

Artículos de Investigación Científica y Tecnológica  
DOI:10.18684/BSAA(14)10-17

## ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA MORA (*Rubus* spp.) EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ

## ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF BLACKBERRY (*Rubus* spp.) IN THE DEPARTMENT OF BOYACÁ

## ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA de MORA (*Rubus* spp.) NO DEPARTAMENTO DE BOYACÁ

MÓNICA YADIRA DOTOR-ROBAYO<sup>1</sup>, LEONARDO ARIEL GONZÁLEZ-MENDOZA<sup>2</sup>, MAYERLY ALEJANDRA  
CASTRO<sup>3</sup>, ANA CRUZ MORILLO-CORONADO<sup>4</sup>, YACENIA MORILLO-CORONADO<sup>5</sup>

### RESUMEN

*Una muestra de 21 ecotipos genéticos de Rubus spp, se caracterizaron mediante marcadores Microsatélites Aleatorios RAMs. Los siete cebadores produjeron un total de 160 bandas polimórficas con pesos moleculares entre 350 y 1500 Kb. El análisis RAMs a un nivel de similitud del 55% diferenció a la población en cinco grupos en forma general de acuerdo con el sitio donde fueron colectados dichos ecotipos. El número de loci polimórficos varió de 16 (ACA) a 27 (CGA). Para la población total el porcentaje de loci polimórficos y la heterocigosidad promedio esperada (He) fueron de 88% y 0,29, respectivamente, más bajo que los encontrados en otros estudios de diversidad genética en el género Rubus; por lo tanto, se deben buscar estrategias para incrementar la variabilidad genética. El coefi-*

**Recibido para evaluación:** 20 de Mayo de 2015. **Aprobado para publicación:** 3 de Noviembre de 2015.

- 1 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de investigación GMBC. Ms.C. en Fisiología Vegetal. Tunja, Colombia.
- 2 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de investigación Ecofisiología Vegetal. Ing. Agrónomo. Tunja, Colombia.
- 3 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de investigación GMBC. Ing. Agrónomo. Tunja, Colombia.
- 4 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de investigación CIDE. Ph.D. Fitomejoramiento. Tunja, Colombia.
- 5 Universidad de los Llanos, Grupo de investigación en Biotecnología. Ph.D. Fitomejoramiento. Villavicencio, Colombia.

**Correspondencia:** ana.morillo@uptc.edu.co

*cienta de diferenciación genética (Fst) obtenido al evaluar los ecotipos de Rubus, con los siete marcadores microsatélites RAMs fue de 0,29 con una desviación estándar de 0,03, valores que muestran una alta diferenciación genética, la cual está asociada con el nivel de estructuración de la población que tiende a estabilizarse.*

## ABSTRACT

*A simple of 21 Rubus spp genetic ecotypes were characterized using markers Random Microsatellite RAMs. The seven primers produced a total of 160 polymorphic bands with molecular weights between 350 and 1500 Kb. RAMs analysis at a level of 55% similarity distinguished the population into five groups generally agree to the site where the ecotypes were collected. The number of polymorphic loci ranged from 16 (ACA) to 27 (CGA). For the total population the percentage of polymorphic loci and the expected average heterozygosity (He) were 88% and 0,29, respectively, much lower than values found in other genetic diversity studies in the genus Rubus. Therefore, strategies must be found to increase genetic variability. The coefficient of genetic differentiation (Fst) obtained in evaluating ecotypes Rubus, with seven RAMs microsatellite markers was 0,29 with a standard deviation of 0,03, values showing high genetic differentiation, which is associated with the level of population structure it tends to stabilize.*

## RESUMO

*Uma amostra de 21 ecótipos genéticos de Rubus spp, foram caracterizados por meio de marcadores microsatélites Aleatório RAM. Os sete iniciadores produzido para o total de 160 bandas polimórficas com pesos moleculares entre 350 e 1500 Kb. Análise RAMs a um nível de 55% de similaridade distinguiu a população em cinco grupos Geralmente concordar com o local onde os ecótipos foram coletados. O número de loci polimórficos variou de 16 (ACA) a 27 (CGA). Para a população em geral, a porcentagem de locos polimórficos e heterozigosidade média esperada (He) foram de 88% e 0,29, respectivamente, inferiores aos encontrados em outros estudos de diversidade genética do gênero Rubus. Portanto, as estratégias devem ser encontradas para aumentar a variabilidade genética. O coeficiente de diferenciação genética (FST) obtidos na avaliação de ecótipos Rubus, com sete carneiros marcadores microsatélites foi de 0,29, com um desvio padrão de 0,03, os valores mostrando uma diferenciação genética alta, que está associada com estrutura nível da população tende a estabilizar.*

## INTRODUCCIÓN

La mora pertenece a la familia Rosaceae, al género *Rubus*. La especie *Rubus glaucus* Benth, es originaria de las zonas tropicales de Colombia, Ecuador, Panamá, Guatemala, Honduras, México y Salvador [1]. Aunque existen más de 44 especies de *Rubus* en el país, sólo nueve son comestibles y las otras son consideradas malezas. Entre las cultivadas se encuentran: *R. bogotensis*, *R. nubigenus*, *R. megalococcus*, *R. floribundus* y *R. gigan-*

## PALABRAS CLAVES:

Marcadores moleculares, Microsatélites RAMs.

## KEYWORDS:

Genetic markers, Microsatellites RAMs.

## PALAVRAS-CHAVE:

Os marcadores moleculares, Microsatélites.

*teus*, entre otras. La mora de Castilla se distribuye ampliamente en el país. Se encuentra en forma silvestre, desde el departamento del Putumayo hasta el Valle del Magdalena, y es posible cultivarla en altitudes entre los 2000 y 3200 metros [1]. A pesar del gran potencial que tiene la mora, no ha adquirido el grado de importancia esperado, lo cual puede atribuirse especialmente a la dependencia de un número reducido de variedades y a que no se ha realizado la caracterización del material de siembra, la cual se hace en el país a partir de materiales no identificados como élites y donde los productores y viveros propagan los cultivares regionales sin normas de calidad fitosanitaria; tampoco brindan seguridad de la identidad genética del material [2]. En Colombia, los estudios han mostrado que para algunos descriptores morfológicos y agronómicos existe variabilidad en *Rubus*. Si bien es cierto, que se han adelantado algunos trabajos en algunas regiones del país con colecciones de *Rubus* tanto silvestres como cultivados, se hace necesario ampliar el conocimiento de las colecciones de otras regiones de las cuales se carece de información y clarificar las estrategias de conservación, las necesidades adicionales de colecta y el uso del germoplasma en programas de selección y mejoramiento genético [3, 4,5].

A nivel molecular se han adelantado varias investigaciones en diferentes especies del género *Rubus* con distintos objetivos: identificación de cultivares e híbridos, estimación de las similitudes genéticas, filogenia, mapeo, determinación del sistema reproductivo, estabilidad y genética de poblaciones [6, 7,8]. Uno de los marcadores moleculares más utilizados para la caracterización y discriminación de los materiales son los Microsatélites o Secuencias Simples Repetidas (SSRs), los cuales tienen un gran potencial en el análisis de polimorfismo y en la selección asistida por marcadores que otros tipos de marcadores moleculares [9].

En *Rubus*, muchos estudios se han usado marcadores moleculares. En Colombia, se encuentran los estudios sobre diversidad genética realizados por Marulanda y colaboradores (2012) [4], usando marcadores RAPDs, AFLPs y SSRs, en materiales de mora cultivados y silvestres [4,10], Morillo *et al.* (2005) [3], con Microsatélites Amplificados al Azar (RAMs), caracterizaron 36 ecotipos de *R. glaucus*, *R. urticifolius* y *R. robustus*; Cancino *et al.* (2012) [5], estudiaron la diversidad genética de especies silvestres y cultivadas de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. Los estudios anteriores muestran el potencial genético que existe en este

país en cuanto al cultivo de la mora. Entre los marcadores microsatélites los RAMs, son muy útiles para medir la diversidad genética en plantas y animales e identificar diferencias entre familias, especies y al interior de la especie [11].

Trabajos sobre la caracterización de la diversidad genética vegetal sugieren que esta técnica es útil para identificar duplicados y establecer relaciones entre y dentro de especies [11,12]. Dentro de este contexto, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal estudiar la diversidad genética en los ecotipos de mora *Rubus* spp, de los municipios de Combita, Ramiriquí, Tuta en el departamento de Boyacá, usando los marcadores moleculares RAMs.

## MÉTODO

Se evaluaron un total de 21 ecotipos de mora (*Rubus* spp) que fueron colectados en los municipios de Combita, Arcabuco, Ramiriquí, Boyacá-Boyacá, Genesano y Tuta, pertenecientes al departamento de Boyacá (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Ecotipos de *Rubus* spp utilizados para la evaluación de la diversidad genética.

Tipo (Cantidad)	Municipio	Localización
Silvestre (2), Cultivada (4)	Combita	Altura: 2.825 msnm. Latitud Norte: 5° 39 ' 25". Latitud Oeste: 73° 23 ' 0"
Silvestre (4), Cultivada (5)	Arcabuco	Altura: 2.739 msnm. Latitud Norte: 5° 42 ' 20" Latitud Oeste: 73° 26 ' 35"
Cultiva (2)	Ramiriquí	Altura: 2.325 msnm, Latitud Norte: 5° 24 ' 14" Latitud Oeste: 73°20 ' 15"
Silvestre (1)	Soracá	Altura: 2.942 msnm, Latitud Norte: 5° 30 ' 22" latitud Oeste: 73° 23 ' 12"
Cultivada (2)	Boyacá- Boyacá	Altura: 2411 msnm.
Silvestre (1)	Genesano	Altura: 2075 msnm, Latitud Norte: 5° 23 ' 18" Latitud Oeste: 73° 22 ' 05"
Cultivada (1)	Tuta	Latitud Norte: 5° 41 ' 34"; Longitud Oeste: 73° 13 ' 51"

## Caracterización molecular

La caracterización molecular se hizo en los laboratorios de investigación en Biología Molecular, BIOPLASMA y GEBIMOL, de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo de Dellaporta modificado por Morillo *et al.* (2014) [11].

Los ADN totales se visualizaron en geles de agarosa al 0,8%, en una cámara Maxicell Primo EC-340 Electroforesis Gel System. Para determinar la concentración de ADN se utilizó el fluorómetro Hoefer Dyna Quant 200 y se diluyó en agua tipo HPLC a un volumen total de 100  $\mu$ l a 10 ng/ $\mu$ L y se almacenó a -20°C. Para el análisis RAMs se utilizaron siete cebadores sintetizados por Technologies Inc. Bioneer (Cuadro 2). Para la reacción de amplificación con RAMs se preparó el cóctel en un tubo estéril de microcentrífuga (1,5 mL) para un volumen final de 25  $\mu$ L. La mezcla de reacción se preparó con buffer 1X, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, dNTPs 0,2 mM, Taq Polimerasa 1U, cebador 2  $\mu$ M y ADN genómico 10 ng.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador PTC 100 Programmable Thermal Controller (MJ. Research, Inc), en el laboratorio de molecular. La desnaturalización inicial fue a 95°C durante 5 min; desnaturalización a 95°C por 30 seg, hibridación a una temperatura de 50°C (cebador AG y CA), 55°C (cebador CCA-TG-CT) y 58 °C (cebador GT-CGA) durante 45 seg, una extensión de 72°C por 2 min, 37 ciclos desde la desnaturalización a extensión y por último una extensión a 72°C durante 7 min. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis en geles de poliacrilamida 37:1 (acrilamida: bisacrilamida) al 7% a 150

v por 1 h en una cámara pequeña de DNA Sequencing System, FB-SEQ-3545 de Fisher Biotechnologies. La tinción se realizó usando sales de plata.

## Análisis Estadístico

Se generó una matriz binaria de ausencia (cero) y presencia (uno). La similitud genética entre los individuos se calculó utilizando el coeficiente de similitud de Nei y Li (1979) [12]. El análisis de agrupamiento se realizó por el método UPGMA y se generó un dendrograma utilizando el paquete estadístico NTSYS (Numerical Taxonomy System for personal Computer, versión 2.02 PC). Para evaluar la diversidad genética se estimó la heterocigosidad insesgada y el porcentaje de loci polimórficos utilizando el paquete estadístico TFPGA (Tools For Population Genetic Analices, versión 1.3, 1997). Se determinó el F estadístico insesgado con un intervalo de confianza del 95%. Para el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) se utilizó el programa GenAEx 6.41.

## RESULTADOS

El análisis mediante el coeficiente de Nei-Li (1979) [13], a un nivel de similitud de 0,50, diferenció a los ecotipos en cinco grupos (Figura 1).

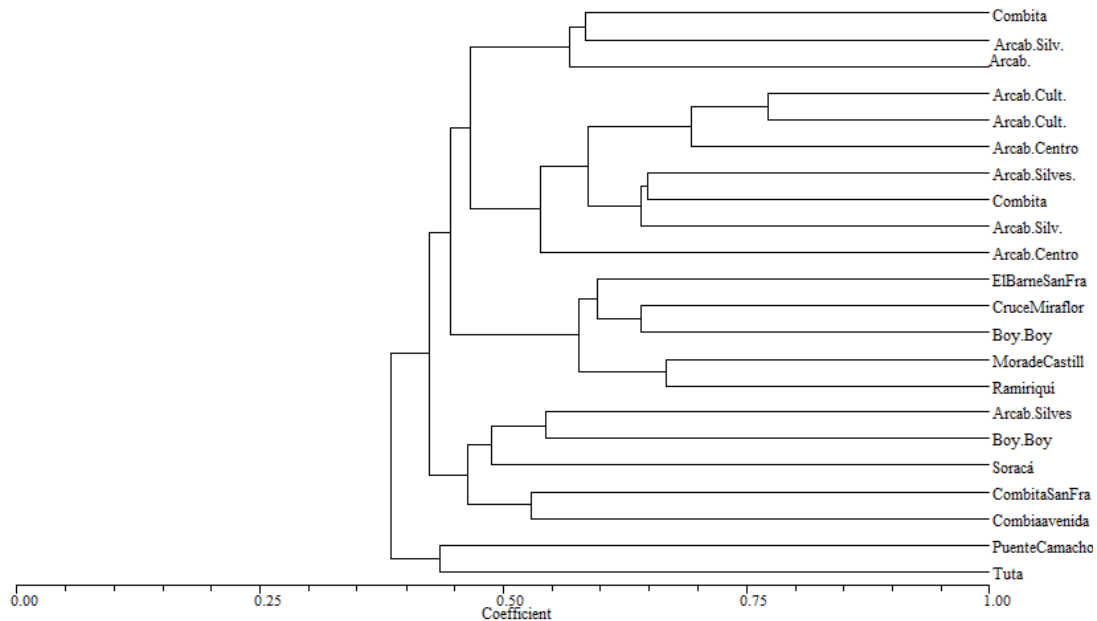
El dendrograma muestra que las agrupaciones corresponden al sitio en donde fueron colectados los ecotipos, y además, se puede observar las relaciones que existen entre los cultivares de *Rubus glaucus* y los silvestres *Rubus* spp, lo cual refleja un pequeño flujo de genes como resultado quizás del mecanismo de reproducción.

Sin embargo, dentro de cada sitio de colecta las especies cultivadas presentaron valores de similitud comprendidos entre 0,60 a 0,80, resultados que concuerdan con los obtenidos por Morillo *et al.* (2005) [3], quienes evaluaron 36 ecotipos de *Rubus* spp y encontraron un valor de similitud de 0,60 entre los individuos pertenecientes a *Rubus glaucus*. Resultados que contrastan con los obtenidos por Marulanda *et al.* (2012) [5], quienes encontraron valores de similitud mayores al 95% en cultivares de mora (*R. glaucus*). La variación en la especie *Rubus glaucus*, ya sido reportada y puede deberse a su sistema de reproducción así como a la forma como se diseminan sus semillas, la cual normalmente la realizan los pájaros, su nivel de alogamia, la selección de materiales silvestres

**Cuadro 2.** Cebadores utilizados en la técnica Microsatélites RAMs.

Cebadores	Secuencia (5´ a 3´)
CCA	DDB(CCA) <sub>5</sub>
CGA	DHB(CGA) <sub>5</sub>
ACA	BDB(ACA) <sub>5</sub>
AG	HBH(AG) <sub>7</sub> A
CT	DYD(CT) <sub>7</sub> C
TG	HVH(TG) <sub>7</sub> T
CA	DBDA(CA) <sub>7</sub>

Las siguientes designaciones se usan para los sitios degenerados: H (A ó T ó C); B (G ó T ó C); V (G ó A ó C) y D (G ó A ó T).

**Figura 1.** Dendrograma de los ecotipos de mora *Rubus* spp basado en el coeficiente de similitud de Nei-Li (1979) [13].

por parte de los agricultores por características como sanidad, tamaño y número de frutos, sabor, etc [3]. También se puede observar que algunos materiales de *R. glaucus*, no tienen relación aparente con el origen geográfico de los genotipos [3].

Estudios en *Rubus* Europeas concluyen que la variabilidad está influenciada por el sistema de reproducción de las plantas, por el efecto de la polinización cruzada entre las especies de *Rubus* poliploides, lo cual influye en la calidad de la semilla [4].

Los siete cebadores RAMs utilizados para la caracterización molecular de los ecotipos de *Rubus*, generaron una matriz de 3549 entradas y se obtuvieron 169 bandas, de cuales 160 reflejan el 95% de polimorfismo. El número de bandas por cebador varió de 16 para el ACA y 27 para el CGA, con pesos moleculares entre 300 y 1400 Kb. Al compararlos con los resultados obtenidos en otros trabajos de diversidad genética en donde se han utilizado estos marcadores microsatélites aleatorios Mandarina [14], cacao [15], mora [3] como también en otros estudios moleculares de *Rubus* [4,5] el número de bandas encontrado en este estudio se considera adecuado para estimar los parámetros genéticos.

El porcentaje de loci polimórficos para los siete cebadores estuvo en un rango comprendido entre el 62% (ACA) y el 98% (CT), con una heterocigosidad prome-

dio esperada de 0,20 a 0,8 para los cebadores ACA y CT, respectivamente. El cebador CCA fue el que mayor aporte hizo a la variación genética encontrada, con un  $F_{st}$  de 0,53 (Cuadro 3), lo cual significa que puede ser útil para lograr una diferenciación entre los ecotipos del género *Rubus*.

Para la población total, el porcentaje de loci polimórficos y la heterocigosidad promedio esperada ( $H_e$ ) fueron de 88% y 0,29, en su orden. El coeficiente de diferenciación genética ( $F_{st}$ ) obtenido al evaluar los

**Cuadro 3.** Parámetros de diversidad genética.

Cebador	% Loci Polimórficos	$H_e$ estimada	$F_{st}$	Desviación Estándar
ACA	62	0,20	0,09	0,04
AG	97	0,34	0,21	0,06
CA	91	0,27	0,34	0,08
CCA	92	0,28	0,53	0,06
CGA	97	0,35	0,23	0,05
CT	98	0,38	0,26	0,05
TG	85	0,25	0,35	0,07
Población total	88	0,29	0,29	0,03

ecotipos de *Rubus*, con los siete marcadores microsatélites RAMs fue de 0,29 con una desviación estándar de 0,03 (Cuadro 3). Según Wright (1978) [16], valores mayores de 0,25 muestran una gran diferenciación genética, la cual está asociada con el nivel de estructuración de la población que tiende a estabilizarse. Lo anterior significa que aunque las poblaciones de mora por el tipo de propagación por parte de los agricultores, tiende a la homogeneidad, se encontró variabilidad genética la cual debe ser conservada e incorporada en programas de mejoramiento genético.

En estudios de caracterización de la diversidad genética en *Rubus* spp, con microsatélites codominantes, se han obtenido altos porcentajes de loci polimórficos y altos valores de heterocigosidad, por ejemplo Marulanda *et al.* (2012) [4], usando 20 SSRs caracterizaron 44 genotipos de *Rubus glaucus* colombianos, colectados en ocho departamentos diferentes. Las poblaciones del Valle del Cauca, Quindío, Caldas y Risaralda mostraron los valores más altos ( $H_e = 0,50, 0,49, 0,47$  y  $0,45$ , respectivamente). Resultados similares a los encontrados en este estudio fueron reportados por Somayeh *et al.* (2014) [17], quienes evaluaron un total de 65 muestras de *Rubus* que fueron colectadas en diferentes altitudes en el región Norte de Irán, encontrando que los valores de heterocigosidad esperada estaban comprendidos entre 0,14 a 0,29. Lee *et al.* (2015) [18], desarrollaron nuevos marcadores microsatélites a partir de de *Rubus coreanus* y probaron su transferibilidad a otras especies de *Rubus*, encontrando valores promedios de heterocigosidad observada y esperada de 0,56 y 0,54. Los anteriores estudios ponen de manifiesto la gran diversidad genética del género *Rubus* lo cual se refleja por su gran plasticidad fenotípica y molecular.

Estudios de caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAMs de la colección de mora, *Rubus* spp, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, encontraron valores de heterocigosidad promedio de 0,31, lo que revela el gran polimorfismo genético, que puede estar asociado con la naturaleza alógama de la especie, la cual tiende a favorecer la conservación de un alto porcentaje de heterocigotos, así como también a la presencia de algunas accesiones silvestres (*R. urticifolius*) [3].

La diferenciación entre poblaciones, esta determinada por el índice de fijación (Fst) el cual puede variar de 0 a 1. Valores cercanos a cero indican un gran número de heterocigotos mientras que valores más altos indican

un mayor número de homocigotos. El valor de Fst fue de 0,29 que según Wright (1978) [16], muestra gran diferenciación genética y ayuda a entender la dinámica espacio-temporal de las especies de mora (*Rubus* spp) así como la estructura de cruzamientos entre ellas. Estudios de diversidad genética en especies silvestres y cultivadas de *Rubus* en Colombia, realizados por Marulanda *et al.* (2012) [4], ponen de manifiesto la alta diferenciación genética entre las especies evaluadas, además resulta muy interesante conocer como los patrones reproductivos de estas plantas afectan su variabilidad genética. El análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para los ecotipos de *Rubus* evaluados mostró que la variación obedece a diferencias de los individuos dentro de cada uno de los grupos conformados, que correspondió a una varianza del 77% dentro de grupos. Esta alta variación podría indicar la existencia de niveles de subdivisión y jerarquización mayores a los considerados en este estudio y el 23% restante se debió al componente de varianza genética entre grupos, la cual fue significativa ( $P \leq 0,001$ ) (Cuadro 4), indicando que existe diferenciación genética molecular entre los grupos formados, que debe ser aprovechada dentro de los programas de mejoramiento genético de la especie. Resultados similares se han obtenido en estudios realizados en moras en el país por Morillo *et al.* (2005) [3], Marulanda *et al.*, (2009, 2012) [4,10].

Sedighi *et al.* (2015), [6], concluyeron que la variabilidad genética en *Rubus* está determinada por el sistema de propagación de las plantas y demostraron que hay un efecto de la polinización cruzada entre las especies poliploides de *Rubus*. Este tipo de cruzamientos influencia positivamente la calidad de la semilla y del fruto, mientras incrementa los niveles de ploidía y la proximidad taxonómica. Las formas silvestres se encuentran usualmente en sitios donde las especies de *Rubus* son cultivadas, particularmente en los claros de bosques, orillas de carreteras y en laderas. Tanto formas cultivadas como silvestres tienen un potencial

**Cuadro 4.** Análisis de Varianza Molecular para los ecotipos de *Rubus* spp, evaluados.

FV	GL	SC	CM	Est. Var.	% Varianza
Entre grupos	4	245,715	61,429	8,061	23%
Dentro de Grupos	17	464,967	27,351	27,351	77%
Total	21	710,682		35,412	100%

para interactuar de diferentes maneras. Los cultivares pueden influenciar la diversidad genética de las poblaciones naturales a través de la transferencia de genes por el polen y las poblaciones silvestres son una fuente potencial de material genético para los programas de mejoramiento.

Los resultados encontrados en este y en otros estudios de diversidad genética en el género *Rubus* se ven influenciados por el sistema de reproducción tan complejo que presentan las especies. Marmolejo [19], estudió el modo reproductivo de ocho ecotipos de mora de Castilla de la colección de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, encontrando que estos son apomícticos facultativos, lo cual es debido a su origen alotetraploide con alta homeología cromosómica, observándose un tipo de apomixis llamado aposporia. Además realizó una evaluación de la variabilidad genética con cuatro cebadores RAMs en cinco progenies de medios hermanos de los ocho ecotipos y en todos se registró variabilidad genética y algunas plantas presentaron el mismo patrón, éstas probablemente pueden provenir de apomixis. Concluyendo que de acuerdo al tipo de apomixis observada, la sexualidad, al alta viabilidad polínica, la variabilidad genética y la importancia del polen para la formación de infrutescencias y semillas, se determinó que los ocho ecotipos se reproducen por la vía sexual y por aposporia pseudogámica un proceso característico de las moras apomícticas.

La caracterización del estado de los recursos fitogenéticos de las especies de *R. glaucus* y especies silvestres relacionadas proporciona un lineamiento para los programas de conservación y mejoramiento, a la vez que promueven el desarrollo de esta especie en el país. Colombia es uno de los países con la mayor oferta de suelo y clima del mundo para el cultivo de frutas tropicales durante todo el año desde el nivel del mar hasta los 2800 metros de altitud. Esto constituye gran parte de las ventajas comparativas y competitivas que tiene el país para desarrollar la fruticultura, especialmente en el departamento de Boyacá. Por lo anterior, cultivos como la mora son una alternativa económicamente rentable para la región, siempre y cuando se cuente con la disponibilidad de materiales genéticos con buenas características organolépticas, que respondan a las exigencias del mercado.

## CONCLUSIONES

La evaluación de la diversidad genética de los ecotipos de mora en el Departamento de Boyacá formó agrupaciones de acuerdo al sitio geográfico en donde estos fueron colectados.

Los valores de loci polimórficos y heterocigosidad fueron más bajos que los reportados en otros estudios de caracterización molecular con microsatélites en especies del género *Rubus*. Se encontró que la variabilidad genética observada se debe a la diferenciación dentro de cada uno de los grupos formados lo cual sugiere niveles de jerarquización o una subdivisión mayor a la considerada en este estudio.

Por lo anterior, la variabilidad genética encontrada en la zona de estudio es baja, por lo cual es necesario implementar estrategias que conduzcan a aumentar la variación en esta especie sin embargo hay diversidad que debe ser conservada y aprovechada para la identificación de materiales adaptados a la región.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de los laboratorios de investigación en Biología Molecular de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

## REFERENCIAS

- [1] ASOHOFRUCOL, FONDO NACIONAL DE FOMENTO HORTOFRUTÍCOLA, DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (DANE), SISAC, MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. I Censo Nacional de 10 frutas agroindustriales y promisorias. Bogotá (Colombia): 2014, 63 p.
- [2] CÁRDENAS, Y. Evaluación agronómica y fenología de dos clones de mora sin espinas (*Rubus glaucus* Benth) para determinar su potencial comercial [Tesis Ingeniería Agronómica]. Quito (Ecuador): Universidad Central de Ecuador, 2014, 120 p.
- [3] MORILLO, A., MORILLO, Y., MUÑOZ, J., VÁSQUEZ, H. y ZAMORANO, A. Caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAMs de la colección de mora, *Rubus* spp, de la Universidad

- Nacional de Colombia, Sede Palmira. Acta Agronómica, 54(2), 2005, p. 15-14.
- [4] MARULANDA, M., LÓPEZ, A. and URIBE, L. Molecular characterization of the Andean blackberry, *Rubus glaucus*, using SSR markers. Genetic and Molecular Research, 11(1), 2012, p. 322-331.
- [5] CANCINO, G., BARBOSA, D. y DÍAZ, C. Diversidad genética de especies silvestres y cultivadas de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. Revista Bistua, 10(1), 2012, p. 80-89.
- [6] SEDIGHI, E. and RAHIMMALEK. Evaluation of genetic diversity of *Rubus hyrcanus* using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) and morphological markers. Biología, 70(3), 2015, p. 339-348.
- [7] WARD, J., BHANGOO, J., FERNÁNDEZ, F., MOORE, P., SWANSON, J.D., VIOLA, R., VELASCO, R., BASSIL, N., WEBER, C. and SARGENT, D. Saturated linkage map construction in *Rubus ideaeus* using genotyping by sequencing and genome-independent imputation. BMC Genomics, 14(2), 2013, p. 1-14.
- [8] LONGHI, S., GIONGO, L., BUTI, M., SURBANOVSKI, N., VELASCO, R., WARD, J. and SARGENT, D. Molecular genetics and genomics of the Rosoideae: state of the art and future perspectives. Horticultural Research, 1(1), 2014, p. 1-18.
- [9] KOSTAMO, K., TOLIJAMO, A., ANTONIUS, K., KOKKO, H. and KÄRENLAMPI, S. Morphological and molecular identification to secure cultivar maintenance and management of self-sterile *Rubus articus*. Annals of Botany, 11(4), 2014, p. 713-721.
- [10] MARULANDA, M. and LÓPEZ, A. Characterization of thornless *Rubus glaucus* in Colombia. Canadian Journal Pure Applied Science, 3(3), 2009, p. 875-885.
- [11] MORILLO, A., MORILLO, Y. y PINZÓN, E. Caracterización con RAMs de la colección de durazno (*Prunus pérsica* (L.) Batsch existente en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Acta Agronómica, 63(4), 2014, p. 367-376.
- [12] MORA, S., MORILLO, Y., MORILLO, A., CAICEDO, A. y MUÑOZ, J. Caracterización molecular con Microsatélites aleatorios RAMs de 30 accesiones de mandarina (*Citrus reticulata*) del Banco de Germoplasma de Corpoica-Palmira. Investigación Agropecuaria, 10(2), 2013, p. 161-172.
- [13] NEI, M. and LI, W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. Proceedings of the National Academy of Sciences, 79(10), 1979, p. 5267-5273.
- [14] MARTÍNEZ, M. Caracterización molecular de genotipos de mandarinas *Citrus* spp. Mediante marcadores RAMs (Microsatélites Amplificados al Azar) y microsatélites [Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Biotecnología Vegetal]. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 2013, 141 p.
- [15] MORILLO, Y., MORILLO, A., MUÑOZ, J., BALLESTEROS, W. and GONZÁLEZ, A. Molecular characterization of 93 genotypes of cocoa (*Theobroma cacao* L.) with random amplified microsatellites RAMs. Agronomía Colombiana, 32(3), 2014, p. 315-325.
- [16] WRIGHT, S. Evolution and the genetics of populations, variability within and among natural populations. Chicago (USA): University of Chicago Press, 1978, 566 p.
- [17] SOMAYEH, A., IRAJ, M., ALIREZA, T. and TAHER, N. Intra-specific variations of *Rubus* sp. (Rosaceae) in Northern Iran: morphometric analysis and microsatellite markers. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 5(1), 2014, p. 189-198.
- [18] LEE, G., SONG, J., CHOI, H., CHUNG, J., JEON, Y., LEE, J., MA, K. and LEE, M. Novel Microsatellite Markers Acquired from *Rubus coreanus* Miq. And Cross-Amplification in other *Rubus* species. Molecules, 20(4), 2015, p. 6432-6442.
- [19] MARMOLEJO, D. Evaluación de apomixis en germoplasma seleccionado de mora de castilla *Rubus glaucus* Benth [Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias, énfasis en Fitomejoramiento]. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 2010, 41 p.