MO	5.75 A	5.05 A	7.48 A	9.48 A	9.10 A	5.49
Fósforo ppm	7 B	7 B	11 B	5 B	12 B	23 A
Potasio ppm	114 M	143 M	100 M	68 B	393 A	416 A
Calcio ppm	1115 A	660 M	870 M	1115 A	820 M	995 M
Magnesio ppm	110 M	95 M	qu100 M	135 A	125 A	115 M
Cobre ppm	2.1 B	2.5 B	2.2 B	1.2 B	2.7 B	2 B
Hierro ppm	47.4 O	48.4 O	21.6 O	14.4 B	37.7 O	23.5 O
Manganeso ppm	9.5 B	6.0 B	25.8 O	26.0 O	9.3 B	9.7 B
Zinc ppm	3.0 B	1.4 B	7.0 O	4.3 B	4.6 B	14.1 O
Boro ppm	0	0	0.6 O	0.9 O	0	0
Aluminio ppm	90 O	90 O	54 O	45 O	72 O	72 O
Sodio ppm	0	0	170.6 O	183.8 O	0	0
CICE meq/100 cc	8 M	5 M	6 M	7 M	7 M	8 M

Nota : Suelos A y B son de una misma parcela, diferencia es que suelo A es parte alta y suelo B es porción baja del terreno.

### 3.1.3. Factores bióticos.

Son todos los organismos vivos, animales, hongos plantas, bacterias y otros microorganismos, que influyen en la forma de un ecosistema y sus interacciones.

#### 3.1.3.1. Flora.

Para las condiciones climáticas que se tienen en esta zona de El Salvador, la vegetación es muy exuberante, encontrándose árboles diversos, así como orquídeas y bromelias; con siembras de diversas especies de plantas de uso ornamental, así como hortalizas propias de estas zonas de altura y que son cultivadas por los habitantes de la localidad.

La información que en relación a flora se muestra en este párrafo, fue obtenida como revisión bibliográfica que se resume en lo siguiente: Al respecto, (Martínez Batres, R.C.,2007), cita diversos autores quienes coinciden en la gran diversidad de vegetación encontrada en estas áreas, destacando que en estudio cuantitativo de la estructura y composición florística de varios sectores de la zona, se encontraron 42 especies de árboles, 35 de arbustos y 36 de herbáceas. Otros autores manifiestan que al abarcar lo que es toda la Reserva de la Biosfera Apaneca-Illamatepec y que es donde se encuentra la presente investigación, se conocen un total de 760 especies de plantas, de las cuales 58 están amenazadas de extinción y 14 se encuentran en peligro de extinción. (Gallo, M. y Rodríguez, E., 2007).

Otro investigador, en estudio más reciente, manifiesta que en general, especies vegetales arbóreas características presentes en la zona son los géneros *Quercus sp*, *Pinus sp* y *Cupressus lusitánica* y *Lyquidambar styraciflua*; aunque también son frecuentes otros géneros como *Saurauia*, *Styrax*, *Hirtella*, *Sapranthus* y *Matayba*. Se observa también marcado epifitismo de diversas especies de Orquídeas, Bromelias, Piperáceas, Cactáceas y helechos. (Rodríguez Escoto, C.A. 2019).

Es notorio que la vegetación se mantiene verde y fresca durante el año por la alta humedad del suelo y del aire, así como por las relativas bajas temperaturas junto a la neblina y lluvias relativamente frecuentes.

#### 3.1.3.2. Fauna.

Igual que para el anterior componente biótico, se realizó búsqueda de documentos que se sintetizan en que la fauna es más reducida que la flora; sin embargo, se han encontrado reptiles y anfibios, algunos mamíferos como venados, coyotes, zorro espín, tigrillo; también se encontraron aves de rapiña como gavilán cola corta, halcón de monte y el águila negra.

Es frecuente el ave llamada comúnmente como “Guardabarranco” (*Myadestes unicolor*). (Rodríguez Escoto, C.A. 2019).

Al incluir la zona de la investigación dentro de la Reserva de la Biosfera Apaneca-Illamatepec, se puede puntualizar que en ella existen doce especies endémicas de vertebrados, invertebrados, plantas y representantes de otros Taxa que habitan los bosques de altura. Las especies de insectos y arácnidos representan un universo de formas y colores, aunque poco estudiado en la Reserva de la Biosfera. (Gallo, M. y Rodríguez, E., 2007).

### **3.2. Material vegetal a utilizar.**

#### **3.2.1. Selección y colecta del material vegetal en las dos accesiones de *Pelargonium graveolens* para estudio morfológico, molecular y fitoquímico.**

El área total de trabajo comprendió 2345 metros cuadrados (0.23 hectárea). Está cultivada con dos tipos de *Pelargonium spp* que tienen características morfológicas que inicialmente a la vista, muestran diferencias entre sí. La plantación empezó en el año 2017 con varias plantas consideradas como “madres” del clon A y plantas “madres” del clon B. A la fecha, toda la parcela está dividida en dos porciones, una de aproximadamente 1300 m<sup>2</sup> cultivada con el clon A y la otra sección que está cubierta con plantas del clon B en un área de unos 1000 metros cuadrados.

Dentro de la plantación que se tiene bajo cultivo, fueron seleccionadas cinco plantas de las llamadas “plantas madres” de cada uno de los dos clones identificados como clon A y clon B siendo identificadas y nominadas cada una de las plantas con números correlativos del 1 al 5 para cada caso, identificación que fue hecha tanto en el área de trabajo (Figura 9) como en el plano de campo que para tal fin se diseñó (Figura 10). De estas plantas únicamente fueron tomadas las hojas o tejido foliar para los análisis de los marcadores moleculares o de ADN, para el estudio de microscopía electrónica, así como para la toma de los descriptores morfológicos de las plantas en cada clon.

Para el estudio del perfil fitoquímico, dentro de las dos parcelas delimitadas e identificadas como clones A y B, se fue observando, seleccionando estrictamente y cortando el material vegetativo representativo para cada caso y con las mejores condiciones como material vegetal a utilizar para extraer el aceite esencial que serviría como muestra y de aquí, determinar sus componentes químicos, o sea, el perfil fitoquímico para cada clon.





**Figura 9.** Vista general de plantación y distribución de las plantas “madres” de *Pelargonium graveolens* por clon en el campo.



Indicador:

Clon A

Plantas A1, A2, A3, A4, A5

Clon B

Plantas B1, B2, B3, B4, B5

**Figura 10.** Plano de campo de parcela con cultivo de geranio de olor (*Pelargonium graveolens*) con la distribución de las plantas “madres” de clones A y B en área de trabajo.



**Figura 11.** Planta “madre” número uno del clon B de *Pelargonium graveolens* identificada en el área de trabajo.

### **3.3. Estudio de Tricomas en las accesiones de dos cultivares de *Pelargonium graveolens* mediante microscopio electrónico de barrido.**

3.3.1. Colecta y preparación inicial de muestras de tejido vegetal en el campo. Conservación y traslado del área de trabajo al laboratorio de microscopía electrónica.

Se tomaron muestras de las cinco plantas identificadas en el campo de los dos clones A y B. Las porciones obtenidas en el campo consistieron en pecíolos y nervaduras centrales (tres porciones de cada una por planta analizada) y porciones ‘foliares obtenidas de hojas con buen desarrollo, libre de manchas o algún daño foliar; fueron seccionadas con cuidado

identificadas con la información correspondiente para cada material genético a evaluar y sumergidas en los frascos con solución de karnowsky para su fijación para ser posteriormente conducidas al Laboratorio de Microscopía electrónica del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, en San Salvador. El traslado de las muestras fue inmediato tratando de que el tiempo entre extracción y uso de las muestras no fuera más de 48 horas. En todos los casos, el muestreo y uso de las muestras, se hizo aplicando el Manual de procedimientos y uso del microscopio electrónico de barrido (Zúniga, C., J.E., 2018) que para tal fin tiene el Laboratorio especializado en CENSALUD.

### 3.3.2. Observación en microscopio electrónico de barrido de los tricomas en estructuras foliares y florales en las accesiones de los dos Cultivares de *Pelargonium graveolens*.

Las muestras colectadas de cada clon fijadas en la solución de Karnowsky; fueron procesadas en el laboratorio de microscopía electrónica de CENSALUD. Se procedió a eliminar la solución fijadora, haciendo dos lavados de las muestras en solución amortiguadora de fosfato pH: 7.4; una vez lavadas se realizó una post-fijación en solución de tetróxido de osmio al 1% en solución amortiguadora de fosfatos durante una hora a 4°C. Nuevamente, después de la post-fijación con osmio se realizaron dos lavados con solución amortiguadora de fosfato pH:7.4 a temperatura ambiente. Posterior a la fijación y lavados, las muestras fueron deshidratadas en soluciones ascendentes de etanol desde 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, dejando las muestras en cada solución por 10 minutos a temperatura ambiente. Luego fueron dejadas en etanol absoluto grado reactivo durante 10 minutos para luego imbibirlas en líquido de transición en este caso acetona. Es así como las muestras se dejaron 15 minutos en solución de etanol-acetonas en tres proporciones 2:1, 1:1; 1:2 y luego en acetona pura.

Las muestras posteriormente, fueron secadas por punto crítico en atmósfera de CO<sub>2</sub> líquido en un secador BAL-TEC CPD030; una vez secas se colocaron en los respectivos portamuestras del microscopio electrónico de barrido (SEM) , siendo recubiertas con oro en un cobertor iónico BAL-TEC SCD050. La observación a diferentes aumentos, se realizó en un microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-5610, con un voltaje de aceleración de 20 Kv.

### **3.4. Estudio comparativo de la morfología de plantas de *Pelargonium graveolens* en los dos Clones en estudio.**

3.4.1. Selección y preparación en el campo del material vegetal de *Pelargonium graveolens* a estudiar.

Del total de plantas que conforman a los dos materiales genéticos en estudio, se tomaron las cinco “plantas madres” inicialmente seleccionadas de cada clon para hacer las evaluaciones con la aplicación de los descriptores morfológicos correspondientes y lograr entonces la diferenciación en la morfología entre los dos clones.

3.4.2. Análisis morfológico aplicando formulario con descriptores para *Pelargonium graveolens* a nivel de estructuras foliares y florales.

Al tenerse las plantas seleccionadas e identificadas dentro de toda la población de plantas para cada clon y haciendo uso de los accesorios correspondientes (cinta métrica, regla graduada) junto al formulario que se estructuró para tal fin y que resume la principal información morfológica, se procedió a hacer las mediciones cuantitativas siguientes: altura de la planta, diámetro de planta, longitud de pecíolo, largo y ancho de hoja, número de sépalos y pétalos en flor así como el número de flores por inflorescencias, esto último sólo en el en el clon A que es el cual presenta floraciones. En lo cualitativo se midió hábito de crecimiento, forma de lámina foliar, margen u orilla de la hoja, color, textura, tipo de ápice y base de las hojas y presencia de tricomas. En la flor se se visualizó color, olor, forma y presencia de tricomas.



**Figura 12.** Toma fotográfica general de la plantación con geranio de olor *Pelargonium graveolens* en la parcela correspondiente al clon A.

### **3.5. Análisis del perfil fitoquímico del aceite esencial de Geranio de Olor obtenido en los dos Clones de *Pelargonium graveolens* en estudio.**

#### **3.5.1. Selección y colecta del material vegetativo en el campo para extraer su aceite esencial de Geranio AEG.**

Para lo correspondiente al estudio del perfil fitoquímico de los dos materiales vegetativos en estudio, durante los meses de julio-agosto 2021 se colectó en el campo, material vegetal con edades de 4-5 meses de edad de los dos clones por separado, tratando de que fueran porciones vegetales en buenas condiciones, con ramas y follaje vigoroso, con adecuada coloración vegetativa y sin ramas ni tallos lignificados con coloración café. Lo colectado fue pesado, colocado en sacos plásticos nuevos y trasladado del lugar de cosecha a la sala de extracción de aceites en San Salvador.

### 3.5.2. Extracción del aceite esencial de Geranio de Olor en laboratorio y/o Planta industrial extractora.

El material colectado al llegar a la sala de extracción, para cada uno de los clones se seccionó en porciones pequeñas eliminando todo el material lignificado, hojas secas y todo lo deteriorado, quedando finalmente el material vegetal verde formado por ramas y hojas frescas ( Para el clon A se tuvo como material adecuado el 77% del total inicialmente colectado y para el clon B el 76%), todo lo cual se tuvo de uno a dos días en deshidratación (“oreado”), posteriormente fue sometido al proceso de hidrodestilado durante un tiempo aproximado de dos horas y a temperaturas con alrededor de 89-90 °C. Al ser extraído el aceite, se dejó que se sedimentara por 24 horas, se separaron las fases aceite, agua e impurezas por decantación y se dejó inmóvil por unos tres días para que se estabilizara (maduración del aceite), después se envasó en frascos nuevos de vidrio coloración ámbar para posteriormente almacenar a una temperatura promedio ambiental de 25-26 °C en obscuridad, mientras eran trasladadas gradualmente las muestras al laboratorio para su análisis en Guatemala. Ambos aceites extraídos de cada clon fueron identificados obteniéndose tres réplicas de cada uno, rotulando cada réplica (AEGA1, AEGA2, AEGA3 y AEGB1, AEGB2, AEGB3).

### 3.5.3. Análisis en Laboratorio de Universidad Mariano Gálvez UMG, Guatemala del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (AEG) mediante análisis dual de solventes por cromatografía gaseosa con detector de masas (MSD) y detector de ionización de llama (FID).

Al inicio, se buscó en El Salvador donde obtener el perfil fitoquímico del aceite extraído por medio del análisis químico de éste, lamentablemente limitaciones de infraestructura, equipo, y recurso humano capacitado lo impidieron, por lo que posterior a la búsqueda de laboratorios cercanos a El Salvador, el aceite esencial extraído finalmente fue llevado y entregado al laboratorio del Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas de la Universidad Mariano Gálvez de la Ciudad de Guatemala, Guatemala para hacer su análisis y determinar su perfil fitoquímico. Cada una de las muestras del aceite esencial se analizó utilizando un Cromatógrafo de gases (GC) Agilent 6890 equipado con una columna capilar de sílice fundido HP-5MS (0.25 mm x 30 m x 0.25 µm). La temperatura del horno se mantuvo a 50 °C durante 5 minutos y luego se incrementó de 50 °C a 150 °C a razón de 3 °C por minuto. Luego se incrementó de 150 °C a 250 °C a razón de 10 °C por minuto y se mantuvo a 250 °C por cinco minutos. Las temperaturas del inyector y del

detector (FID) se ajustaron a 250 °C y 350 °C respectivamente. Se utilizó Helio como gas acarreador con un flujo de 1.0 mililitros por minuto. Un  $\mu\text{L}$  de la muestra de aceite puro se inyecta en modo Split (250:1 split). La cuantificación se realizó electrónicamente por normalización de áreas de los datos obtenidos de porcentaje de áreas del FID.

El análisis de GC/MS se realizó con un sistema Agilent que consistió de un cromatógrafo de gases Agilent 6890 con un detector de masas modelo 5973 equipado de una columna capilar de sílice fundido HP-5MS. Para la detección de GC/MS se empleó un sistema de ionización electrónica con energía de ionización de 70 eV. Se utilizó Helio como gas acarreador con un flujo de 0.5 mililitros por minuto. El programa de la temperatura del horno fue el mismo que para el análisis de GC/FID. La temperatura del inyector y de la línea de transferencia al de masas, se programó a 250°C y 280 °C respectivamente. Un  $\mu\text{L}$  de la muestra de aceite puro se inyecta en modo Split (250:1 split). La identificación de los componentes del aceite se realizó comparando los patrones de fragmentación de masas (Biblioteca NIST y sistema de datos ChemStation).

3.5.4. Obtención del perfil fitoquímico de los aceites esenciales de los dos cultivares de *Pelargonium graveolens* en estudio.

Como ya se expresó anteriormente , para cada uno de los clones se extrajo una muestra única la cual se subdividió en tres porciones de cada clon, las cuales fueron guardadas convenientemente, siendo trasladadas en el momento que le correspondía al laboratorio del Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas de la Universidad Mariano Gálvez de la Ciudad de Guatemala, donde inmediatamente fueron procesadas haciéndose en todas las muestras los análisis y resultados siguientes : análisis dual de solventes por cromatografía gaseosa detector de masas (MSD) y detector de ionización de llama (FID) expresado esto como porcentajes de cada elemento respecto al total de lo determinado para el total de cada muestra, listado de nombres químicos, comunes y número CAS (por siglas en inglés Chemical Abstracts Service, que es el número individual asignado que permite la identificación inequívoca de una sustancia química), cromatogramas y reportes de búsqueda de elementos en biblioteca. Con todos estos resultados se realizaron los diversos cuadros resúmenes de información obtenida así como las comparaciones con otros trabajos de investigación ya realizados.

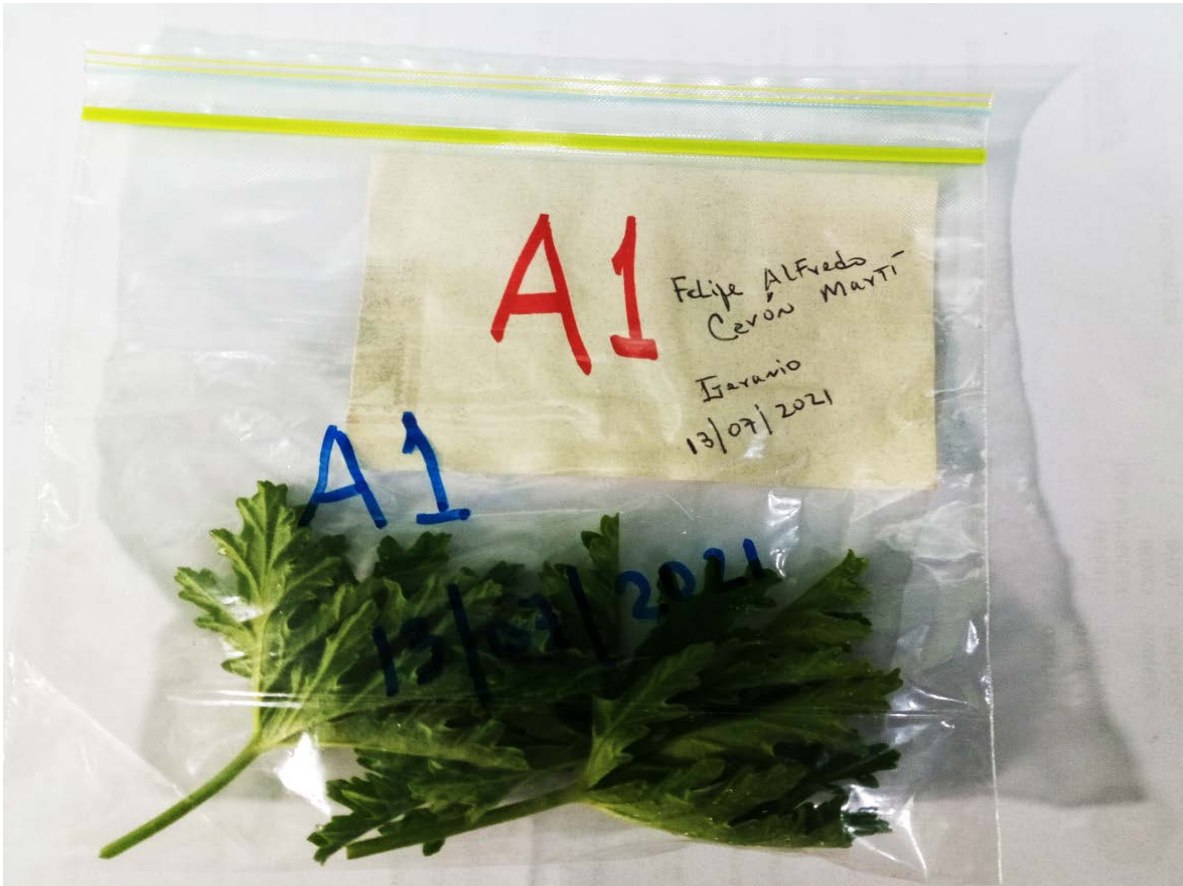


### **3.6. Análisis genético mediante técnicas de RAPD e ITS y “DNA Barcoding”.**

3.6.1. Selección, colecta, preparación y traslado de las muestras vegetativas para extracción y análisis del ADN en los dos clones de *Pelargonium spp.*

En las cinco plantas madres seleccionadas en cada Clon y en cada una de las veces que fue necesario hacerlo, utilizando tijeras previamente esterilizadas con alcohol 70 % , se fueron seccionando las porciones vegetativas por planta identificada y por cada clon, se guardaron en bolsas plásticas Ziploc con cierre hermético (Figura 13) OK, las cuales tenían doble identificación, una interna en papel y otra externa sobre la bolsa con marcador permanente, identificando cada planta por clon así : A1, A2, A3, A4 y A5 para Clon A y B1, B2, B3, B4 y B5 para el clon B.

Se tomaron en cada planta de tres a cinco hojas representativas con un crecimiento intermedio (ni muy joven ni muy madura), las cuales después de ser seccionadas de cada planta, fueron introducidas en las bolsas antes descritas y colocadas dentro de “hieleras” con hielo seco para conservarlas a una temperatura promedio de 13-15°C y humedad relativa de 42-45 % , mientras eran conducidas del campo al laboratorio, siendo entonces guardadas temporalmente en refrigeración a promedios de 7-8 °C y humedad relativa de 30-40 %. Inicialmente en el desarrollo de la investigación a los laboratorios de CENSALUD, UES en San Salvador año 2018 y posteriormente (del año 2020 a la fecha), al laboratorio de Protección Vegetal, del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle, en Ciudad de Guatemala, Guatemala en donde en total fueron procesados y analizados cinco grupos de muestras, esto acorde a las necesidades de análisis que surgieron para cumplir con los objetivos de la investigación.



**Figura 13.** Muestras foliares por clon y planta colectadas en parcela correspondiente para extracción de ADN en el Laboratorio.

### 3.6.2. Proceso de extracción de ADN genómico de *Pelargonium graveolens*.

Como ya se expresó anteriormente, el análisis genético se inició en el año de 2018 -2019 en el laboratorio de Biología Molecular que para tal fin tiene el Centro de Investigación y Desarrollo CENSALUD en la Universidad de El Salvador, considerada ésta como la fase inicial, en la cual se pretendía desarrollar en El Salvador, un método eficiente, práctico y de bajo costo para la extracción del ADN a partir del tejido foliar de los dos clones en estudio de *Pelargonium spp.* Junto a lo anterior, contar en el país con una técnica o metodología eficiente y efectiva para el proceso de extracción de ADN en plantas de interés agronómico y comercial se considera que es un paso crítico, determinante y muy importante en todos los estudios sobre genética molecular aplicable específicamente a nuestro campo de la agricultura en El Salvador.

Se debe mencionar, que las múltiples pruebas iniciales pretendiendo extraer el ADN de tejidos provenientes de los dos clones de *Pelargonium spp* en estudio, no dieron resultados favorables.

Tratando de resolver, los inconvenientes encontrados, se probaron varias opciones para conducir y conservar las muestras frescas y lograr extraer el ADN en cantidad y calidad apropiada; por ello, inicialmente se probaron varias opciones, buscando la cual favoreciera la conducción de la muestra desde la zona de cultivo al laboratorio y su posterior conservación antes de la extracción del ADN.

Se tomaron dos tipos de muestras: hojas maduras y jóvenes, para evaluar la cantidad y la calidad del ADN extraído. De aquí, resultaron dos opciones o alternativas para conservar las muestras, las cuales fueron:

- Colecta en el campo del material vegetal apropiado, como tejido foliar con edades intermedias, transportándose en sobres de papel filtro preparados para tal fin, luego secados en incubadora a 50 °C por 24 horas, maceradas en nitrógeno líquido y guardadas en crioviales a – 20°C. También se probó con hojas frescas, pero se hizo difícil su maceración posterior en nitrógeno líquido.

- Colecta de hojas maduras, brotes u hojas jóvenes, inicialmente guardadas en sobres de papel Kraft, luego colocadas en bolsas tipo Ziploc con sílica gel o Humidex a razón de 35 gramos del producto por cada muestra (material absorbente de humedad, recomendable y de bajo costo) y con adecuada extracción del aire interno. Estas fueron guardadas en un lugar fresco y seco por aproximadamente unos 5 días, ya una vez deshidratadas se almacenaron a – 20 °C en las bolsas selladas.

Continuando con las múltiples pruebas iniciales tratando de extraer el ADN de los tejidos foliares, se encontró que las muestras procesadas mostraron degradación y contaminación con polifenoles, proteínas, y polisacáridos junto a los aceites esenciales propios del material extraído. En particular, se consideró que fue la alta cantidad de polisacáridos como componentes propios de las hojas en los dos materiales, lo que dificultó la extracción y purificación del ADN. Los compuestos contaminantes mencionados principalmente interfieren al precipitarse junto con el ADN por lo tanto, degradan su calidad y reducen su rendimiento. Por todas estas razones, se procedió a hacer una revisión de diversos protocolos de extracción de ADN utilizados con *Pelargonium spp* como en otras plantas con altos contenidos de metabolitos secundarios principalmente aceites esenciales. Donde posterior a la revisión bibliográfica y de las diversas pruebas realizadas en el

laboratorio, se logró estandarizar los pasos necesarios desde la toma de la muestra hasta la extracción misma del ADN.

Consolidando lo anterior, el fin de esta primera fase fue desarrollar un método eficiente, sencillo y económico de extracción del ADN, a partir del tejido foliar de *Pelargonium spp.* clones A y B para obtener un protocolo óptimo de extracción para futuras aplicaciones en esta especie, como también su posible aplicación a otras plantas existentes en el país y de interés económico, medicinal ó aromático y que contengan algunos de los componentes que el material de Geranio de olor bajo estudio, nos mostró en su composición físico-química.

A continuación, se describe la secuencia de lo realizado y el protocolo estandarizado para los dos materiales genéticos de *Pelargonium spp* cultivados en similares condiciones en El Salvador.

*-Toma de muestra y transporte.*

Inició proceso con colección de hojas ó brotes jóvenes, guardadas en sobres de papel kraft, colocadas en bolsas plásticas tipos Ziploc, con sílica gel o Humidex (absorbente comercial de humedad, muy recomendable y de bajo costo) con extracción del aire interno. Llevadas al laboratorio donde se deshidrataron a 50°C durante toda la noche. Posteriormente pulverizadas en molino para café tipo Hamilton Beach con capacidad de 4.5 oz.

Extracción de ADN. Se partió del protocolo 3% CTAB DNA Extraction Protocol (modified from Zeng, J. et al. 2002), utilizado para la extracción de ADN de plantas con alto contenido de polisacáridos y metabolitos secundarios, que en resumen es :

- Pesar entre 30 a 50 mg de tejido vegetal (pulverizado con N<sub>2</sub> líquido ó en molino para café) y colocar en tubos estériles de microcentrífuga de 2 ml.
- Agregar 1 mL de Buffer de lavado de sorbitol (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.35 M Sorbitol, 5 mM EDTA pH 8.0, 1% (w/v) Polyvinylpyrrolidone) añadiendo 2-mercaptoethanol (1% v/v) justo antes de iniciar la extracción del ADN.
- Para 50 mg de tejido se agregó 1 mL de buffer de lavado; dependiendo de la calidad de la muestra se hicieron de 1 a 2 lavados; durante 15 minutos dando vortex un minuto sí un minuto nó.

- Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 2000 rpm/15 minutos; el pellet luego fue resuspendido en Buffer de lisis el cual contiene 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 3 M NaCl, 3% CTAB (cetyl trimethylammonium bromide), 20 mM EDTA and 1% (w/v) polyvinylpyrrolidone) y mercaptoetanol al 2% (p/v). Se agregó 1mL de éste buffer a cada muestra, dejándose en incubación a 65°C en un thermoblock, dando vortex cada 15 minutos, durante una hora.
- Una vez cumplido el tiempo de incubación, los tubos se dejaron enfriar a 4°C durante 15 minutos. Agregando, igual volumen de Cloroformo-Isoamilo (24:1) que se ha mantenido a -20°C, cada muestra se agitó con vortex hasta completa emulsión.
- Posteriormente se centrifugó a 5000 g durante 20 minutos a 4°C; se separó la fase acuosa en otro tubo eppendorf y se agregó 1/10 del volumen de acetato de sodio 3M y 0.66 del volumen de isopropanol; se homogenizó y se dejó a -20°C durante 1h.
- Se centrifugó a 13.000 g durante 10 minutos, observándose un pellet blanco se decantó la mezcla de Acetato/Isoamilo, lavándose el pellet con etanol al 70% frío (mantenido a -20°C). Luego el pellet se dejó secar sobre papel absorbente.
- Posteriormente, se resuspendió el pellet en Buffer TE; agregándose 100 µL de buffer hasta completa disolución de los ácidos nucleicos.
- Una vez resuspendido el pellet de ácidos nucleicos se agregó RNAsa libre de DNAsa 0.1 mg ml<sup>-1</sup> ; incubándose las muestras a 37°C durante 30 minutos.
- Después de reprecipitar con AcNa/Etanol absoluto el ADN extraído y purificado se resuspendió en agua destilada UltraPure™ sin ADNasa/ARNasa Invitrogen™ dejándose a 4°C hasta su análisis de calidad al espectrofotómetro.  
Nota: El agua ultra pura debe estar a temperatura ambiente.

Preparación de Soluciones Stock utilizadas en el proceso.

#### 1. Tris-HCl.

Tris base → 100 ml a 1M.

$$\rightarrow \frac{121.14 \times 100}{1000} = 12.114 \text{ gr/ } 100 \text{ ml.}$$

Resuspender con 40 ml de agua destilada y ajustar pH: 8.0 con HCl a 1M (es importante el exacto valor del pH)

→ Aforar con H<sub>2</sub>O destilada a 100 ml.

## 2. EDTA 0.5M

$$\rightarrow \frac{372.2 \times 100}{1000} = 37.22 \text{ gr/ } 100 \text{ ml a } 1\text{M}$$

$$\rightarrow \frac{37.22}{0.5} = 18.61 \text{ gr/ } 100 \text{ ml a } 0.5\text{M}$$

Resuspender con 70 ml de agua destilada y ajustar pH: 8.0 con NaOH al 40%

→ Aforar con H<sub>2</sub>O destilada a 100 ml.

## 3. NaCl 5M

$$\rightarrow 1 \text{ mol de NaCl} = \frac{58.44 \times 100}{1000} = 5.844 \text{ gr/} 100 \text{ ml a } 1\text{M}$$

$$\rightarrow 5.844 \text{ gr} \times 5 = 29.22 \text{ gr/ } 100 \text{ ml.}$$

*Bases y Ácidos para Ajustar pH.*

- NaOH al 40% (100 ml)

Pesar 40 gr de perlas de NaOH, resuspender en 40 ml de agua destilada, mezclar hasta disolver (¡Cuidado! Esta reacción es exotérmica) y luego aforar hasta 100 ml.

- HCl 1M

Primero colocar 91 ml de agua destilada a 4 °C. Luego tomar 8.6 ml de HCl del frasco (37%) con una pipeta de 10 ml, después mientras el agua está fría (mantener la temperatura con hielo) adicionar el HCl, mezclar y aforar a 100 ml.

- Buffer de Digestión. Las siguientes sustancias son los componentes y concentraciones finales del Buffer de digestión

N°	Solución Stock	Concentración Final
1	Tris-HCl 1M	100 mM
2	EDTA 0.5M	25 mM
3	NaCl 5M	1.5 M
4	CTAB	3%
5	PVPP	1%
6	$\beta$ -Mercaptoetanol	2%
7	H <sub>2</sub> O ultra pura	calcular según volumen final

Nota: Asegurarse que el PVP esté bien disuelto y el  $\beta$ -Mercaptoetanol debe ser adicionado en cada muestra después de homogenizar.

### 3.6.3. Determinación de calidad y cuantificación del ADN extraído.

La pureza del ADN se estimó utilizando un espectrofotómetro Nanodrop JENWAY; Genova Nano micro-volumen. Con este equipo, se realizó la lectura utilizando 1  $\mu$ L de muestra de ADN, utilizando como blanco agua ultrapura. La lectura se realizó a 260 y 280; se pudo obtener la concentración de ADN en  $\mu$ g/mL. La relación 260/280, que es un buen indicador de contaminación por proteínas: la muestra de ADN será pura si es menor o igual a 1,8. La medición de la relación 260/230 si es menor de 1,8, indica la existencia de contaminación causada probablemente por componentes orgánicos o agentes caotrópicos, que absorben a 230 nm.

Posteriormente para continuar midiendo la calidad del ADN, se evaluó la integridad del ADN obtenido por electroforesis en gel de agarosa al 1%, corriendo el gel a un voltaje de 70 v durante una hora, visualizando mediante la incorporación en el gel de agarosa GelRed como colorante fluorescente; posteriormente los geles se visualizaron en un sistema de documentador de geles UVP GelDoc-It imager marca Analytikjena.

3.6.4. Análisis molecular de accesiones de *Pelargonium graveolens* de los dos clones en estudio mediante marcadores RAPD's.

Inicialmente, el análisis con marcadores RAPDs de los clones A y B de *Pelargonium* sp., establecidos en el cultivar de Geranio de olor en el Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, comprendió dos aspectos:

- Mediante accesiones seleccionadas al azar de cada clon, analizar a través de RAPDs la homogeneidad genética de las poblaciones de los clones A y B.
- Utilizar RAPDs específicos para diferenciar variedades de *Pelargonium* sp. en los clones A y B de *Pelargonium* sp., establecidos en el cultivar mediante patrón de polimorfismos.

En el primer caso, se siguió la metodología y los parámetros establecidos por (Salama Azza M., et al., 2016). El ADN se extrajo de hojas jóvenes de plantas cultivadas en el campo, utilizando el protocolo CTAB ya descrito y estandarizado para *Pelargonium spp.* en CENSALUD, Universidad de El Salvador. Seis "primers" (cebadores) diferentes: C1, P13, N8, B12, H5 y P8, se utilizaron en este estudio para la amplificación de ADN de acuerdo con (Salama et., al., 2016). Las secuencias de los cebadores utilizados fueron:

- |      |            |     |            |
|------|------------|-----|------------|
| • C1 | TTCGAGCCAG | P13 | GGAGTGCCTC |
| • N8 | ACCTCAGCTC | B12 | CCTTGACGCA |
| • H5 | AGTCGTCCCC | P8  | GGAGCCCAG  |

De igual manera, para cumplir con el objetivo complementario de visualizar diferencias entre accesiones de un mismo clon y entre los clones, sumado a poder determinar incluso a nivel de variedad o cultivar y utilizando tres accesiones tanto del clon A como del clon B, se realizó una comparación entre las muestras por medio de los patrones de bandas obtenidos según los "primers": OPB4, OPB5, OPB12, OPB13, OPB16, OPB19 siguiendo la metodología de (Tembe y Deodhar, 2010). Este análisis se llevó a cabo en el laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala.

La extracción de ADN de las muestras se basó en el protocolo de cloroformo-álcohol isoamílico según Doyle y Doyle (1987) con modificaciones del Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala. El ADN extraído se cuantificó utilizando un espectrofotómetro UV-VIS para obtener la concentración y pureza en base a las absorbancias a 260, 280 y 320nm (Promega®, s.f.). Según la pureza y concentración de las muestras, se agregó ARNasa y se evaluó la integridad. Se procedió a realizar PCRs utilizando los RAPD OPB4, OPB5, OPB12, OPB13, OPB16, OPB19 (Tembe y Deodhar, 2010).



Las condiciones para “correr” las muestras se realizaron según las recomendaciones de Atienzar *et al.* (2018). Trabajando con un volumen de reacción de 25µl conteniendo buffer sin MgCl<sub>2</sub> a 1X, MgCl<sub>2</sub> a 5.11mM, dNTPs a 0.33µM, primer a 2.0 µM, Taq Polimerasa a 0.112U/µl y 1µl de ADN. La amplificación se realizó según Tembe y Deodhar (2010) y se modificó según las sugerencias de Atienzar *et al.* (2018). Siendo modificado el alineamiento a 50°C por 1 min, la extensión a 72°C por 1 min, y la extensión final a 72°C por 10 min.

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de poliacrilamida (PAGE) al 10% utilizando la metodología de tinción con nitrato de plata (Avalos, 2018). Se corrió en duplicado para obtener comparación entre las mismas muestras, y mayor identificación de las bandas.

En CENSALUD, para cumplir con el objetivo de discriminar a nivel de variedad e igualmente complementar lo realizado en laboratorios de Universidad del Valle, Guatemala, se utilizaron tres accesiones tanto del clon A como del clon B, con las cuales se realizó una comparación entre las muestras por medio de los patrones de bandas obtenidos según los “primers” o cebadores de secuencias cortas OPB (Decámeros), específicamente: OPB4, OPB5, OPB13, y OPB19, siguiendo la metodología de (Tembe y Deodhar, 2010). Estos OPB fueron los más discriminantes para diferenciar entre las variedades de *Pelargonium graveolens* Reunión, Bourbon y Egiptia. En este caso, se extrajo el ADN de brotes jóvenes según protocolo estandarizado en las condiciones del Laboratorio de Biología Molecular de CENSALUD con el método CTAB; una vez amplificado el ADN los productos se visualizaron en gel de agarosa al 1.8% utilizando como colorante fluorescente GelRed.

### 3.6.5. Condiciones de amplificación mediante PCR para RAPD's.

Para los análisis realizados en el laboratorio de biología molecular de CENSALUD, las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se llevaron a cabo en un volumen de 25 µl conteniendo 50 ng de ADN genómico molde, 30 pmoles/µl de “cebadores”. Se empleó la Master Mix GoTaq® Green de PROMEGA; que es una solución premezclada lista para usar que contiene ADN polimerasa Taq de origen bacteriano, dNTP, MgCl<sub>2</sub> y tampones de reacción en concentraciones óptimas para una amplificación eficaz de las plantillas de ADN mediante PCR tanto para los RAPDs en el primer caso del análisis de la homogeneidad genética y los OPB para determinar variedad. En la amplificación se utilizó un termociclador Mini Amp Thermal cycler de Thermo Fisher Scientific. Las condiciones de “corrida” con los “primers” C1, N8, H5, P13, B12 y P8 fueron: desnaturalización 5 min a 95°C, seguida de 40 ciclos con el siguiente perfil de temperatura: 94 °C (1 min), 36 °C (1 min), 72°C (1,5 min) y una extensión final a 72°C (7 min) y temperatura final a 8°C.

Para el caso de los “cebadores” OPB 04,05,13 y 19, las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 94°C por cinco minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C por un minuto, 35°C por un minuto y 72°C por dos min, con una extensión final a 72°C por cinco minutos y una temperatura final de 8°C.

#### 3.6.6. Visualización y análisis de productos obtenidos en PCR mediante electroforesis en agarosa.

En Censalud, UES El Salvador, los análisis con RAPDs para variabilidad genética y la aplicación de los OPBs para determinación de variedad, para su visualización, se hizo uso de una cámara de electroforesis horizontal, con un voltaje de corrida de 70 v. Los productos de PCR se corrieron en gel de agarosa al 2.5% durante dos horas La visualización de las bandas se realizó utilizando el colorante fluorescente GelRed a una concentración de 1X en un sistema UVPGelDoc-It imager analitykjena.

#### 3.6.7. Determinación del perfil de polimorfismos de RAPD's.

De igual manera tanto para RAPDs para variabilidad genética y OPBs realizados en CENSALUD para el análisis del patrón de bandas se utilizó el software para análisis de geles VisionWorksLS versión 2014. Donde se analizó el número de bandas obtenidas para cada cebador en cada accesión analizada tanto del clon A como del B. Para determinar el tamaño en pares de base (pb) de las bandas generadas de los productos de PCR, se utilizó la escalera de ADN de 50 bp GeneRuler Thermo Scientific.

#### 3.6.8. Identificación de *Pelargonium graveolens* en accesiones de los dos clones en estudio mediante “DNA Barcoding”.

El análisis para determinar la identidad genética de los clones A y B como *Pelargonium graveolens* mediante el análisis de código de barras se realizó en el laboratorio de Protección Vegetal del Instituto de Investigaciones del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios (CEAA) de la Universidad del Valle en Ciudad de Guatemala, Guatemala, durante el año 2020. Realizándose la secuenciación enviando las muestras para dicho procedimiento a la empresa Macrogen, Corea del Sur.

Se realizaron cinco determinaciones de ADN incorporando los análisis moleculares previos con los marcadores RAPDs, que se hicieron necesarios para tratar de cumplir con objetivos

inicialmente fijados como fueron el género y la especie correspondiente para los dos clones del material genético en estudio.

Un primer análisis realizado en fechas 26/11/2020-01/12/2020, comprendió la toma de tres muestras de la accesión A1 (clon A) y tres muestras de la accesión B1 (clon B). La metodología de extracción de ADN utilizada fue el método CTAB según Doyle, J.J. y Doyle, J.L. (1987) con las modificaciones del Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle. Se tomaron de dos a tres hojas frescas con edades intermedias (Ni muy jóvenes ni muy maduras) de cada una de las muestras a evaluar, se cortaron en porciones pequeñas y se maceraron en fresco, se tomaron 0.10 g del tejido macerado, al cual se le añadió el buffer de CTAB y se incubó a 60 °C por 20 minutos.

Luego se añadió una solución de cloroformo-alcohol Isoamílico en una relación de 24:1, para separar las fases acuosa de la orgánica. Posteriormente, se realizó la precipitación del ADN con isopropanol frío y acetato de amonio 7.5 mM por centrifugación se obtuvo un “pellet” el cual se lavó con etanol al 70 % y una vez seco se resuspendió en solución amortiguadora de TE.

La cuantificación del ADN extraído se hizo utilizando un espectrofotómetro UV-VIS para obtener la concentración y pureza en base a las absorbancias a 260 nm, 280 nm y 320 nm (Promega®, s.f.). Aquí, según la pureza y concentración de las muestras, se agregó ARNasa y se evaluó la integridad. Se procedió a correr el PCR y de acuerdo a las regiones o genes convenidos en cada caso. Los productos de PCR purificados fueron enviados en tubos de 1.5 mL a MacroGen Inc., Corea del Sur para su respectiva secuenciación.

Al recibir los resultados de las secuencias de ADN obtenidas por MacroGen, se realizaron alineamientos entre las secuencias “forward” y “reverse” de cada región que se fue considerando necesaria para hacer las diversas comparaciones de los dos clones en estudio y representados en cada caso por tres plantas “madres” seleccionadas e identificadas desde el inicio del estudio, con miembros de la Familia Geraniaceae, especies del Género *Pelargonium spp.* de la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (Por sus siglas en inglés NCBI). Posterior a esto, se realizó el análisis bioinformático de las secuencias obtenidas de cada muestra junto con secuencias publicadas en la base de datos de NCBI utilizando DNASTAR Lasergene© y MrBayes©; visualizando los árboles en Figtree©

En el segundo análisis, que se realizó con fecha del 04/02/ 2021 al 07/04/2021 con las muestras antes descritas, se hizo la extracción del ADN correspondiente y sus mediciones de calidad continuándose con las comparaciones de secuencias de la región ITS ribosomal de las muestras en evaluación, comparando con secuencias publicadas por GenBank del

NCBI comparando con seis accesiones de *Pelargonium spp*, específicamente con dos accesiones de *Pelargonium graveolens*, y una de cada una de las especies siguientes : *P. pseudoglutinosum*, *P. denticulatum*, *P. limoneum* y *P. capitatum*.

El tercer análisis, manteniendo la adecuada extracción de las seis muestras en las seis plantas ya descritas, dio inicio en fecha 14/07/2021 y finalizó en 12/10/2021. Extracción y cuantificación del ADN obtenido fue similar a lo que ya fue descrito, haciéndose entonces la comparación entre sí de las secuencias obtenidas de las seis plantas con las regiones ITS ribosomal, rbcL (comprende una región de 599 pares de bases ubicada en la región 5' del gen que codifica para la ribulosa bifosfato carboxilasa (RuBisCO), localizada entre las bases 1 - 599 en la secuencia del gen en *Arabidopsis thaliana*); y trnH-psbA (región intergénica del cloroplasto), así como la construcción y análisis de árboles filogenéticos involucrando al género *Pelargonium spp*, diversas especies específicas de *Pelargonium spp* y las regiones o secuencias consenso ya mencionadas.

Para el cuarto análisis efectuado en fechas del 18/10/2021 al 15/02/2022, se procedió con el mismo protocolo tanto para la obtención de las muestras en el campo como también para la extracción del ADN y su medición en variables de cantidad y calidad. Pretendiéndose confirmar el género y seguir en la búsqueda de la especie correspondiente , se hicieron las comparaciones de las secuencias obtenidas para cada una de las muestras de los clones en evaluación contra varios géneros incluyendo *Pelargonium sp* de la familia Geraniaceae , sólo para el Género *Pelargonium* y varias de sus especies, haciéndose PCR para las regiones intergénicas de los Cloroplastos trnT-trnL, trnL-trnL y trnL-trnF y de aquí, la construcción de árboles filogenéticos buscando la alineación con las especies de *Pelargonium* y entre éstas, con la especie *Pelargonium graveolens*.

Finalmente, en el quinto análisis de laboratorio ejecutado del 21/03/2022 al 26/04/2022, se realizó la aplicación de los protocolos similares a los ya antes utilizados, comparando en este caso a varias especies del Género *Pelargonium spp* pero sólo para la región del cloroplasto trnL-trnL ya que en anterior análisis dicho gen mostró característicamente, una relación muy estrecha con el Género *Pelargonium* así como se visualizó también un acercamiento con la especie *Pelargonium graveolens*.

### 3.6.8.1. Condiciones de amplificación de secuencias consensuadas como marcadores para *Pelargonium graveolens* mediante PCR: rbcL, trnH-psbA e ITS.

Para la amplificación de las secuencias mediante PCR se empleó Taq Polimerasa GoTaq<sup>®</sup> de Promega<sup>®</sup>, se siguieron las condiciones para realizar el PCR reportadas por (Taberlet, P., et al., 1991); utilizando un Termociclador Mastercycler marca Eppendorf<sup>®</sup>; visualizando los productos del PCR mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % y con Buffer TAE 1X, tiñendo las bandas de ADN obtenidas con GelRed. La electroforesis se desarrolló por un tiempo de 45 minutos a 80 V, en una cámara Sigma y con fuente de poder marca Biorad<sup>®</sup>. Finalmente, los diversos productos de PCR obtenidos en todos los casos, fueron observados en un trasiluminador marca UVP.

Posteriormente, los productos del PCR amplificados se colocaron en tubos de 1.5 mL, se sellaron con cinta Parafilm y se enviaron a Macrogen Corea del Sur para sus posteriores secuenciaciones. Todas las reacciones y procesos se realizaron en cámara de flujo laminar, con exposición de todo el equipo e instrumentos necesarios a luz ultravioleta por 15 minutos. Después, con previa y continua desinfección apropiada del área de trabajo usando cloro y alcohol al 70 %.

Una vez obtenidos los resultados de la secuenciación, se hicieron comparaciones con accesiones de la especie *Pelargonium graveolens* y de otras especies del Género *Pelargonium* publicadas en el GenBank de NCBI. Para el tercer análisis, se hicieron las amplificaciones correspondientes para las regiones ITS, rbcL y trnH-psbA, haciéndose las comparaciones necesarias entre los seis materiales genéticos en estudio (tres plantas por cada clon) comparando con las regiones ya mencionadas. Con estos resultados se procedió a la construcción de los árboles filogenéticos posibles.

En el cuarto análisis, posterior a hacer la extracción y evaluación cuantitativa y cualitativa del ADN extraído como igual se hizo en los tres anteriores análisis, se procedió a correr el PCR respectivo para las regiones trnT-trnL, trnL-trnL y trnL-trnF siendo posteriormente purificados y secuenciados dichos productos por Macrogen Corea del Sur.

Para el quinto análisis, mediante PCR y posterior secuenciación se analizó la región trnL-trnL, tal como los objetivos de la investigación lo estaba demandando.

3.6.8.2. Condiciones de secuenciación bidireccional de fragmentos de genes consensuados para el análisis de código de barras de ADN de *Pelargonium graveolens*.

Como se sabe, el ADN es un polímero integrado por los nucleótidos, el orden que tienen los nucleótidos en el ADN es a lo que denominamos secuencia y a las técnicas y métodos que se utilizan para conocer esa secuencia son llamados secuenciación. (Cornejo, R.A., et al., 2014).

En la presente investigación, y en los diversos procesos de extracción y evaluación cuantitativa y cualitativa del ADN, ejecución de las PCR necesarias según las regiones en estudio, ya con los productos de PCR purificados, éstos fueron colocados en tubos de 1.5 mililitros, se sellaron con cinta Parafilm, se colocan primero en bolsas plásticas con cierre hermético y posteriormente en sobre con paredes acolchonadas para su protección; se llenaron los formularios del protocolo correspondiente y se enviaron vía aérea a temperatura ambiente a los laboratorios Macrogen, Corea del Sur para su secuenciación.

3.6.8.3. Construcción de árboles filogenéticos de las muestras secuenciadas empleando la región trnH-psbA, rbcL e ITS.

Una filogenia es la historia evolutiva de un grupo de entidades (individuos, especies, etc). El objetivo principal de la reconstrucción de la filogenia es describir las relaciones evolutivas en términos de antigüedad relativa de la ascendencia común. Estas relaciones se representan como un diagrama de ramificación o como un árbol, con ramas unidas por nodos y que conducen a terminales en las puntas de los árboles (Harrison, C.J.; Langdale, J.A., 2006).

En realidad, un árbol filogenético es un diagrama, algo didáctico, que representa las relaciones evolutivas que con el transcurso del tiempo se han dado entre los organismos. Para generar un árbol filogenético se comparan y analizan muchas características de los individuos, especies o grupos involucrados, dichas características pueden incluir su morfología externa, anatomía interna, su comportamiento, rutas bioquímicas, secuencias de ADN y proteínas e incluso, características de fósiles.

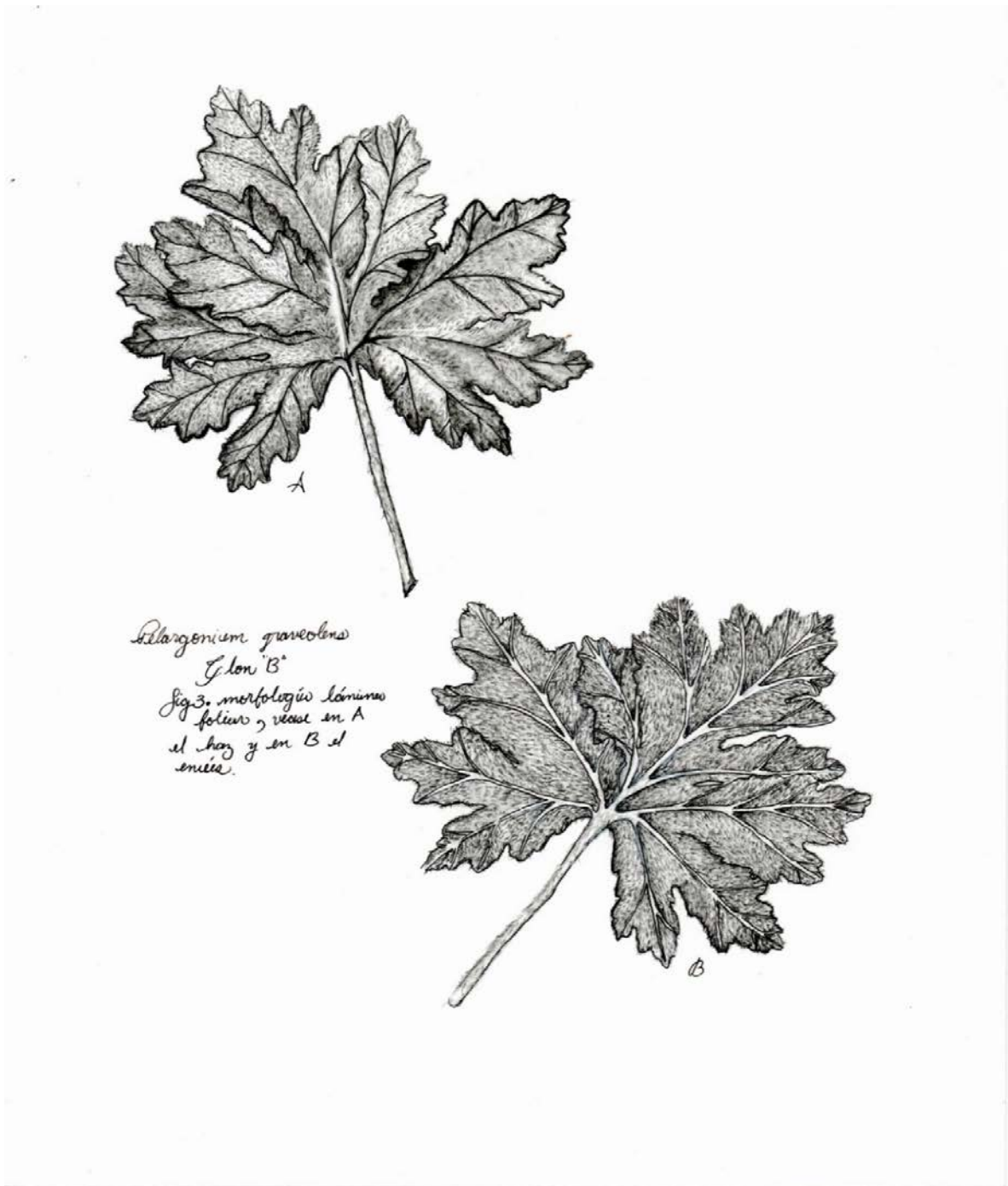
Aún todo esto, los árboles filogenéticos son hipótesis, no respuestas definitivas. Los árboles se revisan y se actualizan con el tiempo a medida que hay nueva información disponible que pueda ser añadida al análisis. Esto es particularmente cierto hoy en día, ya que la secuenciación del ADN aumenta nuestra habilidad, cómo por ejemplo, para comparar genes entre especies. Tomando en cuenta las anteriores consideraciones es que posterior a las secuenciaciones realizadas en las muestras de los materiales genéticos en evaluación a partir del tercer análisis y con las regiones trnH-psbA, rbcL e ITS (tercer análisis), trnT-trnL, trnL-

trnL, trnL-trnF (cuarto análisis) y trnL-trnL (quinto análisis) y utilizando la herramienta Figtree©, para visualizar y construir los diversos árboles filogenéticos, se procedió a hacer comparaciones con bases de datos existentes en NCBI, obtener información científica y criterio para terminar con las conclusiones que la información colectada permite.

#### 3.6.8.4. Análisis de secuencias con bases de datos de referencia internacional.

El análisis bioinformático de las secuencias genéticas obtenidas o sea el ADN, es el último paso para la identificación molecular en el cual se pretende encontrar el descubrimiento de similitudes funcionales y estructurales y las diferencias entre las múltiples secuencias biológicas. Esto se puede lograr haciendo comparaciones de las secuencias nuevas (desconocidas y en nuestro caso, todo lo determinado en los ADN obtenidos de las plantas madres de los dos clones en estudio) con las ya bien estudiadas y registradas (conocidas) secuencias. (Gallau, A., et al., 2021).

Para finalizar el proceso, posterior a las obtenciones de las secuencias, árboles filogenéticos construidos y al tener los listados de las accesiones disponibles, se obtuvieron los alineamientos entre las secuencias “forward” y “reverse” de cada una de las regiones consideradas a estudiar para hacer comparaciones intragénero en este caso *Pelargonium spp* y entre especies de la base de datos de NCBI que es donde se encontró aceptable información a partir de las diversas accesiones que se tienen identificadas y catalogadas. Se finalizó con los análisis bioinformáticos de las secuencias obtenidas para cada muestra procesada en los cinco juegos de análisis realizados, con las secuencias publicadas en la base de datos del NCBI utilizando DNASTAR Lasergene© y MrBayes.



**Figura 14.** Dibujo a tinta china con características morfológicas en haz y envés de lámina foliar de planta clon B *Pelargonium graveolens*.



#### 4.0. Resultados y Discusión.

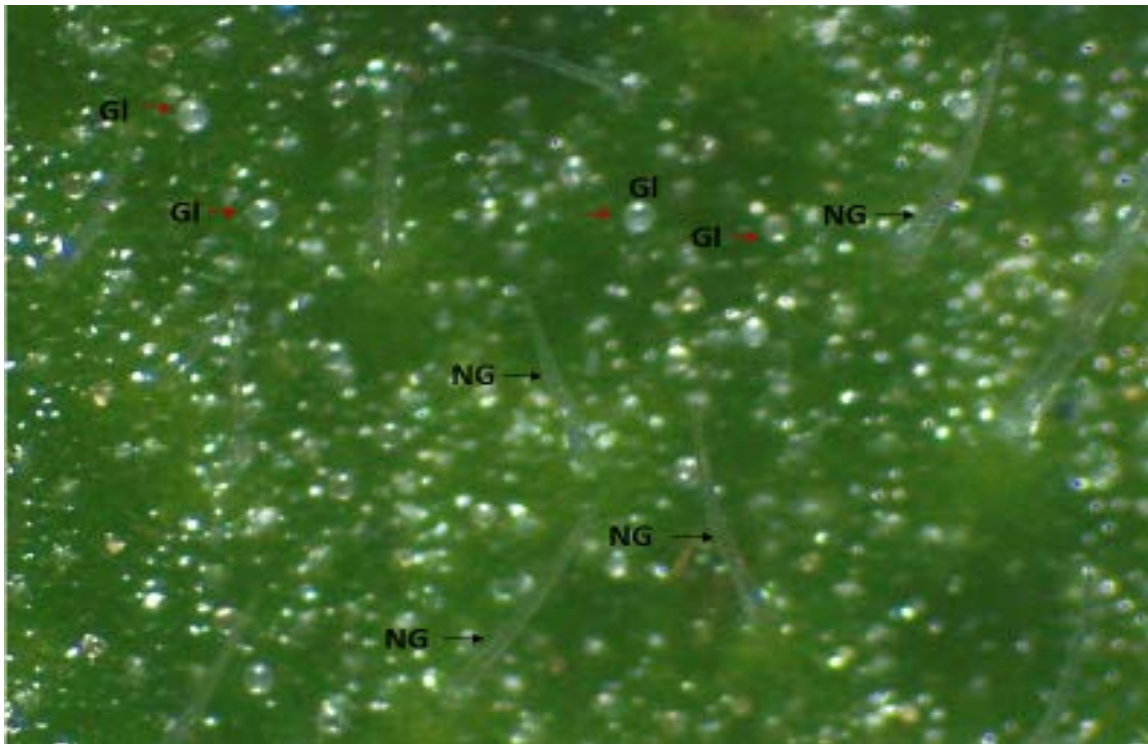
##### 4.1. Análisis ultra estructural de tipos de tricomas encontrados en los dos cultivares de *Pelargonium graveolens*.

Inicialmente, se realizó una observación macroscópica de la lámina foliar tanto por el haz como por el envés para visualizar la densidad y distribución de los tricomas, ésta se hizo con estereomicroscopio a incremento visual de 40X. La observación macroscópica, mostró que la superficie de los órganos vegetativos (hojas y tallos) y reproductivos (flor sólo en el caso del clon A) estaban recubiertas de tricomas, tal como es la característica de la familia Geraniaceae y del género *Pelargonium* spp (Figura 15).

Los tricomas, variaron entre glandulares y no glandulares (Figura 16), fue notorio que en la accesión B1 del clon B, se veía una mayor cantidad relativa de tricomas por área, siendo más evidente en el envés de la hoja al comparar con accesiones del clon A y predominando los tricomas no glandulares (Figura 17).



**Figura 15.** Vista al estereomicroscopio (40x) de los principales órganos en plantas de clones A y B. Se evidencia que tanto en hoja (A), base de la hoja (B) y en flor la superficie se encuentra cubierta de tricomas.

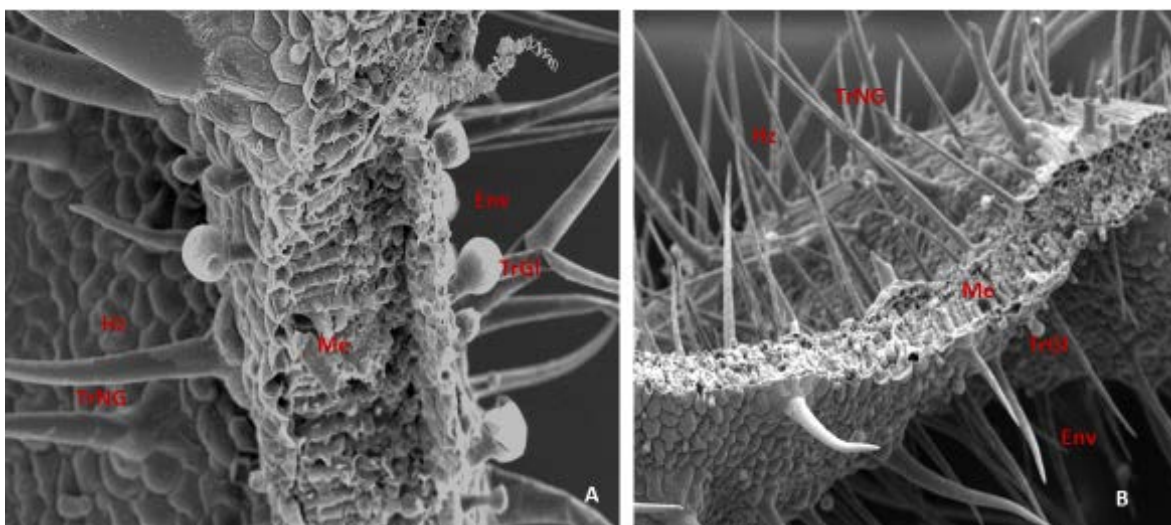


**Figura 16.** Tricomas glandulares (GI) de forma globosa (flecha roja) y no glandulares (NG) como pelos (flecha negra) presentes en la lámina foliar de hojas en los clones A y B de *Pelargonium sp.*, vistos al estereomicroscopio (40X).



**Figura 17.** Vista al estereomicroscopio (40X) del envés de la lámina foliar de accesiones de los clones A y B de *Pelargonium graveolens*. Nótese la ligera diferencia de densidad de tricomas entre los dos clones, siendo mayor en el clon B (tricomas en forma de pelos).

El análisis ultraestructural realizado con el microscopio electrónico de barrido (SEM, del inglés Scanning Electron Microscopy), principalmente en lámina foliar, pecíolo y tallo de accesiones de los dos clones de *Pelargonium graveolens*, mostró en primer lugar que en la lámina foliar tanto en el haz como en el envés, se encuentran tricomas glandulares y también tricomas no glandulares (Figura 18 OK).



**Figura 18.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de la lámina foliar en corte transversal en clon A (A) a 200x y clon B (B) 169x. Nótese la presencia de tricomas glandulares (TrGI) y no glandulares (TrNG) tanto en haz (Hz) como en el envés (Env) en ambos casos. De igual manera, se aprecia una mayor cantidad de tricomas no glandulares en el clon B. También se observa el tejido del parénquima que conforma el mesófilo (Me).

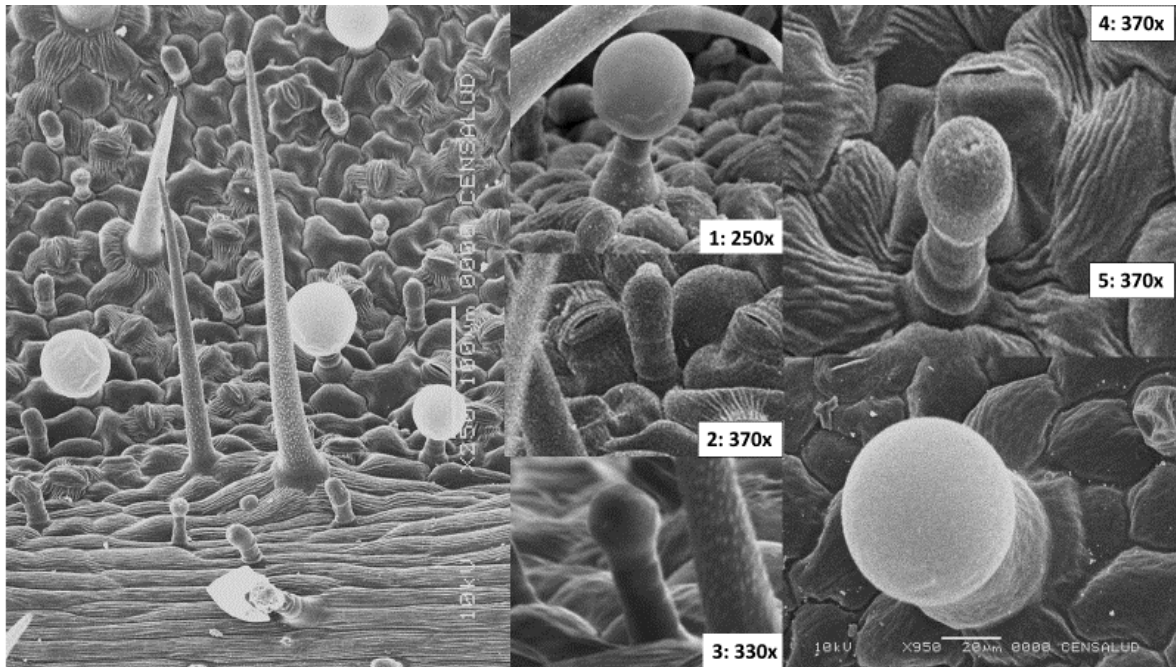
Las observaciones hechas con el microscopio electrónico de barrido (SEM), mostraron que a nivel de tricomas glandulares se evidenciaron dos tipos morfológicos, capitados y peltados tanto en el clon A como en el clon B en las partes aéreas analizadas (hoja y tallo). A nivel de tricomas capitados se apreciaron tres tipos morfológicos:

*Tricoma glandular capitado tipo I* : abundantes y presentes en todos los órganos aéreos de *Pelargonium spp* clon A y B; constituídos por una célula basal, un tallo corto (de 1-3 células) y una cabeza unicelular ya sea globular redonda o alargada (Figura 19) . La Figura 20 detalla la morfología de este tipo de tricoma.

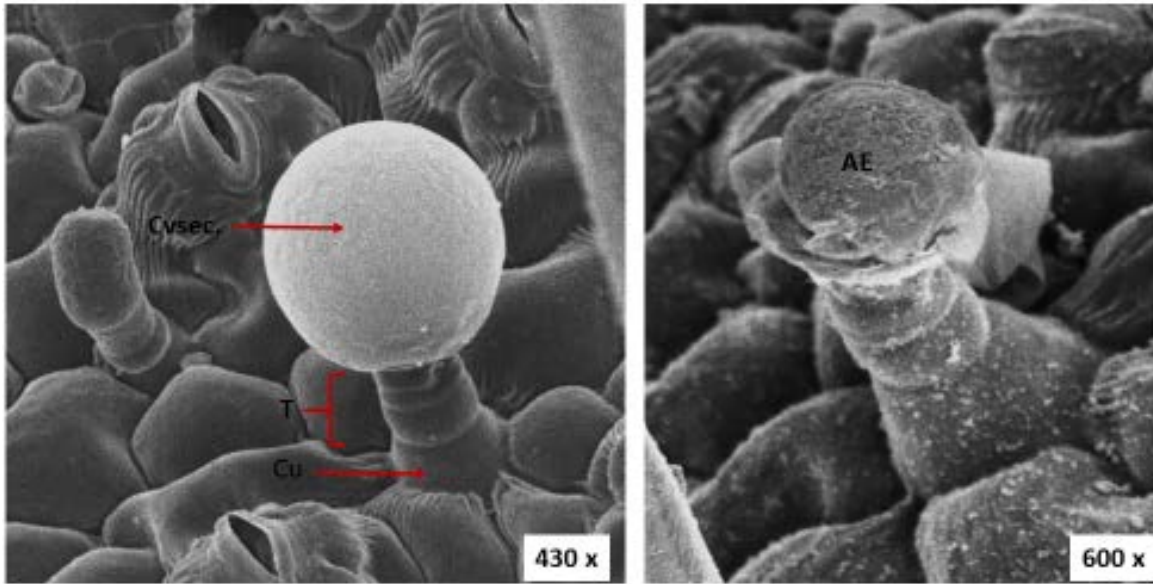
*Tricoma glandular capitado tipo II*: de igual manera, abundantes en ambos clones a nivel de lámina foliar, Este tiene un tallo largo y una cabeza en forma de pera (Fig. 19 (3)) o esférica con una cutícula muy delgada que obviamente se eleva formando un gran espacio

subcuticular lleno de material secretado. El número de células en el tallo uniseriado fue de cuatro en ambos casos (accesiones de clones A y B); (Figura.19).

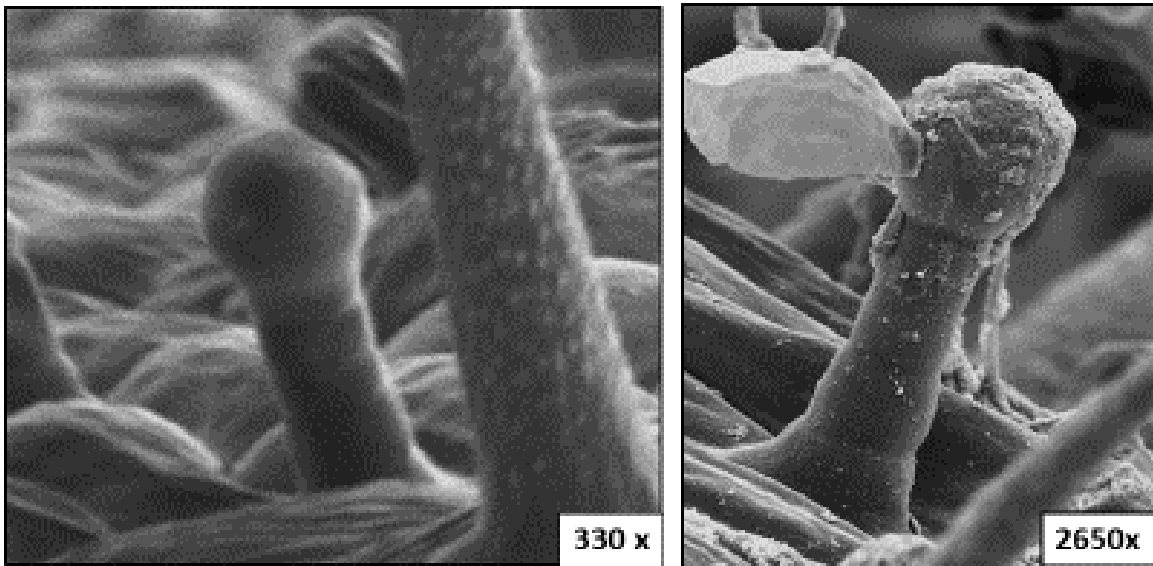
*Tricoma glandular capitado tipo III* : con células basales un tallo y una cabeza en forma de copa (Figura 22).



**Figura 19.** Microfotografía con microscopio de barrido (SEM) con tipos morfológicos de tricomas glandulares vistos en lámina foliar y tallo tanto en accesiones del clon A como de B de *Pelargonium spp.* Vista panorámica de tricomas glandulares y no glandulares 250x. Tricomas glandulares capitados tipo I (1 y 2) 250x y 370x; tipo II (3) 330x ; y tipo III (4) 370x; y tricoma glandular tipo peltado sésil (5) 370x.

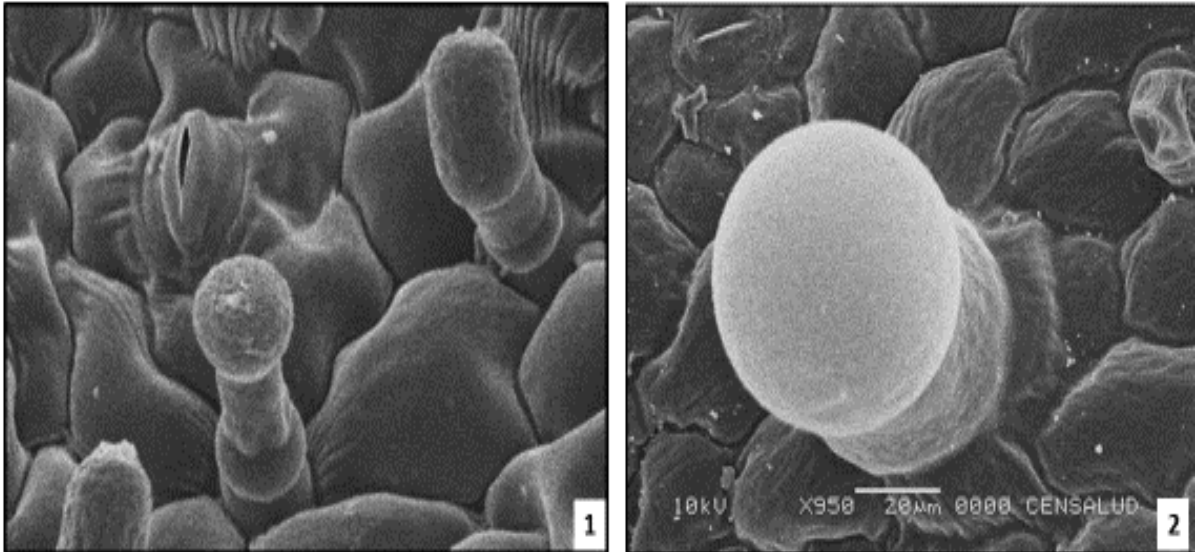


**Figura 20.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de la morfología de tricoma glandular capitado tipo I. Nótese el cuello (Cu), el tallo (T) con tres células; la vesícula secretora (Cvsec.) 430X. Restos de aceite esencial visto en tricoma capitado tipo 1 donde la vesícula secretora se ha roto (AE) 600x.



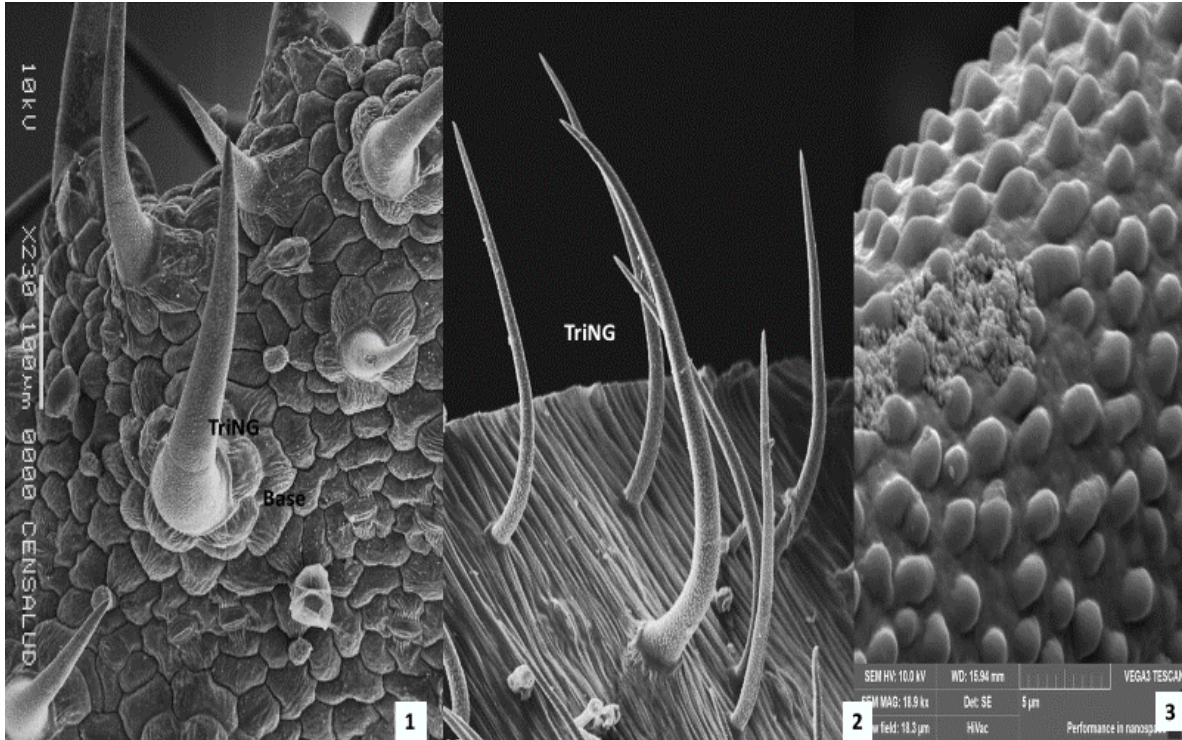
**Figura 21.** Microfotografía con microscopio electrónico de barrido (SEM) de Tricoma glandular capitado tipo II que muestra una cabeza en forma de pera con un tallo alargado (cuatro células) 330x. Vista del tricoma con la vesícula secretora rota mostrando el material grumo-oleaginoso vertido al exterior, 2650x.

A nivel de tricomas peltados menos abundantes tanto en la lámina foliar como en el tallo en las accesiones de ambos clones, sólo se evidenció un tipo morfológico caracterizado por tener un cuello ancho y una cavidad secretora globosa un poco achatada (Figura.22).



**Figura 22.** Microfotografía SEM de tricomas glandulares capitado tipo III (1) 370 x. Tricoma glandular tipo peltado sésil (2) 950X. Nótese el cuello grueso y una gran vesícula secretora globular.

Respecto a los tricomas no glandulares (TrNG), se evidenció en las accesiones de los clones A y B, diferencias muy notables, principalmente en su forma, unos como pelos erectos y otros como ganchos (tricomas uncinados); este dimorfismo podría relacionarse con la función que los mismos cumplen por ejemplo de protección a la deshidratación o ante situaciones como bajas temperaturas; en ambos casos de tricomas se trata de órganos unicelulares alargados (filiformes rectos y uncinados). Una característica peculiar es que la superficie de los tricomas no es lisa sino papilar (Figura 23, fotografía 3) además de la diferencia entre los tricomas no glandulares presentes en la lámina foliar y los del tallo que radica en que los de la lámina foliar tienen una base pluricelular muy característica a manera de corona que resalta sobre las células de la epidermis (Figura 23).



**Figura 23.** Microfotografía (SEM) de tricomas no glandulares de *Pelargonium sp.* Clones A y B visto en lámina foliar (1) y en tallo (2). Nótese la diferencia de la base en ambos tricomas, en 1 se aprecia una estructura pluricelular a manera de corona a diferencia del tricoma en tallo (2). En tres (3), se muestra la característica de la superficie papilar en ambos tipos de tricomas no glandulares.

En cuanto a la longitud del pelo en tricoma no glandular, la mayor se registró en el tallo (1070  $\mu\text{m}$ ) y los de la hoja que no superaban las 593  $\mu\text{m}$ . En el pecíolo, la longitud del pelo rondaba las 296  $\mu\text{m}$ . A nivel fisiológico, estos pelos son conocidos entre otras funciones, por su importante papel en la reducción de la pérdida de agua, posible protección ante excesos de humedad relativa, también por mejorar la tolerancia de las plantas a los vientos y condiciones de bajas temperaturas como se dan en algunos meses en la zona del cultivo en el Volcán de Santa Ana.

En general, se apreció un predominio de los tricomas glandulares en ambos clones, y los tipos capitado con tres variantes (I, II y III) y tipo peltado, los cuales contienen los aceites esenciales, se caracterizan por su cabeza esférica sostenida por un tallo relativamente largo (3 a 4 células en el presente caso) o tallos más cortos como es el del tipo glandular peltado (Figura 22 (2)). Los hallazgos concuerdan con bastante similitud, con lo determinado por (Rajeswara, B.R. y Bhattacharya, A.K., 1992), quienes al estudiar en la India a tres variedades de geranio con olor a rosa, (Argeliano/Tunesino, Bourbón/Reunión y Kelkar/Egipto), determinaron que en las tres variedades se encontraban dos tipos de tricomas glandulares capitados y otro tipo de tricoma no glandular. Los autores mencionan que los dos tipos de tricomas glandulares se diferenciaban más que todo por el tamaño del tallo que sostenía la cabezuela y se encontraban con más frecuencia en el cultivar llamado Bourbon; siendo notorio que a diferencia de estos autores, en el presente estudio, se encontraron más variantes morfológicas tanto en los tricomas glandulares como en los no glandulares.

Similares resultados se tuvieron con lo informado por (Demarne, F. y Van Der Walt, J.J.A., 1989), quienes al estudiar varias especies de *Pelargonium spp*, encontraron para *P. graveolens* un solo tipo de pelo o tricoma no glandular y varios tipos de tricomas glandulares (2), destacando estos últimos más que todo por el tamaño de cada uno, así como por la conformación celular del tallo que sostiene a la cabezuela unicelular.

(Blerot, et al.; 2015), investigando la diversidad de tricomas presentes en 20 especies de *Pelargonium spp* y sin especificar estado de crecimiento de las hojas estudiadas, encontraron dentro de las 20 especies estudiadas, cinco tipos de tricomas glandulares e igualmente cinco tipos de tricomas no glandulares, destacando que para la especie *Pelargonium graveolens* determinaron únicamente 2 tipos de tricomas glandulares y 2 tipos de tricomas no glandulares, lo cual en nuestro caso es coincidente más que todo para la planta uno del clon A y en hojas con crecimiento intermedio o sean maduras en su estadio (hojas ni muy jóvenes ni muy adultas).

Los autores antes citados manifiestan que el utilizar la cantidad, tipo y ubicación de los tricomas presentes en las hojas de *Pelargonium spp* como herramienta taxonómica es algo arriesgado por la amplia variación de los resultados obtenidos respecto a estos órganos epidérmicos lo que concuerda con los resultados de la presente investigación.

Otros autores (Oosthuizen, L.M. y Coetzee, J., 1983), trabajando con *Pelargonium scabrumg*, encontraron similares tipos de tricomas ya sea glandulares y no glandulares, destacando que los varios tipos morfológicos de los pelos glandulares son el resultado de los diversos estados de desarrollo de un único tipo de pelo glandular, generando esto que la cantidad de los diversos tricomas que se distinguen podrían ser finalmente reducidos en su número.



#### **4.2. Diferenciación morfológica mediante descriptores de plantas, hojas, tallos y flores en los dos Cultivares estudiados de *Pelargonium graveolens*.**

A nivel de diferenciación morfológica se utilizaron 16 descriptores o caracteres morfológicos a evaluar (8 cuantitativos y 8 cualitativos) para lograr diferenciar morfológicamente en condiciones de campo a los dos clones de *Pelargonium spp* en estudio.

Los resultados de los análisis se presentan en la Tabla 3; se tomaron cinco plantas en las que se midieron los caracteres necesarios, se obtuvo la media aritmética correspondiente, presentándose los valores promedio en cada caso, los cuales en resumen indican los siguientes resultados:

Clon A: notoriamente es una planta con mayor crecimiento en altura pero con diámetro menor en su arquitectura o sean ramas laterales, lo cual concuerda con la afirmación que hacen (Demarne, F. y Van Der Walt, J.J.A. 1989), respecto a que la especie *Pelargonium graveolens* tiene como hábito de crecimiento el de ser un arbusto generalmente erecto y con alturas menores a 1,30 m.; dispone de arquitectura foliar con hojas más anchas que el clon B pero con menores longitudes de pecíolo y de hojas.

Como ya se ha mencionado, el clon A se diferenció característicamente por la presencia constante de floraciones (Figura 24), la cual está formada por una inflorescencia denominada botánicamente como umbela (Figura 25); con un promedio de 7.40 flores por cada floración compuesta; fueron consistentes los resultados que cada flor estaba conformada por cinco sépalos y cinco pétalos por lo cual le denominamos pentámera. En cuanto a los hábitos de crecimiento, las plantas del clon A, muestran hábitos de crecimiento de semi erecto a semi-erecto rastrero; en cambio, las plantas del clon B tienen una conformación plenamente definida como semi-erecta rastrera.

Analizando las flores en el clon A, éstas se agregan en inflorescencias tipo umbela simple; (Figura 25), observándose que la cantidad de flores por inflorescencia varió de 6 a 10 en las cinco plantas estudiadas, con un promedio de 7.4 flores por umbela, lo cual está dentro de lo reportado por (Demarne, F. y Van Der Walt, J.J.A. 1988), quienes encontraron que la especie *P. graveolens* varía en su número de flores por inflorescencia mostrando de tres a siete flores.

El tallo o soporte de la inflorescencia tiene una longitud variable (5-8 cm). Los involucros constituyen pequeñas brácteas y numerosas flores. Cada flor nace de un pedicelo corto con una longitud promedio del pedicelo floral de unos 0.59 cm. Dentro de la misma inflorescencia, las flores más viejas se colocan en el centro y las más jóvenes se desarrollan en el exterior (Figura 25). La flor es zigomorfa (simetría con respecto a un solo plano) y es

hipógena (es flor que tiene todos sus componentes adheridos al receptáculo e insertados a un nivel debajo del ovario). Esta especie presenta flores pentámeras es decir poseen 5 pétalos. Además, presenta piezas tanto protectoras como fértiles (Figura 25 (2)). La coloración de las flores es rosado suave presentando rayas y manchas rosa intenso tanto en la parte inferior como a lo largo de los pétalos superiores, con patrón característico de *Pelargonium graveolens* var. Bourbón. (Figura 25 (3)).



**Figura 24.** Fotografía mostrando una planta perteneciente al clon A, cultivar el cual posee floración definida.

El perianto que es la parte protectora de la flor se compone de partes externas y protectoras llamadas sépalos que forman el cáliz y con los pétalos que forman la corola (Figura 25 (2)). El cáliz, está formado por cinco sépalos ovalados libres de diferentes tamaños (dos grandes y tres pequeños). Están unidos al pedicelo, teniendo abundantes pelos (tricomas) en la parte inferior.

La corola, consta de cinco pétalos ovalados libres (dos grandes y tres pequeños). Estos pétalos son de color rosa púrpura. Los dos pétalos superiores se diferencian de los demás por su tamaño y coloración (Figura 25 (1)). Son ovalados, alargados y con venas moradas; en comparación con otros cultivares de *Pelargonium spp* (Amirtage et al., 1983;

Sukhumpinij et al., 2010). Parece que cada cultivar tiene sus características particulares; en el presente caso, el modelo de coloración de los pétalos grandes del clon A siguen el patrón de *Pelargonium graveolens* var. Bourbón. Tales patrones implican la importancia de la caracterización de plantas tan interesantes, como es el caso de las aromáticas y medicinales, tanto en la escala de su uso industrial como en la escala de sus atributos biológicos y anatómicos que parecen ser altamente dependientes del cultivo.

Continuando con las partes reproductivas, las flores del clon A son bisexuales; es decir están formadas por órganos masculinos (androceo) y femeninos (gineceo). El androceo constó de 10 estambres fusionados dispuestos en dos verticilos. Los cinco estambres existentes en el interior de la flor, que se denominan estaminodios, son cortos y estériles. Las redes de estambres están soldadas en la base (Figura 25 (3)).

Las anteras fueron claramente visibles sólo en el capullo floral. El gineceo o pistilo, en donde los cinco estilos que lo forman, se fusionan en un filamento largo que se transforma en un borde con ramificaciones en forma de relativamente largos y finos vellos. Los cinco estigmas, son de color rosa intenso, separados y fibrosos (Figura 25 (3)). En cuanto al ovario, es muy piloso, libre y superior, es decir que se ubica por encima de los sépalos, conteniendo cinco carpelos. Cada lóculo tiene un óvulo y la placentación es axial.

La fórmula floral (FF) del clon A del geranio con olor a rosa (*Pelargonium graveolens*, L'Hér.) presente en el cultivar del Cantón Palo de Campana, Volcán de Santa Ana, El Salvador colectada en el área de trabajo y utilizada en esta investigación podría describirse como:

FF:  $5S + 5P + (5+5) Si + 5C$ ; donde: S: sépalo; P: pétalo; Si: estambre y C: carpelo.



**Figura 25.** Fotografías mostrando características propias de la inflorescencia tipo umbela simple del clon A. Nótese en 1 la distribución en el centro de flores viejas adultas (Flv) y hacia el exterior de la umbela las flores jóvenes (Flj). En 2 obsérvese los pétalos grandes de la corola (Pet) con la pigmentación de rayas y manchas características de *P. graveolens* Variedad Bourbón, el perianto compuesto por los pétalos y los sépalos (Pet, Se) y el pedicelo floral (Ped); en 3, detalle de la estructura fértil de la flor mostrando el ovario súpero (Ov), el cáliz (Ca) pubescente, los estaminodios fusionados y lo característico del pistilo (Pis).

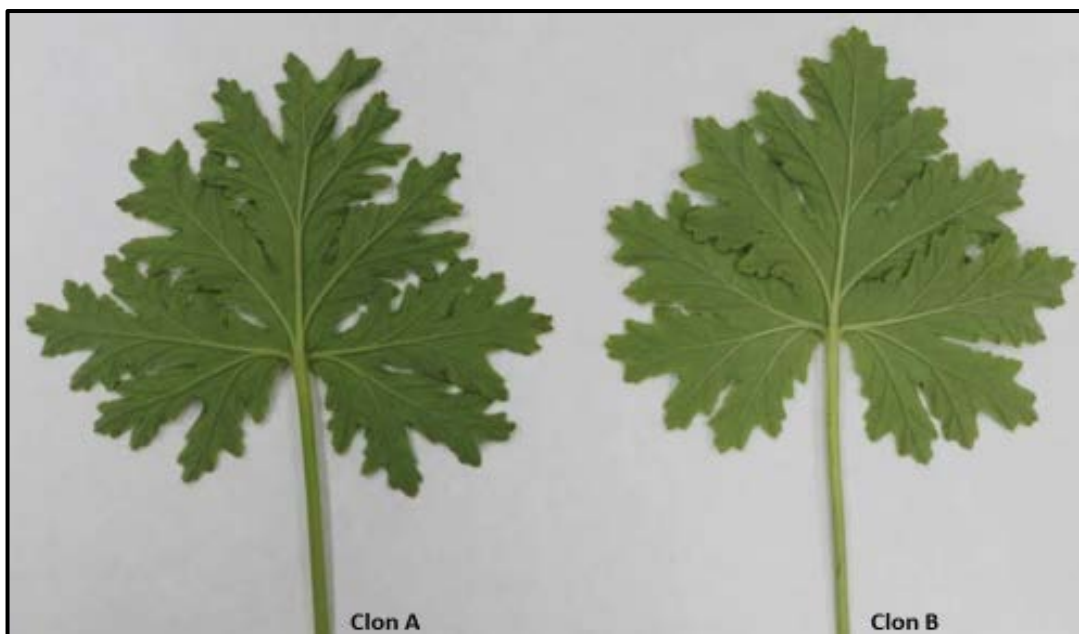
Las láminas foliares en ambos clones son pentalobulares (Figuras 26 y 27), con la especificación del clon A en el cual, está plenamente dividido el limbo, llegando sus lóbulos a casi alcanzar el nervio medio, catalogándola entonces como hoja Pinnatisecta, contrario a las láminas foliares del clon B en el cual, los lóbulos son menos hendidos con nervadura palmeada y con hendiduras en los bordes que pasan o llegan al semilimbo por lo cual podríamos considerarla como Palmatipartida.

Es característico que los márgenes de las hojas en el clon A son más aserrados y crispados, presentándose el fenómeno botánico llamado “en revoluto” que es el efecto que se da durante la nervación por el cual las hojas se encorvan hacia el envés resultando las hojas como crispadas, todo lo contrario a las hojas del clon B que tienen márgenes menos aserrados con menor crispación. Siendo notorio que por las características foliares observadas, el Clon A es congruente con lo reportado por (Tembe, R.P. y Deodhar M.A. 2010), quienes al estudiar tres cultivares de *Pelargonium graveolens* en la India, concluyen

en que el cultivar Bourbon tiene su lámina foliar de forma palmeada y con crispaciones evidentes o de orilla rizada en sus bordes. Por el contrario el clon B tiene menos definido los lóbulos foliares así como reducción en lo crispado, es decir, que es menos evidente lo aserrado en sus bordes, permitiendo en nuestro caso definir claramente por su morfología foliar a dos posibles genotipos diferentes; lo cual no fue posible distinguir o determinar por (Rajeswara, B.R. 2002), en otra investigación en la India, ya que por la forma de las hojas no fue posible separar a tres cultivares del Género *Pelargonium* estudiados : Argeliano, Bourbon y Egipcio, llegando el autor mencionado a concluir en que según él, la única forma para distinguir entre los tres cultivares era por su olor y por su composición química.



**Figura 26.** Fotografía con vista del haz de la lámina foliar de accesiones de los clones A y B. Nótese la característica pentalobular de la lámina foliar y la diferencia en el borde del limbo entre los clones.



**Figura 27.** Fotografía mostrando el envés de la lámina foliar de accesiones de los clones A y B. Se nota la característica pentalobular así como las diferencias en sus bordes.

Al comparar la coloración de las hojas, destaca que aún para las mismas condiciones de cultivo (tipo de suelo, humedad, distanciamiento entre plantas, altitud, fertilización, exposición solar, combate de malezas, etc), las plantas del Clon A observadas en el campo, tienen una coloración verde oscura más intensa que las del clon B, también es notable que al tacto, los tejidos foliares del clon A son ligeramente más ásperos y con mayor sensación o textura más velluda, contrario a las plantas del clon B en el cual, las hojas son de una consistencia más suave.

Observando el ápice y la base de las hojas en los dos clones, destaca que ambos tienen ápice obtuso o sea que no terminan en una punta aguda así como que la base en los dos clones es denominada hastada o sea que tiene dos lóbulos divergentes y puntiagudos en ambos casos, lo cual concuerda acertadamente con lo encontrado por (Salama, A.M., et al., 2016), quienes al estudiar seis especies de *Pelargonium spp*, encontraron que para *P. graveolens*, las hojas eran de consistencia correosa o sea como áspera, gruesa y no suave, así como con una base hastada y con el ápice obtuso, caracteres que fueron encontrados en este caso en los dos clones evaluados pero en especial corresponden con el denominado Clon A.

Finalmente, podemos concluir que al hacer uso de los descriptores morfológicos aplicados para las cinco plantas madres en los dos clones evaluados y que se resumen en la tabla 3, se determinan plenas y claras diferencias en su morfología entre ambos grupos de plantas.

**Tabla 3.** Cuadro con descripción morfológica de plantas en Clones A y B de cultivo de geranio de olor *Pelargonium graveolens*. Parcela cultivo Geranio de Olor, Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Ciclo agrícola 2021-2022.

<b>Carácter</b>	<i>Pelargonium graveolens</i> Clon A	<i>Pelargonium graveolens</i> Clon B	<b>Descripción/observaciones</b>
<b>Altura de planta cms. Promedio cinco plantas</b>	86	75	Ambos clones con hojas con forma de palma y en lóbulos.
<b>Diámetro de plantas cms. Promedio cinco plantas</b>	149	158	Plantas de Clon B notoriamente con más longitud de ramas y de aquí, mayores diámetros.
<b>Longitud pecíolo cms. Promedio cinco hojas</b>	6.60	7.50	Significativamente más largos los pecíolos en hojas de Clon B.
<b>Longitud hoja cms. promedio cinco hojas</b>	7.10	7.40	Ligeramente más largas las hojas en Clon B.
<b>Ancho hoja cms. promedio cinco hojas</b>	8.70	7.60	Notable mayor ancho de hoja en Clon A.
<b>Número pétalos promedio cinco flores</b>	5	0	Clon B sin presencia de flores.
<b>Número sépalos promedio cinco flores</b>	5	0	Clon B sin presencia de flores.
<b>Número de flores por inflorescencia Promedio 5 plantas</b>	7.40	0	Clon B sin presencia de flores.
<b>Hábito de crecimiento promedio cinco plantas</b>	De semi-erecto a semi-erecto rastrero.	100 % Semierecto/rastrero	Clon B plenamente definido en conformación semierecta/rastrero; Clon A varía de erecto a rastrero
<b>Forma lámina foliar promedio 5 hojas</b>	Palmeada-lobulada crispada	Palmeada – lobulada	Clon A con lámina foliar notoriamente crispada.



<b>Márgen de hoja Promedio cinco hojas</b>	Parece más aserrado y más crispado	Márgen menos crispado	Característica morfológica muy notoria al observar a ambos Clones
<b>Color de hoja</b>	Verde oscuro	Verde claro	Notable color verde más oscuro en Clon A
<b>Textura de hoja promedio 5 hojas</b>	Ligeramente áspera, más velluda	Suave, menos velluda	Notoria diferencia en textura
<b>Tipo ápice de hoja promedio 5 hojas</b>	Obtuso	Obtuso	Se refiere a que no termina en punta en ambos casos.
<b>Tipo base de hoja promedio 5 hojas</b>	Hastada	Hastada	Puntiaguda y con dos lóbulos divergentes en su base
<b>Presencia de tricomas promedio cinco hojas.</b>	Sí	Sí	Notable presencia de tricomas que son evidentes a la vista y al tacto.

En resumen, los resultados de la tabla tres muestran que las diferencias más marcadas entre las accesiones analizadas del clon A y del clon B fueron: a nivel de planta el diámetro mayor y menor altura en el clon B; a nivel de lámina foliar, en el clon B las hojas y el pecíolo son más largos; sin embargo, en el clon A las hojas tienen un ancho mayor. El color de la hoja es verde intenso en clon A siendo menos en el clon B; la textura de la hoja en A es áspera en B es más suave. El ápice y la base en las hojas y la presencia de tricomas no presenta diferencias en los dos clones. A nivel de flor, el clon A tiene flores como inflorescencias simples tipo umbela y en el caso del clon B que no presenta flores.

### **4.3. Perfil fitoquímico del aceite esencial de Geranio de Olor en los dos Cultivares de *Pelargonium graveolens*.**

El desarrollo de la determinación del perfil fitoquímico del aceite esencial de geranio de olor en los dos cultivares bajo estudio, inició con la cosecha en el campo del material vegetal apropiado, extracción del aceite esencial utilizando la metodología del hidrodestilado, resultando que al final del proceso, se obtuvo una muestra única de aceite esencial de geranio (AEG) para cada clon la cual fue subdividida en tres porciones iguales identificadas como AEGA1, AEGA2 y AEGA3 y AEGB1, AEGB2 y AEGB3. Cada una de estas muestras fueron guardadas apropiadamente mientras eran analizadas, así como fueron llevadas sucesivamente en tres oportunidades al Laboratorio del Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas de la Universidad Mariano Gálvez en la ciudad Capital de Guatemala.

Como fue inicialmente definido, fueron tres las muestras de aceite esencial de geranio las trasladadas y analizadas; sin embargo, se tuvo en los resultados del segundo análisis en los dos clones, respuestas numéricas y cualitativas no aceptables, ya que se encontraron inconsistencias con lo esperado, por lo cual se descartaron a la muestra y sus resultados, mostrando sólo lo obtenido para las muestras A1 y A3 y de B1 y B3; los valores consolidados se muestran en la Tabla 5.

Además de los resultados obtenidos con la determinación del perfil fitoquímico, se logró establecer el rendimiento del aceite esencial obtenido por clon en relación a la biomasa que fue procesada, lo cual se obtiene al hacer la proporción entre el peso del material vegetal procesado y el volumen final del aceite esencial obtenido; resultando que para el clon A se tuvo un rendimiento porcentual de 0.25 % y para el clon B que fue de 0.26 por ciento. En ambos casos se considera un resultado aceptable, tomando en cuenta que otros autores utilizando similar material vegetal de *Pelargonium spp* y con el mismo método de extracción, han tenido rendimientos de 0.20–0.40 % en Israel ( Fleisher,A. y Fleisher,Z. 1985); 0.10 % en la India (Rajeswara, B.R.; Kaul, P.N.; Syamasundar, K.V.; Ramesh,S. 2002); y lo reportado por (Ryman,D. 1991) quien manifiesta que el rendimiento puede ser de 0.20, 0.25 y 0.33 por ciento.

Los valores o resultados que se han tomado en cuenta para medir los diversos componentes de los aceites esenciales obtenidos para cada una de las muestras por clon, ha sido la lectura en porcentajes por el detector de ionización de llama (FID) que es uno de los detectores más extensamente utilizado por investigadores y de los más aplicables en análisis de aceites esenciales de plantas por empresas comerciales que hacen mercadeo con estos productos. El equipo mencionado, mide los iones y electrones que se producen cuando los diversos

componentes orgánicos de la muestra de aceite esencial del geranio son expuestos a una chispa eléctrica, produciéndose entonces una llama de alta temperatura. Este proceso de ionización en la llama es complejo, pero se puede hacer un cálculo aproximado entre el número de iones producidos respecto al número de átomos de carbonos transformados en la llama.

Los resultados obtenidos muestran al principio, que independiente del clon estudiado, el aceite esencial de geranio es muy complejo tomando en cuenta que son más de cien los componentes que resultaron de los diversos análisis de laboratorio realizados en las muestras evaluadas, tomando como referencia a los porcentajes del FID detectados, resultando que en el primer análisis completo que se hizo para las dos muestras en estudio, se obtuvo para la muestra A1 (Tabla 23) un total de 94 compuestos con un área total identificada de 98.30 % y un total de área cuantificada de 100.00 %.

En la muestra B1 (Tabla 26) el análisis detectó un total de 106 compuestos con un área total identificada de 99.18 % en un área total cuantificada de 100.01 %. Al observar los porcentajes obtenidos de los diversos compuestos se notó que la gran mayoría de los valores eran muy bajos (cerca de centésimas) por lo cual para efectos de mejorar el análisis y enfocarnos en los principales valores, se decidió centralizarse en las determinaciones que abarcaran del 90 por ciento del total hacia arriba, resultando entonces que para la muestra A1 (Tabla 24) se concentraron los valores en 51 compuestos con un total de área identificada de 97.53 % en un total de área cuantificada de 100.00 %.

Para la muestra B1 (Tabla 27), los valores obtenidos también fueron de 51 compuestos aglutinando éstos el 99.68 % del total de área identificada con un área total cuantificada del 100.00 %. Similar trabajo se hizo con las muestras en estudio A3 y B3, resultando que para la muestra A3 (Tabla 29), resultaron 38 compuestos que comprendían un total del área identificada de 97.48 % y 100.00 % del área total cuantificada. En el caso de la muestra B3 (Tabla 31), fueron 32 los compuestos obtenidos, los cuales abarcaban el 99.33 del total de área identificada y esto significaba el 100.00 % del área total cuantificada.

Con los valores logrados para las cuatro muestras, se observó que eran alrededor de 15-16 los principales compuestos que contenían del 89.91 al 93.24 % del total de área identificada, por lo cual se decidió para fines prácticos y didácticos, el conformar un cuadro resumen (Tabla 5), el cual contiene a los principales compuestos que son interesantes cuantitativa y cualitativamente dentro del perfil fitoquímico completo resultante del análisis que se le hizo a las muestras en estudio, en virtud de que son los principales elementos que química, cuantitativa, cualitativa y comercialmente son los más importantes, resultando que se destacaron al final sólo seis los elementos consistentemente más importantes en lo cuantitativo y cualitativo, los cuales en resumen son: Linalool, Mentona Citronelol,

Geraniol, Formato de citronelilo y Bromuro de geranilo (Tabla 4, Figura 28), todos los cuales concentran del valor total, porcentajes que van del 66.68 al 73.15 % del total de lo que el perfil fitoquímico completo nos está representando en cada caso.

Analizando cada una de las muestras por Clon, resulta que el clon A tuvo menores contenidos de Linalool con valores de 3.66 y 3.95 % en muestras A1 y A3 respectivamente y un promedio de 3.81 % y en las muestras B1 y B3 que reflejaron 4.30 y 4.62 % respectivamente, con un promedio de estos de 4.46 %.

Respecto al Citronelol, en general para los dos clones, los resultados obtenidos son considerados muy aceptables si los comparamos con otros valores reportados en diversos trabajos de investigación. Los valores obtenidos fueron para Clon A1 y A3 de 27.26 y 29.45 % respectivamente, con promedio por Clon de 28.36 %.

Para las muestras B1 y B3 los porcentajes obtenidos fueron de 21.46 y 23.74, con un valor promedio para el Clon B de 22,60 %; siendo evidente la diferencia entre los dos clones respecto a este elemento del AEG, destacando con mayores porcentajes el Clon A.

En general, los valores encontrados de Citronelol y que variaron de 22.60 a 28.36 %, son relativamente mucho mayores al compararlos con otros trabajos de investigación que obtuvieron otros valores porcentuales para este elemento como son los casos de (Kabera, J., et al., 2013) con 16 .00 %, (Blerot, B., et al., 2016) en CV. Rosat Bourbon que tuvo 18.22 %; (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A., 2010) con 20.85 % y (Kumar, D., et al., 2021) con 19.57/22.84 %. (Tabla 6).

El otro componente muy importante en este aceite, es el Geraniol, el cual en el análisis de las muestras A1 y A3 mostró los siguientes resultados porcentuales de 19.50 y 19.67 respectivamente con un promedio para el clon A de 19.59 %; para el clon B con sus muestras B1 y B3 arrojó los resultados en porcentaje individual de 25.78 y 27.05 y un valor promedio para este clon de 26.42 %, siendo notoria la diferencia y el mayor contenido de Geraniol en el Clon B, sobresaliendo que el Geraniol es muy importante ya que organolépticamente favorece que el aceite esencial tenga mayor olor a esencia de rosa; al observar los resultados obtenidos y compararlos con los logrados por otros investigadores, es determinante mencionar lo de (Kulkarni, P.N., et al., 2000) con la variedad India de geranio Narmanda quien obtuvo sólo 16.65 % de Geraniol; (Blerot, B., et al., 2016) quienes obtuvieron para este elemento en CV Rosat Bourbon un 14.11 %, CV. Rosat Chino 6.77 % y CV Rosat Egipcio con 15.06 % y (Tembe, R.P. y M.A. Deodhar, 2010) en CV. Bourbon con 19.12 % (Tabla 6).

Por el contrario, (Kumar, D., et al., 2021) trabajando con el Cultivar Bourbón tuvo valores de Geraniol que oscilaron de 30.13 a 36.21 % indicando la buena calidad del material genético por las cantidades encontradas de esta sustancia y lo que también concuerda con

la presente investigación por los aceptables valores porcentuales encontrados de este elemento. Al respecto, se debe agregar lo coincidente del contenido de Geraniol para el Cultivar Bourbón en otras investigaciones e igualmente para el presente caso, reforzando que al integrar los diferentes elementos estudiados (presencia de tricomas, morfología de la planta, perfil fitoquímico del aceite esencial y los análisis de ADN y sus resultados), la conclusión obtenida de que el Clon A además de ser caracterizado, también puede ser denominado como Cultivar Bourbón.

Al comparar los otros elementos que se determinaron en menor cantidad como es el caso del Formato de citronelilo se concuerda con los valores encontrados por (Dzamic, A.M. et al., 2014) quien determinó valores de 10.66 % y en esta investigación se tuvieron valores promedios para el clon A de 9.58 % y en el clon B de 5,27 % ; como también el caso de (Blerot, B., et al., 2016) quien para este mismo componente encontró valores de 9.40 en el cultivar Cv. Rosat Bourbon, 12.15 % en el Cv. Rosat Chino y 7.32 % en el cultivar Rosat Egipto.

Es destacable la presencia del Bromuro de geranilo, el cual se encontró en las dos muestras del aceite esencial de cada Clon analizado con valores de 4.64 y 5.56 en muestras A1 y A3 respectivamente con un valor promedio por clon de 5.05 % ; en el caso de las muestras B1 y B3 se tuvieron valores de 4.85 y 4.93 % respectivamente y un promedio para el clon de 4.89 %. Es significativo que varios investigadores estudiados (Dzanim, A.M. et al., 2014), (Mendivelso, P.D.L., et al., 2007), (Kulkarni, P.N., et al., 2000), (Blerot, B., et al., 2016) y (Kumar., et al., 2021), no reportan la presencia de este elemento posiblemente por que no fue encontrado o porque su valor porcentual encontrado fue tan bajo que no ameritó el ser reconocido.

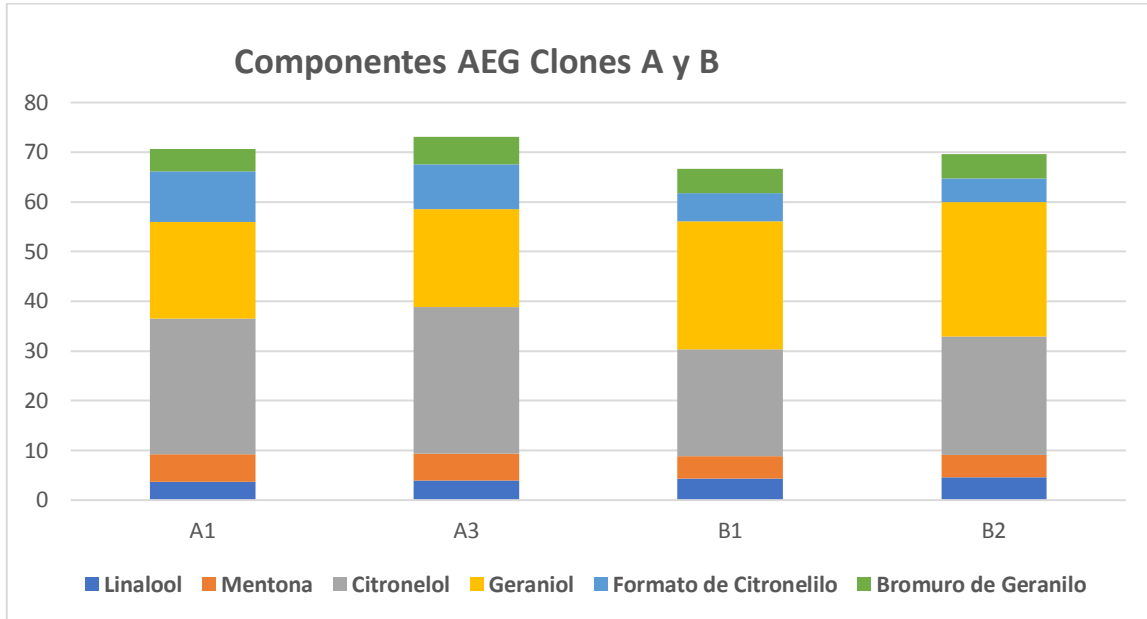
**Tabla 4.** Cuadro resumen comparando los principales valores porcentuales encontrados para los dos clones estudiados en muestras A1, A3, B1 y B3 respecto a sus principales componentes del AEG y la relación Citronelol/Geraniol.

Componentes químicos principales AEG (valores porcentuales del FID)	Muestra AEG		Promedio	Muestra AEG		Promedio
	A1	A3		B1	B3	
Linalool	3.66	3.95	3.81	4.30	4.62	4.46
Mentona	5.58	5.45	5.52	4.56	4.52	4.54
Citronelol	27.26	29.45	28.36	21.46	23.74	22.60
Geraniol	19.50	19.67	19.59	25.78	27.05	26.42
Formato de Citronelilo	10.09	9.07	9.58	5.73	4.80	5.27
Bromuro de Geraniolo	4.54	5.56	5.05	4.85	4.93	4.89
Relación C/G	1.40 : 1	1.50 : 1	1.45 : 1	1.20 : 1	1.14 : 1	1.17 : 1

Aparte de todo lo anterior, es importante mencionar que ya está plenamente definido que en el aceite esencial de Geranio, es determinante la proporción porcentual entre los contenidos de Citronelol y Geraniol, siendo muy interesante que entre más se acerquen las proporciones a valores de 1 (Kumar, D., et al., 2021), la calidad del aceite es mucho mejor y por lo tanto su precio y competitividad en el mercado es positivamente valorada.

En nuestro caso, la proporción promedio para el clon A resultó de 1.45: 1 y para el clon B de 1.17: 1 (Tabla 4), indicando la muy buena calidad de lo obtenido en los dos clones.

Al comparar los resultados del presente estudio, con los valores obtenidos por otros investigadores en el Mundo (Tabla 6), resulta que (Blerot, B., et al., 2016) determinaron que el Cultivar Bourbón tuvo proporciones de 1.29 : 1 y de 1.88 : 1 en el Cultivar Egipto , el mismo autor al analizar el Cultivar Chino tuvo resultados no muy apropiados de 5.12 : 1 ; (Tembe,R.P. y Deodhar,M.A., 2010) con el Cultivar Reunión tuvo proporciones de 1.12 : 1 y de 1.65 : 1 en el Cultivar Bourbón; todo lo cual al comparar con los valores logrados en el presente caso, nos confirman la muy buena calidad del aceite esencial obtenido, así como de las apropiadas cantidades proporcionales logradas por metabolito extraído, lo cual es plenamente beneficioso como resultado, ya que hay buenos contenidos y también muy buena calidad en razón de los dos principales elementos del aceite esencial estudiados por separado.



**Figura 28.** Distribución de los principales componentes fitoquímicos del aceite esencial de Geranio para los clones A y B muestras A1, A3, B1 y B3 del cultivar de *Pelargonium graveolens* en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador, C.A.

**Tabla 5.** Cuadro resumen con principales componentes de aceite esencial en muestras A1, A3, B1 y B3 con valores porcentuales por análisis Dual de solventes por cromatografía de gases y detector de masas (MSD) y detector de ionización de llama (FID).

<b>Muestra A1</b>				<b>Muestra A3</b>					
#	Nombre común	# CAS	% FID	Nombre común	# CAS	% FID	Suma		
1	Linalool	000078-70-6	3.66	Linalool	00078-70-6	3.95	7.61	3.81	
2	Mentona	00089-80-5	5.58	D-Isomentona	001196-31-2	5.45	11	5.52	
3	Beta-Citronelol	001117-61-9	27.26	(R)-Citronelol	001117-61-9	29.45	56.7	28.36	
4	Geraniol	000106-24-1	19.50	Geraniol	000106-24-1	19.67	39.2	19.59	
5	(E)-Citral	000141-27-5	1.23	(E)-Geranial	000141-27-5	1.30			
6	Formato de Citronelilo	000105-85-1	10.09	Formato de Citronelilo	000105-85-1	9.07	19.2	9.58	
7	Bromuro de Geranilo	035719-26-7	4.64	Bromuro de Geranilo	035719-26-7	5.56	10.20	5.10	
8	beta-Bourboneno	005208-59-3	1.63	beta-bourboneno	005208-59-3	1.71	3.34	1.67	
9	alfa-Gurjuneno	1000150-14-9	4.62	llangeno	014912-44-8	4.68			
10	delta-3-Careno	013466-78-9	2.33	3-Careno	013466-78-9	2.29	4.62	2.31	
11	(E)-Germacreno D	023986-74-5	1.64	Germacreno – D	023986-74-5	1.30	2.94	1.47	
12	(Z)-beta-Ocimeno	003338-55-4	1.16	beta-Mirceno	000123-35-3	1.18			
13	NA	1000131-89-9	1.61	NA	1000131-89-9	1.69			
14	NA	NA	1.66	NA	NA	1.66			
15	Mirceno	000123-35-3	3.30	Isovalerato de Linalilo	001118-27-0	3.34			
Suma porcentaje FID por muestra			89.91	Suma porcentaje FID por muestra			92.30		



**MUESTRA B1**

**MUESTRA B3**

#	Nombre común	# CAS	% FID	Nombre Común	# CAS	% FID	Prom.		
							Suma	% FID	
1	Linalool	000078-70-6	4.30	Linalool	000078-70-6	4.62	8.92	4.46	
2	Mentona	000089-80-5	4.56	L-Mentona	000089-80-5	4.52	9.08	4.54	
3	(R)-Citronelol	001117-61-9	21.46	(R)-Citronelol	001117-61-9	23.74	45.20	22.60	
4	Geraniol	000106-24-1	25.78	Geraniol	000106-24-1	27.05	52.8	26.42	
5	(E)-Geranial	000141-27-5	1.28	(E)-Geranial	000141-27-5	1.30	2.58	1.29	
6	Formato de Citronelilo	000105-85-1	5.73	Formato de Citronelilo	000105-85-1	4.80	10.5	5.27	
7	Bromuro de Geranilo	035719-26-7	4.85	Bromuro de Geranilo	035719-26-7	4.93	9.78	4.89	
8	beta-Bourboneno	005208-59-3	1.67	Beta-Bourboneno	005208-59-3	1.85	3.52	1.76	
9	3-Careno	013466-78-9	1.31	3-Careno	013466-78-9	1.36	2.67	1.34	
10	Germacreno D	023986-74-5	1.75	Germacreno D	023986-74-5	1.42	3.17	1.59	
11	Viridifloreno	021747-46-6	1.31	(+)-Ledeno	021747-46-6	1.14			
12	Ciclofencheno	000488-97-1	1.72	beta-Mirceno	000123-35-3	1.70			
13	NA	1000131-89-9	2.07	NA	1000131-89-9	2.08			
14	beta-Maalieno	1000147-32-8	8.47	beta-Maalieno	000489-29-2	8.86	17.3	8.67	
15	gama-Selineno	000515-17-3	1.15	alfa-Amorfenol	000483-75-0	1.23			
16	beta-Mirceno	000123-35-3	2.55	Isovalerato de Linalino	001118-27-0	2.64			
Suma porcentaje FID por muestra			89.96	Suma porcentaje FID por muestra			93.24		

**Tabla 6.** Cuadro comparativo con principales componentes fitoquímicos de aceites esenciales de geranio de olor (AEG). Resume resultados de análisis en clones A y B de geranio de olor cultivados en Cantón Palo de Campana, El Salvador, comparando con resultados de investigaciones relacionadas en el Mundo.

Resumen resultados análisis AEG en Clones A y B de Geranio de olor, Palo de Campana, El Salvador comparando con resultados de investigaciones relacionadas en el Mundo. Lo sombreado en verde indica promedio por Clon de los dos principales componentes del aceite esencial analizado. En coloración azul, la relación promedio resultante para los componentes Citronelo/Geraniol en los dos clones evaluados.																		
Componentes químicos principales AEG (Valores porcentuales del FID)	Muestra AEG		Promedio	Muestra AEG		Promedio	Valores de referencia de investigaciones por varios autores en el Mundo sobre contenido de AEG en diferentes variedades de <i>Pelargonium graveolens</i> A/											
	A1	A3		B1	B3		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Linalool	3.66	3.95	3.81	4.30	4.62	4.46	9.80	1.51	2.90	3.21	11.00	9.24	2.30	4.73	5.05	4.45	2.61	1.97/2.57
Mentona	5.58	5.45	5.52	4.56	4.52	4.54	4.33	5.26	5.45	0.28	6.10	0.54	1.79	0.80	-	-	-	-
Citronelol	27.26	29.45	28.36	21.46	23.74	22.60	24.54	21.46	19.06	44.28	16.00	18.22	34.66	28.37	20.85	31.58	42.27	19.57/22.84
Geraniol	19.50	19.67	19.59	25.78	27.05	26.42	15.33	4.87	6.60	16.67	36.60	14.11	6.77	15.06	18.55	19.12	11.68	30.13/36.21
Formato de Citronelilo	10.09	9.07	9.58	5.73	4.80	5.27	10.66	10.59	8.81	8.88	-	9.40	12.15	7.32	-	-	-	7.34/8.57
Bromuro de Geraniol	4.54	5.56	5.05	4.85	4.93	4.89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Relación C/G	1.40 : 1	1.50 : 1	1.45 : 1	1.20 : 1	1.14 : 1	1.17 : 1	1.60 : 1	4.41 : 1	2.89 : 1	2.66 : 1	2.29 : 1	1.29 : 1	5.12 : 1	1.88 : 1	1.12 : 1	1.65 : 1	3.62 : 1	1.54 1/1.59:1

A/ **1.**(Dzamic, A.M., et al., 2014) AEG %; **2.** (Mendivelso, P.D.L., et al., 2007) 6 meses AEG %; **3.** (Mendivelso, P.D.L., et al., 2007) 12 meses AEG %;**4.** (Kulkarni, P.N., et al., 2000) Var. Narmada AEG %; **5.** (Kabera, J., et al., 2013) AEG %; **6, 7 y 8.** (Blerot, B., et al.,2016) P. x Hybridum Cv. Rosat Bourbon/ , P x Hybridum Cv. Rosat Chino y P. x Hybridum Cv. Rosat Egipcio; **9,10,y 11.** (Tembe, R.P. y Deodhar, M.A. 2010), Cv. Reunión Prom. 6 reps./ Cv.Bourbón Prom. 6 reps./ Cv.Egipcio Prom. 6 reps.; **12.** (Kumar, et al., 2021) Valores % Cv. Bourbón.

#### **4.4. Perfil de marcadores RAPD's aplicados en accesiones de los dos Cultivares de *Pelargonium graveolens*.**

Una vez estandarizada la metodología de colecta y transporte de muestras de hojas jóvenes las cuáles fueron colocadas sobre papel toalla, identificadas dentro de cada bolsa con una etiqueta en papel como también por fuera de cada bolsa utilizando marcadores indelebles. Las muestras fueron trasladadas en “hieleras” y hielo seco a temperaturas de 13.60 °C y con 43 % de humedad relativa; mientras las muestras no eran procesadas, se mantuvieron en refrigeración aproximadamente a 8.30 °C y a 30 % de humedad relativa.

Después de múltiples pruebas en cuanto al material vegetal, condiciones de estado y textura de éste (deshidratado o con humedad natural, cubierto con papel toalla) se llegó a coincidir que lo mejor era el empleo de hojas con edades intermedias, es decir hojas maduras no tiernas ni tampoco ya muy adultas, guardadas en sobres de papel Kraft en un lugar fresco y seco, tratando de que disminuyera su contenido de humedad, sumándose a esto, la interferencia que generaron la presencia de aceites esenciales y polisacáridos en la extracción del ADN, tratando finalmente de favorecer la manipulación inicial de dichos tejidos.

La extracción del ADN al principio fue muy problemático, ya que inicialmente se trabajó con los kits de extracción y reactivos disponibles, siendo notorio que por la naturaleza o composición del material vegetal, con que se estaba trabajando y que característicamente además de tener los componentes orgánicos como vegetal, también tiene sustancias como lípidos, alcoholes, terpenos y otros, dificultó la extracción por la contaminación con éstas sustancias; resolviéndose finalmente el inconveniente con el lavado previo del material macerado dos veces con solución de sorbitol (Buffer Sorbitol) durante 15 minutos con agitación continua con vortex y posterior extracción con el método CTAB que como se sabe es un método muy útil en plantas lográndose buenos rendimientos en la concentración y pureza del ADN extraído (Tiwari, R.L., et al., 2012), esto tanto en el laboratorio de CENSALUD como en el de la Universidad del Valle de Guatemala.

El CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio), es un reactivo ampliamente usado en el proceso de extracción de ADN en tejidos de plantas. Polisacáridos y polifenoles son contaminantes problemáticos asociados con el aislamiento de ADN en plantas. Es muy conocido que el CTAB, al ser un detergente catiónico que tiene la propiedad de precipitar ácidos nucleicos y polisacáridos ácidos en soluciones de baja concentración iónica, bajo estas condiciones, las proteínas y los polisacáridos neutros permanecen en solución. En soluciones de alta concentración iónica, el CTAB forma complejos con las proteínas y

polisacáridos pero no precipita ácidos nucleicos. Por esta razón es especialmente útil para precipitar ADN genómico de organismos que producen grandes cantidades de polisacáridos como es el caso de las plantas con aceites esenciales o alto contenido de polifenoles con las cuales normalmente se trabaja en la agricultura.

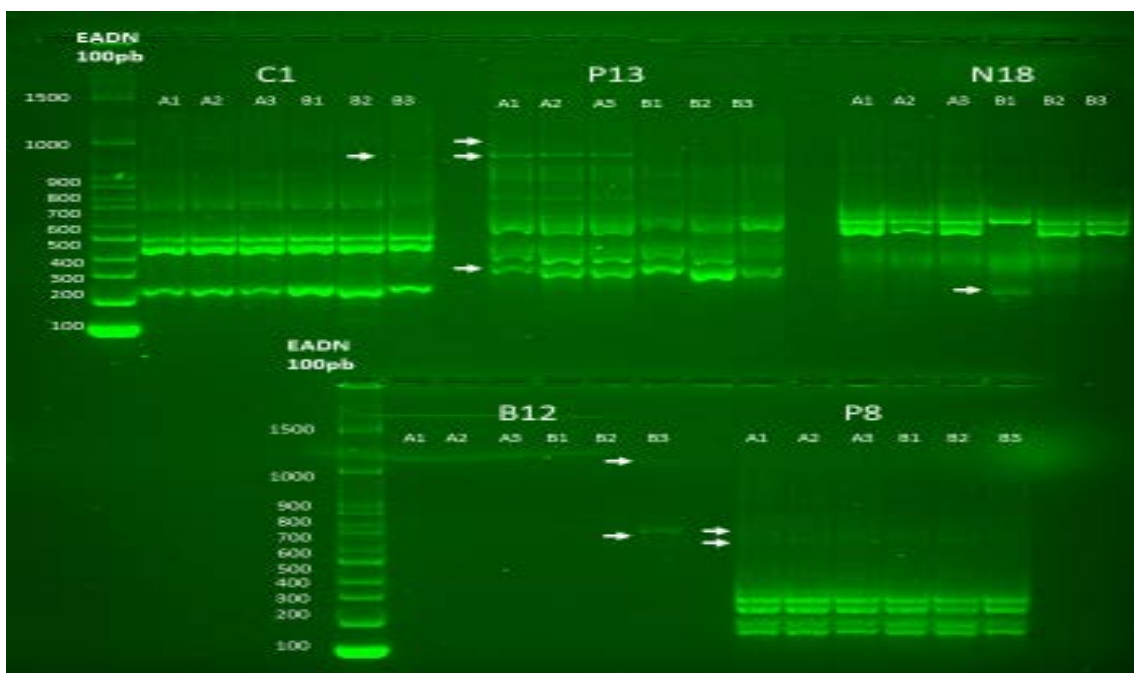
Después de hacer uso exitoso del CTAB al 3 % junto con el protocolo descrito en el numeral correspondiente en Materiales y Métodos, finalmente se tuvieron resultados aceptables en cuanto a la cantidad, pureza, concentración e integridad del ADN logrado, en tres accesiones tanto del clon A como del clon B. En general se partió en cada caso de 30 mg de tejido vegetal pulverizado lográndose valores de ADN entre 7 a 70 µg/mL con valores de calidad 260/280 entre 1.78 a 1.85 y en ocasiones 2 (un valor cercano a 1.8 o superior a 1.8 denota la buena calidad de ADN para marcadores moleculares); estimándose que una pureza óptima en ADN se encuentra entre 1.80 y 2.10 (Universidad de Salamanca, 2020).

Con lo anterior ya definido, y haciendo uso del marcador molecular de RAPD se hizo estudio de los dos materiales genéticos antes mencionados utilizando los cebadores o “primers”: C1, P13, N8, B12, H5 y P8. Los marcadores moleculares son herramientas eficientes para la identificación de genotipos y la estimación de la relación a través de huellas dactilares de ADN. Se usaron cebadores cortos de secuencia de nucleótidos arbitraria, llamados marcadores RAPD, para amplificar segmentos de ADN genómico, y ese polimorfismo pudo detectarse entre los productos de amplificación de los diferentes aislamientos mediante el examen de gel de agarosa. Como ya se mencionó, se utilizaron seis cebadores aleatorios como marcadores RAPD (C1, P13, N8, B12, H5 y P8), para el análisis de la diversidad de ADN genómico para tres muestras foliares por cada clon de las plantas cultivadas en campo del *Pelargonium* spp en estudio, siendo evaluados en el laboratorio de CENSALUD.

El perfil de los marcadores RAPD utilizados y los resultados de los densitogramas de las muestras de *Pelargonium graveolens* analizadas, se muestran en la Tabla 7 y la Figura 29 respectivamente. Los resultados revelaron que los seis “primers” decámeros aleatorios generaron 56 bandas de ADN genómico reproducible y de alta resolución. Los fragmentos de ADN amplificados obtenidos en este estudio oscilaron entre 150 a 1000 pares de bases (pb) de tamaño. Se determinó el número de fragmentos de ADN amplificados para cada cebador; el mayor número de fragmentos de ADN amplificados fue 11 y dos de 10 (“primers” H5, N8, P13 respectivamente). La figura 29, muestra el patrón de bandas para las accesiones analizadas tanto del clon A como del clon B de *Pelargonium graveolens*.

**Tabla 7.** Número total de amplicones, amplicones monomórficos y polimórficos revelados por RAPD de seis “primers” en tres accesiones del clon A y tres accesiones del clon B del cultivar de *Pelargonium graveolens* en estudio en Cantón Palo de Campana, Santa Ana.

“primer”	No. Total de amplicones	Amplicones polimórficos	Amplicones monomórficos	% de Polimorfismo
C1	9	0	9	0
P13	10	1	9	10
N8	10	1	9	10
B12	8	1	7	12.5
H5	11	3	8	27.3
P8	8	2	6	25
<b>Total</b>	56	8	48	14.3

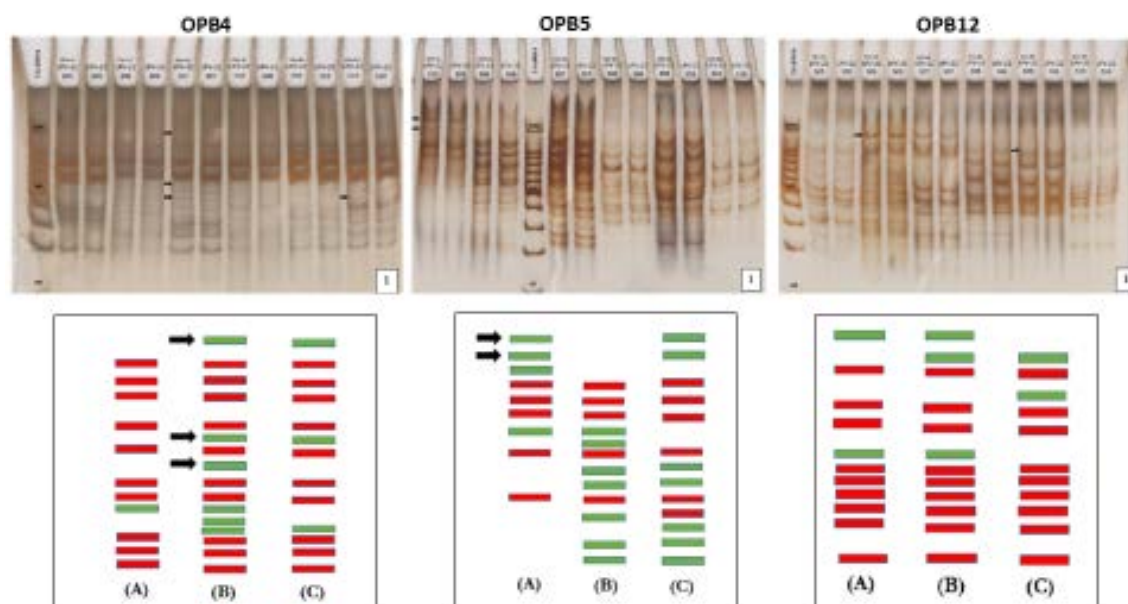


**Figura 29.** Gráfica con gel de agarosa al 1.8% mostrando perfil RAPD para las accesiones de *Pelargonium graveolens* clon A (A1, A2, A3) y clon B (B1, B2, B3) con “primers” C1, P13, N8, B12 y P8. Las flechas indican las bandas polimórficas; que permiten visualizar la diferencia entre los clones A y B, y las diferencias intraclones.

En general, los patrones de RAPDs de los primers C1, P13, N18, B12, y H5 evaluados en el laboratorio de CENSALUD, mostraron que los clones son diferentes pero la diferencia genética no es tan grande tal como se muestra en los perfiles RAPDs analizados; a nivel de las accesiones se observó el mismo comportamiento, apreciándose uniformidad; sin embargo, algunas accesiones difirieron en el patrón de bandas esto indica cierto grado de diversidad genética entre clones y entre accesiones de un mismo clon (más acentuadas en el clon B).

Similares resultados se obtuvieron cuando se analizaron las accesiones con otros tipos de “primers” en este caso comparando las muestras por los patrones de bandas obtenidos con los OPBs: 4, 5, 12,13, 16 y 19. Los que fueron utilizados por (Tembe y Deodhar, 2010); debido a que lograron diferenciar variedades de *Pelargonium spp* de la India. Este análisis se realizó en el Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle en Guatemala, utilizando geles de acrilamida al 10% y tinción de plata para la detección de bandas.

En este caso, *Pelargonium graveolens* de El Salvador, no presentó patrones tan definidos entre los dos clones. Los marcadores OPB13, OPB16 y OPB19 mostraron más bandas que no se compartían entre muestras. Siendo OPB16 y OPB19, los más distintos, generando seis patrones; y en OPB13 cuatro patrones. Por lo que no fue posible agrupar las muestras, con estos tres marcadores, según los esperado, ya que cada muestra presentó patrones distintos. Por otro lado, OPB4, OPB5 y OPB12 permitieron agrupar las muestras como se observa en la figura 30.



**Figura 30.** Gráfica con patrones de bandas encontradas para los “primers” OPB4, OPB5 y OPB12 en geles de acrilamida al 10 % con accesiones de clones A y B de *Pelargonium graveolens*. (Destacan en verde las bandas diferentes).

Para el primer OPB12 se generó la separación esperada entre los clones (clon A y clon B). Se observaron bandas exclusivas que lograron diferenciar entre ambas. Para el caso del clon B, únicamente una banda fue característica para separarlos del resto. En el caso del clon A se presentó una diferencia entre las mismas muestras. A pesar de ello, coinciden casi en un 100%, y al no agruparse con los del clon B si existe una separación entre clones. Siendo mucho más evidente en este “primer” que en el resto. Por lo que se considera que las diferencias entre las muestras del clon A podría estar afectado por la intensidad de las bandas o bien por las características químicas de la muestra.

Se pudo determinar, gracias al primer OPB12, que en efecto existen dos clones, con variaciones genéticas entre ellos y dentro de sus accesiones. Este era un resultado esperado, ya que, al ser dos clones distintos, pero de la misma especie, pueden haber variaciones. Siendo esto apoyado por los resultados de los cinco *primers*, ya que, las variaciones entre muestras las agruparon entre clones distintos a lo esperado.

Los resultados al aplicar RAPD’s concuerdan con el trabajo de investigación que en *Pelargonium graveolens* realizaron Qing-Yuan, Y., et al., 2017, en donde ellos también encontraron además de la variabilidad genética entre dos tipos de materiales vegetativos del género y especie mencionados, la efectividad de este marcador molecular para detectar

diferencias entre materiales genéticos de *Pelargonium graveolens* esto a pesar de que evidentes diferencias fenotípicas no eran factibles de observar entre los dos tipos de plantas utilizadas.

También es coincidente con lo investigado y encontrado por Bakker, F.T., et al., 2004 y Blerot, B., et al., 2016, quienes reportan la naturaleza híbrida de los materiales genéticos actualmente utilizados para producir aceite esencial de geranio con olor o esencia a rosa; afirmando Blerot, B., et al., 2016, que los cultivares y/o variedades empleadas para tal fin, vienen de híbridos creados en Grasse, Francia y de aquí, reexportados al Mundo, todo lo cual se resume en el polimorfismo del geranio de olor o *Pelargonium spp*, resultando entonces la composición genética híbrida de estos materiales.

Continúa Blerot, B., et al., 2016, citando a varios autores que estudiaron evidencias citológicas y de la composición del aceite esencial de geranio, quienes aseguran que los cultivares que presentan el olor con esencia a rosa, son producto de la hibridación que con el tiempo se desarrolló entre las especies botánicas *P. graveolens*, *P. radens* y *P. capitatum*. Finalmente es oportuno mencionar para nuestro caso, lo citado por (Arctander, S., 1994) quien reporta que una casa comercial francesa hace muchos años mostró interés y participó con agricultores de El Salvador en el establecimiento y cultivo del geranio de olor para la producción comercial esperada de toneladas métricas de aceite esencial de dicha planta, presumiéndose que las plantas originalmente encontradas en el área de la investigación proceden de ese intento de cultivar comercialmente dicho geranio de olor, lo cual confirma la difusión de ese material genético procedente de Francia, y de aquí, la posible explicación del polimorfismo del material genético ahora estudiado así como el encuentro analítico de la muy apropiada calidad del aceite esencial bajo estudio y su respaldo para concluir con que uno de los clones bajo estudio, pueda ser denominado como Cultivar o Variedad Bourbón.

#### **4.5. Filogenia de muestras secuenciadas aplicadas a accesiones de dos Cultivares de *Pelargonium graveolens* empleando las regiones de los genes trnH-psbA, rbcL e ITS.**

Lo que aquí se reporta, es la continuación de lo realizado en el laboratorio CENSALUD de Universidad de El Salvador y que se siguió en el Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle, Guatemala. Inicio proceso con el análisis, extracción de ADN y su amplificación del primer grupo de muestras que se llevaron a Guatemala, haciendo uso de un “primer” universal que fue



amplificado utilizando ADN de hojas de crecimiento intermedio en tres réplicas de una planta del clon A Planta A1 y a tres réplicas de otra planta del clon B Planta B1. Los resultados se muestran en Tabla 33, siendo notorio que todas las muestras amplificaron, resultando que la cuantificación del ADN para las tres muestras del clon A fueron 1025, 630 y 525 ng/μL con promedio de 727 ng/μL y para el Clon B de 630, 945 y 940 ng/μL con promedio de 838 ng/μL lo cual se considera como muy aceptable.

La pureza del ADN para el clon A dió resultados de 2,11, 2,05 y 1.56 con promedios de 1.91 y para el clon B de 1.97, 2.10 y 2.04 con un promedio de 2.04, indicando que en ambos clones, la pureza obtenida se considera como apropiada, tomando en cuenta que se estima que una pureza óptima en ADN se encuentra entre 1.80 y 2.10 (Universidad de Salamanca, 2020). Se continuó con el proceso haciéndose el PCR y la electroforesis correspondiente, destacando la aceptable amplificación y los buenos patrones diferenciales obtenidos en las bandas observadas (Figura 38) al aplicar el protocolo para planta universal que se utilizó como paso inicial en la serie de los análisis posteriores.

Con los resultados obtenidos en el primer análisis, se procedió a obtener muestras de tres plantas “madres” del clon A y tres del clon B, representativas de ambos clones habiendo sido inicialmente seleccionadas y diferenciadas plenamente por cumplir cada una con las características morfológicas propias para cada clon, siendo identificadas como Plantas A1, A2 y A3 y B1, B2 y B3 respectivamente. Se aplicó el protocolo de extracción de ADN correspondiente obteniéndose resultados aceptables en cuanto a concentración y pureza del ADN extraído (Tabla 34), lo encontrado para el clon A fueron promedios de 1.67 ng/μL en cuantificación y 1.70 de pureza y para el clon B de 263.33 ng/μL en cuantificación y 1.76 en su pureza ; con esto, se realizó una comparación de secuencias para ver la similitud genética entre las plantas dentro de cada clon y entre los dos clones. Se tomó como referencia de similitud entre las secuencias de acuerdo al porcentaje mayor o igual al 94 %. (Tabla 35). Los resultados obtenidos muestran inicialmente mucha similitud genética dentro de las tres plantas evaluadas del clon A, dentro de las plantas del Clon B así como para ambos clones entre sí; pudiéndose inferir inicialmente de la estrecha relación filogenética dentro de cada clon así como entre ambos clones.

Posterior al resultado obtenido, se decidió inicialmente usar la región ribosomal ITS, tomando en cuenta que se usa muy ampliamente y con éxito en el esclarecimiento de las relaciones que se dan entre grupo de organismos emparentados entre sí , asignándole al grupo un nombre en latín, una descripción si se trata de una especie así como un posible tipo (grupo de Taxones o sea Taxa), todo esto a niveles tanto inter como intragenéricos y también intraespecíficos para Angiospermas (Quijada, A. et al., 1997).

Con la información antes lograda, se continuó con la comparación de secuencias de la región ITS con secuencias publicadas en el Gen Bank del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) para tratar de determinar lo del género *Pelargonium* y la especie *Pelargonium graveolens*.

Se hizo el juego comparativo de las tres plantas madres del clon A: A1, A2 y A3 y las del clon B: B1, B2 y B3 contra varias accesiones o secuencias disponibles en NCBI. Estas eran *Pelargonium graveolens* 5.8S y 28S ARN ribosomal Gene Acceso KF871281.1, *Pelargonium graveolens* Connecticut 273807 Ribosomal RNA gene Acceso MK670360.1, *Pelargonium pseudoglutinatum* Acceso MK670436.1, *Pelargonium denticulatum* Acceso MK670414.1, *Pelargonium limoneum* Acceso MK670429.1 y *Pelargonium capitatum* Acceso MK670407.1 (Tabla 36).

Al analizar las comparaciones realizadas, destacó que para la accesión *Pelargonium graveolens* Acceso KF871281.1 al confrontar con las tres plantas del clon A ( A1, A2 y A3), se tuvo un porcentaje de similitud de 98.00, 98.00 y 97.9 % respectivamente con un promedio por clon de 97.97 %; para esta misma accesión NCBI al compararla con el clon B y las tres plantas B1, B2 y B3 , los porcentajes de similitud obtenidos fueron de 98.7, 98.3 y 98.2 % respectivamente y un porcentaje promedio por clon de 98.40 % .

La otra accesión utilizada de *Pelargonium graveolens* Connecticut 273807 Acceso MK670360.1, al compararla con las tres plantas del clon A, indicó los valores de porcentaje de similitud de 97.5, 97.7 y 98.5 % con un porcentaje de similitud promedio para el clon A de 97.90 %; comparando esta misma accesión con el clon B y sus tres plantas B1,B2 y B3, tuvieron valores de similitud de 97.4, 97.7 y 96.9 respectivamente y un porcentaje promedio para el Clon B de 97.33 %, indicando todo esto un buen alineamiento respecto a esta accesión del Género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens*.Igualmente para los porcentajes de similitud con las otras cuatro accesiones del género *Pelargonium* y cuatro especies, los porcentajes de similitud fueron altos, oscilando desde 96.30 hasta 99.10 %. Pudiéndose concluir para estos análisis realizados, que las secuencias de las especies de *Pelargonium spp* utilizadas para este análisis mostraron un alto grado de similitud tanto entre ellas mismas como con las muestras estudiadas para la región ITS con porcentajes mayores al 99.00 %. Como resultado preliminar, se pudo inferir que las diversas secuencias de las especies de *Pelargonium spp* seleccionadas, obtenidas en el NCBI y utilizadas en el análisis al comparar con los dos materiales genéticos representados en los dos clones, se determina que hay un alto grado de similitud tanto entre ellas mismas como también con las muestras de los dos clones y sus plantas analizadas (arriba del 99.00 %) para la región ITS utilizada. Es decir que podemos presuponer que estamos con plantas que pertenecen al

Género *Pelargonium spp*, siendo necesario el siguiente paso para definir a la especie a la que pertenecen.

Tomando en cuenta los resultados ya obtenidos y en razón de determinar plenamente al género y la especie, se procedió a extraer nuevas muestras de las tres plantas identificadas para cada Clon o sea para Clon A : plantas A1, A2 y A3 y para el Clon B las plantas B1, B2 y B3 , las cuales se sometieron al proceso ya definido para obtención de muestras en campo, transporte, almacenaje y extracción del ADN, lográndose los resultados que se consolidan en Tabla 37, los cuales fueron para la cuantificación de ADN expresados en ng/ $\mu$ L de 220, 180 y 410 para las plantas A1, A2 y A3 respectivamente con promedio por clon de 270 ng/ $\mu$ L y de 415, 670 y 575 en las plantas B1,B2 y B3 respectivamente y promedio por clon de 553 ng/ $\mu$ L. La pureza obtenida para las tres plantas del clon A fueron de 1.96, 1.67 y 1,72 con promedio por clon de 1.78 y para el clon B fueron de 1.93, 1.89 y 1,72 en las tres plantas seleccionadas para su evaluación y con promedio de pureza en este caso por clon de 1.85. Posterior a esto, se corrieron los PCR necesarios lográndose que la amplificación de los materiales estudiados fue muy favorable. Los productos purificados de las regiones convenidas, fueron enviados a MacroGen Corea del Sur para su secuenciación. Al tener las secuencias , se procedió entonces a hacer las comparaciones de las secuencias entre las tres plantas de cada Clon con las regiones ITS, rbcL y trnH-psbA; con estos resultados se hicieron los alineamientos necesarios entre las secuencias "forward" y "reverse" para cada región y hacer la comparación entre ellas, es decir una evaluación de porcentajes de similitud entre los dos clones y sus plantas seleccionadas con varias de las especies de *Pelargonium spp* que se tienen en la base de datos del NCBI , obteniéndose como resultado de todo esto las correspondientes matrices con los porcentajes de similitud entre las diversas comparaciones realizadas.

Utilizando la herramienta NCBI-BLAST se reportaron los porcentajes de similitud más altos correspondiente a una mayor cobertura de la secuencia. Además, se realizó el análisis bioinformático de las secuencias obtenidas de cada muestra con secuencias publicadas en la base de datos de NCBI utilizando Mega© y MrBayes©; visualizando los árboles en Figtree©. Este análisis bioinformático consistió en el alineamiento de las secuencias de las muestras en estudio con las secuencias publicadas y la construcción de un árbol filogenético para cada una de las tres regiones evaluadas.

Los resultados obtenidos de la comparación de secuencias para la seis muestras cuando es utilizada la región ITS (Tabla 38) , evidencian alta similitud tanto dentro de cada clon (en las tres plantas de cada uno) como entre los dos clones, teniendo porcentajes de similitud arriba del 94 % (varió de 94 hasta 100.00 %) ; excepto para dos secuenciaciones hechas y

correspondientes a las plantas A3 y B1 que en esos dos casos mostraron valores de 93 % (relativamente bajos), considerándose que este parcial resultado fue posible por la calidad no muy apropiada de esas secuencias.

Finalmente se puede considerar a esta región como informativa ya que las secuencias de interés se alinearon con el Género *Pelargonium* especie *Pelargonium capitatum* aunque no con la especie *Pelargonium graveolens*; haciéndose notar que posiblemente el tamaño y la calidad de la región ITS obtenida no fue lo suficientemente aceptable para favorecer las comparaciones entre todas las especies utilizadas y determinar entonces sí en efecto están relacionadas.

Continuando con el proceso de lograr diferenciar y poder definir a la especie, y consolidar al género como *Pelargonium*, se decidió usar la región rbcL (Tabla 39), mostrando inicialmente que al comparar las secuencias para las tres plantas en cada clon, el resultado que se tuvo fue de una gran similitud entre las seis comparadas (tres plantas de cada clon), siendo notorio que los porcentajes fueron del 100 % en todos los casos, es decir que se tiene mucha similitud entre las secuencias comparadas ya que poseen un porcentaje mayor o igual al 94 % inicialmente fijado como referencia .

Con la región rbcL decidida y analizada, se hizo la construcción del árbol filogenético de las relaciones de *Pelargonium spp* con respecto a varias especies incluyendo a *P. graveolens* (Figura 40), resultando que las respuestas obtenidas nos indican que los dos materiales genéticos estudiados están relacionados a muchas de las especies de *Pelargonium spp* con que se han comparado, lo cual podría explicarse porque el gen ocupado para hacer la evaluación, está presente o se ha conservado y lo poseen los organismos evaluados (Tanto en los del NCBI como en los dos clones y sus plantas estudiadas), sumado a esto, la muy buena calidad y tamaño de las secuencias utilizadas. De todas las comparaciones realizadas hasta este punto, el resultado indica nuevamente que las muestras estudiadas están muy relacionadas entre sí, agregándose que sí bien están relacionadas a varias especies de *Pelargonium*, también lo está hasta este momento, muy relacionada a *Pelargonium graveolens*.

Continuando con el proceso inicialmente definido, siguieron las comparaciones, para lo cual, haciendo uso de la región trnH-psbA, se encontró que en la equiparación de las secuencias entre las muestras con la región mencionada, se logró determinar la gran similitud que las muestras de los dos clones tienen entre sí, ya que superaron el valor de referencia del 94 %, encontrándose además, que los valores variaron en todos los casos aceptablemente del 98 al 100 % (Tabla 40).

Al utilizar la secuencia Consenso del gen *trnH-psbA*, se hicieron las comparaciones de las muestras de los dos clones evaluados , comparando con varias especies del género *Pelargonium spp* y que se tienen disponibles en el NCBI, construyéndose de aquí el árbol filogenético de las relaciones de *Pelargonium spp* entre especies específicas (Figura 39), determinándose que para la región mencionada, las muestras evaluadas están muy estrechamente relacionadas a *Pelargonium graveolens* , sugiriendo la posibilidad de que sea la misma especie , lo cual apoya y confirma el nodo interno de 99 tal como se muestra. Tomando en cuenta los tres análisis de ADN y sus resultados y los árboles filogenéticos construidos, se puede concluir preliminarmente que las secuencias de los materiales en estudio están estrechamente relacionados con *P. graveolens* o *P. capitatum*; sin embargo, se considera que es necesario hacer más comparaciones para lograr determinar claramente la especie a la cual corresponden los dos clones evaluados.

En vista de que aún no estaba claramente definida la especie, siempre trabajando con las tres plantas representativas de cada clon A1,A2 y A3 y B1, b2 y B3, se realizó un nuevo muestreo en campo, se ejecutó el análisis de extracción de ADN correspondiente utilizando el protocolo ya antes reportado, habiéndose obtenido los resultados siguientes (Tabla 41); para el clon A se tuvieron cantidades de ADN de 150, 160 y 155 ng/ $\mu$ L en cada planta, con promedio de 155 ng/ $\mu$ L por clon y purezas de 2.00, 2.00 y 2.07 con promedio por Clon de 2,02; para el clon B , los resultados en la cuantificación fueron de 165 , 145 y 140 ng/ $\mu$ L por planta y promedio de 150 ng/ $\mu$ L en el clon y en los contenidos de pureza se obtuvieron valores de 2.46, 2.42 y 2.25 con un promedio para este clon de 2.38.

Con los aceptables resultados de calidad y cantidad obtenidos en la extracción, se realizaron diversos árboles filogenéticos para tratar de establecer las relaciones o similitudes entre las tres muestras de cada clon con la familia Geraniaceae y diferentes especies del Género *Pelargonium spp* sin dejar de incluir a la especie *P. graveolens* (Figura 42), todas las cuales están en la base de datos del NCBI, utilizándose para ello en este caso, diversas regiones del cloroplasto siendo éstas : *trnT-trnL*, *trnL-trnL* y *trnL-trnF*.

Como resultado de la primera confrontación de las seis muestras en estudio y comparando con las secuencias publicadas en la base de datos por el NCBI teniendo entre ellas a varias especies de *Pelargonium*, se aplicó dicha comparación a diversos géneros y especies de la Familia Geraniaceae (Tabla 42), resultando inicialmente que para la región del cloroplasto *trnL-trnL* se determina que en efecto se encuentran relacionadas con el género *Pelargonium spp* (Figura 42), lo cual se confirma con el nodo interno de 100, es decir que con este alto valor, se tiene la probabilidad posterior de que este grupo se forme, o sea que formen parte de un solo grupo genético, incluyendo entonces a géneros y especies genéticamente

cercanos. Al ser mayor de 95 se considera que la construcción es fiable según lo reportado por (Alfaro, M., et al., 2003.) y que permite concluir sobre esa evidencia.

Continuando con las comparaciones , y utilizando los diversos géneros y especies de la Familia Geraniaceae que están en la base de datos de NCBI (Tabla 43), se compararon con la región trnL-trnF , encontrándose nuevamente que las muestras del geranio en estudio están relacionadas con *Pelargonium graveolens* (Figura 43), lo que también nuevamente se confirma por el nodo interno de 100 lo que como ya se informó, esto significa de que dicho valor es la probabilidad posterior que se tiene de que este grupo se forme, siendo notorio de que al ser mayor de 95 igualmente se considera como confiable.

Siguiendo con la búsqueda de las similitudes, se hizo el comparativo en este caso con la secuencia consenso del gen trnT-trnL de las seis muestras de geranio en estudio y con diversas especies del género *Pelargonium* (Figura 44) , haciéndose la aclaración de que en la base de datos del NCBI no se encontraron suficientes secuencias del Género con la región trnT-trnL; sin embargo, con la información disponible y con los resultados obtenidos, se determinó finalmente que para esta región del cloroplasto trnT-trnL no se encuentran relacionadas con *Pelargonium spp*, lo que se respalda con el nodo interno obtenido de 100 que al ser mayor de 95 se considera aceptable.

Al continuar con las comparaciones entre las seis muestras del geranio utilizando en este caso, la secuencia consenso del gen trnL-trnL comparando con diversas especies del Género *Pelargonium* con las diversas accesiones con código de acceso en el NCBI (Tabla 42), se observó que para esta región del cloroplasto en que se comparan las muestras del geranio con las diversas especies de *Pelargonium* (Figura 42), se determina que se encuentran estrechamente relacionadas al género, destacando que el material genético identificado como LPV 21 537 que es la planta 1 del Clon B presenta una relación directa con *P. graveolens* y con un nodo interno de 99 %; sin embargo, es de destacar, que las otras cinco muestras no se relacionan con otras especies aunque sí con *Pelargonium graveolens*. Siendo la posible explicación porque estas otras cinco muestras tienen más variabilidad genética, lo cual concuerda con las afirmaciones ya hechas por (Bakker, F.T., et al ., 2004) y (Blerot, B., et al., 2016) quienes reportan la composición híbrida de los materiales genéticos actualmente utilizados para la producción comercial de aceite esencial de geranio con olor a rosa; agregándose que las variedades o cultivares de *Pelargonium spp* que son utilizados comercialmente en la actualidad, son materiales híbridos muy variables genéticamente y que han ido resultando con el transcurso del tiempo de cultivo a que han estado sometidos, resultando que al final todas las muestras analizadas en nuestra investigación, están emparentadas o sea relacionadas entre ellas, por pertenecer al mismo cultivar B,

concluyendo en nuestro caso , que todas están genéticamente interrelacionadas entre sí. Siguiendo árbol filogenético construido fue entre diversas especies de *Pelargonium* con las seis muestras del geranio en estudio, utilizando la secuencia consenso del gen trnL-trnF (Figura 43), resultando que para la región del cloroplasto indicado, el resultado nos expresa que no se encuentran relacionadas a ninguna especie de este género y el nodo interno al tener valor de 95 es indicación de que es fiable. Confirmándose que son *Pelargonium* spp , que están relacionadas entre ellas mismas pero que al menos para esta región estudiada del cloroplasto no es posible definir la relación factible para la especie *graveolens*.

Como producto de las diversas regiones del cloroplasto utilizadas en las comparaciones y las secuencias del geranio con sus clones y plantas en estudio, que muestran un alto grado de similitud frente a *Pelargonium* spp., se puede concluir que las muestras pertenecen al género *Pelargonium*; agregándose sin embargo, que si bien, de las tres regiones del cloroplasto estudiadas, sólo la región trnL-trnL presentó alineamientos con *P. graveolens*, al haber otras plantas del mismo clon que no se alinearon debidamente, todavía no se puede asegurar que las muestras son de esta especie. La explicación posible a todo esto podría ser por alguna afectación en el genoma, necesidad de aumentar la porción del ADN en estudio, mucha variabilidad genética en su ADN, entre otras posibles causas. Siguiendo con el proceso de confirmar Género y determinación de la especie del geranio de olor en evaluación, se procedió a procesar nuevamente las seis muestras obtenidas de las mismas tres plantas de cada uno de los clones de geranio de olor en estudio (A1, A2 y A3 y B1, B2 y B3), muestras que se procesaron para extraer su ADN, aplicando el mismo protocolo que se usó para todos los anteriores análisis. El ADN extraído se cuantificó utilizando el espectrofotómetro UV-Vis para determinar su concentración y pureza, obteniéndose los resultados finales en concentración de 25, 50 y 150 ng/μL por cada planta del clon A con un promedio de 75 ng/μL por clon y para las otras tres plantas del clon B se obtuvieron valores de 105,90 y 155 ng/μL con un promedio por clon de 116.7 ng/μL.

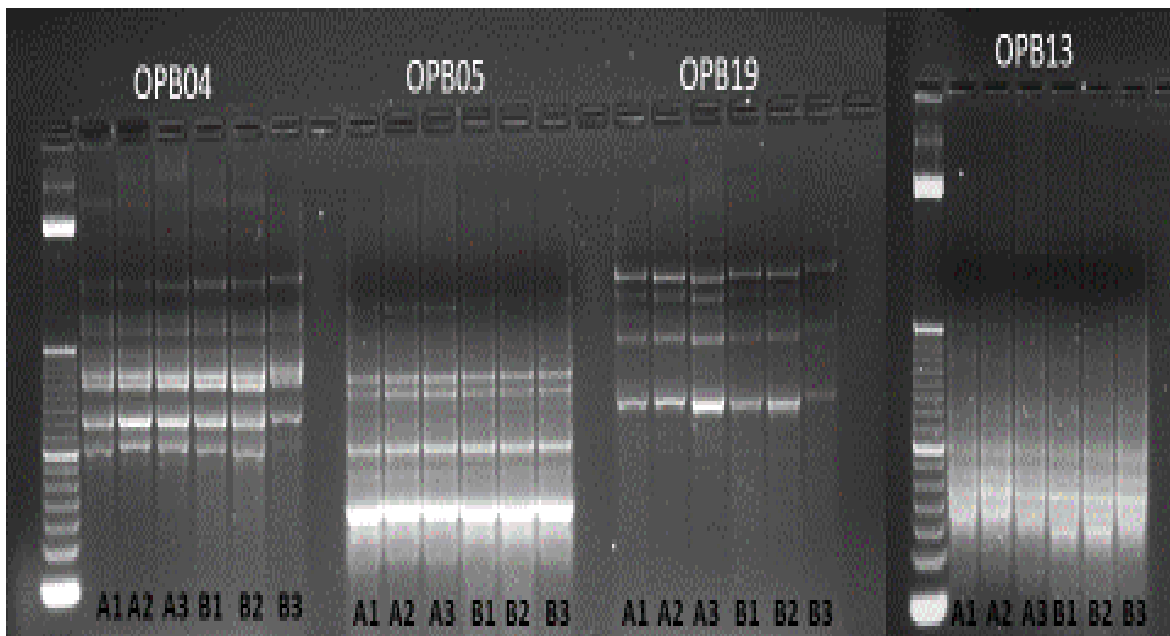
Respecto a la pureza, los resultados en este caso fueron de 2.00, 1,71 y 1.88 respectivamente para las tres plantas con un promedio de pureza para el clon A de 1.86; en el caso del otro Clon , los resultados de pureza por planta fueron de 1.71, 1.73 y 2.00 con un valor promedio para el Clon de 1.81, todo lo cual se consideró como aceptable (Tabla 44), procediéndose entonces a evaluar la integridad y después correr un PCR sólo para la región del cloroplasto trnL-trnL. Los productos obtenidos del PCR nuevamente fueron purificados y secuenciados en MacroGen Corea del Sur.

Se utilizó esta región del cloroplasto ya que fue la que mostró mayor fiabilidad e información en las anteriores comparaciones hechas con las diversas especies de

*Pelargonium spp.* Continuando con el proceso, se confrontaron las muestras en estudio con un extenso número de secuencias de especies del género *Pelargonium* que están publicadas en la base de datos de NCBI (Tabla 45); de donde se obtuvieron los resultados de que usando dicha región del cloroplasto, es notable la determinación de que están estrechamente relacionadas a este género, así como que es *P. graveolens* la especie con la que todas las muestras evaluadas tienen una estrecha relación, con un nodo interno de 99 estando ya antes definido de que al tener ese valor arriba del 95 se considera que la construcción del árbol y sus ramas es muy fiable (Figura 47). También suman favorablemente a estos resultados el que las secuencias obtenidas son de muy buena calidad, destacándose que en general hubo buen alineamiento entre las secuencias de las seis muestras estudiadas con las secuencias con que se compararon del NCBI, por lo que se puede decir que no hay diferencias entre sí dentro de las seis muestras de los dos clones estudiados; permitiendo resumir ya con estos resultados, que las secuencias del geranio mostraron un alto grado de similitud en relación a *Pelargonium graveolens*, pudiéndose entonces concluir confiablemente en que todas las muestras estudiadas (Para Clon A: plantas A1, A2 y A3 y para Clon B: plantas B1, B2 y B3), se encuentran emparentadas genéticamente a dicho Género y también a esa especie. También debe de mencionarse la utilidad y confianza que muestra la secuencia consenso trnL-trnL como herramienta para diferenciar y caracterizar genéticamente a materiales vegetativos de *Pelargonium graveolens* tanto para niveles de Género como de especie.

Sumado a lo anterior, ya conociendo de que las seis accesiones de los clones A y B del cultivar de Palo de Campana pertenecían al género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens*, y aunque no estaba dentro de los objetivos de la investigación inicialmente fijados, se hizo un análisis con RAPDs para identificar la posible variedad ó variedades de estos clones; este análisis se llevó a cabo en CENSALUD Universidad de El Salvador. Se emplearon los “primers” OPB 4, OPB 5, OPB13 y OPB 19 siguiendo la metodología de (Tembe et al., 2010) donde se compararon los patrones de bandas de estos marcadores en tres variedades: Reunión, Bourbón y Egipto. Los patrones RAPD obtenidos se muestran en la Figura 31.





**Figura 31.** Gráfica de patrón de RAPD de seis accesiones de dos clones (A y B) de *Pelargonium graveolens* con los OPB:04,05,19 y 13, para la identificación de variedades.

Al comparar los resultados del presente análisis con los patrones para tres variedades comerciales Reunión, Egipcia y Bourbon hechos específicamente por (Tembe et al., 2010); mostró que el patrón con OP19 fue concordante con Bourbon; mientras que OPB 04, OPB05, OPB13 concordaron con Bourbon y Reunión; OPB05 a su vez, por su perfil de bandas eliminó la variedad Egipto. Todo esto concuerda con los resultados previos ya realizados con los marcadores tanto RAPDs como “barcoding” que indican que se trata de *Pelargonium graveolens* variedad Bourbon con leve hibridación o presencia genética con Reunión; esto demuestra la naturaleza híbrida de los clones A y B de *Pelargonium graveolens* del cultivar establecido en el Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador.



fig. 1. *Pelargonium graveolens*  
detalle de la inflorescencia

**Figura 32.** Dibujo a tinta china con detalles de flor en planta de Clon A de *Pelargonium graveolens*.

## 5.0. Conclusiones en Español.

- 1 - Los dos cultivares estudiados en esta investigación, pertenecen al Género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens*.
- 2 - Morfológica, fitoquímica y genéticamente ambos clones evaluados del Geranio de Olor y cultivados en El Salvador son *Pelargonium graveolens*.
- 3 - Considerando los diversos parámetros utilizados en la presente investigación en la caracterización del material original de campo, podemos concluir en que estamos ante la planta llamada comúnmente como Geranio de Olor definido científicamente como *Pelargonium graveolens*.
- 4 - La calidad de los aceites esenciales obtenidos es muy buena a juzgar especialmente por los contenidos de los dos principales componentes de calidad : Geraniol y Citronelol, destacando que de acuerdo a las proporciones aplicadas, ambos clones tienen contenidos apropiados en su cantidad porcentual y en su balance, acercándose los dos al valor óptimo proporcional de uno, lo cual favorece grandemente su calidad fitoquímica y su competitividad comercial incluso en el mercado mundial y por lo tanto en su mejor precio.
- 5 - Los resultados obtenidos en la investigación realizada así como por la experiencia de campo obtenida, permiten concluir que ambos materiales genéticos son muy apropiados por la calidad del aceite obtenido, por su composición genética diversa detectada dentro de la población total pero también fiable al haberse propagado y cultivado como Clones y que se evidencia en su respuesta agronómica apropiada ya como plantación; por lo tanto se favorece su cultivo y su explotación comercial siendo factible utilizarlo como material genético base o como “pie de cría” y hacer entrega a los productores para su cultivo, con la condición de ser propagado y cultivado vegetativamente.

- 6 - Integrando los resultados obtenidos en lo genético, morfológico y por el perfil fitoquímico del aceite esencial obtenido para el clon A, se puede concluir que estamos ante el Cultivar Bourbón localizado geográficamente y específicamente en Cantón Palo de Campana en la zona del volcán de Santa Ana en El Salvador, Centro América.
- 7 - Por los resultados obtenidos en las pruebas de RAPD's, se nota la variabilidad genética de los vegetales estudiados, pudiendo inferirse que ambos materiales genéticos son híbridos pero con ancestros genéticamente muy buenos, que cuentan con apropiadas cualidades organolépticas que se reflejan en los contenidos y el balance apropiado de los dos principales elementos fitoquímicos determinados en su aceite esencial que son Citronelol y Geraniol.
- 8 - La aplicación de herramientas moleculares basadas en la estrategia del Código de Barras de ADN ("DNA Barcoding") aplicadas en vegetales, para la caracterización, identificación y clasificación de muestras de Géneros y especies vegetales de interés económico, alimenticio, farmacéutico y cultural entre otros usos en nuestro país, es una realidad, teniendo dicho recurso técnico un gran poder en actividades de preservación, mejoramiento genético, protección legal e incremento de productividades agronómicas y económicas.
- 9 - Como resultado del uso de marcadores moleculares específicos como "Barcoding" con genes ribosomales y mitocondriales y RAPD's, podemos concluir que los dos clones estudiados aún con sus variaciones genéticas entre ellos, pertenecen al Género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens*.

## 6.0. Conclusions in English.

1 - The two cultivars studied in this research belong to the *Pelargonium* genus, *Pelargonium graveolens* species.

2 - Morphologically, phytochemically and genetically, both clones of the Geranium of Olor evaluated and cultivated in El Salvador are *Pelargonium graveolens*.

3 - Considering the various parameters used in the present investigation in the characterization of the original field material, we can conclude that we are dealing with the plant normally called Odor Geranium, scientifically defined as *Pelargonium graveolens*.

4 - The quality of the essential oils obtained is very good, judging especially by the contents of the two main quality components: Geraniol and Citronellol, noting that according to the proportions applied, both clones have appropriate contents in their percentage quantity and in their balance, both approaching the optimal proportional value of one, which greatly favors their phytochemical quality and their commercial competitiveness even in the world market and therefore in their best price.

5 - The results obtained in the research carried out as well as the field experience obtained, allow us to conclude that both genetic materials are very appropriate due to the quality of the oil obtained, due to its diverse genetic composition detected within the total population but also reliable by having propagated and cultivated as Clones and that is evident in its appropriate agronomic response already as a plantation; therefore its cultivation and commercial exploitation are favored, being feasible to use it as base genetic material or as

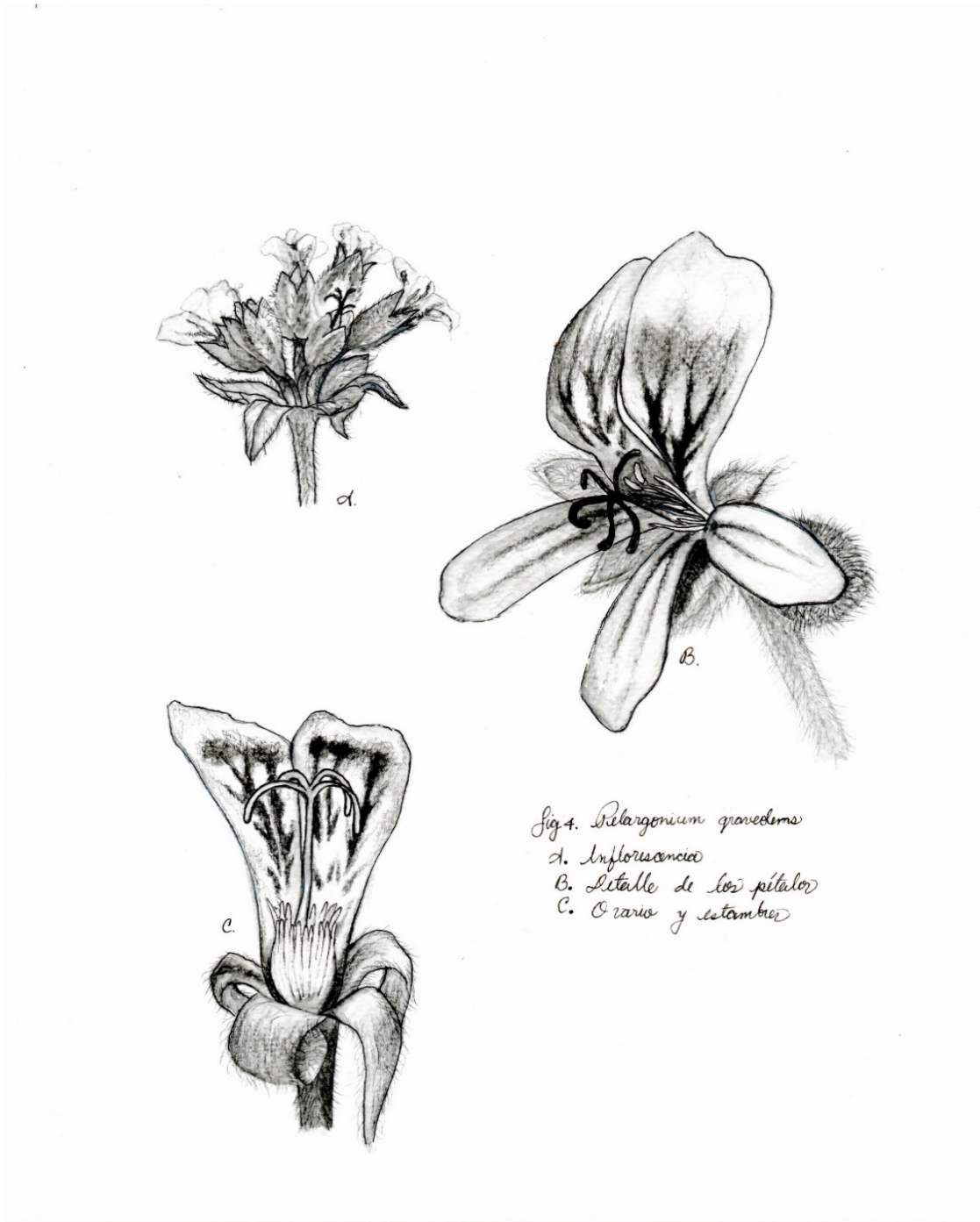
"breeding stock" and delivery to producers for cultivation, on condition that it be propagated and cultivated vegetatively.

6 - Integrating the results obtained in the genetic, morphological and phytochemical profile of the essential oil obtained for clone A, it can be concluded that we are dealing with the Bourbon Cultivar located geographically and specifically in Cantón Palo de Campana in the area of the Santa Ana volcano in El Salvador, Central America.

7 - From the results obtained in the RAPD's tests, the genetic variability of the studied vegetables is noted, and it can be inferred that both genetic materials are hybrids but with very good genetic ancestors, which have appropriate organoleptic qualities that are reflected in the contents and the appropriate balance of the two main phytochemical elements determined in its essential oil which are Citronellol and Geraniol.

8 - The application of molecular tools based on the strategy of the DNA Barcode ("DNA Barcoding") applied in plants, for the characterization, identification and classification of samples of Genres and plant species of economic, nutritional, pharmaceutical and cultural interest among other uses in our country, it is a reality, having said technical resource a great power in activities of preservation, genetic improvement, legal protection and increase of agronomic and economic productivities.

9 - As a result of the use of specific molecular markers such as "Barcoding" with ribosomal and mitochondrial genes and RAPD's, we can conclude that the two clones studied, even with their genetic variations between them, belong to the Pelargonium genus, *Pelargonium graveolens* species.



**Figura 33.** Dibujo a tinta china en acercamiento con detalles en flor de planta Clon A de *Pelargonium graveolens*.

## 7.0. Recomendaciones.

- 1- Continuar con la propagación comercial utilizando a las “plantas madres” ya identificadas para incrementar la cantidad de material vegetativo y hacer cultivos de mayores áreas con ambos clones en parcelas por separado para aprovechar su producción comercial de biomasa y de aceite esencial en especial para el Clon A considerado con Cultivar Bourbón aprovechando entonces la ventaja competitiva de su denominación.
- 2- Hacer cosechas individuales de las porciones vegetativas por separado (hojas, tallos jóvenes y lignificados, etc) para evaluar el efecto positivo y/o negativo que esas porciones vegetativas tienen sobre la calidad y cantidad del aceite esencial finalmente obtenido.
- 3- Evaluar los residuos vegetativos que se obtienen al final de la extracción del aceite esencial sobre el efecto en el combate de plagas insectiles voladoras o de suelo en cultivos comerciales de cereales, hortalizas, frutales y otros, con especial referencia a cultivos orgánicos.
- 4- En vista de la relación que existe entre rendimientos y calidades de AEG obtenido a diferentes horas del día, se hace necesario evaluar horas de cosecha y su efecto sobre la calidad y rendimientos del aceite.
- 5- Estudio se realizó con materiales cultivados a alturas de más de 1700 msnm, por lo que deben de hacerse siembras en parcelas por separado de los dos cultivares para evaluar rendimientos, calidad y crecimiento vegetativo a otras altitudes y tipos de suelos en el país.
- 6- Hacer evaluaciones inicialmente como investigación básica y posteriormente comercial, aplicando la tecnología de cultivo de tejidos en El Salvador, pero utilizando como material vegetativo inicial a las tres plantas identificadas en cada clon y que están muy bien caracterizadas en lo genético, en lo morfológico como también en su composición fitoquímica.
- 7- Hacer los trámites correspondientes en las oficinas del Centro Nacional de Registros (CNR) en El Salvador para identificar, legalizar y finalmente patentar a las plantas del clon A Género *Pelargonium* especie *Pelargonium graveolens* Cultivar Bourbón para su protección nacional e internacional, así como para mejorar su competitividad comercial y precio en el mercado mundial de los aceites esenciales.



- 8- Aplicar la estrategia del Código de Barras en ADN (“DNA Barcoding”) en los materiales genéticos vegetales autóctonos, silvestres ó en posible extinción en El Salvador con importancia medicinal, saborizante, aromática o alguna otra, para su caracterización, protección, propagación, utilidad industrial, agrícola o económica o algún otro uso importante de interés.

## 8.0. Bibliografía.

- 1) Aguirre, F., A.D. (2014), Colección y caracterización morfológica de la diversidad de plantas medicinales de las provincias de Loja y Cotopaxi. Tesis Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 181 p.
- 2) Alfaro, M., Zoller, S. y Lutzoni, F. (2003). Bayes or Bootstrap ? . A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov Chain Montecarlo sampling and Bootstrapping in assessing Phylogenetic confidence. *Molecular Biology and Evolution*. 20 (2): 255-266.
- 3) Amasifuen, C. D. (sf). Glosario de Términos Botánicos. Facultad de Agronomía, UNLPs, Pampa, Argentina 24 pp.
- 4) Arctander, S. (1994). Perfume and flavor materials of natural origin. Reimpreso copyright 1994, USA. 262-273.
- 5) Armitage, A. M. ; Sams,C.E.; Miranda, R.M.; Carlson, W.H. and Flore, J.A. (1983). The effect of quantum flux density and net photosynthetic rate on morphology and time to flower of hybrid geraniums. *Scientia Horticulturae* 21 3) : 273-282,Países Bajos.
- 6) Baker B.P.; Grant, J.A. (2018). Geranium oil Profile. Integrated Pest Management, Cornell University, Geneva NY. 1-11 pp.
- 7) Bakker, F.T.; Culham, A.; Hettiarachi, P.; Touloumenidou, T. and Gibby, M. (2004). Phylogeny of Pelargonium (Geraniaceae) based on DNA sequences from three genomes. *TAXON* 53 (1) 2004 :17-28, Alemania.
- 8) Barcaccia, G., Albertini,E. , Falcinelli,M. 1999. AFLP fingerprinting in *Pelargonium peltatum* : Its development and potential in cultivar identification. In *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* Volume 74,1999, Issue 2 243-250 p. Inglaterra.
- 9) Becher,S.A. ; Steinmetz, K., Weising, K.; Boury, S.; Peltier, D.; renou, J. P.; Kahl,G. ; Wolff, K. ( 2000). Microsatellites for cultivar identification in Pelargonium. *Theor Appl genet* (2000) 101 : 643-651. Springer-Verlag Inglaterra.

- 10) Bissanti, G. (2021). *Pelargonium graveolens* : Sistemática, Etimología, hábitat, cultivo. Italia. 5 pp.
- 11) Blank , A. F. ; Anderson de C. Silva ; Espacamento de plantio e intervalos de colheita na biomassa e no óleo essencial de geranio.
- 12) Blerot B.; Baudino, S.; Prunier, C.; Demarne, F.; Toulemonde, B. ; Caissard,C. (2016). Botany , agronomy and biotechnology of *Pelargonium* used for essential oil production. In *Phytochemistry Reviews*. USA., s. p.
- 13) Boukhatem, M.N.; Kameli, A.; Ferhat, M.A.; Saidi,F.; Mekarnia,M. (2013). Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. *Libyan Journal of Medicine*, 8;1.1-7 p.
- 14) Boukhris, M.; Ahmed, C. H.; Mezghani, I.; Bouaziz, M.; Boukhris, M.; Sayadi, S. (2013). Biological and anatomical characteristics of the rose-scented *Geranium* (*Pelargonium graveolens*, L´Hér.) grown in the South of Tunisia. *Pak. J. Bot.*, 45(6): 1945-1954, 2013. Túnez.
- 15) Boukhris, M.; Nasri-Ayachi, M.B.; Mezghani, I.; Bouaziz, M.; Boukhris, M.; Sayadi, S. (2013). Trichomes morphology, structure and essential oils of *Pelargonium graveolens* L´Hér. (Geraniaceae). *Industrial Crops and Products* 50 (2013) 604-610,2013. Túnez.
- 16) Chávez-Rendón,C.; Medina-Lemos, R. (2019). Flora del Valle de Tehuacán-Cuitatlán. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 1-25 pp.
- 17) Chen, W. y Viljoen, A.M. (2010). Geraniol – A review of a commercially important fragrance material. *South African journal of Botany*. 76(2010) 643-651. Elsevier, Holanda.
- 18) Cires, R.E. (2010). DNA Barcoding : una nueva herramienta para identificar plantas. Miscelánea notas. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas. Universidad de Oviedo. Oviedo, España. 383-384 p.
- 19) Claros, D., M.G. (1998). Marcadores moleculares: qué son, cómo se obtienen y para qué valen. Depto. De Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga, España. 1-4 p.

- 20) Cornejo, R. A., Servato, D. A., Rendón, A. B., Rocha, M. M.G. (2014). Herramientas moleculares aplicadas a la Ecología : Aspectos teóricos y prácticos. Primera edición, México. 256 pp.
- 21) Crespo, M.B. (s.f.). 3. *Pelargonium* L'Hér CXXIII Geraniaceae 373-382 pp.
- 22) D.J. Guzmán. (1975). Especies útiles de la Flora Salvadoreña. Tomo I, Tercera Edición. Dirección de Publicaciones, Ministerio de Educación, El Salvador. 573-574 p.
- 23) Dasuki, U.A. (2016) *Pelargonium* L'Hérit. Essential oils, Plant resources of South-East Asia (PROSEA) pp.
- 24) DeLLaCassa, E. (2010). Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática Latinoamericana. Proyecto CYTED IV.20. Porto Alegre, Brasil. 11-14 pp
- 25) Demarne, F., Van Der Walt, J.J.A. (1989). Origin of the rose-scented *Pelargonium* cultivar grown on Réunion Island. S. Afr. Tydskr. Plantk., 1989, 55(2): 184-191. República de Sud Africa.
- 26) Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, Vol. 19 (1) : 11-15. EUA.
- 27) Duarte Torres, O., Velho, L. (2009). La Bioprospección como un mecanismo de cooperación internacional para fortalecimiento de capacidades en Ciencia y tecnología en Colombia. *Ci. Inf. Brasilia*.DF, Brasil. v. 38, n. 3, p.96-110.
- 28) Dzamic, A.M.; Sokovic, M.D.; Ristic', M.S.; Grujic', S.M.; Mileski, K.S.; Marin, P.T. (2014). Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2014 Vol.4(03): 01-05 p. Serbia.
- 29) Espinosa, M.J., Centurión, H.D., Mayo, M.A., Velásquez, M.J.R. (2017). Plantas aromáticas y medicinales Tropicales con Potencial Actividad Microbiana. Universidad Juaréz Autónoma de Tabasco, México. 86 p.
- 30) FAO, (1996). Desarrollo de productos forestales no madereros en América Latina y el Caribe. Serie forestal N°5. Roma, Italia. 70 p.

- 31) Fekri, N., El Amir, D.; Owis, A.; Abouzid, S. (2019). Studies on Essential oil from Rose-Scented Geranium, *Pelargonium graveolens* L`Hérit. (Geraniaceae). Nat. Prod. Res. 4:1-5. Inglaterra.
- 32) Fernández, A.A. (2006). Las Plantas medicinales, aromáticas y condimentarias PAMC, un gran potencial a medias de ordenar. España. 21 p.
- 33) Fleisher, A. y Fleisher, Z. (1985). Yield and Quality of Essential Oil from *Pelargonium graveolens* Cultivated in Israel. Journal of the Science of Food and Agriculture. 36: 1047-1050. EUA.
- 34) Flores, H., K.V. y Laime, S.S. (2008). Crema dental a base de las propiedades medicinales y terapéuticas del aceite esencial del Geranio (*Pelargonium x hortorum*). Perú. Ciencia y Desarrollo. 2008.v.09.09 sp.
- 35) Gallo, M. y Rodríguez, E. (2007). Reserva de la Biosfera Apaneca-Illamatepe. UNESCO, Programa el Hombre y la Biosfera (MAB). El Salvador. 62 pp.
- 36) Gallou, A.; et al. (2021). Manual de prácticas del laboratorio de Biología Molecular. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, SENASICA. México. 98 pp.
- 37) Galovic, V., Drinic, M.S.; Navalusic, J. ; Zlokolica, M. (2006). Characterization methods and fingerprinting of agronomically important crop specie. Genetika Vol. 38 N° 2, 83-96. Serbia.
- 38) Gardi, C.; et al. (2015). Atlas de Solos de América Latina e do Caribe, Comissao Europeia – Servico de Publicacoes da Uniao Europeia, Luxemburgo. Versión impresa. 176 pp.
- 39) Goncalves Rabelo, P. (2014). Producao de Geranio (*Pelargonium graveolens*) e oleo esencial em sistemas de cultivos e adubacoes com plantas oriundas de cultura *in vitro*. Tesis Universidad Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. 28 pp.
- 40) Grande, T., C.D. y Delgado O.J. (2015). Cadena de Valor de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias. Una industria en pleno Desarrollo. Panorama de las PAMC en Colombia. Universidad de San Buenaventura, Cali, Colombia. 104 p.

- 41) Guenther, E.(1982). The Essential Oils. Volume Four. Robert E. Krieger Publishing Company, Inc. Florida, USA.
- 42) Guillot O. D. (2012). Nuevos datos de cultivares cultivados y comercializados en España: el género *Pelargonium* L'Hér. *Boutelona* 10: 52-68(X-2012) ISSN. 52-68. España.
- 43) Hamidpour, R.; Hamidpour, S.; Hamidpour, M.; Marshall, V.; Hamidpour, R. (2017). *Pelargonium graveolens* (Rose geranium) A novel therapeutic agent for antibacterial, antioxidant, antifungal and diabetics. *Arch. Can. Res.* 2017, Vol. 5 N° 1. USA. 1-5 pp.
- 44) Harrison, C.J.; Langdale, J.A. (2006). Una guía paso a paso para la reconstrucción filogenética. *Planta Journal* 45(4) : 561-572. NCBI , USA.
- 45) Herrera,L. (2017). Aceites esenciales y métodos de conservación. 8 p.
- 46) InfoAgro. s.f. El cultivo del geranio. 10 p.
- 47) INTAGRI (2021). Cultivo de plantas aromáticas y medicinales. Serie Hortalizas, Núm. 30. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 5 p.
- 48) Integrated Taxonomy Information System ITIS (2022). *Pelargonium graveolens* L'Hér. Taxonomic Serial No.: 29157, EUA. 2p.
- 49) Kabera J.; Mugiraneza, J.P. ; Chalchat, J.C.; Ugirishuti, V. (2013). Chemical composition and antimicrobial effect of the essential oil of *Pelargonium graveolens* (Geranium Rosat) grown in Butare (Rwanda) Towards formulation of plant-based antibiotics. *Journal of Microbiology Research* 2013, 3(2) : 87-91. Ruanda.
- 50) Keville, K. (1998). Extractos de usos y virtudes de los aceites esenciales de Geranio, Lavanda, Limón, Romero, Rosa. *Aromaterapia. Guía práctica*, Barcelona, España. 108 pp.
- 51) Kulkarni, P.N., et al., (2000). *Pelargonium graveolens* plant named "Narmada". United States Plant Patent, feb.26, 2022. 8 pp.

- 52) Kumar, D.; Padalia, R.C.; Suryavanshi, P.; Chauhan, A.; Verma, P.S.P.; Venkatesha, K.T.; Kumar, R.; Singh, S.; Tiwari, A.K. (2021). Essential oil yield, composition and quality at different harvesting times in three prevalent cultivars of rose-scented geranium. *Journal of Applied Horticulture*, 23(1) : 19-23, 2021. India.
- 53) Lanas, T., G.A. y Ortega, N. E.P. (2017). Estudio in vitro del efecto antifúngico del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (Geranio) al 25 %, 50 %, 75% y 100 % sobre cepas de *Candida albicans*. Tesis Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 91 p.
- 54) Lesur, C., Boury, S., Wolff, K., Becher, A., Weising, K., Kahl, G., Peltier, D. 2000. Comparison of seven molecular techniques for *Pelargonium* cultivar identification. *ISHS Acta Horticulturae* 508: XIX International Symposium on improvement of Ornamental Plants 297-300. Francia.
- 55) Lis-Balchin, M.T. (2004). In *Geranium Handbook of herbs and spices*. Volume 2. Capítulo 10, Geranium. Quality specification of the essential oil (CAS: 8000-46-2). s.p.
- 56) Marcén, L., J.J. (2000), Antimicrobianos naturales. *Medicina naturista*, 2000, N°2 : 104-108. España.
- 57) Martínez Batres, R.C. (2007). Evaluación de los daños a causa de la actividad del volcán Ilamatepec sobre la vegetación arbórea. Tesis Universidad de El Salvador. 113 p.
- 58) Maximize Market Research Private Limited. (2021). Mercado del aceite esencial de geranio: Análisis y Pronóstico de la industria global 2021-2027. India sp.
- 59) Mena Guerrero, M.G. (1994). Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la Flora Salvadoreña, Editorial Universitaria, Segunda Edición, El Salvador. 256-257 p.
- 60) Mendivelso, P., D. L.; Olivares, S. M.C.; Martínez, J.R.; Stashenko, E.E. (2007). Composición química de los metabolitos secundarios volátiles de *Pelargonium graveolens* en función del método de extracción y época de recolección del material vegetal. *Scientia el Technica* año XIII, N° 33, 2007., Colombia. 183-184 pp.

- 61) Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, MARN (2012). Clasificación de suelos por división política de El Salvador, C.A. El Salvador .86 pp
- 62) Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, MARN. (2018). Plan de Manejo Area natural Los Volcanes. El Salvador. 170 pp.
- 63) Narnoliya, L.K.; Jadaun, J.S.; Singh, S.P. (2019). Chapter 12 The Phytochemical composition, biological effects and biotechnological approaches to the production of high-value essential oil from Geranium. India. 327-331,
- 64) National Center for Biotechnology Information, NCBI (2020). *Pelargonium graveolens* NCBI: txid73200. (2020). taxonomy database. EUA. 2p.
- 65) Neagu, A. F.; Costea, T.; Nencu, I.; Dutu, L.E.; Popescu, M.L. ;Olaru,O.T.; Gird,C.E. (2018). Obtaining and characterization of a selective *Pelargonium graveolens* l'Hér.Dry extract with potential therapeutic activity in metabolic diseases. Farmacia, 2018,Vol.66,4. Rumania. 592-595 pp.
- 66) Niizawa, S.C. (2020). Los códigos de barra moleculares como una herramienta para la identificación de plantas medicinales. Mens. Bioquim. 44 (2020) 31-37. México.
- 67) Ocampo, R.A., (2002) . Situación actual del comercio de plantas medicinales en America Latina. Boletín latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinale sy Aromáticas. Vol 1 núm. 4 . noviembre 2002. Universidad de Santiago de Chile, Chile. 35-40 pp.
- 68) Oosthuizen, L.M.; Coetzee, J. (1983). Morphogenesis of trichomes of *Pelargonium scabrum*. S. Afr. J. Bot. 1983, 2 : 305-310. República de Sud Africa.
- 69) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO. (2022). WIEWS. Sistema Mundial de Información y Alerta Rápida sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Italia, spp.



- 70) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO. (2012). Guía para la descripción de suelos. Cuarta edición. Italia, 99 pp.
- 71) Otero Arnaiz, A., De la Cruz, M., Oyama, K. (1997). El uso de los RAPS como marcadores moleculares en plantas. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 60: 85-117.
- 72) Palumbo, R.; Wai-foong, H.; Guo-Liang, W.; Hu, J.; Craig, R., Locke, J.; Krause, C.; Tay, D.; (2007). Target región amplification polymorphism (TRAP) as a tool for detecting genetic variation in the genus *Pelargonium*. Hortscience 42(5):1118-1123. EUA.
- 73) Pandith, S.A., Niha, D., Wani, T.A., Razdan, S., WajidEaheed, B., Rana, S., Khan, S., Verma, M.K., Lattoo, S. (2017). Production dynamics in relation to ontogenetic development and induction of genetic instability through in vitro approaches in *Pelargonium graveolens*: A potential essential oil crop of commercial significance. Flavour Fragr J. 2017: 1-12. Reino Unido.
- 74) Paz, A., González, M., Crawford, A. (2011). Códigos de barra de la vida : Introducción y Perspectiva. Acta Biológica Colombiana. Vol. 16 N° 3 Sept/Dic. 2011. sp. Colombia.
- 75) Pedroso, F.V. (2017). Producao, caracterizacao, cito e genotoxicidade de nanoestruturas contendo óleo de Geranio e avaliacao do sinergismo sobre *Listeria monocytogenes* frente a óleos essenciais. Tesis Centro Universitario Franciscano, Santa María, Río Grande del Sur, Brasil. 66 p.
- 76) Peel, M.C., Finlayson, B.L. y McMahon, T.A. ( 2007). Updated world map of the Köppen-Geiger Climate classification . Hydrology and Earth System Sciences, (11) : 1163-1164. Alemania.
- 77) Pitarch, C.S., (2000). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales. Estudio *in vitro* del aromagrama de 85 aceites esenciales. Laboratorio de Análisis clínico, Valencia, España. 6 p.
- 78) Plaschil, S. ; Budahn, H; Wiedemann, M. ; Olbricht, K. (2016). Genetic characterization of *Pelargonium* L'Hér . germplasm . Genet Resour Crop Evol , Alemania.

- 79) Qing-Yuan, Y., Shao-wen, Y.; Tai-Feng, Q.; Cheng-Yun., L. (2017). Using RAPD and ISSR molecular markers to analyze the genetic diversity of Rose scented *Pelargonium* Populations. *Flavour Fragr. J.* 2018; 33 : 75-81. EUA.
- 80) Quijada, A., Méndez-Cárdenas, G., Ortiz-García, S., Álvarez-Buylla, E.R. (1997). La region de los ITS del AND Ribosomal del núcleo (nrADN), fuente de caracteres moleculares en la sistemática de las Gimnospermas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 60 : 159 -168.
- 81) Rajeswara, B.R. (2000). Rose-scented geranium (*Pelargonium* species): Indian and international perspective. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences* 22 (2000) 302-312 pp.
- 82) Rajeswara, B.R. (2002). Cultivation and distillation of Geranium oil from *Pelargonium* species in India. Taylor and Francis, Reino Unido. 212-217 pp
- 83) Rajeswara, B.R.; Kaul, P.N.; Syamasundar, K.V.; Ramesh, S. (2002). Water soluble fractions of rose-scented geranium (*Pelargonium* species) essential oil. *Bioresour Technol.* 84(3) : 243-246. Países Bajos.
- 84) Rajeswara, B.R.; Bhattacharya, A.K. (1992). History and botanical nomenclature of rose scented geranium cultivars grown in India. *Indian Perfumer* 36(2) 1992. 155-160 pp. India.
- 85) Real Academia Española. (2014). Diccionario de la Lengua Española. 23ª edición, actualización 2021, 23.5 en línea. <https://dle.rae.es> [2022].
- 86) Rey Bentos, F. y Capdevielle, Sosa, F. (2020). Aplicación del Código de barras de ADN (DNA Barcoding) para la identificación de especies vegetales de interés industrial. Uruguay.
- 87) Rivera Ayala, R. E., Flores Martínez, J.A. (2016). Sistematización del conocimiento etnobotánico del uso de la biodiversidad vegetal, en el cantón Las Pilas, municipio de San Ignacio, Chalatenango, El Salvador. Tesis Universidda de El Salvador, UES., El Salvador. 94 pp
- 88) Roca, M.G. (2013). Control biológico *in vitro* de aislados de *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. Obtenidos de plantas ornamentales. Tesis Universidad Politécnica de Cartagena, Colombia. 142 pp.

- 89) Rocha, S., P. J. (2003). Marcadores moleculares, una herramienta útil para la selección genética de palma de aceite. PALMAS, Vol. 24 N° 2. Colombia.12-25 p.
- 90) Rodríguez Escoto, C.A. (2019). Caracterización del Microclima y la vegetación Pterophyta en el Sotobosque del Bosque muy húmedo Montano bajo Subtropical del Parque nacional Cerro Verde , Santa Ana, El Salvador. Tesis Universidad de El Salvador.100 pp.
- 91) Roeschenbleck, J.; Albers, F.; Müller, K.; Weinl, S.; Kudla, J. (2014). Phylogenetics, character evolution and a subgeneric revision of the genus *Pelargonium* (Geraniaceae). *Phytotaxa* 1519(2) : 031-076, Alemania.
- 92) Romero, A.M. (2018). Usos tradicionales y actuales de los aceites esenciales. Tesis Universidad de Sevilla, España. 42 p.
- 93) Ruiz, A.M. (2021). Aceites esenciales procedentes de materia vegetal originaria de Cantabria y su posible uso contra el SARS-CoV-2. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Cantabria, España. 156 pp.
- 94) Ryman, D. (1991). Aromaterapia. Enciclopedia de las plantas aromáticas y sus aceites esenciales. Editorial Kairos, Barcelona, España. 110 pp.
- 95) Salama, A.M.; Ibrahim, H.M.M.; Abd-El Maksoud, H.S.; Boghdady, M.S. (2016). Genetic identification and taxonomic studies on six species of *Pelargonium* in Egypt. *Asian Journal of Plant Science and Research* 6(3): 55-70.
- 96) Saraswathi, J.; Venkatesh,K.; baburao, N. ; Hillal, M.H.; rani, A.R. (2011). Phytopharmacological importance of *Pelargonium* species. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(13) , pp 2587-2598, 2011. India.
- 97) Sistema de Información sobre Comercio Exterior SICE, Organización de los Estados Americanos OEA., (2022). Reglamento Técnico Mercosur de Aditivos aromatizantes/saborizantes, EUA. sp
- 98) Solís, R.L.Y. y Andrade, T.A. 2005. ¿Qué son los marcadores moleculares?. Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana. Volumen XVIII Número 1. Abril 2005. Veracruz, México. 1- 4 p.

- 99) Srinivasa, I.V. (2011) Production Technology of spices, aromatic, medicinal and plantation crops. Hort 282 Geranium. Acharya N.G. Ranga Agricultural University India. 115 p
- 100) Strlic, M. (2017). The Genus *Pelargonium* L., *Pelargonium* Notes. UK. s. p.
- 101) Sukhumpinij, P.; Kakihara, F. and Kato, M. (2010). In vitro regeneration from mature leaf explants of *Pelargonium rapaceum* (L.) L'Hérit. *Scientia Horticulturae* 126 (3) : 385-389. Países Bajos.
- 102) Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.
- 103) Tamai, T.; Tokumasu, S.; Shinohara, K. (1958). Studies on the breeding of *Pelargonium* species used for the essential oil production.1.: Artificially induced tetraploid plant in *Pelargonium roseum*. *Japanese Journal of Breeding* Volume 7 Issue 3 131-140 p.
- 104) Tembe, R.P.; Deodhar, M.A. (2010). Chemical and molecular fingerprinting of different cultivars of *Pelargonium graveolens* (L'herit.) viz., Reunion, Bourbon and Egyptian. *Biotechnology* 9 (4) : 485-491, 2010. India.
- 105) TGSC Information System (2021). Fragrance and Flavor Demo formulas. EUA.
- 106) Tiwari, R.L., Jadhgar, S.K. y Gupta, S. (2012). Modified CTAB Technique for Isolation of DNA from some Medicinal Plants. *Research Journal of Medicinal Plant* 6(1): 65-73. India.
- 107) Transparency Market Research. (2017) Geranium Oil Market.1-4 pp
- 108) Umaña, G. (2009). Estudio de mercado de especias y hierbas aromáticas para exportación en El Salvador. 46 pp.
- 109) Universidad de la República (2017). Laboratorio de Sistemática de Plantas Vasculares, Familia Geraniaceae, Depto. de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Uruguay. s.p.

- 110) Universidad de Salamanca. (2020). Programa de control de calidad de ácidos nucleicos, Banco Nacional de ADN Carlos III, Universidad de Salamanca, España. 10 p .
- 111) Universidad de Vigo. (2022). Atlas de Histología Vegetal y Animal, Facultad de Biología, Universidad de Vigo, España. sp .
- 112) Universidad Pública de Navarra (2019). Herbario – Departamento de Ciencias. Flora Arvense de Navarra, Familia Geraniaceae. s.p.
- 113) USDA, ARS, National Genetic Resources Program 2009. Taxon: *Pelargonium graveolens* L´Hér 1-3 pp.
- 114) Van de Kerle, S.J., Shrestha, B., Ruhlman, T.A.; Weng, M.L., Jansen, R.K.; Jones, C.S., Schlichting. C.D.; Hosseini, S., Mohammadin, S., Schranz, M.E.; Bakker, F.T. (2019). Plastome based phylogenetics and younger crown node age in *Pelargonium* . Molecular Phylogenetics and Evolution 137 (2019) 33-43.
- 115) Vera, M. ; Jiménez, P. ; Franco-Lara , L. (2012). Uso de herramientas bioinformáticas en la evaluación de secuencias "DNA Barcode" para la identificación a nivel de especie. Revista Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Volumen 8, Número 2 páginas 196-209. Universidad Militar Nueva Granada, Colombia.
- 116) Verma, R.S.; et al. (2013). Essential oil composition of *Pelargonium graveolens* L´Her ex Ait. Cultivars harvested in different seasons. Journal of essential Oil Research. 25(5) : 372-379. Inglaterra.
- 117) Weng, M.L.; Rumlman, T.A.; Gibby, M.; Jansen, R.K. (2012). Phylogeny, rate variation, and genome size evolution of *Pelargonium* (Geraniaceae). USA. Molecular Phylogenetics and Evolution 64 (2012) 654-670 pp.
- 118) Zeng, J., et al (2002). Preparation of total DNA from "Recalcitrant plant Taxa" Acta Botanica 44(6) : 694-697.
- 119) Zúniga, C.J.E. (2018). Manual de procedimientos y uso del microscopio electrónico de barrido. Universidad de El Salvador (UES), Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD). Laboratorio de Microscopía electrónica. El Salvador. s.p.

## **9.0. ANEXOS.**

**Tabla 8.** Información Climatológica mensual obtenida en Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador, estación climática Los Andes, Ctón. Palo de Campana, Sta.Ana, año 2015.

Año	Mes	índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa %
2015	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	0	13.5	17.8	10.6	88
2015	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	28	14.4	19.9	10.8	82
2015	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	13.8	16.3	21.8	12.2	80
2015	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	80.1	18.2	24.2	14.3	81
2015	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	221.8	18.1	24.1	14	81
2015	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	224.1	17.8	22.6	14.3	87
2015	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	264.1	18.2	23.3	14	82
2015	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	307.5	19.1	24.2	14.3	80
2015	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	340.1	18.3	22.6	14.3	86
2015	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	501.6	18	21.2	14.4	91
2015	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	138.7	17.5	20.4	13.5	92
2015	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	1.4	16.8	20.7	13.3	88

**Tabla 9.** Información Climatológica mensual obtenida Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales de El Salvador MARN, Estación climática Los Andes, Ctón. Palo de Campana, Santa Ana. Año 2016.

Año	Mes	Índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa %
2016	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	0	15.2	19.6	11.4	84
2016	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	0	14.5	19.9	10	84
2016	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	18.7	18.4	23.9	14.5	80
2016	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	37.9	19.1	24.7	14.8	78
2016	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	108.7	19.8	24.7	15.3	83
2016	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	445.1	18.1	22.7	13.9	90
2016	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	508.7	18.1	23.3	14	84
2016	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	182.1	18.3	22.6	14.2	87
2016	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	442.1	17.5	22.2	13.6	88
2016	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	62.8	17	21	13.3	89
2016	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	56.8	15.6	19.5	12.2	86
2016	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	47.2	15.7	19.7	12.2	87



**Tabla 10.** Información Climatológica mensual obtenida en Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador, Estación climática Los Andes, Ctón Palo de Campana, Sta. Ana. Año 2017.

Año	Mes	índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa %
2017	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	0	15.1	19.7	10.3	78
2017	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	5	16.8	21.9	11.8	78
2017	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	51.8	16.5	22.2	11.7	76
2017	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	6.8	18.7	24.4	13.4	70
2017	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	201.1	18.6	23.2	14.3	86
2017	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	330.4	17.8	21.8	14.4	89
2017	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	405.5	18.2	22.2	14	86
2017	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	409.9	18.2	22.8	14	86
2017	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	368.3	17.9	21.7	14.2	90
2017	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	170.2	16.9	20	13.6	93
2017	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	2.4	15.6	19.1	12	86
2017	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	4.7	14.9	18.8	10.9	87

**Tabla 11.** Información Climatológica mensual obtenida en Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador, Estación climática Los Andes, Ctón Palo de Campana, Sta. Ana. Año 2018.

Año	Mes	índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa %
2018	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	15.6	13.4	18	9.8	84
2018	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	8	15.9	21.8	11.5	75
2018	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	17	18	23.4	12.3	73
2018	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	148.6	18	22.8	13.1	79
2018	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	394.8	18.5	22.7	13.8	84
2018	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	380.4	18.3	21.9	13.8	85
2018	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	231.4	18.4	23.1	13.5	83
2018	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	429.9	18.2	22.8	13.4	84
2018	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	434.2	18	22	13.3	87
2018	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	291.6	17	19.7	13.3	91
2018	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	121.7	16.7	20.7	12.5	87
2018	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	6.1	15	18.4	10.6	84

**Tabla 12.** Información Climatológica mensual obtenida en Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador, Estación climática Los Andes, Ctón Palo de Campana, Sta.Ana. Año 2019.

Año	Mes	índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa %
2019	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	1.0	14.7	19.3	10.5	82
2019	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	10.1	16.5	21.6	11.9	78
2019	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	1	16.5	22.8	11.9	78
2019	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	88.8	18.3	24.3	13.7	77
2019	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	217.7	18.3	22.9	14.4	87
2019	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	154.5	18.1	21.5	13.6	86
2019	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	392.9	18.6	24.1	13.7	79
2019	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	289.1	18.7	23.9	14.2	82
2019	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	294.7	18.3	23	14	87
2019	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	35	16.2	20.1	12.6	90
2019	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	20.2	15.9	19,9	12.1	88
2019	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	5.4	15.7	19.8	11.5	85

**Tabla 13.** Información Climatológica mensual obtenida en Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador, Estación climática Los Andes, Ctón. Palo de Campana, Sta. Ana. Año 2020.

Año	Mes	índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa %
2020	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	0.7	15.7	20.1	11.7	84
2020	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	3.1	16.6	22.2	11.6	79
2020	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	39.3	17.9	24.2	12.4	76
2020	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	3	19.7	26.1	14.5	74
2020	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	556.6	18.9	24.1	14.4	82
2020	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	478	18.2	22.7	14.2	86
2020	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	238.3	18.4	23	13.9	87
2020	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	490.6	18.4	22.9	13.9	84
2020	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	367.8	18.1	22.3	14	88
2020	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	212.5	17.3	20.9	13.6	90
2020	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	297	16.2	18.9	13	92
2020	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	14.6	15.4	19.4	12.1	86

**Tabla 14.** Información Climatológica mensual obtenida en Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN de El Salvador, Estación climática Los Andes, Cantón Palo de Campana, Sta. Ana. Año 2021.

Año	Mes	índice	Estación	Latitud	Longitud	msnm	Lluvia	Temperatura Media	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad relativa %
2021	1	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	2.4	15.6	19.7	11.4	78
2021	2	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	1.1	15.9	21.4	11.2	74
2021	3	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	19.5	16.7	22.7	11.9	71
2021	4	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	56.8	18	23.5	13.1	73
2021	5	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	312.1	18.4	23.5	13.9	79
2021	6	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	445.9	18.3	23	13.5	84
2021	7	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	346	18.4	23.1	13.8	83
v2021	8	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	315.3	18.4	21.4	12.9	84
2021	9	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	490.1	18.0	22.4	13.7	86
2021	10	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	236.5	17.8	21.7	14.0	87
2021	11	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	0,0	15.3	19.1	11.7	85
2021	12	A-18	Finca Los Andes	- 89.6283	13.8748	1752	6.0	15.7	19.9	11.5	83

**INFORME DE ANÁLISIS DE SUELOS**

MUESTRA 220504800-01

Pag 1/1

Muestra : SUELO AF  
Solicitante : FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Responsable: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Dirección : RES.LOS CIPRESES, POL. C4, PT.9 PTE. #27  
Teléfono : 7180-1544 Fax : Correo Electronico:  
Cultivo : GERANIO

**FECHAS**

Recibido : 31/05/2022  
Análisis : 31/05/2022  
Reporte : 20/06/2022

Textura	pH	MO %	Fósforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Hierro ppm
FCA	5.8	9.10 A	12 B	393 A	820 M	125 A		2.7 B	37.7 O
<b>RANGO</b>		3 - 5	13 - 20	80 - 156	500 - 1000	54 - 120	20 - 80	3 - 20	20 - 80

Manganeso ppm	Zinc ppm	Boro ppm	Aluminio ppm	Sodio ppm	CICE Meq/100 cc
9.3 B	4.6 B	0.0	72 O	0.0	7 M
10 - 100	6 - 36	0.5 - 2	0 - 90	0 - 230	5 - 25

Relaciones en Meq/100 cc				NUTRIENTES	DISPONIBLE Kg/ha	REQUERIMIENTOS Kg/ha	APLICAR Kg/ha - lb/ra	
Ca / Mg	Ca / K	Ca + Mg / K	Mg / K					
4.0 C	4.1 D	5.1 D	1.0 D	N	0	- 0	****	****
2 - 5	5 - 25	10 - 40	1.5 - 15	P2O5	1.8	- 0	****	****
				K2O	1,212.2	- 0	****	****

Aprovechamiento de Fertilizantes: N = 68.12 % P = 42.34 %  
Moderadamente ácido K = 67.87 %

**OBSERVACIONES**

  
Lic. Mirena López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



Abreviaturas: B: Bajo M: Medio A: Alto E: Excesivo D: Desbalance O: Optimo C: Aceptable N.D.: No detectado  
Texturas: F: Franco A: Arena C: Arcilla L: Limo

\*\*Laboratorio de ensayo acreditado por el OSA con registro N° LEA-01:99 para el alcance detallado en [www.osa.gob.sv](http://www.osa.gob.sv). Se asegura a nuestros clientes el manejo confidencial de toda la información proporcionada y producida por el Laboratorio, excepto, cuando los resultados se envíen por correo electrónico o fax.

Nota: Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.

Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.

No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

--- FIN DEL DOCUMENTO ---

FSC 36 01 V 9 21/04/2020

Urbanización y Bulevar Santa Elena, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador, C.A.  
E-mail: [laboratorio@fusades.org](mailto:laboratorio@fusades.org) - Tel.: (503) 2248 5681 • [www.fusades.org](http://www.fusades.org)

**Tabla 15.** Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a Muestra parcela A, año 2022.

**UNIDAD DE MEDIO AMBIENTE  
INFORME DE ANÁLISIS EN FERTILIZANTES**

**DATOS GENERALES**

Muestra: SUELO AF  
Solicitante: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Responsable: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Dirección: RES. LOS CIPRESES, POL. C4, PJS PTE. #27  
Teléfono: 7180-1544 Fax: Correo Electronico:

MUESTRA 220504800-0  
Página: 1/2

**CARACTERÍSTICAS**

**FECHAS**

Recibido :	31/05/2022
Análisis :	31/05/2022
Reporte :	20/06/2022

**ANÁLISIS**

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	UNIDADES	METODO	REFERENCIA
J015 Humedad	29.20	%	Gravimetría	AOAC. Cap.2.960.01.2005

**OBSERVACIONES**

  
Lic. Morenó López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



\*\*Laboratorio de ensayo acreditado por el OSA con registro N° LEA-01:99 para el alcance detallado en [www.osa.gob.sv](http://www.osa.gob.sv). Se asegura a nuestros clientes el manejo confidencial de toda la información proporcionada y producida por el Laboratorio, excepto, cuando los resultados se envíen por correo electrónico o fax.

Nota Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.

Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.

No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

— FIN DEL DOCUMENTO —

PSC 36.01 V 9 21/04/2020

Urbanización y Bulevar Santa Elena, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador, C.A.  
E-mail: [laboratorio@fusades.org](mailto:laboratorio@fusades.org) - Tel.: (503) 2248 5681 • [www.fusades.org](http://www.fusades.org)

**Tabla 16.** Informe de resultados análisis detección porcentaje de humedad presente en suelo, realizado en laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela A, año 2022.

Muestra : SUELO BF  
Solicitante : FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Responsable: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Dirección : RES. LOS CIPRESES, POL. C4, PI.9 PTE. #27  
Teléfono : 7180-1544 Fax : Carreo Electronico:  
Cultivo : GERANIO

FECHAS	
Recibido :	31/05/2022
Análisis :	31/05/2022
Reporte :	20/06/2022

Textura	pH	MO %	Fósforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Hierro ppm
FCA	5.7	5.49 A	23 A	416 A	995 M	115 M		2 B	23.5 O
RANGO		3 - 5	13 - 20	80 - 156	500 - 1000	54 - 120	20 - 80	3 - 20	20 - 80

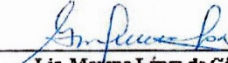
Manganeso ppm	Zinc ppm	Boro ppm	Aluminio ppm	Sodio ppm	CICE Meq/100 cc
9.7 B	14.1 O	0.0	72 O	0.0	8 M
10 - 100	6 - 36	0.5 - 2	0 - 90	0 - 230	5 - 25

Relaciones en Meq/100 cc			
Ca / Mg	Ca / K	Ca + Mg / K	Mg / K
5.2 E	4.7 D	5.6 D	0.9 D
2 - 5	5 - 25	10 - 40	1.5 - 15

NUTRIENTES	DISPONIBLE Kg/ha	REQUERIMIENTOS Kg/ha	APLICAR Kg/ha - lbt/mz	
N	0	- 0	****	****
P2O5	82.4	- 0	****	****
K2O	1,303.8	- 0	****	****

Aprovechamiento de Fertilizantes: N = 66.91 % P = 41.54 %  
Moderadamente ácido K = 66.58 %

**OBSERVACIONES**

  
Lic. Mirena López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



Abreviaturas: B: Bajo M: Medio A: Alto E: Excesivo D: Desbalance O: Optimo C: Aceptable N.D.: No detecta.  
Texturas: F: Franco A: Arena C: Arrilla I: Limo

\*\*Laboratorio de ensayo acreditado por el OSA con registro N° LEA-01:99 para el alcance detallado en [www.osa.gob.sv](http://www.osa.gob.sv). Se asegura a nuestros clientes el manejo confidencial de toda la información proporcionada y producida por el Laboratorio, excepto, cuando los resultados se envíen por correo electrónico o fax.

Nota: Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.

Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.

No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

--- FIN DEL DOCUMENTO ---

FSC 36.01 V.9 21/04/2020

**Tabla 17.** Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a Muestra parcela B, año 2022.



**UNIDAD DE MEDIO AMBIENTE**  
**INFORME DE ANÁLISIS EN FERTILIZANTES**

**DATOS GENERALES**

Muestra: SUELO BF  
Solicitante: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Responsable: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Dirección: RES. LOS CIPRESES, POL. C4, P. 9 PTE. #27  
Teléfono: 7180-1544 Fax: Correo Electronico:

MUESTRA 220504801-0  
Página: 2/2

**FECHAS**

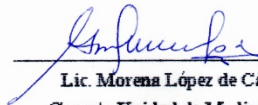
Recibido : 31/05/2022  
Análisis : 31/05/2022  
Reporte : 20/06/2022

**CARACTERÍSTICAS**

**ANÁLISIS**

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	UNIDADES	METODO	REFERENCIA
J015 Humedad	32.73	%	Gravimetría	AQAC. Cap. 2.980.01.2005

**OBSERVACIONES**

  
Lic. Morena López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



\*\*Laboratorio de ensayo acreditado por el OSA con registro N° LEA-01:99 para el alcance detallado en [www.osa.gob.sv](http://www.osa.gob.sv). Se asegura a nuestros clientes el manejo confidencial de toda la información proporcionada y producida por el Laboratorio, excepto, cuando los resultados se envíen por correo electrónico o fax.

Nota Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.

Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.

No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

--- FIN DEL DOCUMENTO ---

FSC 36.01 V.9 21/04/2020

Urbanización y Bulevar Santa Elena, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador, C.A.  
E-mail: [laboratorio@fusades.org](mailto:laboratorio@fusades.org) - Tel.: (503) 2248 5681 • [www.fusades.org](http://www.fusades.org)

**Tabla 18.** Informe de resultados análisis detección porcentaje de humedad presente en suelo, realizado en laboratorio de FUSADES, El Salvador a muestra parcela B, año 2022.

Muestra : SUELO #1  
Solicitante : FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Responsable: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Dirección : RES. LOS CIPRESES, POL. C4, PI.9 PTE. #27  
Teléfono : 7180-1544 Fax : Correo Electronico:  
Cultivo : GERANIO

FECHAS  
Recibido : 23/07/2019  
Análisis : 23/07/2019  
Reporte : 15/08/2019

Textura	pH	MO %	Fósforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Hierro ppm
CA	5.6	7.48 A	11 B	100 M	870 M	100 M	56.6 M	2.2 B	21.6 O
RANGO		3 - 5	13 - 20	80 - 156	500 - 1000	54 - 120	20 - 80	3 - 20	20 - 80

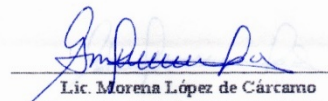
Manganeso ppm	Zinc ppm	Boro ppm	Aluminio ppm	Sodio ppm	CICE Meq/100 cc
25.8 O	7.0 O	0.6 O	54 O	170.6 O	6 M
10 - 100	6 - 36	0.5 - 2	0 - 90	0 - 230	5 - 25

Relaciones en Meq/100 cc			
Ca / Mg	Ca / K	Ca + Mg / K	Mg / K
5.3 E	17.0 C	20.2 C	3.2 C
2 - 5	5 - 25	10 - 40	1.5 - 15

NUTRIENTES	DISPONIBLE Kg/ha	REQUERIMIENTOS Kg/ha	APLICAR Kg/ha - lb/mz	
N	0	- 0	++++	++++
P2O5	-3.1	- 0	++++	++++
K2O	68.9	- 0	++++	++++

Aprovechamiento de Fertilizantes: N = 62.09 % P = 39.12 %  
Moderadamente ácido K = 62.26 %

OBSERVACIONES

  
Lic. Morena López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



Abreviaturas: E: Bajo M: Medio A: Alto E: Excesivo D: Desbalance O: Optimo C: Aceptable N.D.: No detecta  
Texturas: F: Franco A: Arena C: Arcilla L: Limo

\*\*Laboratorio de ensayo acreditado por el OSA con registro N° LEA-01:99 para el alcance detallado en [www.osa.gob.sv](http://www.osa.gob.sv). Se asegura a nuestros clientes el manejo confidencial de toda la información proporcionada y producida por el Laboratorio, excepto, cuando los resultados se envíen por correo electrónico o fax.

Nota: Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.  
Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.  
No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

FSC 36.01 V.8 30/04/2019

**Tabla 19.** Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a Muestra parcela A (#1), año 2019.

Muestra : SUELO #2  
Solicitante : FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Responsable: FELIPE ALFREDO CERON MARTI  
Dirección : RES. LOS CIPRESSES, POL. C4, PI. 9 PTE. #27  
Teléfono : 7180-1544 Fax : Carreo Electronico:  
Cultivo : GERANIO

FECHAS	
Recibido :	23/07/2019
Análisis :	23/07/2019
Reporte :	15/08/2019

Textura	pH	MO %	Fósforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Hierro ppm
CA	5.6	9.48 A	5 B	68 B	1115 A	135 A	53.3 M	1.2 B	14.4 B
RANGO		3 - 5	13 - 20	80 - 156	500 - 1000	54 - 120	20 - 80	3 - 20	20 - 80

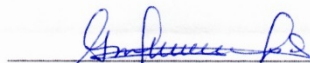
Manganeso ppm	Zinc ppm	Boro ppm	Aluminio ppm	Sodio ppm	CICE Meq/100 cc
26.0 O	4.3 B	0.9 O	45 O	183.8 O	7 M
10 - 100	6 - 36	0.5 - 2	0 - 90	0 - 230	5 - 25

Relaciones en Meq/100 cc			
Ca / Mg	Ca / K	Ca + Mg / K	Mg / K
5.0 E	31.9 E	38.3 C	6.4 C
2 - 5	5 - 25	10 - 40	1.5 - 15

NUTRIENTES	DISPONIBLE Kg/ha	REQUERIMIENTOS Kg/ha	APLICAR Kg/ha	
N	0	- 0	****	****
P2O5	-40.1	- 0	****	****
K2O	-30.9	- 0	****	****

Aprovechamiento de Fertilizantes: N = 68.44 % P = 42.44 %  
Moderadamente ácido K = 68.14 %

OBSERVACIONES

  
Lic. Morena López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



Abreviaturas: B: Bajo M: Medio A: Alto E: Excesivo D: Desbalance O: Optimo C: Aceptable N.D.: No detecta  
Texturas: F: Franco A: Arena C: Arcilla L: Limo

\*\*Laboratorio de ensayo acreditado por el OSA con registro N° LEA-01:99 para el alcance detallado en www.osa.gob.sv. Se asegura a nuestros clientes el manejo confidencial de toda la información proporcionada y producida por el Laboratorio, excepto, cuando los resultados se envíen por correo electrónico o fax.

Nota: Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.

Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.

No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

FSC 36.01 V.8 30/04/2019

Urbanización y Bulevar Santa Elena, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador, C.A.  
E-mail: laboratorio@fusades.org - Tel.: (503) 2248 5681 • www.fusades.org

**Tabla 20.** Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a Muestra parcela B (#2), año 2019.

**UNIDAD DE MEDIO AMBIENTE**  
**INFORME DE ANÁLISIS DE SUELOS**

MUESTRA 170909196-01

Pag. 1/1

Muestra : SUELO "A"  
Solicitante : NOBS HIDRODIFUSION, S.A. DE C.V.  
Responsable: FELIPE CERÓN (71801544)  
Dirección : AV. LA REVOLUCION, LOCAL 1-4 COL. SAN BENITO EDIF. NOLJER,  
Teléfono : 2243-6145 Fax : Correo Electronico: nobshidrodifusion@jfm  
Cultivo : GERANIO

**FECHAS**  
Recibido : 12/09/2017  
Análisis : 12/09/2017  
Reporte : 02/10/2017

Textura	pH	MO %	Fósforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Hierro ppm
FCA	6.0	5.75 A	7 B	114 M	1115 A	110 M		2.1 B	47.4 O
RANGO		3 - 5	13 - 20	80 - 156	500 - 1000	54 - 120	20 - 80	3 - 20	20 - 80

Manganeso ppm	Zinc ppm	Boro ppm	Aluminio ppm	Sodio ppm	CTCE Meq/100 cc
9.5 B	3.0 B	0.0	90 O	0.0	8 M
10 - 100	6 - 36	0.5 - 2	0 - 90	0 - 230	5 - 25

Relaciones en Meq/100 cc			
Ca / Mg	Ca / K	Ca + Mg / K	Mg / K
6.1 E	19.0 C	22.1 C	3.1 C
2 - 5	5 - 25	10 - 40	1.5 - 15

NUTRIENTES	DISPONIBLE Kg/ha	REQUERIMIENTOS Kg/ha	APLICAR Kg/ha - t/ha	
N	0	- 0	****	****
P2O5	-39.7	- 0	****	****
K2O	140.2	- 0	****	****

Aprovechamiento de Fertilizantes: N = 74.75 % P = 43.43 %  
Moderadamente ácido K = 83.41 %

**OBSERVACIONES**

  
Lic. Mariana López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



Abreviaturas: B: Bajo M: Medio A: Alto E: Excesivo D: Desbalance O: Optimo C: Aceptable N.D.: No detecta  
Texturas: F: Franco A: Arena C: Arcilla L: Limo

Nota: Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente  
El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.  
Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.  
No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

FSC 36.01 V.7 25/02/2015

Urbanización y Bulevar Santa Elena, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador, C.A.  
E-mail: laboratorio@fusades.org - Tel.: (503) 2248 5681 • www.fusades.org

**Tabla 21.** Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a Muestra parcela A, año 2017.

**UNIDAD DE MEDIO AMBIENTE**  
**INFORME DE ANÁLISIS DE SUELOS**

MUESTRA 170909197-01

Pag 1/1

Muestra : SUELO "B"  
Solicitante : NOBS HIDRODIFUSION,S.A. DE C.V.  
Responsable: FELIPE CERÓN (71801544)  
Dirección : AV.LA REVOLUCION,LOCAL 1-4 COL.SAN BENITO EDIF.NOLJER,  
Teléfono : 2243-6145 Fax : Correo Electronico: nobshidrodifusion@jfm  
Cultivo : GERANIO

FECHAS	
Recibido :	12/09/2017
Análisis :	12/09/2017
Reporte :	02/10/2017

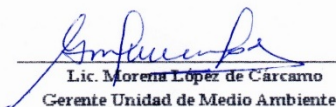
Textura	pH	MO %	Fósforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Hierro ppm
FCA	6.1	5.05 A	7 B	143 M	660 M	95 M		2.5 B	48.4 O
RANGO		3 - 5	13 - 20	80 - 156	500 - 1000	54 - 120	20 - 80	3 - 20	20 - 80

Manganeso ppm	Zinc ppm	Boro ppm	Aluminio ppm	Sodio ppm	CICE Meq/100 cc
6.0 B	1.4 B	0.0	90 O	0.0	5 M
10 - 100	6 - 36	0.5 - 2	0 - 90	0 - 230	5 - 25

Relaciones en Meq/100 cc				NUTRIENTES	DISPONIBLE Kg/ha	REQUERIMIENTOS Kg/ha	APLICAR Kg/ha - lb/mz	
Ca / Mg	Ca / K	Ca + Mg / K	Mg / K					
4.2 C	9.0 C	11.2 C	2.1 C	N	0	- 0	****	****
2 - 5	5 - 25	10 - 40	1.5 - 15	P2O5	-34.1	- 0	****	****
				K2O	248.6	- 0	****	****

Aprovechamiento de Fertilizantes: N = 75.55 % P = 44.01 %  
Moderadamente ácido K = 83.4 %

**OBSERVACIONES**

  
Lic. Morena López de Cárcamo  
Gerente Unidad de Medio Ambiente



Abreviaturas: B: Bajo M: Medio A: Alto E: Excesivo D: Desbalance O: Optimo C: Aceptable N.D.: No detecta  
Texturas: F: Franco A: Arena C: Arcilla L: Limo

Nota: Esta muestra fue tomada o remitida por: Cliente

El informe no debe ser reproducido parcialmente sin la aprobación escrita del Laboratorio.  
Los resultados corresponden solamente a la muestra analizada en el Laboratorio.  
No se recibirán quejas después de 45 días del ingreso de la muestra.

FSC 36.01 V.7 25/02/2015

Urbanización y Bulevar Santa Elena, Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador, C.A.  
E-mail: laboratorio@fusades.org - Tel.: (503) 2248 5681 • www.fusades.org

**Tabla 22.** Informe de resultados análisis químico de suelos, realizado en Laboratorio de FUSADES, El Salvador a Muestra parcela B, año 2017.

**Tabla 23.** Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de geranio Muestra A1 con todos los componentes en I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 21/10/2021.

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>PORCENTAJE (área / área)</b>
Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,7,7-trimetil-	10.49	0.37
1R-.alfa.-Pineno	11.06	0.20
Camfeno	11.74	0.04
5-Hepten-2-ona, 6-metil-	13.73	0.04
.beta.-Mirceno	13.90	0.16
.alfa.-Felandreno	14.48	0.03
Limoneno	15.70	0.10
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (E)-	16.24	0.14
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	16.75	0.07
cis-Linalolóxido	17.96	0.38
Linalool óxido trans	18.73	0.22
<i>No identificado</i>	19.18	0.02
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	19.50	3.57
<i>No identificado</i>	19.65	0.15
2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-	19.90	0.75
trans-Rosa óxido	20.66	0.33
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-	21.91	0.25
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, cis-	22.58	5.31

<b>Ciclohexanol, 5-metil-2-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,2.alfa.,5.beta.)]-</b>	<b>23.32</b>	<b>0.12</b>
<i>No identificado</i>	23.47	0.02
<b>3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,alfa.4-trimetil-</b>	<b>23.70</b>	<b>0.24</b>
<i>No identificado</i>	23.92	0.07
<i>No identificado</i>	24.46	0.02
<b>1,5-Hexadieno, 2,5-dimetil-3-metileno-</b>	<b>24.62</b>	<b>0.03</b>
<i>No identificado</i>	24.81	0.02
<b>.beta.-Pino</b>	<b>24.89</b>	<b>0.02</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-</b>	<b>26.17</b>	<b>25.85</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-</b>	<b>26.25</b>	<b>0.58</b>
<b>2-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-</b>	<b>26.64</b>	<b>0.02</b>
<b>2-Ciclohexen-1-ona, 3-metil-6-(1-metiletil)-</b>	<b>26.83</b>	<b>0.79</b>
<b>2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-</b>	<b>27.49</b>	<b>18.15</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato</b>	<b>28.00</b>	<b>10.59</b>
<b>Biciclo[4.1.0]hept-3-eno, 3,7,7-trimetil-, (1S)-</b>	<b>28.10</b>	<b>0.10</b>
<b>2,6-Dimetil-1,3,5,7-octatetraeno, E,E-</b>	<b>28.59</b>	<b>0.04</b>
<b>Propanoico ácido, 2-metil-, 3,7-dimetil-2,6-octadienil éster, (E)-</b>	<b>29.09</b>	<b>4.80</b>
<b>.alfa.-Cubebeno</b>	<b>30.91</b>	<b>0.05</b>
<b>2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-</b>	<b>31.11</b>	<b>0.37</b>
<b>Copaeno</b>	<b>32.03</b>	<b>0.27</b>
<b>Ciclobuta[1,2:3,4]d ciclopenteno, decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-</b>	32.44	1.65
<i>No identificado</i>	32.63	0.02

Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,2.beta.,4.beta.)]-	32.73	0.21
Cariofileno	33.84	0.27
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	34.24	0.11
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,4.alfa.,7.alfa.)]-	34.65	0.29
(+)-Cicloisosativeno	34.89	2.10
Ilangeno	34.95	2.18
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	35.10	0.28
.alfa.-Cariofileno	35.27	0.11
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	35.55	0.15
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,propanoato, (Z)-	36.20	2.19
(+)-Epi-biciclosesquifelandreno	36.44	1.50
Aristoleno	36.60	0.14
<i>No identificado</i>	36.68	0.11
.gamma.-Elemeno	36.99	0.21
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	37.13	0.15
3-Careno	37.66	0.29
Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-,(1S-cis)-	38.07	0.65
Butanoico ácido, 3,7-dimetil-6-octenil éster	38.23	0.54
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletilideno)-, (1S-cis)-	38.70	0.10



.alfa.-Calacoreno	38.77	0.09
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,acetato	39.38	1.10
1H-Cicloprop[e]azulen-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-,[1ar-(1a.alfa.,4a.alfa.,7.beta.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	39.90	0.42
Cariofilleno óxido	40.03	0.18
2-Butenoico ácido, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	40.18	2.42
<i>No identificado</i>	40.22	0.62
Azuleno, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1R-(1.alfa.,3a.beta.,4.alfa.,7.beta.)]-,7.beta.)]-	40.33	0.17
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,acetato, (E)-	40.51	0.20
Naftaleno, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,8a-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,7.alfa.,8a.alfa.)]-	40.58	0.14
cis-Z-.alfa.-Bisaboleno epóxido	40.71	0.10
<i>No identificado</i>	40.78	0.13
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	40.86	0.24
Ciclohexano, 1-metil-3-(1-metiletenil)-, cis-	40.94	0.13
<i>No identificado</i>	41.00	0.14
Triciclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-eno, 2,6,6,9-tetrametil-	41.15	0.25
<i>No identificado</i>	41.23	0.06
<i>No identificado</i>	41.37	0.09
Isoledeno	41.46	0.39
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-	41.55	0.22
cis-.alfa.-Bisaboleno	41.63	0.10
.alfa.-Cadinol	41.71	0.62

<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, acetato</b>	<b>41.90</b>	<b>0.46</b>
<b>Naftaleno, 1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-</b>	<b>42.06</b>	<b>0.10</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, propanoato</b>	<b>42.23</b>	<b>0.22</b>
<i>No identificado</i>	42.34	0.12
<i>No identificado</i>	42.45	0.05
<b>Geranil tiglato</b>	<b>42.62</b>	<b>3.00</b>
<i>No identificado</i>	42.76	0.08
<b>Butanoico ácido, 3,7-dimetil-2,6-octadienil éster, (E)-</b>	<b>42.84</b>	<b>0.31</b>
<b>Biciclo[2.2.1]heptano, 7,7-dimetil-2-metileno-</b>	<b>42.93</b>	<b>0.08</b>
<b>Azuleno, 1,4-dimetil-7-(1-metiletil)-</b>	<b>43.84</b>	<b>0.04</b>
<b>1,5-Dimetil-1-vinil-4-hexenil butirato</b>	<b>44.79</b>	<b>0.14</b>
<b>Isoaromadendreno epóxido</b>	<b>45.00</b>	<b>0.02</b>
<b>Oxirano, 2-decil-3-(5-metilhexil)-, cis-</b>	<b>45.12</b>	<b>0.04</b>
<b>Ciclohexeno, 1-metil-5-(1-metiletenil)-, (R)-</b>	<b>45.98</b>	<b>0.04</b>
<b>TOTAL ÁREA IDENTIFICADA</b>		<b>98.30</b>
<b>TOTAL ÁREA CUANTIFICADA</b>		<b>100.00</b>

**Tabla 24.** Cuadro con resultados análisis Perfil fitoquímico aceite esencial de geranio Muestra A1r con principales componentes. Realizado en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>PORCENTAJE (área / área)</b>
Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,7,7-trimetil-	10.76	0.40
1R-.alfa.-Pinenol	11.33	0.21
Linalool óxido trans	18.24	0.38
.alfa.-Metil-.alfa.-[4-metil-3-pentenil]oxirano metanol	19.03	0.23
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	19.62	3.66
trans-Rosa óxido	20.14	0.78
2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-	20.94	0.36
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-	22.20	0.27
<i>No Identificado</i>	22.54	0.05
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, trans-	22.70	5.58
<i>No Identificado</i>	22.86	0.04
3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,.alfa.4-trimetil-	23.98	0.22
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	25.88	27.26
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-	26.36	0.77
2-Ciclohexen-1-ona, 3-metil-6-(1-metiletil)-	26.86	0.08
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	27.07	19.50
<i>No Identificado</i>	27.19	0.37
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)	27.71	1.23

6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato	27.95	10.09
Geranil bromuro	29.13	4.64
2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-	31.33	0.35
.alfa.-Cubebeno	32.30	0.28
Ciclobuta[1,2:3,4]dicitopenteno,decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	32.65	1.63
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,2.beta.,4.beta.)]-	32.99	0.11
Cariofileno	34.13	0.27
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,4.alfa.,7.alfa.)]-	34.90	0.29
Aristoleno	35.12	4.62
1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,4.alfa.,4a.beta.,7b.alfa.)]-	35.34	0.27
<i>No Identificado</i>	35.54	0.12
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	35.83	0.13
3-Careno	36.38	2.33
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	36.63	1.64
<i>No Identificado</i>	37.22	0.06
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-	37.28	0.11
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,7,7a-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.alfa.,7b.alfa.)]-	37.94	0.30

Naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	38.33	0.66
Citronalil isobutirato	38.49	0.58
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	39.56	1.16
Ácido 2-butenico, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	40.29	1.61
<i>No Identificado</i>	40.35	1.66
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	41.03	0.18
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-	41.33	0.22
<i>No Identificado</i>	41.54	0.06
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-	41.63	0.34
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	41.71	0.07
Naftaleno, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,8a-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1R-(1.alfa.,7.beta.,8a.alfa.)]-	41.88	0.57
Ácido butanoico, 3,7-dimetil-6-octenil éster	42.06	0.44
.beta.-Mirceno	42.72	3.30
<i>No Identificado</i>	42.93	0.11
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,propanoato, (Z)-	42.99	0.31
4-Hexen-1-ol, 5-metil-2-(1-metiletenil)-, acetato	44.94	0.14
<b>TOTAL ÁREA IDENTIFICADA</b>		<b>97.53</b>
<b>TOTAL ÁREA CUANTIFICADA</b>		<b>100.00</b>

**Tabla 25.** Cuadro con nombres químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A1r con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub> Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022

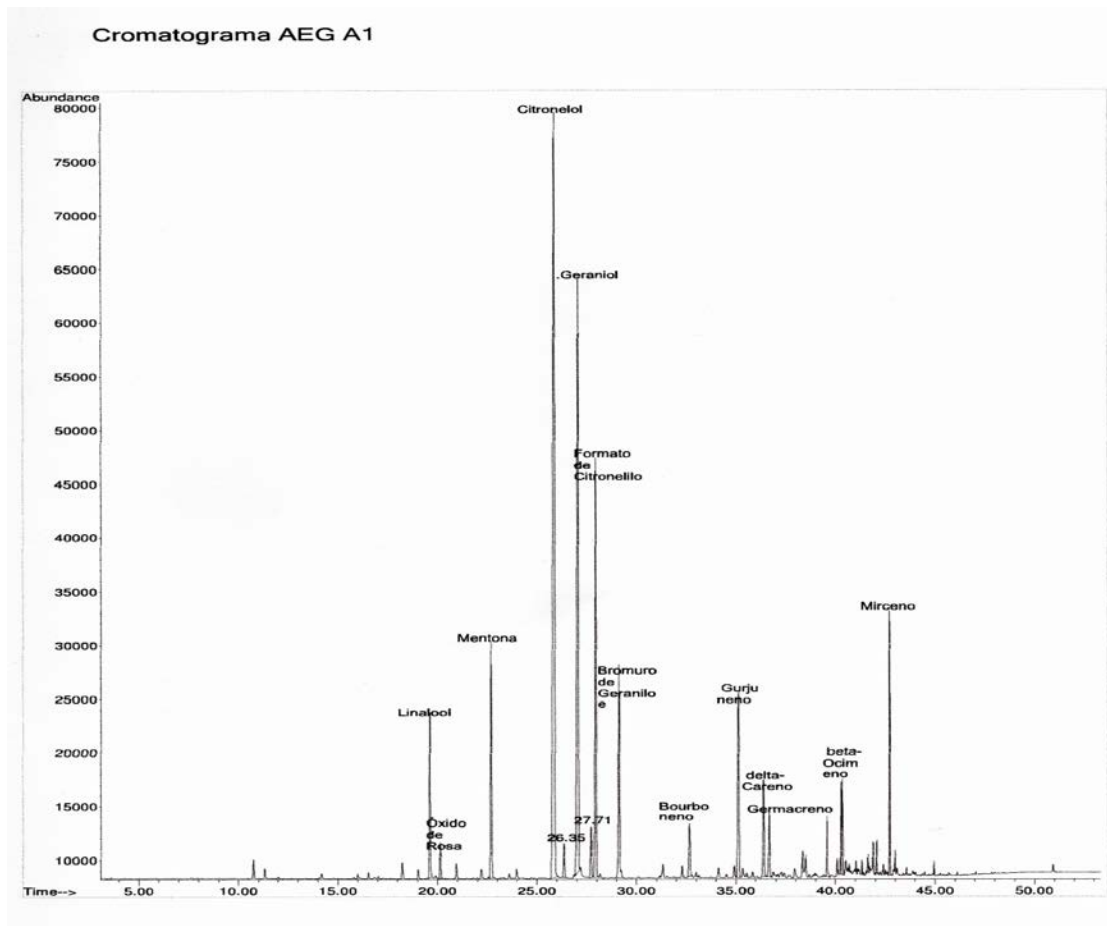
<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>NOMBRE COMÚN</b>	<b>No. CAS</b>
Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,7,7-trimetil-	Triciclono	000508-32-7
1R-.alfa.-Pino	alfa-Pino	007785-70-8
Linalool óxido trans	Linalool óxido trans	023007-29-6
.alfa.-Metil-.alfa.-[4-metil-3-pentenil]oxirano metanol	1,2-Oxolinalol	1000132-13-0
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	Linalool	000078-70-6
trans-Rosa óxido	Óxido de Rosa trans	000876-18-6
2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-	Óxido de Rosa	016409-43-1
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-	p-mentan-3-ona	010458-14-7
<i>No Identificado</i>	NA	NA
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, trans-	Mentona	000089-80-5
<i>No Identificado</i>	NA	NA
3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,.alfa.4-trimetil-	alfa-Terpineol	000098-55-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	beta-Citronelol	001117-61-9
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-	Citral	005392-40-5
2-Ciclohexen-1-ona, 3-metil-6-(1-metiletil)-	Piperitona	000089-81-6
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	Geraniol	000106-25-2
<i>No Identificado</i>	NA	NA
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)	(E)-Citral	000141-27-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato	Formato de citronelilo	000105-85-1
Geraniol bromuro	Bromuro de Geraniol	035719-26-7

2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-	2,6-dimetil-2,6-Octadieno	002792-39-4
.alfa.-Cubebeno	alfa-Cubebeno	017699-14-8
Ciclobuta[1,2:3,4]dicrolopenteno,decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	beta-Bourboneno	005208-59-3
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,2.beta.,4.beta.)]-	beta-Elemeno	000515-13-9
Cariofileno	beta-Cariofileno	000087-44-5
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,4.alfa.,7.alfa.)]-	alfa-Guaieno	003691-12-1
Aristoleno	Aristoleno	1000150-14-9
1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,4.alfa.,4a.beta.,7b.alfa.)]-	alfa-Gurjuneno	000489-40-7
<i>No Identificado</i>	NA	NA
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	Alloaromadendreno	025246-27-9
3-Careno	delta-3-Careno	013466-78-9
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	(E)-Germacreno D	023986-74-5
<i>No Identificado</i>	NA	NA
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-	gama-Elemeno	003242-08-8
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,7,7a-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.alfa.,7b.alfa.)]-	(+)-Calareno	017334-55-3
Naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	Calameneno	000483-77-2
Citronalil isobutirato	Isobutirato de Citronelilo	000097-89-2

1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	(Z)-beta-Ocimeno	003338-55-4
Ácido 2-butenoico, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	NA	1000131-89-9
<i>No Identificado</i>	NA	NA
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	1,4-Cadinadieno	016728-99-7
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-	NA	029837-12-5
<i>No Identificado</i>	NA	NA
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-	(R)-gama-Cadineno	039029-41-9
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	alfa-Amorfenol	000483-75-0
Naftaleno, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,8a-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1R-(1.alfa.,7.beta.,8a.alfa.)]-	Valenceno	004630-07-3
Ácido butanoico, 3,7-dimetil-6-octenil éster	Butirato de Citronelilo	000141-16-2
.beta.-Mirceno	Mirceno	000123-35-3
<i>No Identificado</i>	NA	NA
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,propanoato, (Z)-	Propionato de Nerilo	000105-91-9
4-Hexen-1-ol, 5-metil-2-(1-metiletenil)-, acetato	Acetato de lavandulilo	025905-14-0



**Figura 34.** Cromatograma con resultado de análisis del perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio AEG, muestra A1r con principales elementos, determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 09/02/2022



**Tabla 26.** Cuadro con resultado análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B1 con todos los componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala, 21/10/201

COMPUESTO	t <sub>R</sub> (min)	PORCENTAJE (área / área)
1R-.alfa.-Pino	11.06	0.08
fenol, 2,6-dimetil-	11.16	0.00
Benzaldehído	12.36	0.01
5-Hepten-2-ona, 6-metil-	13.74	0.02
.beta.-Mirceno	13.90	0.14
.alfa.-Felandreno	14.48	0.01
Benceno, 1-metil-2-(1-metiletil)-	15.50	0.02
Limonano	15.70	0.07
Eucaliptol	15.83	0.02
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (E)-	16.24	0.07
Bencenoacetaldehído	16.48	0.04
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	16.75	0.05
cis-Linalool óxido	17.95	0.24
Linalool óxido (fr.1)	18.73	0.14
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	19.51	4.23
2-Ciclopenten-1-ona, 3,5,5-trimetil-	19.64	0.07
2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-	19.89	0.26
trans-Rosa óxido	20.65	0.11
Ciclohexanol, 5-metil-2-(1-metiletenil)-, [1R-(1.alfa.,2.beta.,5.alfa.)]-	21.51	0.02
Fotocitral a	21.71	0.02

Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-	21.91	0.19
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, (2S-trans)-	22.56	4.38
3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,.alfa.4-trimetil-	23.70	0.23
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	26.08	20.51
2-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-	26.23	0.69
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-	26.84	1.17
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	27.49	23.40
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato	27.94	6.70
Biciclo[4.1.0]hept-3-eno, 3,7,7-trimetil-, (1S)-	28.06	0.05
Geraniol bromuro	29.07	4.64
1,5,5-Trimetil-6-metileno-ciclohexeno	30.38	0.07
.alfa.-Cubebeno	30.90	0.06
<i>No Identificado</i>	31.03	0.10
2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-	31.10	0.13
Eugenol	31.30	0.06
3-Alil-6-metoxifenol	31.80	0.21
Ilangeno		
Copaeno	32.03	0.31
Ciclobuta[1,2:3,4]diciclopenteno,decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	32.44	1.69
<i>No Identificado</i>	32.51	0.05
1H-Ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benceno, octahidro-7-metil-3-metileno-4-(1-metiletil)-, [3aS-(3a.alfa.,3b.beta.,4.beta.,7.alfa.,7aS*)]-	32.63	0.03
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-	32.72	0.17

<b>.beta.-Feniletil butirato</b>	<b>32.87</b>	<b>0.08</b>
<b>1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,4.alfa.,4a.beta.,7b.alfa.)]-</b>	<b>33.43</b>	<b>0.04</b>
<b>Cariofileno</b>	<b>33.87</b>	<b>0.76</b>
<b>Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-</b>	<b>34.24</b>	<b>0.12</b>
<b>Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletienil)-, [1S-(1.alfa.,4.alfa.,7.alfa.)]-</b>	<b>34.40</b>	<b>0.03</b>
<b>1,3,6,10-Dodecatetraeno, 3,7,11-trimetil-, (Z,E)-</b>	<b>34.50</b>	<b>0.02</b>
<b>Naftaleno, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,8a-dimetil-7-(1-metiletienil)-, [1S-(1.alfa.,7.alfa.,8a.alfa.)]-</b>	<b>34.62</b>	<b>0.03</b>
<b>(+)-Cicloisosativeno</b>	<b>34.84</b>	<b>0.50</b>
<b>.beta.-Panasinseno</b>	<b>35.05</b>	<b>0.20</b>
<b>.alfa.-Cariofileno</b>	<b>35.24</b>	<b>0.24</b>
<b>Isocariofileno</b>	<b>35.37</b>	<b>0.02</b>
<b>1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-</b>	<b>35.54</b>	<b>0.34</b>
<i>No Identificado</i>	35.76	0.05
<b>2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,acetato, (Z)-</b>	<b>36.17</b>	<b>1.26</b>
<b>1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-</b>	<b>36.43</b>	<b>1.61</b>
<b>Longifoleno-(V4)</b>	<b>36.59</b>	<b>0.16</b>
<b>(+)-Epi-biciclosesquifelandreno</b>	<b>36.80</b>	<b>0.09</b>
<b>1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-</b>	<b>36.99</b>	<b>1.23</b>

Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	37.14	0.16
3-Careno	37.66	0.35
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	37.88	0.02
Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-,(1S-cis)-	38.07	0.60
Butanoico ácido, 3,7-dimetil-6-octenil éster	38.23	0.44
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	38.38	0.03
<i>No Identificado</i>	38.49	0.01
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletilideno)-, (1S-cis)-	38.60	0.08
.alfa.-Calacoreno	38.78	0.04
<i>No Identificado</i>	38.89	0.33
<i>No Identificado</i>	39.03	0.03
Cariofileno óxido	39.10	0.04
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,acetato, (E)-	39.40	1.60
Triciclo[6.3.0.0(2,4)]undec-8-eno,3,3,7,11-tetrametil-	39.56	0.05
(-)-Spatulenol	39.95	0.52
2-Butenoico ácido, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	40.15	1.97
Azuleno, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1.alfa.,7.alfa.,8a.beta.)]-	40.33	0.22
Naftaleno, decahidro-4a-metil-1-metileno-7-(1-metiletenil)-, [4aR-(4a.alfa.,7.alfa.,8a.beta.)]-	40.59	0.38
.alfa.-Farneseno	40.71	0.22

1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahidro-1,1,3a,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,3a.alfa.,7b.alfa.)]-	41.13	8.33
Naftaleno, 1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)]-	41.18	0.16
2-Naftalenometanol, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidro-.alfa.,alfa.,4a,8-tetrametil-, (2R-cis)-	41.25	0.20
Agarospiról	41.35	0.54
.tau.-Cadinól	41.49	0.38
Ciclohexeno, 6-etenil-6-metil-1-(1-metiletil)-3-(1-metiletilideno)-, (S)-	41.54	0.57
1H-Indeno, 1-etilideno octahidro-7a-metil-, (1Z,3a.alfa.,7a.beta.)	41.67	0.79
Biciclo[4.4.0]dec-1-eno, 2-isopropil-5-metil-9-metileno-	41.73	1.08
<i>No Identificado</i>	41.83	0.10
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, propanoato	41.89	0.21
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	42.06	0.09
<i>No Identificado</i>	42.23	0.15
Geranil tiglato	42.61	2.37
Butanoico ácido, 3,7-dimetil-2,6-octadienil éster, (E)-	42.83	0.22
6-Isopropenil-4,8a-dimetil-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-naftalen-2-ol	42.96	0.05
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,propanoato, (Z)-	43.41	0.10
2-Propen-1-ol, 3-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-	43.84	0.02
4a(2H)-Naftalenocarboxílico ácido,1,3,4,5,6,7-hexahidro-1,1-dimetil-2-oxo-, etil éster	44.32	0.02

<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, acetato</b>	<b>44.36</b>	<b>0.01</b>
<b>Ciclohexeno, 1-metil-5-(1-metiletenil)-, (R)-</b>	<b>44.79</b>	<b>0.09</b>
<b>Isoaromadendreno epóxido</b>	<b>45.00</b>	<b>0.03</b>
<b>Ciclohexadecano</b>	<b>45.13</b>	<b>0.03</b>
<b>Citronalil isobutirato</b>	<b>45.54</b>	<b>0.02</b>
<b>1-Ciclobutanol, 1-metil-2-(2,2-dimetil-6-metilenociclohexil)</b>	<b>45.57</b>	<b>0.03</b>
<b>Ciclopropano carboxamida, 2-ciclopropil-2-metil-N-(1-ciclopropiletil)-</b>	<b>45.64</b>	<b>0.01</b>
<i>No Identificado</i>	45.92	0.02
<b>2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,acetato</b>	<b>45.98</b>	<b>0.07</b>
<b>Eicosano</b>	<b>48.44</b>	<b>0.01</b>
<b>TOTAL ÁREA IDENTIFICADA</b>		<b>99.18</b>
<b>TOTAL ÁREA CUANTIFICADA</b>		<b>100.01</b>

**Tabla 27.** Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B1r con principales componentes. Realizado en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>. Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>PORCENTAJE (área / área)</b>
<b>1R-.alfa.-Pino</b>	<b>11.33</b>	<b>0.09</b>
<b>1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-</b>	<b>19.63</b>	<b>4.30</b>
<b>trans-Rosa óxido</b>	<b>20.14</b>	<b>0.27</b>
<b>2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-</b>	<b>20.95</b>	<b>0.12</b>
<b>Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, (2R-cis)-</b>	<b>22.20</b>	<b>0.19</b>
<i>No Identificado</i>	22.54	0.02
<b>Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, trans-</b>	<b>22.70</b>	<b>4.56</b>
<b>3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,.alfa.4-trimetil-</b>	<b>23.98</b>	<b>0.25</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-</b>	<b>25.87</b>	<b>21.46</b>
<b>2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (Z)</b>	<b>26.36</b>	<b>0.70</b>
<b>2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-</b>	<b>27.11</b>	<b>25.78</b>
<b>2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)</b>	<b>27.71</b>	<b>1.28</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato</b>	<b>27.94</b>	<b>5.73</b>
<b>Geranilo bromuro</b>	<b>29.14</b>	<b>4.85</b>
<b>2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-</b>	<b>31.33</b>	<b>0.18</b>
<b>.alfa.-Cubebeno</b>	<b>32.30</b>	<b>0.31</b>
<b>Ciclobuta[1,2:3,4]d ciclopenteno,decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-</b>	<b>32.65</b>	<b>1.67</b>
<b>Cariofileno</b>	<b>34.13</b>	<b>0.78</b>



1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-	35.11	0.50
Triciclo[4.1.0.0(2,4)]heptano, 3,3,7,7-tetrametil-5-(2-metil-1-propenil)	35.34	0.19
.alfa.-Cariofileno	35.53	0.22
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	35.84	0.32
3-Careno	36.38	1.31
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	36.63	1.75
1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	37.23	1.31
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	37.43	0.17
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	37.94	0.35
Naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	38.34	0.63
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, acetato	38.49	0.46
Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,3,3-trimetil-	39.57	1.72
Isolongifoleno, 9,10-dehidro-	40.09	0.55
2-Butenoico ácido, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	40.29	2.07
<i>No Identificado</i>	40.48	0.11
Azuleno, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1R-(1.alfa.,3a.beta.,4.alfa.,7.beta.)]-	40.53	0.28
<i>No Identificado</i>	40.76	0.02
Patchouleno	40.83	0.05

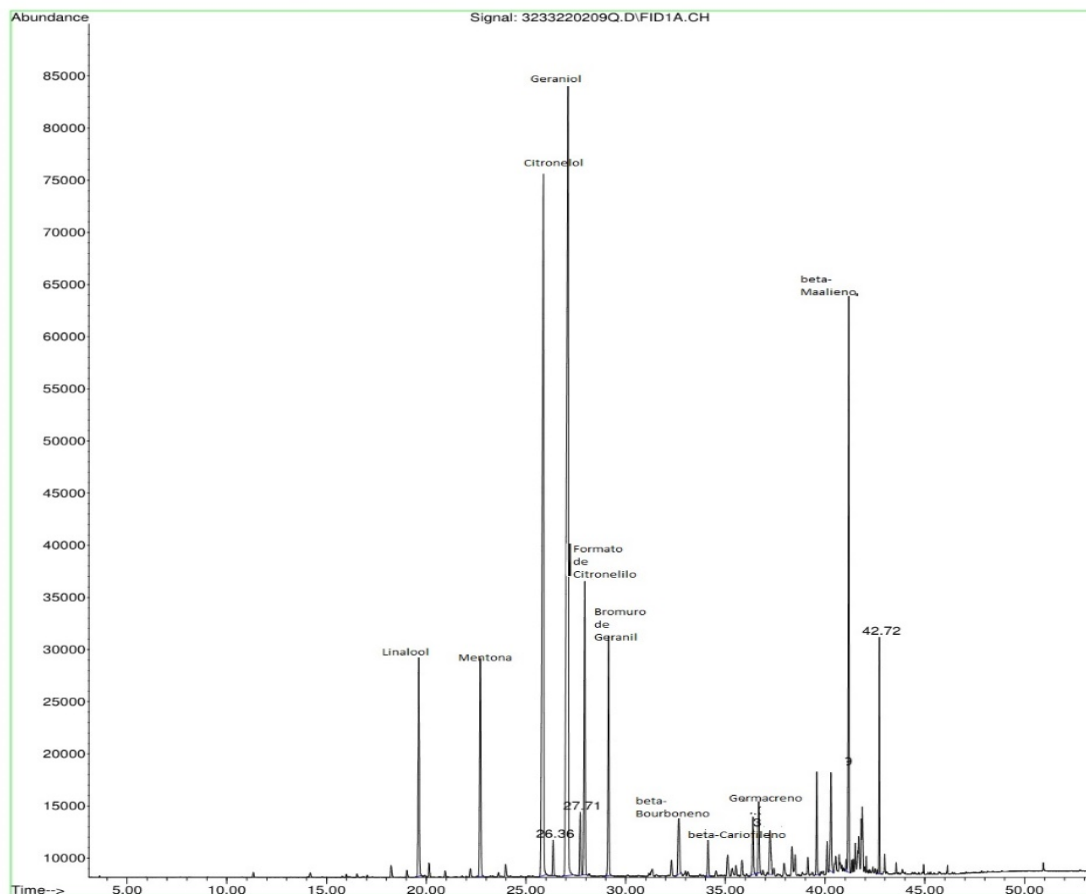
Eudesma-4(14),11-dieno	40.91	0.04
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	41.05	0.18
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahidro-1,1,3a,7-tetrametil-	41.18	8.47
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-	41.33	0.16
Aromadendreno	41.41	0.17
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletilideno)-, (1S-cis)-	41.50	0.44
<i>No Identificado</i>	41.55	0.08
Biciclo[4.4.0]dec-1-eno, 2-isopropil-5-metil-9-metileno-	41.64	0.32
2-(3-Isopropil-4-metil-pent-3-en-1-inil)-2-metil-ciclobutanona	41.68	0.61
1H-Indeno, 1-etilideno-octahidro-7a-metil-, (1E,3a.alfa.,7a.beta.)-	41.81	0.78
Naftaleno, decahidro-4a-metil-1-metileno-7-(1-metiletilideno)-, (4aR-trans)-	41.86	1.15
<i>No Identificado</i>	41.98	0.09
Biciclo[4.1.0]heptano, 3,7,7-trimetil-, (1.alfa.,3.alfa.,6.alfa.)-	42.06	0.18
.beta.-Mirceno	42.72	2.55
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,propanoato, (Z)-	42.99	0.25
<b>TOTAL ÁREA IDENTIFICADA</b>		<b>99.68</b>
<b>TOTAL ÁREA CUANTIFICADA</b>		<b>100.00</b>

**Tabla 28.** Cuadro con nombres químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B1r con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub> Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 09/02/2022.

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>NOMBRE COMÚN</b>	<b>No. CAS</b>
1R-.alfa.-Pino	alfa-Pino	007785-70-8
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	Linalool	000078-70-6
trans-Rosa óxido	trans-Óxido de rosa	000876-18-6
2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-	Óxido de rosa	016409-43-1
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, (2R-cis)-	(+)-Isomentona	001196-31-2
<i>No Identificado</i>	N/A	N/A
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, trans-	Mentona	000089-80-5
3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,.alfa.4-trimetil-	alfa-Terpineol	000098-55-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	(R)-Citronelol	001117-61-9
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (Z)	Neral	000106-26-3
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	Geraniol	000106-25-2
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)	(E)-Geranial	000141-27-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato	Formato de Citronelilo	000105-85-1
Geranilo bromuro	Bromuro de Geranilo	035719-26-7
2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-	NA	002792-39-4
.alfa.-Cubebeno	alfa-Cubebeno	017699-14-8
Ciclobuta[1,2:3,4]diciclopenteno,decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	beta-Bourboneno	005208-59-3
Cariofileno	beta-Cariofileno	000087-44-5
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-	Aromadendreno	072747-25-2

Triciclo[4.1.0.0(2,4)]heptano, 3,3,7,7-tetrametil-5-(2-metil-1-propenil)	alfa-Santaleno	056348-21-1
.alfa.-Cariofileno	alfa-Cariofileno (alfa-Humuleno)	006753-98-6
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	Aloaromadendreno	025246-27-9
3-Careno	3-Careno	013466-78-9
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	Germacreno D	023986-74-5
1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	Viridifloreno	021747-46-6
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	alfa-Muuroleno	031983-22-9
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.alfa.,8a.alfa.)-	gama-Muuroleno	030021-74-0
Naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	Calameno	000483-77-2
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, acetato	Acetato de citronelilo	000150-84-5
Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,3,3-trimetil-	Ciclofencheno	000488-97-1
Isolongifoleno, 9,10-dehidro-	9,10-dihidro-Isolongifoleno	1000151-67-1
2-Butenoico ácido, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	NA	1000131-89-9
No Identificado	N/A	N/A
Azuleno, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1R-(1.alfa.,3a.beta.,4.alfa.,7.beta.)]-	gama-Gurjuneno	022567-17-5
No Identificado	N/A	N/A
Patchouleno	Patchouleno	001405-16-9
Eudesma-4(14),11-dieno	NA	1000152-04-3

Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	1,4-Cadinadieno	016728-99-7
1H-Ciclopropa[ <i>a</i> ]naftaleno, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahidro-1,1,3a,7-tetrametil-	beta-Maalieno	1000147-32-8
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1 <i>S</i> -(1.alfa.)]-	NA	029837-12-5
Aromadendreno	Aromandendreno	109119-91-7
Azuleno, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletilideno)-, (1 <i>S</i> -cis)-	Guaieno	000088-84-6
<i>No Identificado</i>	N/A	N/A
Biciclo[4.4.0]dec-1-eno, 2-isopropil-5-metil-9-metileno-	NA	150320-52-8
2-(3-Isopropil-4-metil-pent-3-en-1-inil)-2-metil-ciclobutanona	NA	1000193-37-3
1H-Indeno, 1-etilideno-octahidro-7a-metil-, (1 <i>E</i> ,3a.alfa.,7a.beta.)-	NA	056324-68-6
Naftaleno, decahidro-4a-metil-1-metileno-7-(1-metiletilideno)-, (4a <i>R</i> -trans)-	gama-Selineno	000515-17-3
<i>No Identificado</i>	N/A	N/A
Biciclo[4.1.0]heptano, 3,7,7-trimetil-, (1.alfa.,3.alfa.,6.alfa.)-	trans-Carano	018968-23-5
.beta.-Mirceno	beta-Mirceno	000123-35-3
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-,propanoato, ( <i>Z</i> )-	Propionato de nerilo	000105-91-9



**Figura 35.** Cromatograma con resultado de análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio AEG. Muestra B1r con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 09/02/202

**Tabla 29.** Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A3 con principales componentes. Realizado en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>. Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022.

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>PORCENTAJE (área / área)</b>
<b>Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,7 ,7-trimetil-</b>	<b>10.76</b>	<b>0.41</b>
<b>1R-.alfa.-Pino</b>	<b>11.33</b>	<b>0.21</b>
<b>1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-</b>	<b>19.60</b>	<b>3.95</b>
<i>No Identificado</i>	19.83	0.03
<i>No Identificado</i>	19.89	0.12
<b>2H-Piran, tetrahydro-4-metil-2-(2metil-1-propenil)-</b>	<b>20.13</b>	<b>0.83</b>
<b>trans-Rosa óxido</b>	<b>20.93</b>	<b>0.36</b>
<b>Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-</b>	<b>22.18</b>	<b>0.59</b>
<b>Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, (2R-cis)-</b>	<b>22.68</b>	<b>5.45</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-</b>	<b>25.83</b>	<b>29.45</b>
<b>2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-</b>	<b>27.01</b>	<b>19.67</b>
<i>No Identificado</i>	27.16	0.47
<b>2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)</b>	<b>27.68</b>	<b>1.30</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato</b>	<b>27.91</b>	<b>9.07</b>
<b>Geranil bromuro</b>	<b>29.10</b>	<b>5.56</b>
<i>No Identificado</i>	29.24	0.11
<b>2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-</b>	<b>31.30</b>	<b>0.40</b>
<b>Copaeno</b>	<b>32.27</b>	<b>0.28</b>

Ciclobuta[1,2:3,4]diciclopenteno, decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	32.62	1.71
<i>No Identificado</i>	32.75	0.05
<b>Ilangeno</b>	<b>35.08</b>	<b>4.68</b>
<b>Aromadendreno</b>	<b>35.31</b>	<b>0.21</b>
<b>3-Careno</b>	<b>36.34</b>	<b>2.29</b>
<b>1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-</b>	<b>36.63</b>	<b>1.30</b>
<b>Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)-</b>	<b>38.30</b>	<b>0.69</b>
<b>Ácido butanoico, 3,7-dimetil-6-octenil éster</b>	<b>38.46</b>	<b>0.59</b>
<b>.beta.-Mirceno</b>	<b>39.53</b>	<b>1.18</b>
<b>2-Ácido Butenoico, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-</b>	<b>40.25</b>	<b>1.69</b>
<i>No Identificado</i>	40.31	1.66
<b>Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-</b>	<b>41.00</b>	<b>0.18</b>
<b>Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-</b>	<b>41.30</b>	<b>0.23</b>
<b>Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-</b>	<b>41.61</b>	<b>0.35</b>
<i>No Identificado</i>	41.69	0.08
<b>1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-</b>	<b>41.85</b>	<b>0.60</b>
<b>Citronalil tiglato</b>	<b>42.03</b>	<b>0.46</b>
<b>6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, propanoato</b>	<b>42.37</b>	<b>0.20</b>
<b>Ácido butanoico, 3-metil-, 1-etenil-1,5-dimetil-4-hexenil éster</b>	<b>42.69</b>	<b>3.34</b>



<b>1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-</b>	<b>42.96</b>	<b>0.25</b>
<b>TOTAL ÁREA IDENTIFICADA</b>		<b>97.49</b>
<b>TOTAL ÁREA CUANTIFICADA</b>		<b>100.00</b>

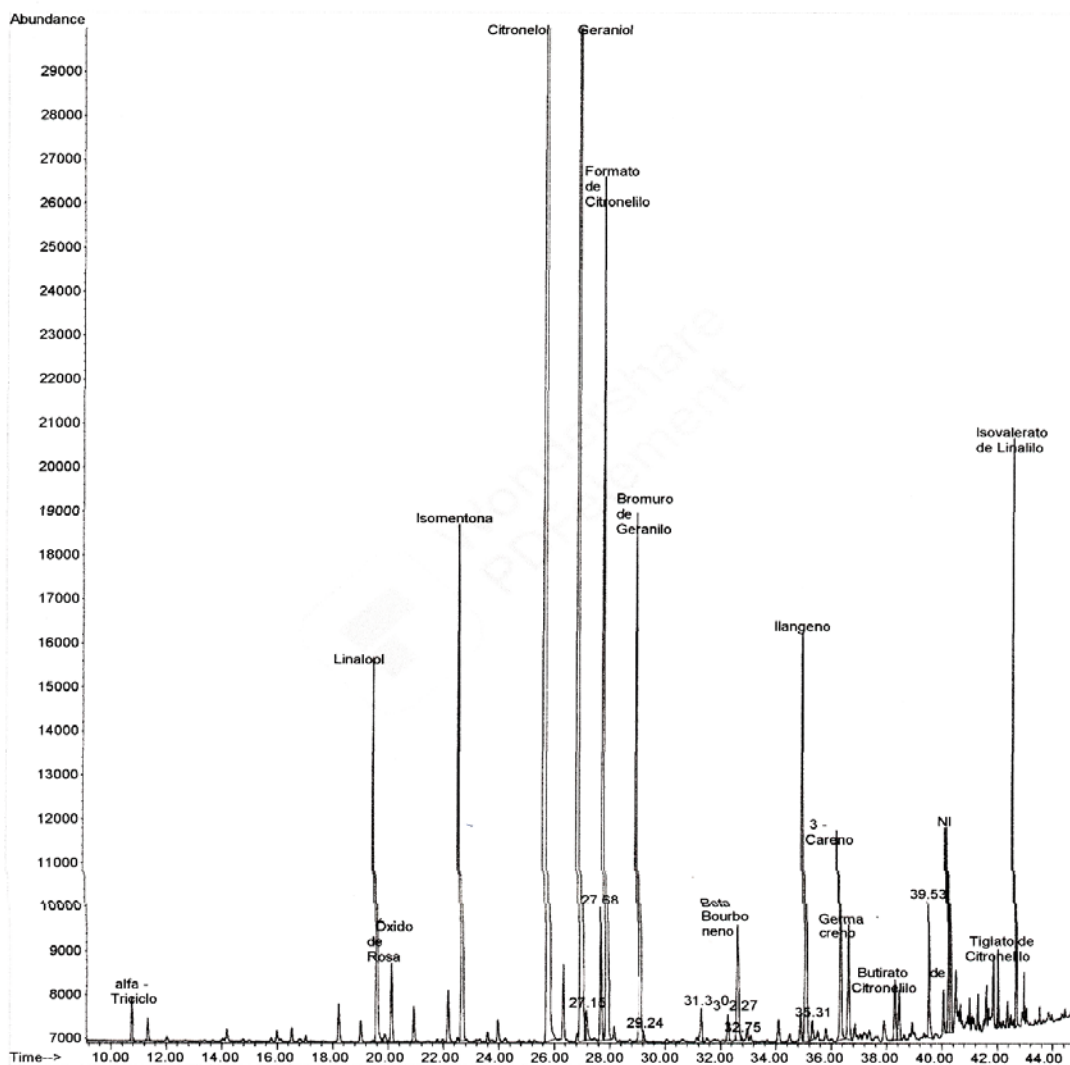
**Tabla 30.** Cuadro con nombre químicos, comunes y números CAS de resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra A3 con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub> Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>NOMBRE COMÚN</b>	<b>No. CAS</b>
Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,7,7-trimetil-	alfa-Triciclo	000508-32-7
1R-.alfa.-Pino	alfa-Pino	007785-70-8
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	Linalool	000078-70-6
<i>No Identificado</i>	N/A	
<i>No Identificado</i>	N/A	
2H-Piran, tetrahidro-4-metil-2-(2metil-1-propenil)-	Óxido de rosa	016409-43-1
trans-Rosa óxido	trans-Óxido de rosa	000876-18-6
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-	Mentona	010458-14-7
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, (2R-cis)-	D-Isomentona	001196-31-2
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	(R)-Citronelol	001117-61-9
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	Geraniol	000106-25-2
<i>No Identificado</i>	N/A	
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)	(E)-Geranial	000141-27-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formato	Formato de Citronelilo	000105-85-1
Geranil bromuro	Bromuro de Geranilo	035719-26-7
<i>No Identificado</i>	N/A	
2,6-Octadieno, 2,6-dimetil-	N/A	002792-39-4
Copaeno	Copaeno	003856-25-5

Ciclobuta[1,2:3,4]d ciclopenteno, decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	Beta-Bourboneno	005208-59-3
<i>No Identificado</i>	N/A	
llangeno	llangeno	014912-44-8
Aromadendreno	(-)-Aromadendreno	109119-91-7
3-Careno	3-Careno	013466-78-9
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	Germacreno D	023986-74-5
Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-,(1S-cis)-	Delta-Cadineno	000483-76-1
Ácido butanoico, 3,7-dimetil-6-octenil éster	Butirato de citronelilo	000141-16-2
.beta.-Mirceno	.beta.-Mirceno	000123-35-3
2-Ácido Butenoico, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	N/A	1000131-89-9
<i>No Identificado</i>	N/A	
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-	1,4-Cadinadieno	016728-99-7
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-	N/A	029837-12-5
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-	Gamma-Cadineno	039029-41-9
<i>No Identificado</i>	N/A	
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-	(+)-Aromadendreno	072747-25-2
Citronalil tiglato	Tiglato de citronelilo	024717-85-9
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, propanoato	Propionato de citronelilo	000141-14-0

<b>Ácido butanoico, 3-metil-, 1-etenil-1,5-dimetil-4-hexenil éster</b>	<b>Isovalerato de Linalilo</b>	<b>001118-27-0</b>
<b>1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-</b>	<b>(Z)-Beta Ocimeno</b>	<b>003338-55-4</b>

Gráfica Cromatograma AEG Muestra A3



**Figura 36.** Cromatograma con resultado de análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio AEG. Muestra A3 con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 13/06/2022.

**Tabla 31.** Cuadro con resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B3 con principales componentes. Realizado en Laboratorio I2QB3. Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/20.

RESULTADOS		
COMPUESTO	tR (min)	PORCENTAJE (área / área)
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	19.61	4.62
trans-Rosa óxido	20.13	0.28
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, cis-	22.18	0.46
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, trans-	22.68	4.52
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	25.83	23.74
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	27.05	27.05
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)	27.68	1.30
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formate	27.90	4.80
Geranilo bromuro	29.10	4.93
Copaeno	32.27	0.32
Ciclobuta[1,2:3,4]dicipenteno, decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	32.61	1.85
Cariofileno	34.10	0.77m
3-Careno	36.34	1.36
1,6-Ciclododecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	36.63	1.42
1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	37.19	1.14
Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-,(1S-cis)-	38.30	0.65
No Identificado	38.45	0.48
.beta.-Mirceno	39.53	1.70
Isolongifoleno, 9,10-dehidro-	40.06	0.57
2-Butenoic acid, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	40.25	2.08
No Identificado	41.02	0.19
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahidro-1,1,3a,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,3a.alfa.,7b.alfa.)]-	41.14	8.86
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-	41.30	0.16

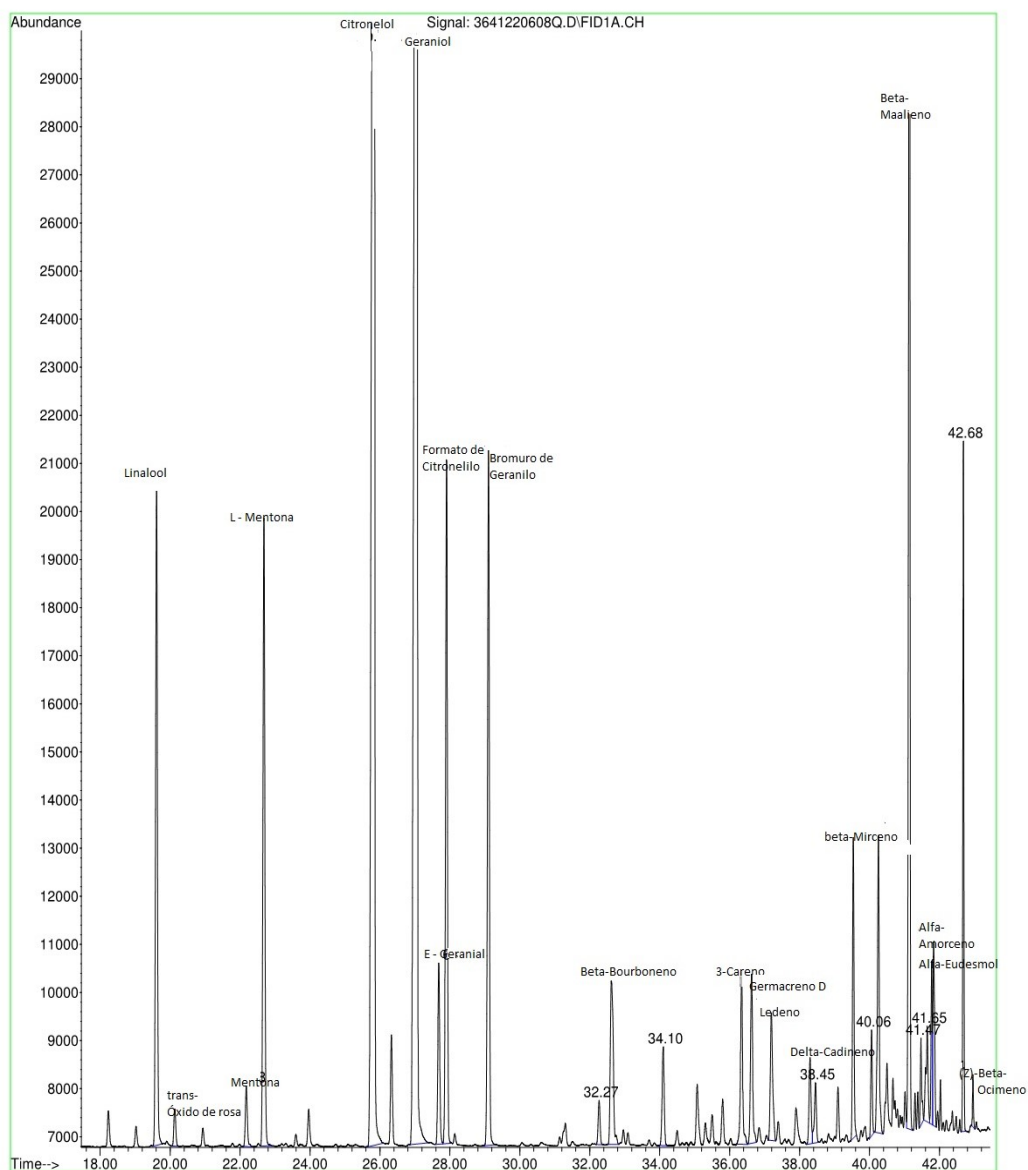
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, decahidro-1,1,3a-trimetil-7-metileno-, [1aS-(1a.alfa.,3a.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	41.38	0.17
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	41.47	0.54
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-	41.61	0.35
2-(3-Isopropil-4-metil-pent-3-en-1-inil)-2-metil-ciclobutanona	41.65	0.63
2-Naftalenometanol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-.alfa.,.alfa.,4a,8-tetrametil-, [2R-(2.alfa.,4a.alfa.,8a.beta.)]-	41.78	0.82
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	41.83	1.23
Citronalil tiglate	42.03	0.19
Ácido butanoico, 3-metil-, 1-etenil-1,5-dimetil-4-hexenil éster	42.68	2.64
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	42.96	0.19
<b>TOTAL ÁREA IDENTIFICADA</b>		<b>99.33</b>
<b>TOTAL ÁREA CUANTIFICADA</b>		<b>100.00</b>

**Tabla 32.** Cuadro nombres químicos, nombres comunes y número CAS en resultados análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio, muestra B3 con principales componentes. Realizado en laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub> Universidad Mariano Gálvez, Guatemala. 13/06/2022.

<b>RESULTADOS</b>		
<b>COMPUESTO</b>	<b>NOMBRE COMÚN</b>	<b>No. CAS</b>
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil-	Linalool	000078-70-6
trans-Rosa óxido	trans-Óxido de rosa	000876-18-6
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, cis-	Mentona	000491-07-6
Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletil)-, trans-	L-Mentona	000089-80-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, (R)-	(R)-Citronelol	001117-61-9
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-	Geraniol	000106-25-2
2,6-Octadienal, 3,7-dimetil-, (E)	(E)-Geranial	000141-27-5
6-Octen-1-ol, 3,7-dimetil-, formate	Formato de Citronelilo	000105-85-1
Geranilo bromuro	Bromuro de Geranilo	035719-26-7
Copaeno	Copaeno	003856-25-5
Ciclobuta[1,2:3,4]d ciclopenteno, decahidro-3a-metil-6-metileno-1-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,3a.alfa.,3b.beta.,6a.beta.,6b.alfa.)]-	Beta-Bourboneno	005208-59-3
Cariofileno	Cariofileno	000087-44-5
3-Careno	3-Careno	013466-78-9
1,6-Ciclodecadieno, 1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)-, [s-(E,E)]-	Germacreno D	023986-74-5
1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	(+)-Ledeno	021747-46-6



Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-,(1S-cis)-	Delta-Cadineno	000483-76-1
<i>No Identificado</i>	<i>N/A</i>	
.beta.-Mirceno	.beta.-Mirceno	000123-35-3
Isolongifoleno, 9,10-dehidro-	N/A	1000151-67-1
2-Butenoic acid, 2-metil-, 2-feniletil éster, (E)-	N/A	1000131-89-9
<i>No Identificado</i>	<i>N/A</i>	
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahidro-1,1,3a,7-tetrametil-, [1aR-(1a.alfa.,3a.alfa.,7b.alfa.)]-	Beta-Maalieno	000489-29-2
Naftaleno, hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.)]-	N/A	029837-12-5
1H-Ciclopropa[a]naftaleno, decahidro-1,1,3a-trimetil-7-metileno-, [1aS-(1a.alfa.,3a.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	Gamma-Maalieno	020071-49-2
1H-Cicloprop[e]azuleno, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1aR-(1a.alfa.,4a.alfa.,7a.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	Aromadendreno	000489-39-4
Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1.alfa.,4a.beta.,8a.alfa.)-	Gamma-Cadineno	039029-41-9
2-(3-Isopropil-4-metil-pent-3-en-1-inil)-2-metil-ciclobutanona	N/A	1000193-37-3
2-Naftalenometanol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-.alfa.,.alfa.,4a,8-tetrametil-, [2R-(2.alfa.,4a.alfa.,8a.beta.)]-	Alfa-Eudesmol	000473-16-5
Naftaleno, 1,2,4a,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	.Alfa.-Amorfeno	000483-75-0
Citronalil tiglato	Tiglato de citronelilo	024717-85-9
Ácido butanoico, 3-metil-, 1-etenil-1,5-dimetil-4-hexenil éster	Isovalerato de Linalilo	001118-27-0
1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	(Z)-Beta Ocimeno	003338-55-4



**Figura 37.** Cromatograma con resultado de análisis perfil fitoquímico de aceite esencial de Geranio AEG. Muestra B3 con principales elementos determinados en Laboratorio I<sup>2</sup>QB<sub>3</sub>, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala en fecha 13/06/2022.

## INFORME DE RESULTADOS

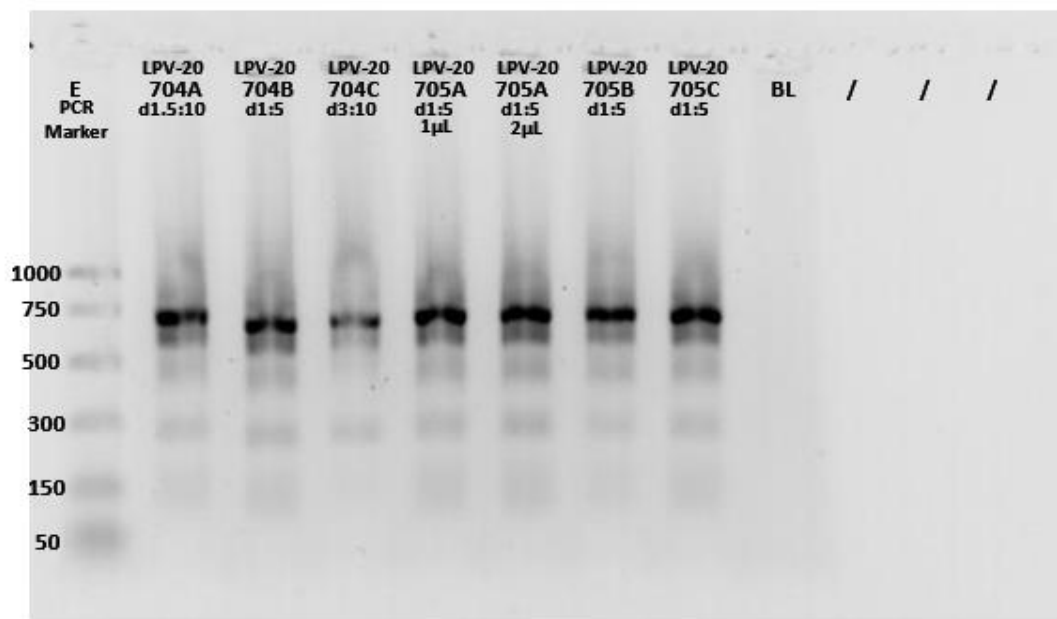
### Cuadro 1 UVG

Fecha de Emisión:	01/12/2020	Informe No:	BV-20-89
Remitente:	Felipe Alfredo Cerón	Código Muestras:	LPV-20-704, 705
Empresa:	Investigación Personal	Fecha ingreso de Muestras:	26/11/2020
Dirección:	NA	Fecha de inicio de Análisis:	26/11/2020

Código LPV	Tipo de muestra	Variedad	Identificación del cliente	Identificación del laboratorio	Cuantificación de ADN (ng/μL)	Pureza de ADN	Planta universal PCR
LPV-20-704	Hojas de geranio de olor	Clon A	Parcela Palo de Campana	A	1025	2.11	Amplificó
				B	630	2.05	Amplificó
				C	525	1.56	Amplificó
LPV-20-705	Hojas de geranio de olor	Clon B	Parcela Palo de Campana	A	630	1.97	Amplificó
				B	945	2.10	Amplificó
				C	940	2.04	Amplificó

**Tabla 33.** Cuadro con resultados de primera extracción y análisis de ADN en tres réplicas de muestras de plantas de Clon A y B de geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala. 26/11/2020-01/12/2020.

## Planta Universal



Termociclador:	Eppendorf	Voltios:	85	Fecha de PCR:	27/11/2020
Análisis:	Planta Universal	Fuente:	Accu Power VWR	Fecha Electroforesis:	27/11/2020
Programa:	PLANTA	Tiempo:	40 Min	Edición de foto:	30/11/2020
Cámara:	Apollo	Resultado:	<b>Todas las muestras AMPLIFICARON.</b>		

**Figura 38.** Fotografía de bandas observadas como resultado de primer proceso de extracción ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa en tres réplicas de los Clones A y B de geranio de olor realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle, UVG, Guatemala en fecha 27/11/2020.

**Tabla 34.** Cuadro con resultados de segunda extracción y análisis de ADN en Clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle UVG, Guatemala. 04/02/2021-12/03/2021.

Código LPV	Tipo de muestra	Variiedad	Identificación del cliente	Cuantificación de ADN (ng/μL)	Pureza de ADN	Planta universal PCR	Resultados de la secuenciación
LPV-21-113	Geranio de Olor	A11	Parcela Palo de campana	190	1.86	Amplificó	Se realizó una comparación de secuencias de la región ITS ( <i>Internal Transcribed Spacer</i> ) entre los clones (muestras de geranio). El cuadro que se encuentra a continuación es una matriz de porcentajes de similitud como resultado de la comparación entre las muestras.
LPV-21-114	Geranio de Olor	A21	Parcela Palo de campana	210	1.80	Amplificó	
LPV-21-115	Geranio de Olor	A31	Parcela Palo de campana	100	1.45	Amplificó	
LPV-21-116	Geranio de Olor	B11	Parcela Palo de campana	135	1.63	Amplificó	
LPV-21-117	Geranio de Olor	B21	Parcela Palo de campana	360	2.00	Amplificó	
LPV-21-118	Geranio de Olor	B31	Parcela Palo de campana	295	1.64	Amplificó	

<b>Código LPV</b>	<b>LPV-21-113 (A11)</b>	<b>LPV-21-114 (A21)</b>	<b>LPV-21-115 (A31)</b>	<b>LPV-21-116 (B11)</b>	<b>LPV-21-117 (B21)</b>	<b>LPV-21-118 (B31)</b>
LPV-21-113 (A11)	NA	99.0%	98.8%	97.8%	97.5%	97.3%
LPV-21-114 (A21)	99.0%	NA	99.0%	97.9%	97.9%	97.2%
LPV-21-115 (A31)	98.8%	99.0%	NA	98.0%	98.0%	97.5%
LPV-21-116 (B11)	97.8%	97.9%	98.0%	NA	99.7%	98.5%
LPV-21-117 (B21)	97.5%	97.9%	98.0%	99.7%	NA	98.5%
LPV-21-118 (B31)	97.3%	97.2%	97.5%	98.5%	98.5%	NA

**Tabla 35.** Cuadro comparativo para evaluar porcentajes de similitud entre clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de Olor cultivado en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizado en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C. E.A.A., Universidad del Valle, UVG, Guatemala. 04/02/2021-12/03/2021.

Observaciones: como referencia, se consideró una similitud entre secuencias que poseen un porcentaje mayor o igual al **94%** . NA: no aplica.

<b>Código LPV</b>	<i>Pelargonium graveolens</i> 5.8S y 28S ARN ribosomal gene Acceso: KF871281.1 (Porcentaje de similitud)	<i>Pelargonium graveolens</i> voucher Connecticut 273807 small subunit ribosomal RNA gene Acceso: MK670360.1 (Porcentaje de similitud)	<i>Pelargonium pseudoglutinosum</i> Acceso: MK670436.1 (Porcentaje de similitud)	<i>Pelargonium denticulatum</i> Acceso: MK670414.1 (Porcentaje de similitud)	<i>Pelargonium limoneum</i> Acceso: MK670429.1 (Porcentaje de similitud)	<i>Pelargonium capitatum</i> Acceso: MK670407.1 (Porcentaje de similitud)
LPV-21-113 (A11)	98.0%	97.5%	<b>98.2%</b>	<b>98.2%</b>	97.3%	96.3%
LPV-21-114 (A21)	98.0%	97.7%	<b>98.6%</b>	<b>98.6%</b>	97.4%	96.8%
LPV-21-115 (A31)	97.9%	98.5%	<b>99.0%</b>	<b>99.0%</b>	97.8%	97.1%
LPV-21-116 (B11)	98.7%	97.4%	97.9%	97.9%	<b>98.5%</b>	<b>98.5%</b>
LPV-21-117 (B21)	98.3%	97.7%	97.9%	97.9%	98.5%	<b>98.9%</b>
LPV-21-118 (B31)	98.2%	96.9%	97.6%	97.4%	98.1%	<b>99.1%</b>

**Tabla 36.** Cuadro con análisis comparativo de secuencias de la región ITS para Clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de olor en comparación con seis especies de *Pelargonium spp* obtenidas como accesiones en GenBank NCBI/EUA. 04/02/2021-12/03/2021.

Código LPV	Tipo de muestra	Variedad	Identificación del cliente	Cuantificación de ADN (ng/μL)	Pureza de ADN	Resultados de la secuenciación
LPV-21-324	Hojas de geranio de olor	Clon A (A1)	Parcela Palo de Campana	220	1.96	Se realizó una comparación de secuencias entre los clones (muestras de geranio) para las regiones: ITS ( <i>Internal Transcribed Spacer</i> ), rbcL ( <i>Ribulose bispophate carboxylase</i> ), y trnH-psbA. El cuadro que se encuentra a continuación es una matriz de porcentajes de similitud como resultado de la comparación entre las muestras.
LPV-21-325	Hojas de geranio de olor	Clon A (A2)	Parcela Palo de Campana	180	1.67	
LPV-21-326	Hojas de geranio de olor	Clon A (A3)	Parcela Palo de Campana	410	1.72	
LPV-21-327	Hojas de geranio de olor	Clon B (B1)	Parcela Palo de Campana	415	1.93	
LPV-21-328	Hojas de geranio de olor	Clon B (B2)	Parcela Palo de Campana	670	1.89	
LPV-21-329	Hojas de geranio de olor	Clon B (B3)	Parcela Palo de Campana	575	1.72	

**Tabla 37.** Cuadro con resultados de tercera extracción y análisis de ADN en Clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle UVG, Guatemala. 14/07/2021-12/10/2021.



<b>Código LPV</b>	<b>LPV-21-324</b>	<b>LPV-21-325</b>	<b>LPV-21-326</b>	<b>LPV-21-327</b>	<b>LPV-21-328</b>	<b>LPV-21-329</b>
	<b>(A1)</b>	<b>(A2)</b>	<b>(A3)</b>	<b>(B1)</b>	<b>(B2)</b>	<b>(B3)</b>
LPV-21-324 (A1)	NA	100%	94%	95%	98%	98%
LPV-21-325 (A2)	100%	NA	97%	96%	99%	99%
LPV-21-326 (A3)	97%	97%	NA	94%	95%	97%
LPV-21-327 (B1)	95%	96%	<b>93%</b>	NA	94%	95%
LPV-21-328 (B2)	98%	99%	<b>93%</b>	<b>93%</b>	NA	98%
LPV-21-329 (B3)	98%	99%	96%	95%	98%	NA

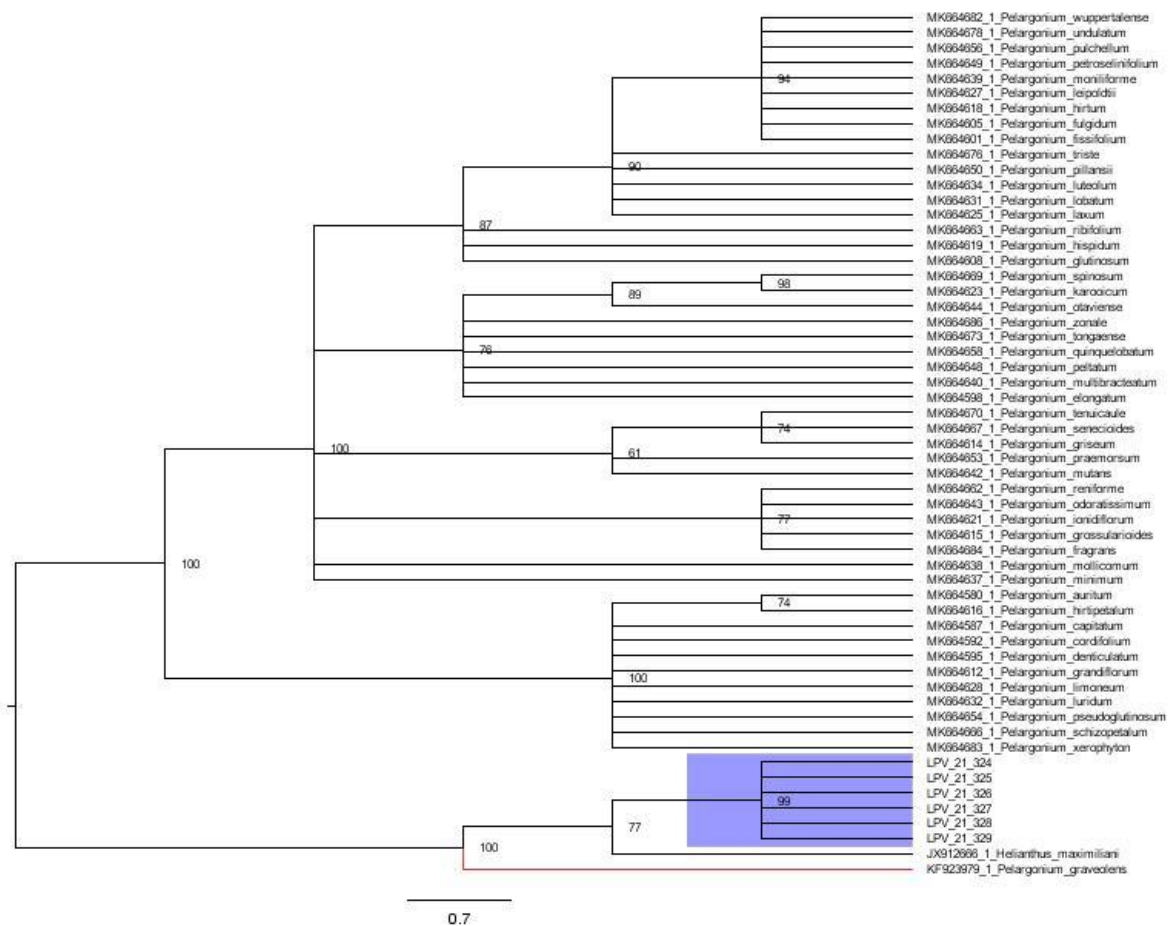
**Tabla 38.** Cuadro con análisis comparativo de similitudes entre secuencias empleando la región ITS para clones A y B y tres plantas por clon de plantas de geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. 14/07/2021-12/10/2021. Observaciones: como referencia se consideró una similitud entre secuencias que poseen un porcentaje mayor o igual al 94 % NA: no aplica,

<b>Código LPV</b>	<b>LPV-21-324</b>	<b>LPV-21-325</b>	<b>LPV-21-326</b>	<b>LPV-21-327</b>	<b>LPV-21-328</b>	<b>LPV-21-329</b>
	<b>(A1)</b>	<b>(A2)</b>	<b>(A3)</b>	<b>(B1)</b>	<b>(B2)</b>	<b>(B3)</b>
LPV-21-324 (A1)	NA	100%	100%	100%	100%	100%
LPV-21-325 (A2)	100%	NA	100%	100%	100%	100%
LPV-21-326 (A3)	100%	100%	NA	100%	100%	100%
LPV-21-327 (B1)	100%	100%	100%	NA	100%	100%
LPV-21-328 (B2)	100%	100%	100%	100%	NA	100%
LPV-21-329 (B3)	100%	100%	100%	100%	100%	NA

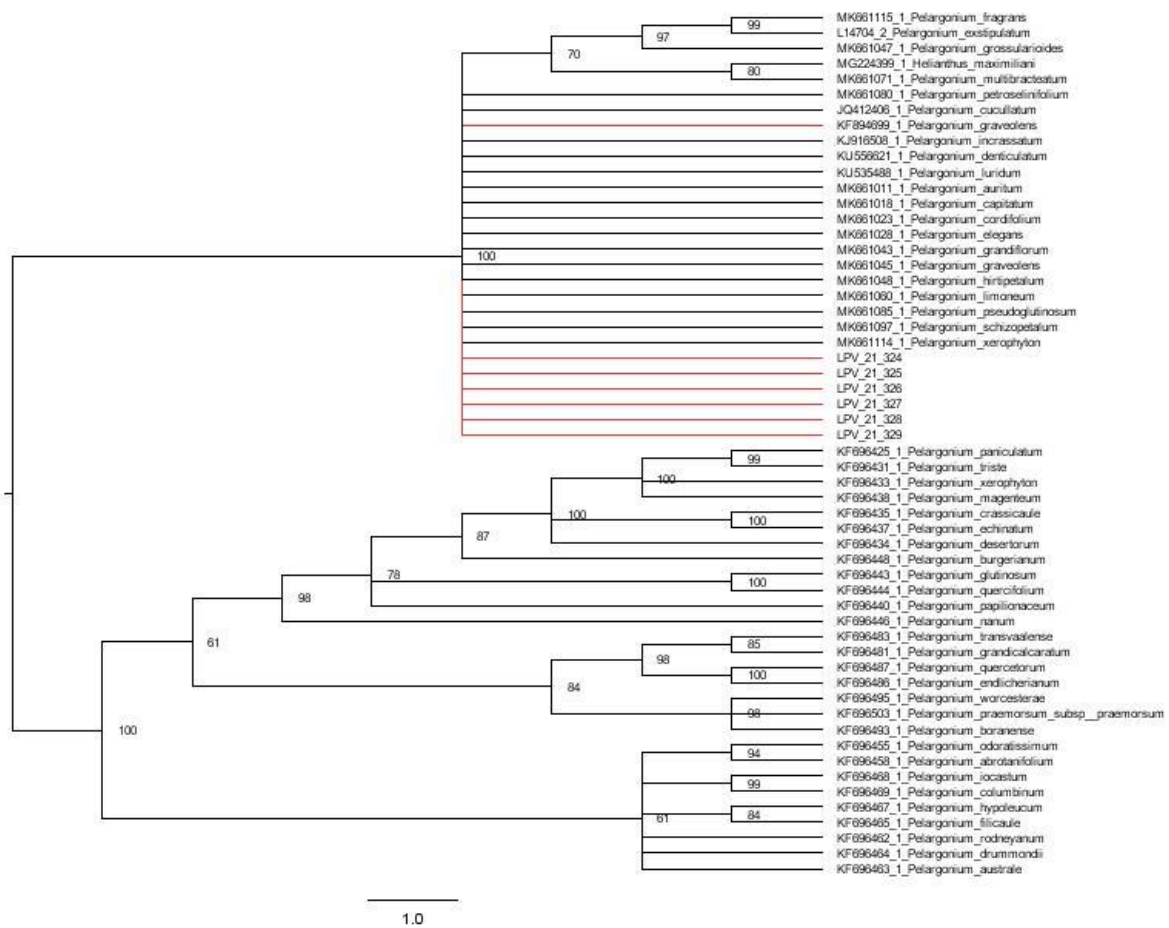
**Tabla 39.** Cuadro con análisis comparativo de similitudes entre secuencias empleando la región rbcl para clones A y B y tres plantas por clon de plantas de geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. 14/07/2021-12/10/2021. Observaciones: como referencia se consideró una similitud entre secuencias que poseen un porcentaje mayor o igual al 94 %. NA: no aplica.

<b>Código LPV</b>	<b>LPV-21-324</b>	<b>LPV-21-325</b>	<b>LPV-21-326</b>	<b>LPV-21-327</b>	<b>LPV-21-328</b>	<b>LPV-21-329</b>
	<b>(A1)</b>	<b>(A2)</b>	<b>(A3)</b>	<b>(B1)</b>	<b>(B2)</b>	<b>(B3)</b>
LPV-21-324 (A1)	NA	98%	99%	98%	99%	99%
LPV-21-325 (A2)	98%	NA	98%	99%	98%	100%
LPV-21-326 (A3)	99%	98%	NA	99%	100%	99%
LPV-21-327 (B1)	98%	99%	99%	NA	99%	100%
LPV-21-328 (B2)	99%	98%	100%	99%	NA	99%
LPV-21-329 (B3)	99%	100%	99%	100%	99%	NA

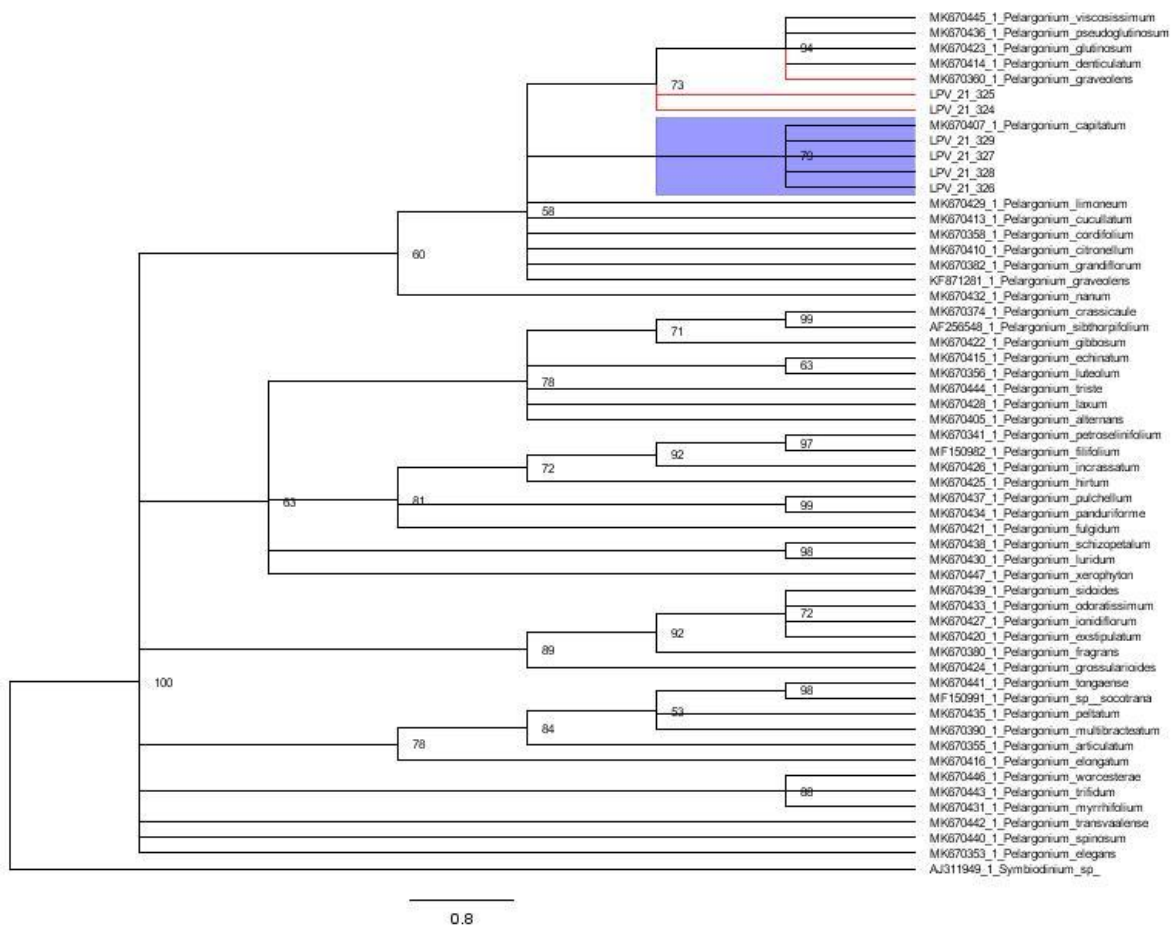
**Tabla 40.** Cuadro con análisis comparativo de similitudes entre secuencias empleando la región trnL-psbA para clones A y B y tres plantas por clon de plantas de geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. 14/07/2021-12/10/2021. Observaciones: como referencia se consideró una similitud entre secuencias que poseen un porcentaje mayor o igual al 94 %. NA: no aplica.



**Figura 39.** Árbol filogenético construido como resultado del tercer proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa incluyendo las relaciones de *Pelargonium spp* y especies varias en los clones A y B y tres plantas por cada clon, utilizando la secuencia consenso del gen *trnH-psbA*, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle, UVG, Guatemala en fecha 12/10/2021.



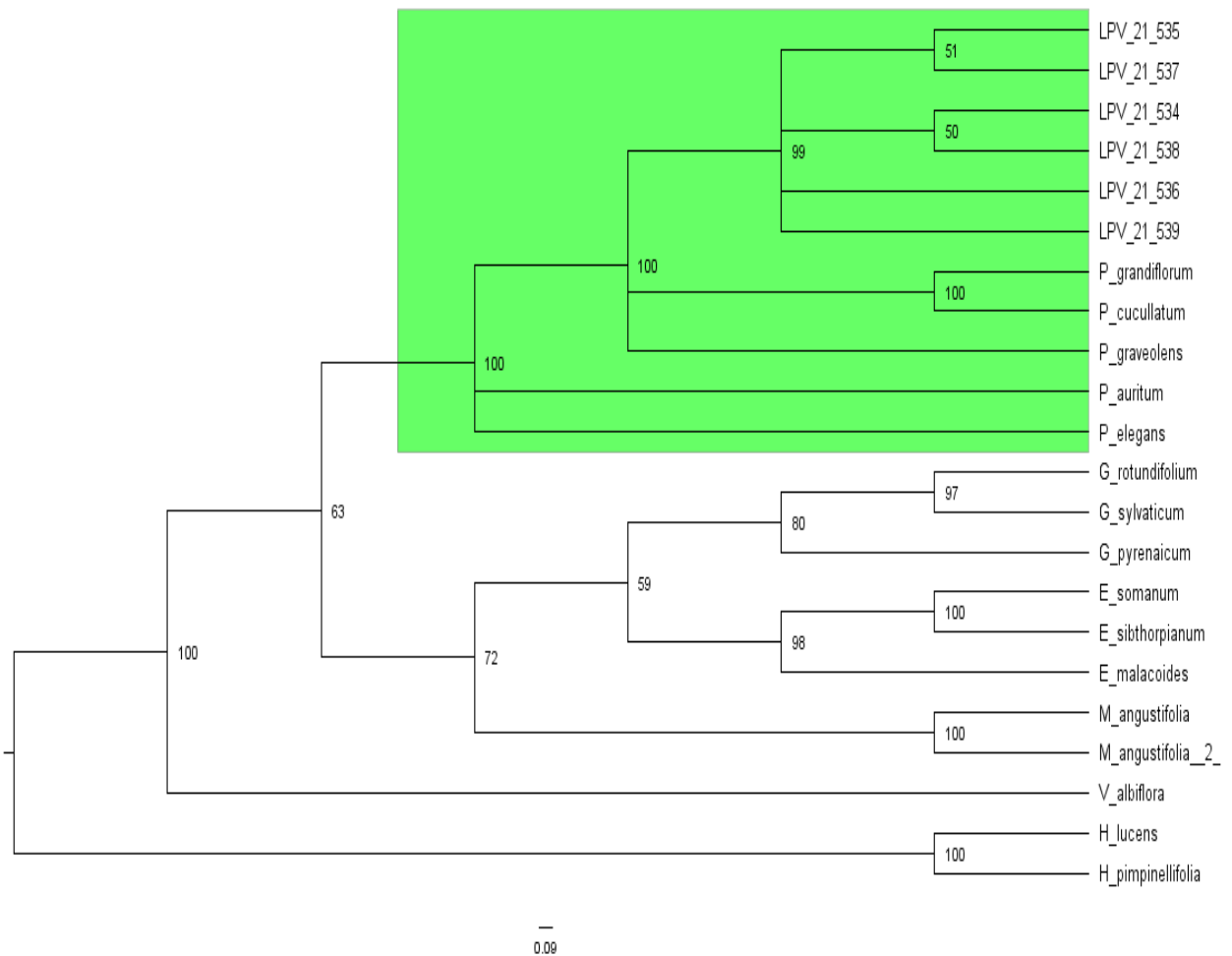
**Figura 40.** Árbol filogenético construido como resultado del tercer proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa incluyendo las relaciones de *Pelargonium spp* y especies varias en los clones A y B y tres plantas por cada clon, utilizando la secuencia consenso del gen *rbcl*, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle, UVG, Guatemala en fecha 12/10/2021.



**Figura 41.** Árbol filogenético construido como resultado del tercer proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa incluyendo las relaciones de *Pelargonium spp* y especies varias en los clones A y B y tres plantas por cada clon, utilizando la secuencia consenso del gen ITS, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle, UVG, Guatemala en fecha 12/10/2021.

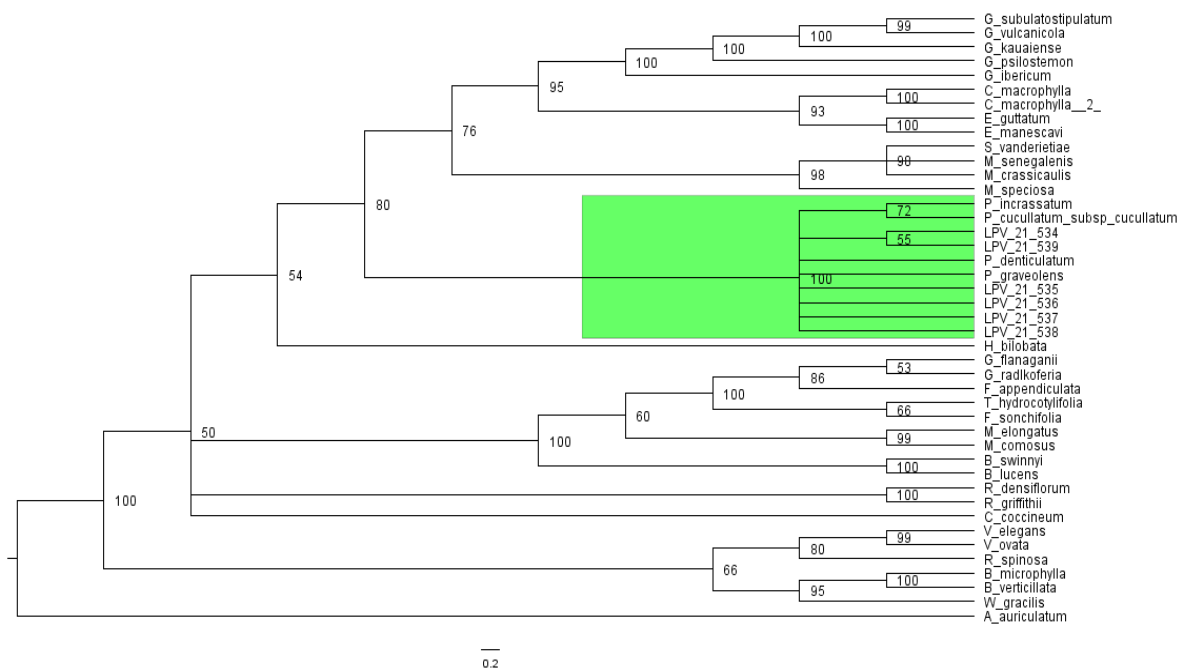
Código LPV	Tipo de muestra	Variedad	Identificación del cliente	Cuantificación de ADN (ng/ $\mu$ L)	Pureza de ADN	Resultados de secuenciación
LPV-21-534	Hojas de geranio	Clon A	1A1	150	2.00	Se realizó una comparación de secuencias por medio de árboles filogenéticos entre la familia Geraniaceae y distintas especies de <i>Pelargonium</i> sp. para las regiones de cloroplasto: trnT-trnL, trnL-trnL, trnL-trnF.
LPV-21-535	Hojas de geranio	Clon A	1A2	160	2.00	
LPV-021-536	Hojas de geranio	Clon A	1A3	155	2.07	
LPV-21-537	Hojas de geranio	Clon B	1B1	165	2.46	
LPV-21-538	Hojas de geranio	Clon B	1B2	145	2.42	
LPV-21-539	Hojas de geranio	Clon B	1B3	140	2.25	

**Tabla 41.** Cuadro con resultados de cuarta extracción y análisis de ADN en Clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle UVG, Guatemala. 18/10/2021-15/02/2022.



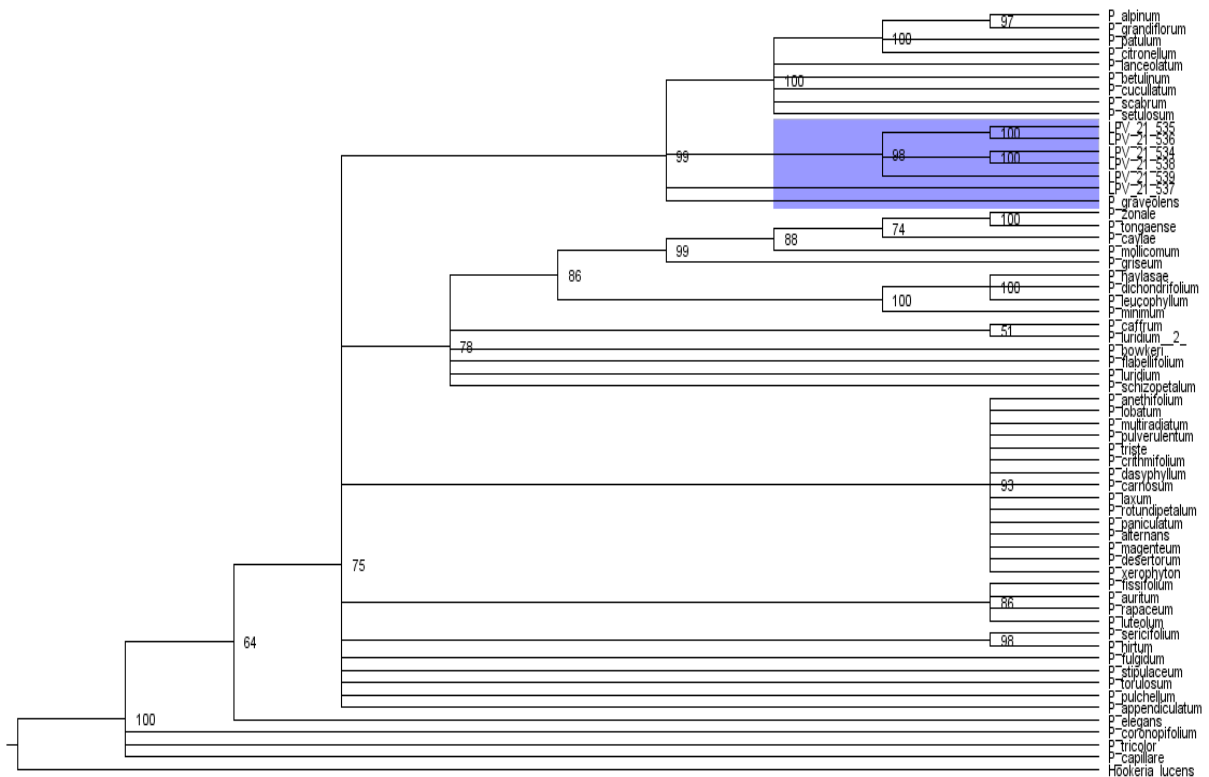
**Figura 42.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a varios Géneros y varias especies de Geraniales con los Clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de olor, utilizando la secuencia consenso del gen trnL-trnL, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022.





**Figura 43.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a varios Géneros y varias especies de Geraniales con los Clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de olor, utilizando la secuencia consenso del gen *trnL-trnF*, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022.





**Figura 45.** Árbol filogenético construido como resultado del cuarto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a *Pelargonium spp* y varias especies de dicho Género con los Clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de olor, utilizando la secuencia consenso del gen trnL-trnL, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 18/10/2021-15/02/2022.



**Tabla 42.** Cuadro con secuencias para Género *Pelargonium spp*, otros Géneros y especies con código de acceso obtenidas como accesiones genéticas del NCBI/EUA y utilizadas para construir árbol filogenético para las regiones trnT-trnL y trnL-trnL-trnL. 18/10/2021-15/02/2022

	Especie	Acceso NCBI
1	<i>Pelargonium auritum</i>	AF036064.1
2	<i>Pelargonium grandiflorum</i>	AF036074.1
3	<i>Pelargonium cucullatum</i>	AF036079.1
4	<i>Pelargonium graveolens</i>	AF036082.1
5	<i>Pelargonium elegans</i>	AF036086.1
6	<i>Pelargonium havlasae</i>	AF036037.1
7	<i>Pelargonium dichondrifolium</i>	AF036038.1
8	<i>Pelargonium leucophyllum</i>	AF036039.1
9	<i>Pelargonium minimum</i>	AF036040.1
10	<i>Pelargonium anethifolium</i>	AF036041.1
11	<i>Pelargonium lobatum</i>	AF036042.1
12	<i>Pelargonium multiradiatum</i>	AF036043.1
13	<i>Pelargonium pulverulentum</i>	AF036044.1
14	<i>Pelargonium triste</i>	AF036045.1
15	<i>Pelargonium crithmifolium</i>	AF036046.1
16	<i>Pelargonium dasyphyllum</i>	AF036047.1
17	<i>Pelargonium carnosum</i>	AF036048.1
18	<i>Pelargonium laxum</i>	AF036049.1
19	<i>Pelargonium rotundipetalum</i>	AF036050.1
20	<i>Pelargonium paniculatum</i>	AF036051.1

21	<i>Pelargonium alternans</i>	AF036052.1
22	<i>Pelargonium magenteum</i>	AF036053.1
23	<i>Pelargonium desertorum</i>	AF036054.1
24	<i>Pelargonium xerophyton</i>	AF036055.1
25	<i>Pelargonium fulgidum</i>	AF036056.1
26	<i>Pelargonium sericifolium</i>	AF036057.1
27	<i>Pelargonium stipulaceum</i>	AF036058.1
28	<i>Pelargonium torulosum</i>	AF036059.1
29	<i>Pelargonium hirtum</i>	AF036060.1
30	<i>Pelargonium pulchellum</i>	AF036061.1
31	<i>Pelargonium appendiculatum</i>	AF036062.1
32	<i>Pelargonium fissifolium</i>	AF036063.1
33	<i>Pelargonium rapaceum</i>	AF036065.1
34	<i>Pelargonium luteolum</i>	AF036066.1
35	<i>Pelargonium caffrum</i>	AF036067.1
36	<i>Pelargonium bowkeri</i>	AF036068.1
37	<i>Pelargonium flabellifolium</i>	AF036069.1
38	<i>Pelargonium luridum</i>	AF036070.1
39	<i>Pelargonium luridum (2)</i>	AF036071.1
40	<i>Pelargonium schizopetalum</i>	AF036072.1
41	<i>Pelargonium alpinum</i>	AF036073.1
42	<i>Pelargonium lanceolatum</i>	AF036075.1
43	<i>Pelargonium patulum</i>	AF036076.1
44	<i>Pelargonium citronellum</i>	AF036077.1
45	<i>Pelargonium betulinum</i>	AF036078.1

46	<i>Pelargonium scabrum</i>	AF036080.1
47	<i>Pelargonium setulosum</i>	AF036081.1
48	<i>Pelargonium coronopifolium</i>	AF036083.1
49	<i>Pelargonium tricolor</i>	AF036084.1
50	<i>Pelargonium capillare</i>	AF036085.1
51	<i>Pelargonium caylae</i>	AF036087.1
52	<i>Pelargonium zonale</i>	AF036088.1
53	<i>Pelargonium tongaense</i>	AF036089.1
54	<i>Pelargonium mollicomum</i>	AF036090.1
55	<i>Pelargonium griseum</i>	AF036091.1
56	<i>Hookeria lucens</i>	GU570196.1
57	<i>Hypseocharis pimpinellifolia</i>	HE795472.1
58	<i>Monsonia angustifolia</i>	KR738180.1
59	<i>Monsonia angustifolia</i>	KR738699.1
60	<i>Geranium pyrenaicum</i>	KU350689.1
61	<i>Geranium rotundifolium</i>	KU350691.1
62	<i>Geranium sylvaticum</i>	KU350693.1
63	<i>Erodium malacoides</i>	KY568952.1
64	<i>Erodium somanum</i>	KY568959.1
65	<i>Erodium sibthorpiatum</i>	KY568960.1
66	<i>Viviania albiflora</i>	MK807020.1

**Tabla 43.** Cuadro con secuencias para Género *Pelargonium* spp y especies con código de Acceso obtenidas como accesiones genéticas del NCBI/EUA y utilizadas para construir árbol filogenético para la región trnL-trnF. 18/10/2021-15/02/2022.

No.	Especie	Acceso NCBI
1	<i>Pelargonium denticulatum</i>	AY352850.1
2	<i>Pelargonium graveolens</i>	HE795475.1
3	<i>Pelargonium incrassatum</i>	JQ479193.1
4	<i>Pelargonium cucullatum</i>	KF696530.1
5	<i>Pelargonium pulchellum</i>	AF036061.1
6	<i>Pelargonium grandicalcaratum</i>	AF167148.1
7	<i>Pelargonium hermaniifolium</i>	AY352854.1
8	<i>Pelargonium hispidum</i>	AY352855.1
9	<i>Pelargonium radens</i>	AY352867.1
10	<i>Pelargonium socotrana</i>	AY352869.1
11	<i>Pelargonium sublignosum</i>	AY352870.1
12	<i>Pelargonium tomentosum</i>	AY352874.1
13	<i>Pelargonium vitifolium</i>	AY352879.1
14	<i>Pelargonium luridum</i>	KF696517.1
15	<i>Pelargonium brevipetalum</i>	KF696518.1
16	<i>Pelargonium parviflorum</i>	KF696519.1
17	<i>Pelargonium ceratophyllum</i>	KF696520.1
18	<i>Pelargonium klinghardtense</i>	KF696521.1
19	<i>Pelargonium triste</i>	KF696522.1
20	<i>Pelargonium radulifolium</i>	KF696523.1
21	<i>Pelargonium pulverulentum</i>	KF696524.1



22	<i>Pelargonium mirabile</i>	KF696525.1
23	<i>Pelargonium crassicaule</i>	KF696526.1
24	<i>Pelargonium xerophyton</i>	KF696527.1
25	<i>Pelargonium desertorum</i>	KF696528.1
26	<i>Pelargonium burgerianum</i>	KF696529.1
27	<i>Pelargonium cucullatum</i> subsp. <i>Cucullatum</i>	KF696530.1
28	<i>Pelargonium crispum</i>	KF696531.1
29	<i>Pelargonium glutinosum</i>	KF696532.1
30	<i>Pelargonium quercifolium</i>	KF696533.1
31	<i>Pelargonium nanum</i>	KF696534.1
32	<i>Pelargonium odoratissimum</i>	KF696535.1
33	<i>Pelargonium sidoides</i>	KF696536.1
34	<i>Pelargonium cotyledonis</i>	KF696537.1
35	<i>Pelargonium columbinum</i>	KF696538.1
36	<i>Pelargonium rodneyanum</i>	KF696539.1
37	<i>Pelargonium minimum</i>	KF696540.1
38	<i>Pelargonium transvaalense</i>	KF696541.1
39	<i>Pelargonium caylae</i>	KF696542.1
40	<i>Pelargonium endlicherianum</i>	KF696543.1
41	<i>Pelargonium quercetorum</i>	KF696544.1
42	<i>Pelargonium otaviense</i>	KF696545.1
43	<i>Pelargonium frutetorum</i>	KF696546.1
44	<i>Pelargonium inquinans</i>	KF696547.1
45	<i>Pelargonium zonale</i>	KF696548.1
46	<i>Pelargonium multibracteatum</i>	KF696549.1

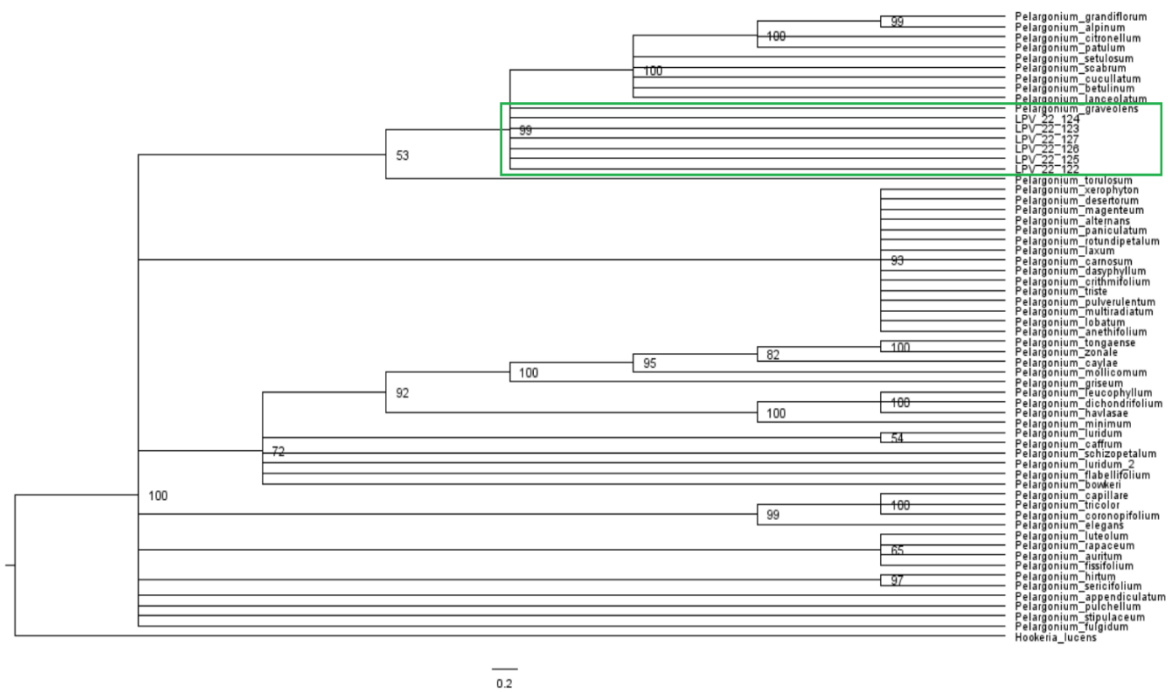
47	<i>Pelargonium myrrhifolium</i> var. <i>Myrrhifolium</i>	KF696550.1
48	<i>Pelargonium candicans</i>	KF696551.1
49	<i>Pelargonium mollicomum</i>	KF696552.1
50	<i>Pelargonium tetragonum</i>	KF696553.1
51	<i>Pelargonium boranense</i>	KF696554.1
52	<i>Pelargonium antidysentericum</i> subsp. <i>antidysentericum</i>	KF696555.1
53	<i>Pelargonium tragacanthoides</i>	KF696556.1
54	<i>Pelargonium filifolium</i>	MF151146.1
55	<i>Pelargonium drummondii</i>	Z95279.1
56	<i>Pelargonium australe</i>	Z95280.1
57	<i>Pelargonium exstipulatum</i>	Z95284.1
58	<i>Pelargonium ionidiflorum</i>	Z95285.1
59	<i>Pelargonium reniforme</i>	Z95286.1
60	<i>Pelargonium album</i>	Z95287.1
61	<i>Pelargonium grossularioides</i>	Z95288.1
62	<i>Pelargonium grossularioides</i>	Z95289.1
63	<i>Pelargonium hypoleucum</i>	Z95291.1
64	<i>Pelargonium anceps</i> subsp. <i>Geniculatum</i>	Z95292.1
65	<i>Pelargonium cotyledonis</i> (2)	Z95294.1
66	<i>Pelargonium pseudofumarioides</i>	Z95295.1
67	<i>Pelargonium nanum</i> (2)	Z95296.1
68	<i>Pelargonium gibbosum</i>	Z95298.1
69	<i>Pelargonium althaeoides</i>	Z95299.1
70	<i>Pelargonium buysii</i>	Z95301.1
71	<i>Festuca baffinensis</i>	AH015554.2

72	<i>Sarcocaulon vanderietiae</i>	AF167150.1
73	<i>Monsonia senegalenis</i>	AY036179.1
74	<i>Acrocladium auriculatum</i>	AY306688.1
75	<i>Hypseocharis bilobata</i>	AY352842.1
76	<i>California macrophylla</i>	DQ072013.1
77	<i>California macrophylla</i>	DQ072015.1
78	<i>Greyia flanaganii</i>	DQ435379.1
79	<i>Greyia radlkoferia</i>	DQ435380.1
80	<i>Bersama lucens</i>	DQ435381.1
81	<i>Bersama swinnyi</i>	DQ435382.1
82	<i>Melianthus comosus</i>	DQ435388.1
83	<i>Melianthus elongatus</i>	DQ435398.1
84	<i>Francoa appendiculata</i>	DQ452889.1
85	<i>Balbisia microphylla</i>	DQ459009.1
86	<i>Wendtia gracilis</i>	HE795454.1
87	<i>Balbisia verticillata</i>	HE795457.1
88	<i>Combretum coccineum</i>	HE795459.1
89	<i>Francoa sonchifolia</i>	HE795464.1
90	<i>Rhynchotheca spinosa</i>	HE795478.1
91	<i>Ribes densiflorum</i>	HE795479.1
92	<i>Ribes griffithii</i>	HE795480.1
93	<i>Tetilla hydrocotylifolia</i>	HE795481.1
94	<i>Viviania elegans</i>	HE795483.1
95	<i>Viviania ovata</i>	HE795485.1
96	<i>Erodium guttatum</i>	KF696504.1

97	<i>Erodium manescavi</i>	KF696505.1
98	<i>Geranium ibericum</i>	KF696506.1
99	<i>Geranium psilostemon</i>	KF696507.1
100	<i>Monsonia crassicaulis</i>	KF696508.1
101	<i>Monsonia speciosa</i>	KF696509.1
102	<i>Geranium kauaiense</i>	KY761955.1
103	<i>Geranium subulatostipulatum</i>	KY761957.1
104	<i>Geranium vulcanicola</i>	KY761958.1

**Tabla 44.** Cuadro con resultados de quinta extracción y análisis de ADN en Clones A y B y tres plantas por Clon de Geranio de olor cultivadas en Cantón Palo de Campana, Santa Ana, El Salvador. Análisis realizados en Laboratorio de Protección Vegetal, Instituto de Investigaciones Agrícolas y Alimentarias C.E.A.A., Universidad del Valle UVG, Guatemala. 21/03/2022-26/04

Código LPV	Tipo de muestra	Variedad	Identificación del cliente	Cuantificación de ADN (ng/μL)	Pureza de ADN	Resultados de secuenciación
LPV-22-122	Hojas de geranio	Clon A1	Parcela Palo de Campana	25	2.00	Se realizó una comparación de secuencias por medio de árboles filogenéticos entre las distintas especies de <i>Pelargonium</i> sp. para la región de cloroplasto: trnL-trnL.
LPV-22-123	Hojas de geranio	Clon A2	Parcela Palo de Campana	50	1.71	
LPV-22-124	Hojas de geranio	Clon A3	Parcela Palo de Campana	150	1.88	
LPV-22-125	Hojas de geranio	Clon B1	Parcela Palo de Campana	105	1.71	
LPV-22-126	Hojas de geranio	Clon B2	Parcela Palo de Campana	90	1.73	
LPV-22-127	Hojas de geranio	Clon B3	Parcela Palo de Campana	155	2.00	



**Figura 47.** Árbol filogenético construido como resultado del quinto proceso de extracción de ADN, amplificación por PCR y electroforesis con agarosa relacionando a *Pelargonium spp* y varias especies de dicho Género con los Clones A y B y tres plantas por cada clon de Geranio de olor, utilizando la región del cloroplasto en trnL-trnL, realizados en Laboratorio de Protección Vegetal del Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios C.E.A.A. de la Universidad del Valle UVG, Guatemala en fecha 21/03/2022-26/04/2022.

**Tabla 45.** Cuadro con secuencias para Género *Pelargonium spp* y especies con código de acceso obtenidas como accesiones genéticas del NCBI/EUA y utilizadas para construir árbol filogenético para la región trnL-trnL. 21/03/2022-26/04/2022

No.	Especie	Acceso NCBI
1	<i>Pelargonium auritum</i>	AF036064.1
2	<i>Pelargonium grandiflorum</i>	AF036074.1
3	<i>Pelargonium cucullatum</i>	AF036079.1
4	<i>Pelargonium graveolens</i>	AF036082.1
5	<i>Pelargonium elegans</i>	AF036086.1
6	<i>Pelargonium havlasae</i>	AF036037.1
7	<i>Pelargonium dichondrifolium</i>	AF036038.1
8	<i>Pelargonium leucophyllum</i>	AF036039.1
9	<i>Pelargonium minimum</i>	AF036040.1
10	<i>Pelargonium anethifolium</i>	AF036041.1
11	<i>Pelargonium lobatum</i>	AF036042.1
12	<i>Pelargonium multiradiatum</i>	AF036043.1
13	<i>Pelargonium pulverulentum</i>	AF036044.1
14	<i>Pelargonium triste</i>	AF036045.1
15	<i>Pelargonium crithmifolium</i>	AF036046.1
16	<i>Pelargonium dasyphyllum</i>	AF036047.1
17	<i>Pelargonium carnosum</i>	AF036048.1
18	<i>Pelargonium laxum</i>	AF036049.1
19	<i>Pelargonium rotundipetalum</i>	AF036050.1

20	<i>Pelargonium paniculatum</i>	AF036051.1
21	<i>Pelargonium alternans</i>	AF036052.1
22	<i>Pelargonium magenteum</i>	AF036053.1
23	<i>Pelargonium desertorum</i>	AF036054.1
24	<i>Pelargonium xerophyton</i>	AF036055.1
25	<i>Pelargonium fulgidum</i>	AF036056.1
26	<i>Pelargonium sericifolium</i>	AF036057.1
27	<i>Pelargonium stipulaceum</i>	AF036058.1
28	<i>Pelargonium torulosum</i>	AF036059.1
29	<i>Pelargonium hirtum</i>	AF036060.1
30	<i>Pelargonium pulchellum</i>	AF036061.1
31	<i>Pelargonium appendiculatum</i>	AF036062.1
32	<i>Pelargonium fissifolium</i>	AF036063.1
33	<i>Pelargonium rapaceum</i>	AF036065.1
34	<i>Pelargonium luteolum</i>	AF036066.1
35	<i>Pelargonium caffrum</i>	AF036067.1
36	<i>Pelargonium bowkeri</i>	AF036068.1
37	<i>Pelargonium flabellifolium</i>	AF036069.1
38	<i>Pelargonium luridum</i>	AF036070.1
39	<i>Pelargonium luridum</i> (2)	AF036071.1
40	<i>Pelargonium schizopetalum</i>	AF036072.1
41	<i>Pelargonium alpinum</i>	AF036073.1



42	<i>Pelargonium lanceolatum</i>	AF036075.1
43	<i>Pelargonium patulum</i>	AF036076.1
44	<i>Pelargonium citronellum</i>	AF036077.1
45	<i>Pelargonium betulinum</i>	AF036078.1
46	<i>Pelargonium scabrum</i>	AF036080.1
47	<i>Pelargonium setulosum</i>	AF036081.1
48	<i>Pelargonium coronopifolium</i>	AF036083.1
49	<i>Pelargonium tricolor</i>	AF036084.1
50	<i>Pelargonium capillare</i>	AF036085.1
51	<i>Pelargonium caylae</i>	AF036087.1
52	<i>Pelargonium zonale</i>	AF036088.1
53	<i>Pelargonium tongaense</i>	AF036089.1
54	<i>Pelargonium mollicomum</i>	AF036090.1
55	<i>Pelargonium griseum</i>	AF036091.1
56	<i>Hookeria lucens</i>	GU570196.1



Figura 48. Gráfico con ubicación geográfica de República de El Salvador en el Mundo.

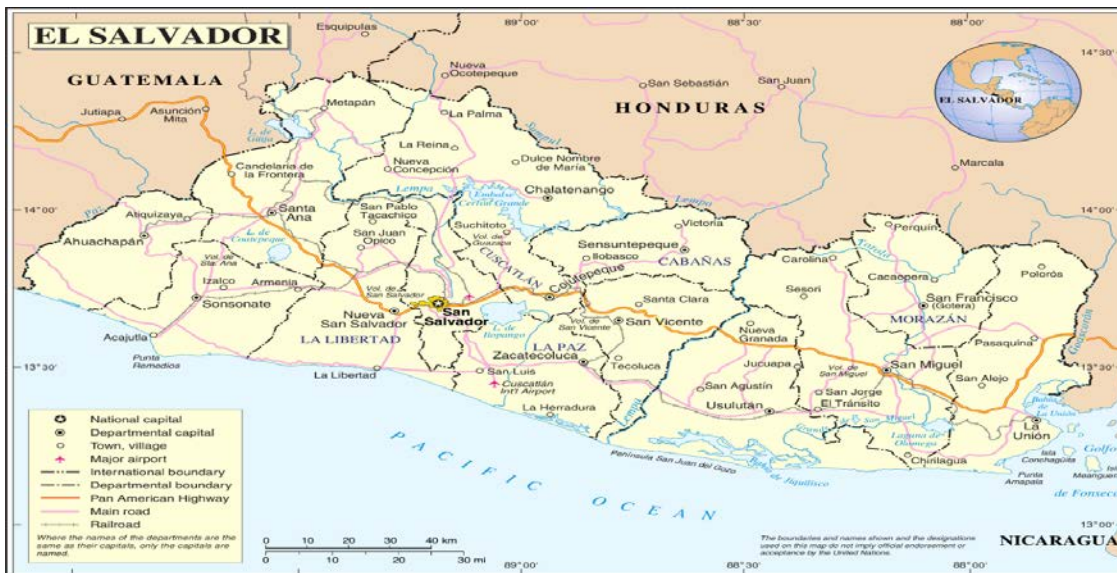


Figura 49. Mapa oficial de República de El Salvador, Centro América.

## 10.0. Glosario de términos.

**Abaxial:** En Botánica, cara inferior de una hoja.

**Absoluto** Es el aceite que se obtiene por el método de extracción de disolventes a partir de un concreto. Un aceite absoluto se caracteriza por ser más denso, más concentrado y con un aroma más fuerte que el de un aceite esencial.

**Accesión** : Unidad de conservación que comprende semillas o plantas que se identifica con un código alfanumérico, y que lo distingue del resto en un banco de germoplasma. También se considera así a una muestra distinta, singularmente identificable de semillas que representa a un cultivar, una línea de cría o una población y que se mantiene almacenada para su conservación y uso.

**Actinomorfa:** en botánica, que tiene simetría radial. Dícese de la flor que queda dividida en dos partes simétricas por cualquier plano que pase por su eje y por la línea media.

**Adaxial** : Haz o parte superior de una hoja.

**ADN** : ácido nucleico constituido por una secuencia particular y estable de nucleótidos , capaz de autorreplicarse y transmitir la información hereditaria de generación en generación.

**ADN Fingerprinting** : Técnica de manipulación molecular que permite la detección de locus polimórficos en el ADN de un individuo, clon o especie con fines de estudio de la diversidad genética y otros fines (Sinónimo : huella dactilar genética).

**ADN genómico** : término que se usa para distinguir al ADN cromosómico (aislado de directamente de células o tejidos) de otros tipos de ADN como el ADN contenido en un plásmido o una mitocondria.

**Alelo** : así se denomina a las distintas formas alternativas que puede presentar un gen.

**Aloenzima** : forma variable que puede adoptar una enzima según el individuo.

**Amplición** : fragmento de ADN formado mediante una amplificación; se suele referir a los productos amplificados en una PCR.

**Androceo** : en botánica, verticilo floral masculino y fértil de algunas plantas formado por los estambres.

**Angiosperma** : grupo de plantas fanerógamas cuyos carpelos forman una cavidad cerrada u ovario, dentro del cual están las semillas , las cuales se desarrollan dentro del fruto.

**Aserrado** : tipo de hoja que tiene todos los ángulos agudos. Borde tiene múltiples pequeños dientes inclinados como una sierra.

**Bioprospección** : Actividad de exploración y colecta de muestras de recursos fitogenéticos de una especie cultivada.

**Calliclon** : en cultivo de tejidos vegetales, es un clon que se ha obtenido a partir de un "callo"; siendo éste, un conjunto de células vegetales no diferenciadas y en proceso constante de división celular.

**Capitado** : que es más engrosado hacia la extremidad y con la forma de una cabeza.

**Capítulo** : inflorescencia racemosa con flores sésiles insertas en un receptáculo común , rodeado por un involucre.

**Carácter** : Término usado para designar cualquier forma, atributo o función de una planta. Cada una de las particularidades morfológicas o fisiológicas de un ser vivo.

**Caracterización molecular** : detección de variantes en las secuencias de ADN , que no son afectados por el ambiente , cuando se comparan distintos fenotipos, poblaciones o especies.

**Cariológica** : en Biología , se refiere a lo correspondiente a los cariotipos , que son los patrones cromosómicos de las especies de los seres vivos, animales o vegetales.

**Clado** : En Biología se le llama así a cada una de las ramas del árbol filogenético propuesto para agrupar a los seres vivos. Un Clado se interpreta como a un conjunto de especies emparentadas entre sí y con un antepasado común. Grupo o taxón formado por una sola especie y todos sus descendientes formando una sola rama

**Clon** : en Botánica, conjunto de plantas con idéntico componente hereditario , derivado de una planta madre seleccionada a través de un método de propagación asexual (porción de planta como ramas, acodos, injertos, etc).

**Concreta o concreto**: es el producto sólido o semisólido que se obtiene por la extracción de moléculas olorosas a partir de una materia prima vegetal mediante solventes volátiles, éstos son eliminados generalmente por medio de filtros teniéndose entonces a la concreta.

**Cultivar** : conjunto de plantas cultivadas que se distinguen de otras por sus caracteres morfológicos, fisiológicos, genéticos u otros de carácter agronómico ó económico y que al reproducirse (sexual o asexualmente) conservan sus caracteres distintivos.

**Destilado** : proceso que consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasen a la fase de vapor para posteriormente enfriar el vapor hasta recuperar estos componentes en forma líquida mediante un proceso de condensación.

**Diploide** : que presenta en su núcleo dos juegos de cromosomas homólogos. Presencia de dos conjuntos completos de cromosomas en las células de un organismo. Se refiere a que cada célula de un organismo tiene dos copias de cada tipo de cromosomas.

**Especie** : Grupos de poblaciones de plantas con caracteres morfológicos semejantes y distintivos ; con capacidad real o potencial de intercruzarse entre sí y que están dentro de lo posible, aislados reproductivamente de otros grupos semejantes.

**Esquizocarpo** : Tipo de fruto seco e indehiscente que procede de flores que presentan varios carpelos soldados , cada uno con una sola semilla y que al madurar se fragmenta en tantas porciones como carpelos tenga, denominándose a cada trozo un mericarpo. Es tipo de fruto característico de familia Geraniaceae.

**Éster:** compuesto químico formado por la sustitución del hidrógeno de un ácido orgánico por un radical alcohólico. Los ésteres de pocos átomos de carbono son líquidos volátiles de olor agradable generalmente afrutado y poco solubles en agua.

**Estilo :** parte superior del gineceo , en forma de estilete , intermediaria entre el estigma y el ovario.

**Estípula :** estructura usualmente laminar que se forma a cada lado de la base foliar de una planta vascular.

**Eucariota :** es el organismo que está constituido por células que presentan un núcleo diferenciado , protegido por una membrana y con citoplasma organizado.

**Fenotipo :** conjunto de caracteres percibibles y diferenciables en un individuo como consecuencia de la expresión de sus genes. Es la manifestación externa o aparente del genotipo. Genotipo + acción ambiental = Fenotipo.

**Fingerprinting :** fragmentos característicos del material genético que diferencian a un individuo de otro. Conocido también como huella molecular.

**Gen :** La unidad estructural, funcional y de recombinación hereditaria . Secuencia de nucleótidos en el ADN que da lugar a la formación de sustancias proteicas y no proteicas. Es la unidad de material hereditario. Es un fragmento de ácido nucleico , generalmente ADN(salvo en algunos virus que es ARN). Que lleva la información para un carácter.

**Genotipo :** El acervo genético completo de un organismo. Comprende los factores hereditarios nucleares y extranucleares de sus células. Es la constitución genética de un individuo.

**Geófito :** planta criptófita con yemas de renuevo debajo de la superficie del suelo.

**Glabrescente :** es Botánica se aplica a órgano vegetal que tiene muy poco vello, que no tiene o lo ha perdido.

**Glabro** : que está desprovisto de pelos y glándulas. Denominación dada a organismos o a sus partes que no presentan vellos.

**Graveolens** : Epíteto del Latín que significa “ con fuerte olor”.

**Hastada** : se refiere a hojas que presentan en su base a dos lóbulos divergentes.

**Hemostático** : sustancia que sirve para contener o detener una hemorragia.

**Heterocigótico** : cuando el par de alelos son distintos entre sí, determinan el carácter de forma diferente.

**Hipógina** : dícese de planta con los órganos florales nacidos por debajo de del ovario.

**Homocigótico** : cuando los dos alelos de un gen que aparecen en un organismo diploide , son idénticos entre sí.

**Huella molecular** : representación gráfica de determinadas secuencias del genoma que funcionan como un código de barras de la identidad de un individuo.

**Iniciadores** : también denominados cebadores o primers , son oligonucleótidos sintéticos (utilizados en la PCR), que hibridan con la región complementaria al ADN molde que se desea amplificar y propician el inicio de la reacción de elongación por la ADN polimerasa.

**Isoenzima** : enzima que cumple la misma función pero difieren ligeramente en su estructura primaria y por lo tanto, en su carga eléctrica.

**Loculicida** : dehiscencia producida en el fruto cuando se abre a través de los nervios medios de los carpelos con dehiscencia longitudinal hacia la cavidad del lóculo.

**Locus** (Plural Loci) : posición que ocupa un determinado gen sobre un cromosoma.

**Marcador genético** : cualquier atributo que puede ser identificable morfológicamente , bioquímicamente o molecularmente en una planat o cultivar.

**Marcador molecular** : una secuencia específica de nucleótidos que permite localizar un gen de interés con mayor exactitud , en ausencia del efecto ambiental en la expresión de esos genes. Un marcador genético o marcador molecular es un segmento de ADN con una ubicación física identificable en un cromosoma y cuya herencia se puede rastrear. Un marcador puede ser un gen o puede ser una sección del ADN sin función conocida.

**Mericarpo**: cada una de las unidades o porciones en que se fragmenta un fruto esquizocarpo y que procede cada una de un carpelo.

**Monofilia**: relación filogenética que consiste en agrupar organismos de todos los descendientes de un único ancestro común y cuya historia evolutiva se destaca por compartir características derivadas.

**Nucleótido**: monómero de los ácidos nucleicos, integrado por la combinación de una base nitrogenada (purina o pirimidina), un azúcar (ribosa o desoxirribosa) y un grupo fosfato. Se obtiene como producto de la hidrólisis de ácidos nucleicos por acción de nucleasas.

**Número CAS**: Identificador único e inequívoco para las sustancias químicas. Identificación numérica única para compuestos químicos, polímeros, secuencias biológicas, preparados y aleaciones.

**Oleoresina** : extracto semisólido compuesto de una resina en solución en un aceite esencial o graso obtenido por la evaporación del solvente utilizado para su producción.

**Orbicular** : de forma circular o redonda.

**Palmatilobada**: Hoja palmeada que está dividida en lóbulos muy marcados y más o menos redondeados.

**Peltado/a** : hoja en la que el pecíolo se inserta en el centro.

**Pentámera/o** : ciclo floral formado por cinco piezas.



**Pinnada** : en botánica, hoja que está compuesta de hojuelas insertas a uno y otro lado del pecíolo y dispuestas en ángulo recto con respecto a un eje central.

**Pinnatífida**: hoja con nerviación pinnada, con el limbo dividido en lóbulos que como mucho llegan a la mitad del espacio entre el margen de la hoja y el nervio medio.

**Plástido o plastidio** : organelo presente en las células de tipo Eucarionta , cuya finalidad es generar y acumular ciertas sustancias químicas.

**Población** : grupo de plantas con caracteres semejantes y diferenciales capaces de reproducirse sexualmente , coexistir y evolucionar a través del tiempo.

**Polimorfismo** : variantes alélicas de un mismo gen cuyos fenotipos se expresan en forma diferente.

**Poliploide** : se refiere a un organismo, un tejido, una célula ó un núcleo que posee un juego múltiple de cromosomas.

**Pubescente**: en Botánica que tiene vellos.

**Recursos fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (RFAA)** : Cualquier material genético de origen vegetal de valor real o potencial para la alimentación y la agricultura (Definición del Tratado Internacional sobre RFAA 2001).

**Reproducción asexual** : sistema reproductivo en el que no intervienen los gametos; la propagación es por semilla vegetativa y los descendientes son genéticamente idénticos a la planta madre.

**Revoluto** : En Botánica , cuando las hojas durante la vernación se encorvan por sus bordes sobre el envés o cara inferior.

**Rostrato** : objeto u órgano terminado en punta parecido al pico de una ave.

**Sápida** : dícese de la substancia que tiene algún sabor que sabe a algo.

**Seudoumbela** : es un cimoido o pleiocasio modificado con ejes muy acortados y flores pediceladas. Ejemplo : *Pelargonium spp.*

**Sincarpo** : conjunto de frutos soldados entre sí , provenientes de la misma o de distintas flores. Es tipo de fruto que ha resultado de la fusión de varios frutos generalmente que provienen de una sola flor.

**Subgenérico** : que está relacionado o que constituye un subgénero.

**Sufruticosa** : en botánica planta que está lignificada en la base y con el tallo herbáceo.

**Taxa** : Es el término plural de taxón.

**Taxón** : se refiere a una categoría taxonómica , como familia, género, especie y posibles rangos infra-específicos (por ejemplo, subespecies y variedades botánicas).

**Terpeno** : Son compuestos orgánicos aromáticos y volátiles que se forman por la unión de hidrocarburos de cinco carbonos llamados Isoprenos. Son metabolitos secundarios que dan las características organolépticas (aroma y sabor) de las plantas y que constituyen la mayor parte de los aceites esenciales producidos por plantas aromáticas. Es un compuesto orgánico derivado del isopreno, hidrocarburo de cinco átomos de carbono.

**Tracheobionta** : taxón de plantas que abarca a las traqueófitas o sean las plantas vasculares que son las que disponen de hojas, tallo y raíces y que tienen sistema vascular formado por vasos conductores.

**Trífida ó trifido** : se aplica al órgano que está dividido en tres partes.

**Umbela** : en Botánica , se refiere al tipo de inflorescencia en que las flores agrupadas nacen de un mismo punto del tallo y se elevan a igual altura dando a la inflorescencia el aspecto de una sombrilla.

**Unguiculado** : que termina en uña .

**Vernación** : Disposición de los primordios foliares dentro de la yema, antes de la apertura de la misma y el desarrollo foliar completo.

**Vulnerario** : que cura o mejora llagas y heridas.

**Zigomorfo** : organismo u órgano que solo tiene un plano de simetría. En Botánica, dicho de una estructura vegetal, en especial de una flor que muestra simetría bilateral pero no polisimetría.

**Zona agroecológica**: un área geográfica con características similares en términos de clima, relieve y los suelos, y/o cobertura de la tierra, y un rango específico de potencial y limitaciones para el uso de la tierra.