



Diversidad genética de especies silvestres y cultivadas de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia.

Cancino-Escalante Giovanni Orlando ¹, Barbosa Hernández Dámarys Sileidy, Carvajal Claudia Díaz.

¹Departamento de Biología y Química, Universidad de Pamplona. Pamplona, Colombia.

Resumen

Analizar las tasas de similitud y variabilidad genética entre las accesiones cultivadas elite y especies silvestres del género *Rubus* con marcadores moleculares AFLP en fincas con cultivos comerciales de *Rubus glaucus* Benth, pertenecientes a cuatro asociaciones de cultivadores de mora en los municipios de Pamplona y Chitagá (Norte de Santander, Colombia). Se evaluaron individuos de 15 accesiones de *R. glaucus* que habían sido previamente seleccionados mediante mecanismos de selección participativa en fincas comerciales y tres especies silvestres (*R. adenotrichus*, *R. bogotensis* y *R. rosifolius*). Se emplearon 3 combinaciones de cebadores de AFLPs previamente reportados como polimórficos y reproducibles para *Rubus*, con el propósito de analizar el patrón molecular de las plantas de cada accesión seleccionada. Se efectuó un análisis de agrupamiento y un análisis de coordenadas principales con AFLP, que permitió agrupar las diferentes accesiones por su semejanza o disimilitud. Para el análisis de agrupamiento se utilizó el índice de similitud de Dice y el algoritmo de agrupamiento jerárquico UPGMA. Se contabilizaron 194 marcadores, 34,16% de los cuales fueron polimórficos. Estos resultados, alcanzados por primera vez en la región nororiental de Colombia (Provincia de Pamplona) en *Rubus*, son importantes ya que representan el primer estudio sobre el conocimiento de la diversidad genética de *Rubus* en la región de Pamplona. Adicionalmente se determinó la huella genómica de genotipos elite de *R. glaucus* seleccionados por mecanismos de selección participativa, contribuyendo a los programas de mejoramiento genético de la mora de castilla y al manejo sostenible de la diversidad genética en Colombia y en la región Andina.

Palabras clave: *Rubus glaucus*, AFLP, distancias genéticas, reconocimiento, taxa, descriptores, análisis de agrupamiento y coordenadas principales.

Genetic diversity of wild and cultivated species of *Rubus* L. municipalities of Pamplona and Chitagá, northeastern Colombia

Abstract

Analyze similarity rates and genetic variability between elite cultivated accessions and wild genus *Rubus* species with AFLP markers in commercial *Rubus glaucus* farms, owned by four blackberry growers association in the municipalities of Pamplona and Chitagá (Northeast of Santander, Colombia). Individuals of 15 previously selected accessions of *R. glaucus* and three wild species (*R. adenotrichus*, *R. bogotensis* y *R. rosifolius*), using participatory varietal selection were evaluated. Three combinations of AFLPs primers, previously reported as polymorphic and reproducible for *Rubus*, with the purpose of analyzing the plants molecular pattern of each accession were used. A conglomerate analysis was used to group the different accessions according to its similarity or dissimilarity. For the cluster analysis the samples were hierarchically grouped using the Dice coefficient (or similarity index) and the UPGMA methods. Of the 194 scored markers, 34.16% were polymorphic. These results are important because they represent the first study of the genetic diversity of *Rubus* in the north eastern region of Colombia (Province of Pamplona). In addition, the genomic fingerprint of elite *R. glaucus* genotypes using participatory varietal selection, contributes to the genetic improvement programs of blackberry and the sustainable management of genetic diversity in Colombia and the Andean Region.



Key words: *Rubus glaucus*, AFLP, genetic distances, recognition, taxa, descriptors, cluster analysis.

Resumo

A diversidade genética de espécies silvestres e cultivadas de *Rubus* L. municípios de Pamplona e Chitagá, nordeste da Colômbia

Analisar as taxas de similaridade e variabilidade genética entre acessos e da elite de espécies cultivadas do gênero *Rubus* com marcadores moleculares AFLP em culturas fazendas de *Rubus glaucus* Benth, de quatro associações de produtores habita nos municípios de Pamplona e Chitagá (Norte Santander, Colômbia). 15 indivíduos foram avaliados os acessos *R. glaucus* que havia sido previamente selecionados através de mecanismos participativos de seleção em fazendas comerciais e três espécies selvagens (*R. adenotrichus*, *R. bogotensis* e *R. rosifolius*) foram usados para combinações de iniciadores AFLP como anteriormente relatados e reprodutíveis *Rubus* polimórficas, com a finalidade de analisar o padrão molecular das plantas selecionadas por adesão. Foi realizada uma análise de cluster e análise de coordenadas principais com AFLP, o que permitiu diferentes acessos agrupados por semelhança ou dissemelhança. Para a análise de agrupamento foi utilizado o índice de similaridade de Dice e UPGMA algoritmo de agrupamento hierárquico. 194 marcadores foram contados, 34,16% eram polimórficos. Estes resultados, obtidos pela primeira vez na região nordeste da Colômbia (Província de Pamplona) em *Rubus*, são importantes, pois representam o primeiro estudo sobre o conhecimento da diversidade genética de *Rubus* na região de Pamplona. Além disso, foi determinado os genótipos pegada genômicas de elite da *R. glaucus* selecionado mecanismos de seleção participativas que contribuam para os programas de melhoramento genético de padrão de amora e da gestão sustentável da diversidade genética na Colômbia e na região andina.

Palavras-chave: *Rubus glaucus*, as distâncias genéticas AFLP, reconhecimento, taxa, descritores, análise de agrupamento e de coordenadas principais.

*Para citar este artículo: Cancino-Escalante GO., Barbosa Hernández DS., Díaz-Carvajal C. Diversidad genética de especies silvestres y cultivadas de *Rubus* L de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. Bistua.2012.10(1):80-89

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Cancino-Escalante GO. Departamento de Biología y Química. Universidad de Pamplona. Pamplona, Colombia. email:gcancino@unipamplona.edu.co

Recibido: Julio 18 de 2011 Aceptado: Septiembre 30 de 2011

Introducción

Los Andes Colombianos son el hábitat natural de especies del género *Rubus*. Se estima entre 700 y 750 especies distribuidas en 12 géneros a nivel mundial, es el género de mayor número de especies dentro de la familia *Rosaceae* (1,2). *Rubus* es altamente heterocigoto con un amplio nivel de ploidia (diploide a dodecaploide), adicionalmente varias especies de los subgéneros *Idaeobatus* y *Rubus* son domesticadas y las conforman frambuesas, moras, frutas árticas y frambuesas con flores (3). El subgénero *Rubus* está ampliamente distribuido en las zonas de alta montaña tropical desde México hasta Ecuador. Las especies de este subgénero son conocidas como las moras de los Andes y zarzamoras en las zonas templadas. Se han reconocido 44 especies, nueve comestibles y más de 500 variedades (1). Las especies determinadas para Colombia incluyen 24 *taxa* (4).

Las especies del subgénero *Rubus* tienen una amplia distribución latitudinal y geográfica en Colombia (5). Adicionalmente presentan la dificultad de ser reconocidos, dada la alta hibridación entre sus especies (6,7). La especie más importante desde el punto de vista agrícola y comercial y que actualmente se cultiva comercialmente de manera masiva en Suramérica es *R. glaucus* Benth. Con relación a Colombia se indica que se están produciendo más de 10.000 toneladas al año de fruta fresca (8,9). En las zonas donde se cultiva comercialmente *R. glaucus* es común encontrar especies silvestres a lo largo de caminos, bosques marginales y en los mismos cultivos comerciales. A pesar del gran potencial de la mora, su manejo agronómico se hace en Colombia a partir de materiales no identificados como élite; productores y viveros propagan los materiales regionales sin normas de

calidad fisiológica y sanitaria ni ofrecen seguridad de la identidad genética del material (10,11).

Las investigaciones sobre diversidad y distribución de especies del género *Rubus* en los cultivos comerciales de *R. glaucus* y cerca de éstos, se han centrado principalmente en Cundinamarca y la zona cafetera (Caldas, Quindío y Risaralda) de Colombia (11) olvidando el gran potencial que presenta la región nororiental de Colombia (Norte de Santander) en especies silvestres y cultivadas del género (12,13). Por lo tanto, es importante apoyar estudios que permitan ampliar el conocimiento sobre diversidad genética en especies silvestres y cultivadas de *Rubus* en otras regiones de Colombia. En consecuencia el presente estudio, planteó como objetivo, evaluar los perfiles genéticos de 15 accesiones de *R. glaucus* seleccionados previamente mediante mecanismos de selección participativa en 53 predios comerciales pertenecientes a cuatro asociaciones de cultivadores de mora de los municipios de Pamplona y Chitagá, región nororiental de Colombia, con el propósito de establecer su identidad y sus relaciones genéticas con tres especies silvestres. Adicionalmente se evaluó el poder de diferenciación que poseen tres combinaciones de cebadores de AFLPs en las accesiones y sus respectivos genotipos y sus relaciones filogenéticas con parientes silvestres (*R. bogotensis*, *R. adenotrichus* y *R. rosifoliosus*) de la misma región, con vistas a garantizar el manejo sostenible de los recursos de que se dispone y como contribución al programa nacional de mejoramiento genético de la mora.

Materiales y métodos

Material Vegetal

En el periodo comprendido entre los meses de marzo de 2009 a noviembre de



2010 se efectuaron salidas de campo para la recolección de muestras de especies silvestres y cultivadas de *Rubus*. Se seleccionaron 51 fincas por presentar condiciones fitosanitarias adecuadas. Posteriormente mediante mecanismos de selección participativa se seleccionaron 15 materiales elite de *R. glaucus*. Igualmente se colectaron individuos silvestres (*R. adenotrichus*, *R. bogotensis* y *R. rosifolius*) cerca de los caminos de las fincas seleccionadas. Los datos de altura sobre el nivel del mar, latitud y longitud se tomaron con un geoposicionador GPS II Plus Garmin Corporation® 2001, con el fin de establecer el sitio preciso de la colección de la muestra. Todas las introducciones fueron registradas con los datos de pasaporte establecidos por el Instituto internacional de recursos filogenéticos (IPGRI). Las fincas se localizan en 14 veredas de los municipios de Pamplona y Chitagá, entre 7° 7', 60" y 7° 28', 15" norte y 72° 35', 16" y 72° 42', 43" Oeste (Figura 1, Tabla 1 y 2). Todas las fincas poseen cultivos comerciales de *R. glaucus* (mora de Castilla con espinas (CE) y sin espinas (SE) rodeados de bosques secundarios y matorrales a altitudes entre los 2070 y 2860 m. Se recolectaron de 3-5 muestras por cada predio y en los bordes de los caminos aledaños a las fincas y alrededores de los cultivos donde usualmente se presentan muestras silvestres de *Rubus*. Una muestra testigo se conservó en el herbario HECASA de la Universidad de Pamplona. La determinación taxonómica se realizó con la utilización de la clave de especies de *Rubus*, de flora del Ecuador (14) complementado con imágenes digitales de diferentes herbarios como COL, MO, US y K.

Variabilidad genética de materiales colectados analizados con marcadores AFLP

Se analizaron un total de 18 muestras entre especies cultivadas y silvestres del género *Rubus*. Las muestras analizadas comprendieron 15 muestras seleccionadas provenientes de los 51 predios comerciales de las 4 asociaciones de cultivadores de mora y 3 especies silvestres. Las especies analizadas fueron 15 individuos de *R. glaucus* (CE, SE), 1 individuo de *R. adenotrichos*, 1 individuo de *R. bogotensis* y 1 individuo de *R. rosifolius* (Tabla 2).

Extracción de DNA

Se maceraron las hojas frescas seleccionadas de mora y las tres especies silvestres con Nitrógeno líquido y se conservaron a -70°C. Para la extracción del DNA total foliar se utilizó el Kit comercial "Dneasy Plant Mini Kit". Se realizaron cuantificaciones con el espectrofotómetro BIOMATE 5 de Thermo Scientific para visualizar la pureza del ADN con relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230.

Posteriormente se corrió el ADN en la cámara "Sub-Cell® GT Agarosa Gel Electrophoresis Systems de BIORAD" para determinar la pureza del ADN en geles de agarosa al 1% en buffer TBE 1X y teñidos con SYBR® Safe DNA Gel Stain. Finalmente los segmentos de ADN se visualizaron con el equipo "Molecular Imager Gel Doc™ XR + Imaging System de BIORAD". La calidad del ADN se reconfirmó con la digestión de 500 ng con la enzima EcoRI de Promega® e igualmente se corrieron en geles de agarosa al 1% en buffer TBE 1X y teñidos con SYBR® Safe DNA Gel Stain.

Análisis con marcadores AFLP



84

Para los AFLPs se utilizó el "AFLP Core Reagent Kit" y el "AFLP Starter Primer Kit" de Invitrogen. Con el primer kit se realizó la digestión de 500 ng de ADN con las enzimas EcoRI/MseI y la ligación de fragmentos de doble cadena que se adaptan a los extremos pegajosos dejados por las enzimas.

El segundo kit permitió la preamplificación y la amplificación selectiva de los fragmentos de ADN ligados con adaptadores. La preamplificación se realizó a partir de una dilución 1:5 de la digestión/ligación y la amplificación a partir de una dilución 1:5 de la preamplificación. En la amplificación selectiva se utilizaron 3 combinaciones de cebadores que son polimórficos y reproducibles en mora (15): E-AAC/M-CTT, E-AAC/M-CTA y E-AGG/M-CTT. Para todos los pasos se empleó el termociclador BIORAD "C1000™ Thermal Cycler". Los fragmentos se visualizaron en geles de poliacrilamida al 5% 19:1, con buffer TBE 5X en cámara de electroforesis vertical BIORAD de 38x50cm "Sequi-Gen® GT Sequencing Cell" y con tinción de Nitrato de Plata. Con los datos generados se construyó una matriz de similitud con el índice de Dice (1945).

Análisis de datos

Para las combinaciones EAAC/MCTA y EAAC/MCTT se hizo una lectura de bandas de 800 pb a 100 pb mientras que para la combinación EAGG/MCTT se tomaron las bandas de 650 pb a 50 pb, de acuerdo a lo reportado por Espinosa (16). Se generó una matriz de datos binarios de presencia (1) y ausencia (0) de bandas. La evaluación se realizó

visualmente y se repitió mínimo en tres ocasiones.

En el análisis de agrupamiento de los genotipos se elaboró un dendograma a partir del índice de similitud de Dice y el algoritmo de agrupamiento jerárquico UPGMA (Método no ponderado de agrupamiento de pares con media aritmética). Adicionalmente, se realizó un Análisis de Coordenadas Principales (ACP) con distancias euclidianas elevadas al cuadrado, empleando en ambos casos el programa NTSYS pc2.02g (17). El ACP permite visualizar las asociaciones de los genotipos en un espacio dimensional y así comparar con los agrupamientos generados en el dendograma.

Resultados y Discusión

Calidad del ADN y reproducibilidad

Los ADNs extraídos tuvieron una concentración en un rango de 117,3 a 169,5 ng•μl⁻¹ y una relación 260/280 de 3,5. La relación 260/280 debe ser superior a 1,8 para que el ADN esté libre de contaminantes, los polisacáridos principalmente son sustancias que tienen una absorbancia a una longitud de onda de 230nm (18).

Polimorfismo y poder de diferenciación de los marcadores

Las tres combinaciones empleadas en el presente estudio en total se generaron 194 bandas, 34,16% de las cuales fueron polimórficas, por lo que en general no se encontró un polimorfismo alto. La combinación que presentó un mayor polimorfismo fue EAGG/MCTT.

Análisis de agrupamiento

En el dendograma (Figura 2) se observa una similitud alta cercana en el agrupamiento de todas las accesiones de *R. glaucus* pertenecientes en su mayoría a localidades muy cercanas de la provincia



de Pamplona, las cuales se agruparon independientemente en 3 grupos de acuerdo al ecotipo (con espinas y sin espinas). Las accesiones silvestres (*R. adenotrichus*, *R. bogotensis* y *R. rosifolius*) formaron grupos independientes con un buen soporte con valor de bootstrap entre el 44% y 56%, el resto de accesiones formaron grupos discretos con buen soporte (>50%). En el primer grupo se encuentran diez materiales (1, 2, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 17,18) de *R. glaucus* de diversas procedencias, cuyas similitudes oscilan entre 69 y 86%. El segundo grupo lo conforman los tres materiales silvestres y un material cultivado de *R. glaucus*, con valores de similitud entre 50% y 60%. Finalmente en el tercer grupo se encuentran los genotipos de tres individuos (5, 6,10) con el menor grado de similitud (entre 4% y 24%). Tanto en el dendograma como en el análisis de correspondencia (Figuras 2 y 3), en general se observó una alta variabilidad genética de *R. glaucus* entre el 4% y el 86%.

Lo anterior permite concluir como lo evidenciaron Marulanda y colaboradores (19), que los grupos de *R. glaucus* no tienen relación aparente con el origen geográfico de los genotipos. Adicionalmente, similares resultados fueron observados por Duarte y Barrero (15), quienes encontraron una similitud del 90% en el agrupamiento de 34 accesiones de *R. glaucus* y se observó un buen soporte del grupo, mas no en la mayoría de los subgrupos formados por accesiones de *R. glaucus*. En este contexto es evidente que este estudio ratifica la estrecha base genética de la mora de castilla evidenciada por varios

investigadores (15,16), posiblemente a causa del flujo constante de materiales de siembra entre departamentos productores. Adicionalmente, los resultados del presente estudio son similares a los observados en *Rubus* Europeos y concluyen que la variabilidad esta fuertemente influenciada por el sistema de reproducción de las plantas, por el efecto de polinización cruzada entre las especies de *Rubus* poliploides. Lo anterior influye de manera positiva en la calidad de la semilla. Por otra parte estos resultados son contrastantes con los observados por Marulanda *et al.* (20), quienes reportaron tanto similitudes altas como bajas entre accesiones de *R. glaucus* del eje cafetero con el uso de AFLPs. Con otros sistemas de marcadores también se han encontrado resultados contrastantes en mora. Con RAPDs algunos autores (16, 21), encontraron una similitud del 85% al 100% en *R. glaucus*, lo cual coincide en mayor medida con este estudio.

Con el empleo de RAMs Morillo y colaboradores (22) encontraron las accesiones de *R. glaucus* en un nivel de similitud del 60%, lo cual revela una variabilidad más alta en el grupo de las moras de castilla que en los tres estudios anteriores.

En el análisis de conglomerados también se observó que los especímenes de los subgéneros *Orobatus* y *Rubus* se agrupan en ramas diferentes, y reflejan las diferencias entre estos dos subgéneros, similar a lo descrito por Ballington *et al.* (23) y Cancino *et al.*, (13). Por su parte la especie *Rubus glaucus* según Marulanda y colaboradores (11) es un híbrido entre especies de los subgéneros *Rubus* e *Idaeobatus* aunque está clasificada en el



subgénero *Idaeobatus*. Las demás especies de este estudio tales como *R. bogotensis*, y *R. adenotrichos* pertenecen al subgénero *Rubus*, mientras que *R. rosifolius* pertenecen al subgénero *Idaeobatus* (23). Aunque varios taxónomos han ubicado *R. glaucus* en el subgénero *Rubus*, se observa la diversidad de criterios. Sin embargo, es evidente que existe una gran similitud taxonómica entre los subgéneros *Idaeobatus* y *Rubus*, lo cual fundamenta la estrecha relación encontrada entre especies de estos dos subgéneros de *Rubus*.

Adicionalmente se infiere que los subgrupos que se conforman en el dendograma provienen de especies similares y usualmente de las mismas formas como es el caso de *R. glaucus*, con espinas y sin espinas (Figura 2). No obstante, en algunas situaciones el grupo se establece por muestras de especies distintas como *R. glaucus* con *R. rosifolius* o *R. glaucus* con *R. bogotensis*, dependiendo del marcador que participe en la delimitación del subgrupo. En general, se observó que los subgrupos formados no están relacionados por localidades ni por especies. En este contexto es importante destacar que las diferencias en rasgos son propias del género y de sus especies constituyentes, debido a la variabilidad morfológica y genética que registra *Rubus*, causada por la ploidia que presenta este grupo (11, 20), ya que se encuentran desde formas diploides hasta dodecaploides, gran parte apomicticas y con alto nivel de heterocigosis.

Conclusiones

Las diferencias en rasgos son propias del género y de sus especies, ya que usualmente *Rubus* presenta gran variabilidad morfológica y genética debida a su nivel de ploidia. Se encontró que en la provincia de Pamplona y Chitagá existe un conjunto de poblaciones locales, silvestres, cultivadas y algunas introducciones de diversas especies de *Rubus* sp. Las tres combinaciones empleadas en el presente estudio generaron 194 bandas, 34,16% de las cuales fueron polimórficas, por lo que en general no se encontró un polimorfismo alto. La combinación que presentó un mayor polimorfismo fue EAGG/MCTT.

Se concluye de este estudio que los AFLP mostraron una alta variabilidad genética entre especies de *Rubus* y genotipos de *Rubus glaucus*, estos marcadores presentaron bandas propias por especie.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad de Pamplona, al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Territorial (Proyecto 2008L72264-7141), a las asociaciones de cultivadores de mora de Pamplona y Chitagá (Aspagro, Aprochit, Sanfrimora y Aspri).

Financiación

El presente trabajo fue financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Territorial y la Universidad de Pamplona, en Alianza con las Asociaciones de Cultivadores de Mora de los municipios de Pamplona y Chitagá (Norte de Santander, Colombia. Proyecto: Caracterización molecular de especies de mora (*Rubus* sp.) cultivadas y multiplicación clonal de accesiones promisorias con características de alta productividad y tolerancia a enfermedades código 2008L72264-7141. 2009-2011).

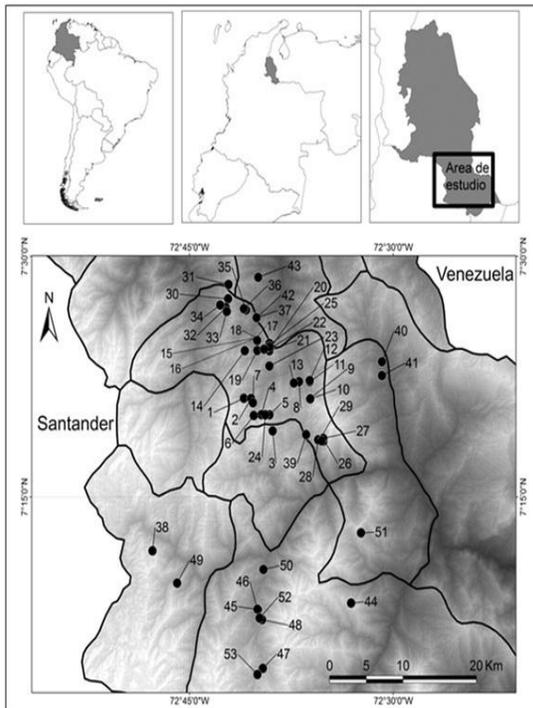


Figura 1. Área de estudio. Municipios de Pamplona y Chitagá, Norte de Santander, Colombia.

Referencias Bibliográficas

1. Potter D., Eriksson T., Evans R., Oh S-H., Smedmark J., Morgan D., Kerr M., Robertson K., Arsenault M., Campbell C . Rosaceae phylogeny and classification. *Plant Syst Evol.* 2007. **266**:5-43.
2. JuinnYih H., Jer-Ming H .. Revision of *Rubus* (Rosaceae) in Taiwan. *Tawania* 2009. **54**(4): 285-310
3. Graham J., Woodhead M. Raspberries and blackberries: The genomics of *Rubus*. En: Folta K, Gardiner S (ed.). *Genetics of Rosaceae, plant genetics and genomics.* New York, USA. 2009:507-524.
4. Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (2004 y continuamente actualizado). <http://www.biovirtual.unal.edu.co> marzo 2012.
5. Angulo RC. El Cultivo de la mora. En: Bayer CropScience S.A (ed). *Frutales exóticos de clima frío.* 2003:99-118.

6. Marulanda M., Isaza L., Ramírez AM. Identificación de la especie de *Colletrotrichum* responsable de la antracnosis en la mora de castilla en la región cafetera. *Scientia et Technica.* 2007. **37**(13): 585-590.

7. Evans KJ., Symon DE., Whalen MA., Hosking JR., Barker RM., Oliver JA. Systematics of the *Rubus fruticosus* aggregate (*Rosaceae*) and other exotic taxa in Australia. *Aust Syst Bot.* 2007 **20**: 187-251.

8. Tafur R., Toro JC., Navarrete A., Ramírez CA. Plan Frutícola Nacional: Desarrollo de la Fruticultura en Cundinamarca. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural – ASOHOFRUCOL – SAG.2006.:92.

9. Agronet
.http://www.agronet.gov.co/agronetweb/AnalisisEstadisticas/tabid/73/Default.aspx; Febrero 2012.

10. Santana G. Establecimiento de parcelas experimentales de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.) para evaluar la calidad y el rendimiento en Antioquia. Informe final convenio Corpoica.2003:60.

11. Marulanda M., López A., Aguilar S. Rosaceae Mora *Rubus glaucus* Benth. En: Perea DM, Matallana R LP, Tirado PA. (eds.). *Biología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales.* Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Bogotá. Colombia. 2010: 391- 443.

12. Barrero-Meneses LS. Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. Cundinamarca. Colombia. Corpoica. 2009: 84 p.

13. Cancino-Escalante GO., Sánchez-Montañón LR., Quevedo-García E., Díaz-Carvajal CY. Caracterización fenotípica de accesiones de especies de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá, región nororiental de Colombia. *Universitas Scientiarum.* 2011. **16**(3): 219-233.

14. Romoleroux K (1996). *Rosaceae.* University of Göteborg; Riksmuseum. p.1-50.



15. Duarte-Delgado DL., Chacón MI., Zarrantes V., Barrero LS. Preliminary assessment of AFLP fingerprinting of *Rubus glaucus* Benth. Elite genotypes. *Agronomía Colombiana*. 2011.**29**: 5-13. (1). Universidad Nacional de Colombia Facultad de Agronomía.

16. Espinosa N (2011). Evaluación morfoagronómica y caracterización molecular de la colección de mora de Corpoica y materiales del agricultor. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Bogotá, Colombia. p.101.

17. Rohlf FJ, (1998). NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, versión 2.02g. Exeter Software, Setauket, NY.

18. Varma A., Padh H., Shrivastava N. Plant genomic DNA isolation: an art or a science. *Biotechnol. J.* 2007. **2**:386 – 392.

18.-Marulanda M, López A, Aguilar S (2010). Rosaceae Mora *Rubus glaucus* Benth. Universidad Nacional de Colombia. p.391- 443.

19. Marulanda ML., López AM., Aguilar SB. Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus species* in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 2007. **7**: 242-252.

21. Marulanda ML., Márquez MP. Caracterización de la diversidad genética de *Rubus glaucus* Benth con marcadores moleculares (RAPD). *Actualidades Biológicas*. 2001. **24** (74): 57-63.

22. Morillo A., Morillo Y., Zamorano A., Vásquez H., Muñoz JE. Caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAM de la Colección de mora *Rubus* spp. *Acta Agronómica* .2005.**54**: 15 – 24.

23. Ballington JR., Luteyn MM., Romololeroux K, Castillo R. *Rubus* and vacciniaceae germplasm resources in the Andes of Ecuador. *Plant Genet Resour Newsl*. 1993.**93**: 9-15.

24. Amsellem L., Noyer JL., Bourgeois T., Hossaert-Mckey M. Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolius* Poir. (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Mol Ecol* . 2000.**9**:443-455.

Tabla 1. Coordenadas de la ubicación del total de las fincas en los municipios de Pamplona y Chitagá. (Las fincas de donde proviene el material seleccionado se encuentran resaltadas).

Asociación	Vereda	N o	Nombre Fincas	Coordenada Latitud (N)			Coordenada Longitud(W)			Altitud m
ASPAGRO	EL ROSAL	1	EL ROSAL	7°	21'	947"	72°	40'	594"	2745
	EL ROSAL	2	EL DORADO	7°	21'	881"	72°	40'	276"	2657
	Fontibon	3	EL DORADO	7°	19'	074"	72°	38'	520"	2860
	Monteandentro	4	EL PEDREGAL	7°	20'	785"	72°	39'	418"	2713
	Monteandentro	5	GUASOL	7°	20'	760"	72°	39'	637"	2613
	Monteandentro	6	LA OSA	7°	20'	510"	72°	40'	156"	2730
	Monteandentro	7	EL PLANCTO	7°	20'	530"	72°	40'	019"	2615
	Chichira	8	PLAZUELAS	7°	22'	121"	72°	36'	557"	2280
	Chichira	9	EL BORDO	7°	21'	958"	72°	36'	629"	2386
	Chichira	10	VILLA MARÍA	7°	21'	733"	72°	36'	653"	2402
	Chichira	11	LA COSTANCA	7°	22'	011"	72°	36'	878"	2350
	Chichira	12	EL RECUERDO	7°	22'	016"	72°	36'	874"	2347
	Chichira	13	ARRANDES	7°	22'	6,79"	72°	37'	186"	2328

Asociación	Vereda	N o	Nombre Fincas	Coordenada Latitud (N)			Coordenada Longitud(W)			Altitud m
Aspri	Sabaneta Baja	1	Vega	7°	24'	7,66"	72°	40'	055"	2163
	Sabaneta Baja	5	Esmeral	7°	24'	34,7"	72°	39'	6,87"	2360
	Sabaneta Baja	6	Betel	7°	24'	7,38"	72°	40'	0,12"	2166
	Sabaneta Baja	7	EL Progreso	7°	24'	5,52"	72°	40'	0,46"	2165
	Sabaneta Baja	8	Santa Rosalia	7°	24'	45,8"	72°	40'	0,82"	2195
	Sabaneta Baja	9	San Benito L1	7°	24'	8,45"	72°	40'	0,36"	2070
	Sabaneta Baja	10	San Benito L2	7°	24'	8,45"	72°	40'	0,36"	2070
	Sabaneta Baja	11	Tranquilo	7°	24'	8,90"	72°	39'	9,47"	2174
	Sabaneta Baja	12	Corral de Piedra	7°	24'	7,16"	72°	39'	6,81"	2338
	Sabaneta Baja	13	Granja L1	7°	24'	022"	72°	39'	5,99"	2460
	Sabaneta Baja	14	Granja L2	7°	23'	9,72"	72°	39'	6,50"	2402
	Sabaneta Alta	15	Gonzalez	7°	20'	7,6"	72°	39'	24,9"	2585
	Sabaneta Alta	16	Callejon Piedra	7°	24'	013"	72°	39'	30,1"	2299

Vereda	N o	Nombre Fincas	Coordenada Latitud (N)			Coordenada Longitud(W)			Altitud m
Negavita	2	Palcho	7°	18'	28,6"	72°	35'	8,74"	2475
Negavita	7	Belisario	7°	18'	39,5"	72°	35'	9,14"	2533
Negavita	8	Arrayan	7°	18'	34,2"	72°	35'	31,5"	2482
Negavita	9	Moral L1	7°	18'	30,1"	72°	35'	16,1"	2522
Negavita	10	Moral L1	7°	18'	30,1"	72°	35'	16,1"	2522
Sabaneta Baja	11	Quemadoc	7°	27'	21,7"	72°	42'	8,8"	2770
Sabaneta Baja	12	Victoria	7°	28'	15,0"	72°	42'	7,2"	2550
Sabaneta Baja	13	TRES PALOS	7°	26'	48,7"	72°	42'	18,5"	2710
Sabaneta Baja	14	VEN BRILLO	7°	26'	34,2"	72°	42'	14,8"	2561
Sabaneta Baja	15	EL RASTRO JO	7°	26'	58,3"	72°	42'	43,8"	2650

Sanfrimora									
Vereda	N o	Nombre Fincas	Coordenada Latitud (N)			Coordenada Longitud(W)			Altitud m
San Francisco	3	Falda	7°	26'	39,3"	72°	40'	50"	2256
San Francisco	4	Naranjo	7°	26'	44,2"	72°	40'	59,5"	2227
San Francisco	5	Palma	7°	18'	5,4"	72°	36'	24,8"	2284
San Francisco	6	Cedro	7°	23'	26"	72°	30'	49,8"	2252
San Francisco	7	Pinos	7°	22'	34,5"	72°	30'	49,8"	2232
San Francisco	8	Salado	7°	28'	42"	72°	39'	56"	2293

89
Aprochit

Vereda	No	Nombre Finca	Coordenada Latitud (N)			Coordenada Longitud(W)		Altitud m	
El Centro	4	Naranjo	7°	7'	83.5"	72°	33'	6,10	
El Centro	4	Quinta	7°	8'	0.4"	72°	39'	59,2	
El Centro	4							2310	
El Centro	5	Matadero	7°	7'	21.3"	72°	39'	39"	2560
Bartaki	4	Guamo	7°	9'	38"	72°	45'	54"	2420
Piedras	4							59,4	
Piedras	7	Moraito	7°	3'	56.4"	72°	39'		2754
Piedras	4							35,5	
Piedras	8	Vega	7°	4'	19.0"	72°	39'		2662
Llano Grande	4								
Llano Grande	9	Nigua	7°	11'	039"	72°	38'	583"	2069
Pedregal	4								
Pedregal	0	Limon	7°	10'	29"	72°	39'	33"	2113
Carbon	5	Nuevo Amanece	7°	7'	27.2"	72°	39'		50,1
Carbon	1								2580

Tabla 2. Materiales seleccionados en los municipios de Pamplona y Chitagá.

Asociación	Municipio	Vereda	Nombre de Finca	Código dendograma	Código accesión
Aprochit	Chitagá	PIEDRAS	Guamo	16	CHPG107 S.E
				15	CHPG105 S.E
	Chitagá	Pedregal	Limon	17	CHPL02 C.E
				18	CHPL06 C.E
Aspago	Pamplona	Rosal	Hgueron	2	PRH3005 S.E
		Chichira	Arrayanes	1	PCHA03 S.E
Sanfrimora	Pamplona	Sanfrancisco	Pinos	13	PSPI32 C.E
				14	PSPI32 C.E
			Salado	12	PSS S.E
Aspri	Pamplona	Sabana Alta	Gonzalera	5	PSAG002 C.E
				6	PSAG010 C.E
				7	PSAG011 C.E
	Pamplona	Cimbrigua	La Victoria	10	PCV1002 C.E
				9	PCV016 S.E
	Cimbrigua	Los quemados	11	PCQ C.E	

Especies Silvestres

Municipio	Vereda	Nombre de Finca	Código dendograma	Código accesión
Pamplona	Fontibon Cacota de Velasco	Ladrera con potreros y cultivos de papa	4	PFA <i>R. adenotrichus</i> (Ej: 12426 L. R. Sánchez, et al.)
Chitagá	Piedras Samaria	La vega	8	CHFB <i>R. bogotensis</i> (Ej: 13145 L. R. Sánchez, et al.)
Pamplona	San Francisco	Laderas de pendientes pronunciadas	3	PSR <i>R. rosifolius</i> (Ej: 13208 L. R. Sánchez, et al.)

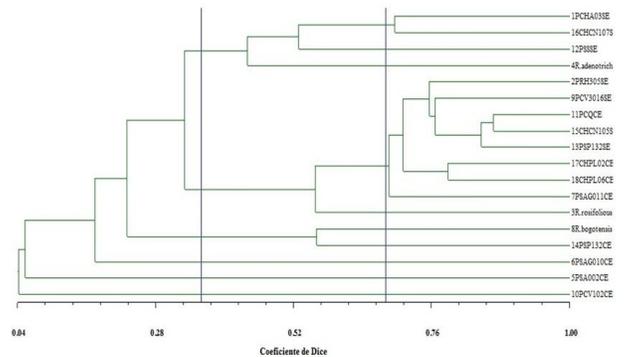


Figura 2. Dendrograma de 15 genotipos de *R. glaucus* y tres genotipos de especies silvestres basado en el índice de similitud de Dice y el algoritmo de agrupamiento UPGMA.

Figura 3. Análisis de coordenadas principales de los 18 genotipos de *Rubus* del estudio.

