



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-
GENÉTICA

DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES NATIVAS DE ZARZAMORA (*Rubus* spp L.)

GEREMIAS RODRIGUEZ BAUTISTA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

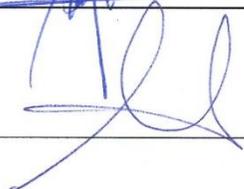
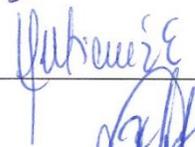
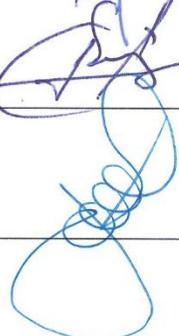
AGOSTO, 2016.

La presente tesis titulada: “**DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES NATIVAS DE ZARZAMORA (*Rubus spp L.*)**”, realizada por el alumno: **GEREMIAS RODRÍGUEZ BAUTISTA**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

Consejero	Dr. Serafín Cruz Izquierdo	
Asesor	Dr. Sergio D. Segura Ledesma	
Asesor	Dra. Ma. Alejandra Gutiérrez Espinosa	
Asesor	Dr. Nicacio Cruz Huerta	
Asesor	Dr. José López Medina	
Asesor	Dr. José Alfredo Carrillo Salazar	

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto 2016.

DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES NATIVAS DE ZARZAMORA (*Rubus* spp L.)

GEREMIAS RODRIGUEZ BAUTISTA, D.en C.
Colegio de Postgraduados, 2016

RESUMEN

La zarzamora silvestre es un recurso fitogenético que se puede conservar y utilizar de manera eficiente en un programa de mejoramiento o en la producción agrícola, por lo que , es necesario caracterizar morfológica y genéticamente a cada una de las especies presentes en una región. Por lo tanto, los objetivos del presente trabajo de investigación fueron: identificar la distribución, riqueza, diversidad, zonas adecuadas de desarrollo y los elementos climáticos que determinan la variabilidad y desarrollo de las especies silvestre de zarzamora en México; determinar la variabilidad inter e intraespecífica de *Rubus adenotrichos* Schltld, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltld provenientes de los Estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán; conocer la poliploidía de *Rubus adenotrichos*, *R. cymosu*, *R. humistratus*, *R. palmeri*, *R. pringlei*, *R. sapidus*, las variedades de Tupí y Kiowa, y las cruza Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus* mediante la técnica de citología; y por último, determinar las características morfológicas que diferencian a las zarzamoras diploides y poliplíodes. Los resultados fueron: en México, existen 36 especies silvestres de zarzamora y se distribuyeron principalmente en el Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. Los estados de Chiapas e Hidalgo presentaron mayor diversidad, mientras que el estado de Morelos y CDMX mayor riqueza. De acuerdo a las condiciones ambientales, el Eje Volcánico Transmexicano, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental fueron las zonas adecuadas para el desarrollo de la zarzamora silvestre. Los elementos climáticos: temperatura mínima y precipitación anual determinaron la distribución, desarrollo y variación de las especies de zarzamora. Las especies de *Rubus adenotrichos*, *R. cymosus*, *R. humistratus*, *R. palmeri*, *R. pringlei* y *R. sapidus* se distribuyeron principalmente en el Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. Las especies presentaron variabilidad en los caracteres morfológicos relacionados con porte de la planta, forma de la espina en tallo, densidad de tricomas en tallo, margen de la hoja, forma de la base de la hoja y número de drupas por polidrupa. Las especies *Rubus adenotrichos*, *R. cymosus* y *R. pringlei* mostraron variabilidad morfológica entre los estados de colecta, principalmente en porte de planta, pigmentación del tallo, ápice del foliolo, forma de espinas en tallo, número drupas y polidrupas. Por las características morfológicas del polidrupa durante la cosecha, *Rubus pringlei* se consideró una frambuesa. Las especies de zarzamora presentaron variabilidad en el número de juegos cromosómicos: *Rubus adenotrichos* $2n = 2x = 14$, *R. cymosus* $2n = 5x = 35$, *R. humistratus* $2n = 2x = 14$, *R. palmeri* $2n = 4x = 28$, *R. pringlei* $2n = 3x = 21$ y *R. sapidus* $2n = 3x = 21$; las variedades Tupí $2n = 3x = 21$ y Kiowa $2n = 4x = 28$, y las progenies de las cruza Tupí x *R. sapidus* $2n = 3x = 21$ y Kiowa x *R. sapidus* $2n = 4x = 28$. No se determinó qué características morfológicas asocian o definen la poliploidía en las especies de zarzamora.

Palabras clave: *Rubus* spp L., caracterización, diversidad genética, poliploidía.

GENETIC DIVERSITY OF NATIVE POPULATIONS OF BLACKBERRY (*Rubus* spp L.)

GEREMIAS RODRIGUEZ BAUTISTA, D.en C.
Colegio de Postgraduados, 2016

ABSTRACT

The wild blackberry is a plant genetic resource which can be preserved and used efficiently in a breeding program or agricultural production, however, it is necessary the morphological and genetically characterization for each of the species in a region. Therefore, the objectives of this research were to identify the distribution, richness, diversity, appropriate development areas and elements that determine climate variability and development of wild blackberries species in Mexico; also determine inter and intraespecific variability of *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl from the states of Chiapas, Hidalgo and Michoacán. To know the polyploidy of *Rubus adenotrichos*, *R. cymosus*, *R. humistratus*, *R. palmeri*, *R. pringlei*, *R. sapidus*; varieties Tupí and Kiowa; crosses Tupí x *R. sapidus*, and Kiowa x *R. sapidus* using the technique of cytology. Finally determine the morphological characteristics that differentiate polyploidies of wild species and varieties of blackberries. The results were: There are 36 species of wild blackberries in Mexico, mainly distributed in the Transmexican Volcanic Belt and Sierra Madre del Sur. The states of Chiapas and Hidalgo had greater diversity, while the state of Morelos and Mexico city had greater wealth. According to environmental conditions, the Transmexican Volcanic Belt, Sierra Madre del Sur, and Sierra Madre Oriental were appropriate for the development of wild blackberries areas. The Weather elements: minimum temperature and annual precipitation determined the distribution, development and variation of blackberry species. *Rubus adenotrichos*, *R. cymosus*, *R. humistratus*, *R. palmeri*, *R. pringlei* y *R. sapidus* mainly is distributed in Transmexican Volcanic Belt and Sierra Madre del Sur. The species showed interspecific variability in plant height, thorn morphology on stem, stem pilosity, leaf margin, leaf base morphology, and drupes number by polidrupa. *Rubus adenotrichos*, *R. cymosus*, and *R. pringlei* showed morphological variability among states of origin, mainly in plant height, stem pigmentation, pinna apex, thorn morphology on stem and leaf, number of drupes and polidrupes. *Rubus pringlei* was considered a raspberry due its polidrupe morphological characters recorded during harvest. Chromosome number on blackberries varied as follow: *Rubus adenotrichos*: $2n = 2x = 14$; *R. cymosus*: $2n = 5x = 35$; *R. humistratus*: $2n = 2x = 14$; *R. palmeri*: $2n = 4x = 28$; *R. pringlei*: $2n = 3x = 21$; *R. sapidus*: $2n = 3x = 21$; Tupí: $2n = 2x = 14$; Kiowa: $2n = 4x = 28$; Tupí x *R. sapidus*: $2n = 3x = 21$; and Kiowa x *R. sapidus*: $2n = 4x = 28$. It was not determined which one of the morphological traits are associated with or define polyploidy in the blackberry species .

Key words: *Rubus* spp L, characterization, genetic diversity, polyploidy.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico que me brindó para realizar mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados por brindarme la oportunidad de continuar con mis estudios para mi desarrollo profesional.

Al programa de Fideicomiso No.167304 para la Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico, por el financiamiento al proyecto “Diversidad genética de poblaciones de zarzamora (*Rubus* spp).

A mis asesores quienes confiaron en mis capacidades y asesorarme en la tesis para lograr obtener el grado de Doctor en Ciencias.

DEDICATORIAS

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado la fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; y por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mí corazón e iluminar mí mente y por haber puesto en mí camino aquellas personas que han sido mí soporte y compañía. Por ello, con toda la humildad de mí corazón puede emanar, dedico primeramente esta tesis..

A mis padres Maria Lucia y José Antonio por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mí educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo. Todo trabajo ha sido posible por ellos.

A mis hermanos: Margarita, Ángela, Ruben, Irene, Oliveria, Yolanda, Artemio y Erisbeth , que siempre han estado conmigo.

A mis amigos: Nely, Lulu, Memo, Alma, Rodo, Yazmin, Alejandra y Rosita que me levantan en mis momentos difíciles y celebran conmigo en los momentos de felicidad.

A José Antonio Yam Tzec quién me inspiró y apoyó en todo momento para seguir estudiando y obtener el Doctorado.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS.....	2
OBJETIVO GENERAL.....	2
OBJETIVOS PARTICULARES.....	3
HIPOTESIS.....	4
CAPÍTULO 1: REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1.1 Importancia de las especies silvestres de zarzamora.....	5
1.2 Taxonomía.....	5
1.3 Origen	6
1.4 Importancia mundial y nacional	7
1.5 Exportación e importación	9
1.6 Características generales	10
1.7 Propiedades nutricionales.....	11
1.8 Marcadores genéticos en el mejoramiento genético	12
1.9 Literatura citada.....	14
CAPÍTULO II. ADAPTACIÓN POTENCIAL Y CARACTERIZACIÓN ECO-CLIMÁTICA DE ESPECIES SILVESTRES DE ZARZAMORA (<i>Rubus</i> spp) EN MÉXICO.....	21
2.1 Resumen.....	21
2.2 Abstract.....	22
2.3 Introducción.....	23
2.4 Materiales y métodos.....	24
2.5 Resultados y discusión.....	26
2.5.1. Distribución general	26

2.5.2. Modelo de zonas de adecuadas de desarrollo de las especies de zarzamora silvestre.....	29
2.5.3. Análisis de Componentes Principales.....	31
2.5.4. Análisis de correspondencias múltiples (ACM).....	33
2.5.5. Análisis de agrupación (AA).....	35
2.5.6. Análisis discriminante.....	37
2.6. Conclusiones.....	39
2.7. Literatura citada.....	40
CAPÍTULO III. DISTRIBUCIÓN Y VARIABILIDAD MORFOLÓGICA DE ESPECIES SILVESTRES DE ZARZAMORA.....	44
3.1. Resumen.....	44
3.2. Abstract.....	45
3.3. Introducción.....	46
3.4. Materiales y métodos.....	47
3.5. Resultados y discusión.....	50
3.5.1. Distribución geográfica.....	50
3.5.2. Análisis de elementos climáticos.....	52
3.5.3. Variabilidad morfológica inter e intraespecifica.....	54
3.6. Conclusion.....	62
3.7. Literatura citada.....	63
CAPÍTULO IV: POLIPLOIDIA EN ZARZAMORAS (<i>Rubus spp</i>).....	67
4.1 Resumen.....	67
4.2 Abstract.....	68
4.3. Introducción.....	69

4.4. Materiales y métodos.....	71
4.4.1. Descripción morfológica.....	72
4.5. Resultados y discusión.....	72
4.5.1. Caracterización cromosómica.....	72
4.5.2 Descripción morfológica de las especies de zarzamora.....	77
4.6. Conclusiones.....	80
4.7. Literatura Citada.....	81
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES.....	85
5.1. Discusión general.....	85
5.2. Conclusiones generales.....	90
5.3. Literatura citada	91
6. ANEXOS.....	93

LISTA DE CUADROS CAPÍTULO II

Cuadro 1. Valores propios y proporción de la varianza explicada en análisis de componentes principales	31
Cuadro 2. Variables aceptadas y eliminadas del análisis de Mahalanobis.....	37

LISTA DE CUADROS CAPITULO III

Cuadro1. Coordenadas geográficas de los sitios de colecta de las zarzamoras silvestres.....	49
Cuadro 2. Valores propios y proporción de la varianza explicada en análisis de componentes principales.....	52
Cuadro 3: Características morfológicas interespecificas de las especies silvestres de zarzamoras	58

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II

Figura 1. Distribución de 357 ejemplares de las especies de zarzamora silvestre en la República Mexicana, obtenidos de la Plataforma Mundial de Información en Biodiversidad (GBIF) (www.gbif.org).....	27
Figura 2. Riqueza de las 36 especies de zarzamora silvestre en México, con datos disponibles en GBIF (www.gbif.org).....	28
Figura 3. Diversidad de las 36 especies de zarzamora silvestre en México, con datos disponibles en GBIF (www.gbif.org).....	29
Figura 4. Modelo de las zonas de adecuadas de adaptación de las especies silvestre de zarzamora en México utilizando la base de datos climáticos Worldclim (Hijmans <i>et al.</i> , 2005) y el algoritmo Bioclim/Domain de Diva Gis 7.5 (Hijmans <i>et al.</i> , 2004).....	30

Figura 5. Asociación de los elementos climáticos sobre los dos primeros componentes principales que caracterizan la adaptación de las especies de zarzamora silvestre en México.....	32
Figura 6. Dispersión de las especies silvestres de zarzamora sobre el plano de los dos primeros factores.....	33
Figura 7. Dendograma construido mediante el método de UPGM, de 36 especies silvestre de zarzamora formado por 19 elementos climáticos, obtenidos a partir del programa Diva Gis 7.5 (Hijmans <i>et al.</i> , 2004).....	36

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO III

Figura 1. Mapa de distribución de seis especies silvestre de zarzamora en México, elaborado con información de la Plataforma Mundial de Información en Biodiversidad (GBIF).	51
Figura 2. Asociación de los elementos climáticos sobre los dos primeros componentes que caracterizan a las zarzamoras silvestres en México.....	54
Figura 3. Dispersión de las especies silvestres de zarzamora sobre el plano de los dos primeros factores de las especies de zarzamora provenientes del estado de Chiapas, Hidalgo y Michoacán.....	55
Figura 4. Forma del tallo: a) <i>Rubus adenotrichos</i> Schltdl, b) <i>R. cymosus</i> Rydb, c) <i>R. humistratus</i> Steud, d) <i>R. palmeri</i> Rydb y e) <i>R. sapidus</i> Schltdl.....	57
Figura 5. Tricomas y forma de la espina en tallo: a) <i>Rubus adenotrichos</i> Schltdl, b) <i>R. cymosus</i> Rydb, c) <i>R. humistratus</i> Steud, d) <i>R. palmeri</i> Rydb, e) <i>R. pringlei</i> Rydb y f) <i>R. sapidus</i> Schltdl.....	57

Figura 6. Número de foliolos por hoja: a) *Rubus adenotrichos* Schltld, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb, e) *R. pringlei* Rydb y f) *R. sapidus* Schltld.....59

Figura 7. Forma y color de pétalos: a) *Rubus adenotrichos* Schltld, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb, e) *R. pringlei* Rydb y f) *R. sapidus* Schltld.....59

Figura 8. Número de polidrupas por racimo: a) *R. adenotrichos* Schltld, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. palmeri* Rydb, d) *R. pringlei* Rydb y e) *R. sapidus* Schltld.....60

Figura 9. Forma del fruto y número de drupas por polidrupa: a) *R. adenotrichos* Schltld, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. palmeri* Rydb, d) *R. pringlei* Rydb y e) *R. sapidus* Schltld.....60

LISTA DE FIGURAS CAPITULO IV

Figura 1. Número de cromosomas en *Rubus adenotrichos* Schltld ($2n = 2x = 14$).....73

Figura 2. Número de cromosomas en la especie *Rubus humistratus* Steud ($2n = 2x = 14$).....73

Figura 3. Número de cromosomas en *Rubus pringlei* Rydb ($2n = 3x = 21$).....74

Figura 4. Número de cromosomas en *Rubus sapidus* Schtdl ($2n = 3x = 21$).....74

Figura 5. Número de cromosomas de la variedad Tupi ($2n = 3x = 21$).....75

Figura 6. Número de cromosomas de la cruza Tupi x *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$).....75

Figura 7. Número de cromosomas en *Rubus palmeri* Rydb ($2n = 4x = 28$).....76

Figura 8 Número de cromosomas de la variedad Kiowa ($2n = 4x = 28$).....76

Figura 9. Número de cromosomas de la cruza Kiowa x *R. sapidus* ($2n = 4x = 28$).....76

Figura 10. Número de cromosomas en *Rubus cymosus* Rydb ($2n = 5x = 35$).....77

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las especies silvestres presentan un campo de oportunidad para el desarrollo de opciones alimenticias, conocimiento, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad genética. México es el cuarto país del mundo con la mayor diversidad vegetal. Esta diversidad biológica responde a las condiciones fisiográficas, geológicas y climáticas, generando un mosaico de nichos ecológicos (Rzedowski, 1994).

En México existen especies frutales nativas que son aprovechadas comercialmente y cultivadas localmente en huertos familiares (Borys y Leszzyńska-Borys, 2001). Dentro de esta diversidad se encuentran colecciones de germoplasma silvestre como la zarzamora (*Rubus* spp L.), que forman parte de los recursos fitogenéticos catalogados como especies emparentadas con variedades cultivadas de zarzamora (Reid y Miller, 1989).

La amplia variación evaluada en distintos trabajos, ha situado a las especies de zarzamora como complejos a nivel taxonómico, debido a la poliploidía, apomixis e hibridación entre especies relacionadas e incluso entre subgéneros, por lo tanto, genera confusión en la clasificación entre una y otra especie (Alice y Campbell, 1999; Finn, 2008). Con el conocimiento y desarrollo científico derivado de la biología molecular es posible comprender la especiación, la diferenciación y las relaciones de las especies a nivel molecular. Las técnicas de análisis de ADN permiten la clasificación de caracteres taxonómicos a una mayor precisión y comprensión de las relaciones entre taxones (Antonius-Klemola, 1999).

Las zarzamoras silvestres son recursos fitogenéticos que se desarrollan adecuadamente en varias zonas montañosas de México hasta el Ecuador (Cancino-Escalante *et al.*, 2011); sin embargo, se le ha dedicado poco interés a su estudio. No se dispone de información conducente a la

caracterización morfológica, genética y fisiológica de las principales colecciones silvestres que se desarrollan en algunas regiones de México, mismas que pueden contener un potencial genético para la producción y mejoramiento genético (Ibañez *et al.*, 2011).

De acuerdo con Poehlman y Allen (2003) en un programa de mejoramiento genético es fundamental conocer e identificar las características que muestra el germoplasma para evitar barreras que limiten los objetivos del programa.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar la distribución, riqueza, diversidad, zonas adecuadas de desarrollo y los elementos climáticos que determinan la variabilidad y desarrollo de las especies silvestres de México; así como, determinar la variabilidad morfológica inter e intraespecífica de las especies de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl provenientes de los Estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán. Conocer la poliploidía de las especies de zarzamora: *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb, *R. sapidus* Schltldl; las variedades de Tupí y Kiowa, y las cruces Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus*. Y determinar las características morfológicas que diferencian a las zarzamoras diploides y poliplíodes.

Objetivos particulares

- (i) Identificar la distribución de las especies silvestres de zarzamora en México a partir del análisis de información.
- (ii) Determinar la riqueza y diversidad de las especies de zarzamora en México
- (iii) Identificar las zonas adecuadas de establecimiento de las especies silvestres de zarzamora.
- (iv) Conocer los principales elementos climáticos que están asociados al desarrollo y la variación entre especies de zarzamora.
- (v) Identificar la distribución de las especies *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl a partir del análisis de información geográfica.
- (vi) Describir la variabilidad morfológica inter e intraespecífica de las especies de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl provenientes de los Estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán.
- (vii) Determinar el número de cromosomas de las especies silvestres de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud., *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb, *R. sapidus* Schltldl; las variedades de Tupí y Kiowa, y las cruzas Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus* mediante la técnica de citología.
- (viii) Describir las características morfológicas que asocian o definen la poliploidía de las especies silvestres y variedades de zarzamora.

HIPÓTESIS

- Las especies silvestres de zarzamora se distribuyen en el Centro y Sur del territorio Mexicano.
- La riqueza, la diversidad y las zonas adecuadas de desarrollo de las especies silvestres de zarzamora en México, se encuentran principalmente en las zonas Centro y Sur derivado de las condiciones ambientales.
- La temperatura es uno de los principales elementos climáticos que determinan la distribución y variación de las especies de zarzamora.
- Las especies de zarzamora *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl se distribuyen principalmente en el Centro y Sur de Mexico,
- Las especies silvestres de zarzamora presentan variabilidad morfológica entre especies y dentro de las mismas, afectado por las condiciones ambientales dependiendo de las regiones en que se encuentran localizadas.
- Las especies: *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl; las variedades de Tupi y Kiowa y las cruzas Tupi x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus* presentan variación en el número de juegos cromosómicos.
- Las especies poliploides presentan variación en las características morfológicas que asocian o diferencian de sus progenitores diploides, por lo tanto, existen características morfológicas que permiten definir las.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Importancia de las especies silvestres de zarzamora

Más del 80 % de la alimentación humana es de origen vegetal, se estima que existen entre 200 y 400 mil especies de plantas comestibles en el mundo, de las cuales 7 mil son utilizadas como alimentos de la población humana (Proches *et al.*, 2008). En México, actualmente existen 712 especies de plantas que pertenecen a 75 familias y 169 géneros; 32 son especies nativas que son aprovechadas comercialmente (Borys y Leszzyńska-Borys, 2001). Dentro de esta diversidad se encuentran materiales silvestres; como las zarzadoras que forman parte de los recursos fitogenéticos (Reid y Miller, 1989).

Las zarzadoras silvestres son comunes en algunas zonas, donde crecen de manera espontánea desde hace varios milenios, llegan a cubrir grandes extensiones, y generalmente son recolectadas para el consumo personal o comercio local en varios países (Strik *et al.*, 2008; Bassil *et al.*, 2010).

1.2. Taxonomía

La zarzamora se clasifica taxonómicamente dentro del género *Rubus*, subgénero *Eubatus*, pertenece a la familia *Rosaceae* (Thompson, 1997), de la que se estima que existen 750 especies en el mundo, es el género con mayor número de especies dentro de familia *Rosaceae* (Potter *et al.*, 2007; Juinn-Yih y Jer-Ming, 2009). El género *Rubus* presenta 12 subgéneros; las especies de frambuesas (*Rubus idaeus* L.) pertenecen al subgénero *idaeubatus* y las especies de zarzamora (*Rubus* spp L.) al subgénero *eubatus* (Jennings, 1998). En México, de acuerdo con Rzedowsky y Calderón de Rzedowsky (2005) se encuentran distribuidas 61 especies de *Rubus*.

La frambuesa y zarzamora presentan diferencias morfológicas, y el criterio comúnmente utilizado para su clasificación es la separación del fruto maduro de la planta durante la cosecha. En la

frambuesa, el fruto es un agregado de pequeñas drupeolas que se separan del receptáculo. En contraste, las drupeolas de la zarzamora se encuentran unidas al receptáculo, el cual forma una parte comestible del fruto (Clark y Finn, 2011).

Dentro de la evolución de las especies del género *Rubus* la poliploidía ha sido fundamental, en zarzamoras, la ploidía varía de diploides ($2n = 14$) a dodecaploides ($2n = 126$), incluyen ploidía impar y aneuploides (Thompson, 1997; Meng y Finn, 1999), mientras que la mayoría de las frambuesas son diploides (Moore y Skirvin, 1990). Los cromosomas de las zarzamoras miden de 1 a 3 μm de longitud y el contenido de ADN en especies diploides va de 0.56 a 0.59 pg (Meng y Finn, 2002).

1.3. Origen

Las zarzamoras han acompañado en la dieta humana desde la antigüedad (Clark *et al.*, 2007); en el siglo IV a. C, en Roma, las zarzamoras se consumían como frutos frescos y bebidas tradicionales, mientras que sus hojas se utilizaban en té con fines terapéuticos (Patel *et al.*, 2004). Las zarzamoras se domesticaron en el siglo XVII, y en los siglos XIX y XX se obtuvieron las primeras variedades (Galleta y Violette, 1989).

Las especies silvestres de zarzamora se distribuyen principalmente en Asia, Este y Sur de África, Europa, Centro y Norte de América. Mientras que las especies de frambuesa se distribuyen en toda América y Europa (Clark *et al.*, 2007).

Graham *et al.* (2003) reportaron que las poblaciones silvestres de *Rubus* presentan mayor variabilidad genética a diferencia de las variedades; por lo que se espera que las especies silvestres proporcionen caracteres importantes en el mejoramiento genético de frambuesas y zarzamoras. Las especies silvestres del género *Rubus* se han utilizado en programas de mejoramiento genético,

como fuentes de características hortícolas de interés potencial (Knigh, 2004; Clark y Finn, 2011). En el mundo, las variedades cultivadas de zarzamoras provienen de las especies *Rubus occidentalis* Focke o de las hibridaciones con *Rubus idaeus* (Ryabova, 2007). Por ejemplo, *Rubus parviflorus* Nutt y *Rubus odoratus* L. son utilizadas como fuente de resistencia a plagas (Graham y Jennings, 2009), *Rubus idaeus* y *Rubus crataegifolius* Bunge como fuente de resistencia a plagas (Briggs *et al.*, 1982); y *R. crataegifolius* Bunge, *R. palmatus* Thunb y *R. lambertianus* Hemsley para incrementar el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante en variedades de frambuesa (Shigyo *et al.*, 2013). Otras especies importantes para el mejoramiento genético son: *Rubus allegheniensis* Porter, *R. arguti* Weber, *R. caesius* L. , *R. canadensis* L., *R. flagellaris* Willd, *R. ursini* Cham, *R. vera-crucis* Rydb, *R. idaeobatus* y *R. lampobatus* (Clark *et al.*, 2007; Finn, 2008).

Algunas especies de zarzamora silvestre son utilizadas como cultivo comercial en ciertas áreas; por ejemplo, *Rubus glaucus* Benth en el Sur de América (Cancino *et al.*, 2012); *R. armeniacus* Focke en Europa y América; *R. phoenicolasius* Max, *R. coreanus* Miq y *R. parvifolius* L. en Asia; y *R. chamaemorus* L. y *R. arcticu* L. en el Norte de América (Finn, 2008).

En México, la primera plantación comercial se realizó en 1983, en Tetela del Volcán, Morelos, utilizando la variedad *Boysenberry*, híbrido obtenido entre la cruce de frambuesa y zarzamora. La variedad Brazos, fue la primera variedad cultivada y en 1998 fue remplazada por ‘Tupi’, variedad de excelente calidad y vida de anaquel (Clark y Finn, 2011).

1.4. Importancia mundial y nacional

La rentabilidad, el interés del consumo de los alimentos con propiedades nutraceuticas y las posibilidades de exportación, han sido factores importantes para el rápido crecimiento de la producción y comercialización mundial de las frutas denominadas frutillas como: arándano

(*Vaccinium corybosum*), fresa (*Fragaria x anannasa Duch*), frambuesa (*Rubus idaeus L.*) y zarzamora (*Rubus spp*) (Carvalho *et al.*, 2010).

La producción de zarzamora ha experimentado una expansión en los últimos años. En el año 2005, la producción mundial de zarzamora fue de 154.6 t, producidas en 20 ha, las zarzamoras silvestres contribuyeron con 13.5 t en una superficie de 3.6 a 8.0 ha (Strik *et al.*, 2008).

Los principales países productores de zarzamora son: Estados Unidos y Nueva Zelanda. Sin embargo, Guatemala, Colombia y México producen zarzamoras entre los meses de septiembre a diciembre, y es una oportunidad para abastecer la demanda del producto en Estados Unidos, debido que la producción disminuye en esos meses por las condiciones climáticas. Esta condición podría significar que la producción fuera rentable (Muñoz y Juárez, 1997).

La gran ventaja que tiene México, es la ventana de producción de noviembre a junio, período importante que no es alcanzado por la mayoría de los países productores, salvo Guatemala, que tiene una ventana productiva que inicia en noviembre y concluye en agosto (Ibarra-Morales, *et al.*, 2013)

La producción de zarzamora en México ha tenido un importante crecimiento en los últimos 15 años, ha pasado de una superficie de 1, 200 ha en el año 2000 a una superficie diez veces mayor en el 2016 (12,444 ha). En consecuencia, el volumen de la producción se ha incrementado de 14 a 160.3 mil t (SIAP, 2016). El aumento de la producción de zarzamoras en México, se debe principalmente por la modificación de las prácticas de producción y por la introducción de variedades de bajos requerimientos de frío (Clark y Finn, 2011).

La producción nacional está distribuida principalmente en los estados de Michoacán, Jalisco, Colima, Baja California, Puebla, Estado de México, Querétaro, Nayarit y Morelos; destacando

Michoacán (156 mil t) y los estados de Jalisco y Colima (3 mil y 885 t). El rendimiento promedio que se reporta es de 15.7 t ha⁻¹ (SIAP, 2016).

1.5. Exportación e importación

El cultivo de la zarzamora representa una derrama económica importante debida que se generan empleos directos e indirectos en la producción y comercialización. En la última década, México se posicionó como el principal exportador de frutillas en los mercados (Sánchez, 2008).

El principal exportador de zarzamora fresca en el mundo es Estados Unidos, con una venta del 28.4 %, seguido por España con un 24.1 % y en tercer lugar se encuentra México, con el 18 % de exportación. Los principales países competidores para nuestro país son: España, Polonia y Holanda (Ibarra-Morales *et al.*, 2013).

En el 2014, Mexico exportó 123 toneladas de frutillas, con un valor de 659 millones de dólares; entre los principales destinos de exportación de frutillas se encuentran: Estados Unidos, así como los Países Bajos, Reino Unido, Italia, Bélgica, Francia, Canadá, Alemania y Chile. En relación a las importaciones realizadas por México, se importan principalmente productos congelados y no rebasan de las mil toneladas, con un valor promedio de 3 millones de dólares (FND, 2015).

Estados Unidos de América es el principal importador en el mundo, adquiriendo el 28.1 % de la oferta mundial y con un crecimiento anual del 3 %. El segundo importador es Canadá, país que importa el 19 % de la oferta en el mundo. Estos dos mercados representan para los productores mexicanos viabilidad de venta ya que por su cercanía y relación comercial facilitan la transportación del producto. Por otro lado, los factores como: fruto perecedero con una vida de anaquel corta, los aspectos geográficos y climáticos contribuyen a que los productores de México sean importantes en la comercialización en estos dos mercados (Ibarra-Morales *et al.*, 2013).

Por último, México tiene nuevas fronteras de comercialización; el 28 de enero de 2015 inició la exportación de frutillas a China, con seis toneladas procedentes de los campos de cultivo de los estados de Jalisco y Michoacán (SAGARPA, 2015).

1.6. Características generales

Las especies del género *Rubus* se adaptan a una gama de ambientes, desde el ártico hasta los trópicos, de menor a mayor altitud, desde suelos ácidos a alcalinos, de climas secos a muy húmedos y de lugares sombreados a condiciones de plena luz (Clark y Finn, 2011; Ibarra-Morales *et al.*, 2013). También requieren de exposición a bajas temperaturas (por debajo de 7 ° C) durante un período de tiempo para producir brotes, flores y frutos (Warmund y Byers, 2002).

Las zarzamoras se caracterizan por su gran diversidad morfológica (Clark *et al.*, 2007), incluyen especies de crecimiento rastrero, semi-erecto y erecto (Clark y Finn, 2008). La reproducción varía de apomícticas a sexualmente fértiles. Dado que las especies de zarzamora en su mayoría son infértiles y biológicamente se cruzan entre ellas, la clasificación taxonómica está siendo difícil o imposible (Evans *et al.*, 2007; Marulanda *et al.*, 2010), principalmente por la poliploidia, agamosperma y la frecuente hibridación entre especies (Alice, 2002).

Las flores y frutos se forman en panícula o racimo (Hummer y Janick, 2007). El receptáculo de la flor presenta varios ovarios, estilos y estigmas con pétalos de color rosa o blanco, las flores de doble pétalo no son comunes. Desde el punto de vista botánico, el fruto de la zarzamora está formado por muchas drupas alrededor del receptáculo (Clark y Finn, 2011).

Los problemas fitosanitarios comunes en zarzamora incluyen la antracnosis (*Elsinoe veneta* Jenk), botritis de la fruta (*Botrytis cinerea* Pers.) y tizón de la caña (*Leptosphaeria Coniothyrium* Sacc. (Ellis *et al.*, 1991). En México se ha expandido la producción de zarzamora a regiones secas y

durante la etapa de desarrollo vegetativo presentan problemas de mildiu oidio (*Sphaerotheca macularis* Lind) (Clark y Finn, 2008).

La agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens* Conn) es uno de los problemas bacterianos que con frecuencia causan pérdidas en los cultivos de zarzamoras (Ellis *et al.*, 1991). Por otro lado, los frutos son susceptibles a las quemaduras del sol, especialmente en regiones de intensa radiación y baja humedad (Clark y Finn, 2008).

1.7. Propiedades nutricionales

El consumo de la zarzamora es importante en la salud del ser humano debido que contiene nutrientes como fibras, vitamina K, ácido fólico y minerales esenciales, son fuente de polifenoles como el ácido elágico, taninos, elagínina quercetina, ácido gálico, antocianinas y cianídinas (Kaume *et al.*, 2012), de los cuales pueden presentar un rango de efectos biológicos, incluyendo antioxidantes, antimicrobiales, anti-inflamatorios y acciones vaso dilatorias (Kahkonen *et al.*, 2001, Patil *et al.*, 2009). Se ha encontrado una gran variación en el contenido de antocianinas, así como en la capacidad antioxidante (Cuevas-Rodríguez *et al.*, 2010; Jordheim *et al.*, 2011). Los genotipos de *Rubus* de origen Mexicano han sido reportados con actividad antioxidante y antiinflamatoria (Cuevas-Rodríguez *et al.*, 2010). *Rubus adenotrichos* es una especie silvestre cuyo fruto es conocido como zarzamora y con uso nivel local. Si bien se conocen las propiedades de otras especies del mismo género, de *R. adenotrichos* existen pocos reportes de sus metabolitos secundarios con actividad antioxidante (Acosta-Montoya *et al.*, 2010), su hábitat se localiza en zonas montañosas de México, Ecuador y Costa Rica, pero no se han encontrado reportes de estudios a la población mexicana de esta especie.

Los frutos de zarzamora se consumen normalmente en fresco e industrializados como en jugos, mermeladas, jaleas, vinos y en jarabes, son apreciados por los consumidores por su valor nutricional, color, aroma y sabor (Endrizzi *et al.*, 2009; Kubota *et al.*, 2012).

1.8. Marcadores genéticos en el mejoramiento genético

El objetivo principal del mejoramiento genético de la zarzamora es obtener variedades de porte erecto, alta productividad, plantas sin espinas, mejorar las características de calidad de fruto y la facilidad de cosecha. En el caso del mejoramiento genético para la industrialización se buscan frutos con las siguientes características: color intenso, sabor con alto contenido de azúcar y que la fruta pueda ser cosechada mecánicamente (Brennan *et al.*, 2014).

A nivel molecular se han realizado varios trabajos en especies de *Rubus* principalmente en la identificación de cultivares e híbridos, estimación de similitudes genéticas, filogenia, determinación del sistema reproductivo y genética de poblaciones, evaluación de la introgresión de genes de resistencia a nuevas variedades (Graham y Smith, 2002), evaluación de la diversidad genética, riqueza alélica y relaciones genéticas entre genotipos mapeo de QTL's y etiquetado de genes (Miyashita *et al.*, 2015).

Las especies de *Rubus* han sido analizadas con diferentes objetivos utilizando tipos de marcadores moleculares, por ejemplo: Polimorfismo en la Longitud de Fragmentos Amplificados (AFLP) (Lpek *et al.*, 2009; Agar *et al.*, 2011, Miyashita *et al.*, 2015), Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico (RAPD), Marcadores de Secuencia Simple (SSR) (Stafne *et al.*, 2005; Graham *et al.*, 2009; Bassil *et al.*, 2010) y la combinación de AFLP y SSR (Marulanda *et al.*, 2007).

Los recientes logros obtenidos mediante el uso de marcadores moleculares en zarzamoras son: desarrollo de EST-SRRs para la elaboración del mapa genético (Lewers *et al.*, 2008),

diferenciación de genotipos (Bassil *et al.*, 2010), ligamiento de especies emparentados (Bushakra *et al.*, 2012), obtención de mapa genético en primocañas y zarzamoras sin espinas tetraploides (Castro *et al.*, 2013) y la identificación de las relaciones genéticas entre variedades y especies silvestres (Miyashita *et al.*, 2015).

1.9. LITERATURA CITADA

Acosta-Montoya O., F. Vaillant, S. Cozzano, C. Mertz, A. M. Pérez y M. V. Castro (2010)

Phenolic content and antioxidant capacity of tropical high land blackberry (*Rubus adenotrichus* Schldl) during three edible maturity stages. *Food Chemical* 119:1497-1501.

Agar, G., J. Halasz, and S. Ercosli (2011) Genetic relationship among wild and cultivated

blackberries (*Rubus caucasicus* L.) based on amplified fragment length polymorphism markers. *Plant Biosystems* 145:347-352.

Alice, L. A. (2002) Evolutionary relationships in *Rubus* (Rosaceae) based on molecular data. *Acta*

Horticulturae 585:79-83.

Bassil, N. V., M. Muminova, and W. Njuguna (2010) Microsatellite-based fingerprinting of

wester blackberries from plants, IQF berries and puree. *Acta Horticulturae* 859:73-80.

Borys, M. W., and H. Leszzyńska-Borys (2001) El Potencial Frutícola de la República

Mexicana. Fundación Salvador Sánchez Colín. CICTAMEX, S.C. Coatepec Harinas, Toluca, Edo. de México. México. 99 p.

Brennan, R. M., P. D. S. Caligari, J. R. Clark, P. N. Bras de Olivera, C. E. Finn, J. F. Hancock,

D. Jarret, G. A. Lobos, S. Raffle, and D. Simpson (2014) Berry Crops. *In:* G. R. Dixon, D. E. Aldous (eds), *Horticulturae: Plants for People and Places*, pp: 301-325.

Briggs, J. B., J. Danek, M. Lyth, and E. Keep (1982) Resistance to the beetle, *Byturus*

tomentosus, in *Rubus* species and their hybrid derivatives with *R. idaeus*. *Journal of Horticultural Science* 57:73-78.

Buskakra, J. M., A. N. Atmadjaj, K. S. Lewers, V. V. Symonds, J. A. Udall, D. Changne, E.

J. Buck, S.E. Gardiner (2012) Construction of black (*Rubus occidentalis*) and red (*R.*

idaeus) raspberry linkage maps and their comparison to the genomes of strawberry, apples and peach. *Theoretical and Applied Genetics* 1007-1835.

Cancino-Escalante, G. O., L. R. Sánchez-Montaño, E. Quevedo-García y C. Díaz-Carvajal. (2011). Caracterización fenotípica de accesiones de especies de *Rubus L.* de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. *Universitas Scientiarum* 16:219-233.

Cancino-Escalante, G. O., D. S. Barbosa-Hernández, C. D. Carbajal (2012) Diversidad genética de especies silvestres y cultivadas de *Rubus L.* de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas* 1:80-89.

Carvalho, T., M. R. Thomsen, and J. R. Clark (2010) Commercial fresh blackberry shipping market growth and Price trends in the United States. *Small Fruit News*. pp: 8-10.

Castro, P., E.T. Stafne, J. R. Clark, and K. S. Lewers (2013) Genetic map of the promicane-fruited and thornless traits of tetraploid blackberry. *Theoretical and Applied Genetics* 126:2521-2532.

Clark, J. R., and C. E. Finn (2008) Trends in blackberry breeding. *Acta Horticulturae* 777:41-48

Clark, J. R., C. E., Finn (2011) Blackberry breeding and genetics. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 1:27-43.

Clark J. R., E. T. Stafne, H. K. Hall and C. E. Finn (2007) Blackberry breeding and genetics. *Plant Breeding Reviews* 29:19-144.

Cuevas-Rodríguez E. O., G.G. Yousef, P.A. García-Saucedo, J. López-Medina, O. Paredes-López y M. Lila (2010) Caracterización of anthocyanins an proanthocyanidins in wild and domesticated mexican blackberri (*Rubus* spp). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58:7458-7464

- Ellis, M.A., R. H. Converse, R. N. Williams, and B. Williamson (1991)** Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. *The American phytopathological society*, St. Paul, Minesota. 122 p.
- Endrizzi I., G. Pirretti, D. G. Galo, and F. Gasperi (2009)** A consumer study of fresh juices containing berry fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89:1227-35.
- Evans, K. J., D. E. Symon, M. A. Whalen, J. R. Hosking, R. M. Barker, and J. A. Oliver (2007)** Systematics of the *Rubus fruticosus* aggregate (Rosaceae) and others exotic taxa in Australia. *Australian Systematic Botany* 20:187-251.
- FAO, (2012) FAOSTAT.** Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division <http://faostat.fao.org>. Consultada en agosto de 2015.
- Financiera Nacional de Desarrollo, Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero (FND, 2015)** www.financierarural.gob.mx. Consultada en agosto de 2015.
- Finn, C. E. (2008)** Blackberries. *In: Temperature Fruit Crop Breeding: Germplasm to Genomics.* J. F. Hancock (ed), Springer Science Business Media, Berlin. pp: 83-114.
- Galleta, G., C., and Violette (1989)** The Brambles. *In: Brambles Production Guide.* M Pritts, D Handley (eds). Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Ithaca, New York, E.U. pp:3-8.
- Graham, J., and K. Smith (2002)** DNA markers for use in Raspberry breeding. *Acta Horticulturae* 582:51-56.
- Graham, J., and N. Jennings (2009)** Raspberry Breeding: *In: Breeding Plantation Tree Crops.* P. M. Priyadarshan, and S. MohanJain (Eds), Springer, New York, pp:233-248
- Graham, J.; B. Marshall, and G. R. Squire (2003)** Genetics differentiation over a spatial enviromental gradient in Wild *Rubus idaeus* populations. *New Phytologist.* 157:667-675.

- Graham, J., M. Woodhead, K. Smith, J. Russell, B. Marshall, G. Ramsay, and G. Squiere (2009)** New insight into wild red raspberry populations using simple sequence repeat Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134:109-119.
- Hummer, K. E., and J. Janick (2007)** *Rubus* iconography: Antiquity to the Renaissance. *Acta Horticulturae* 759:89-106
- Ibañez, M. A., E. Avitia-García, A. M. Castillo-González, T. Corona-Torres, Ma. T. Colinas-León y E. Martínez-Moreno (2011)** Caracterización de zarzamora silvestre (*Rubus spp*) en la Sierra Norte y Nororiente de Puebla, y Sierra Centro de Veracruz. Tesis de doctorado en Ciencias . Universidad Autonoma Chapingo. México. 118 p.
- Ibarra-Morales, L. E., N. G. Romero-Vivar y R. Jaime-Meuly (2013)** Estudio de factibilidad para la comercialización de zarzamoras en mercados internacionales. *Revista Internacional Administración y Finanzas* 2:57-71.
- Jennings, D. L. (1998)** Raspberries and Blackberries: Their breeding, disease and growth. New York, USA. Academic Press. 110 p.
- Jordheim M, K. H. Enerstvedt, and O. M. Anderson (2011)** Identificatio of cyanidin 3-O- β -(6-(3-Hydroxy-3-methylglutaroyl) glucoside) and other anthocyanins from wild and cultivated blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:7436-744
- Juinn-Yih H. and H. Jer-Ming (2009)** Revisión of *Rubus* (Rosaceae) in Taiwan. *Tawania* 54:285-310
- Kahkonen, M. P., A. L. Hopia, M. Henonen (2001)** Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4076-4082.

- Kaume L, L. R. Howard, and D. Latha D. (2012)** The Blackberry Fruit: a review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:5716–27.
- Knight, V. H. (2004)** *Rubus* breeding worldwide and the raspberry breeding programe at Horticultural Research International, East Malling. *Jugoslovenskovo ´carstvo* 38:23-38.
- Kubota M, C. Ishikawa, Y. Sugyyama, S. Fukumoto, and T. Miyagi (2012)** Anthocyanins from the fruits of *Rubus croceacanthus* and *Rubus sieboldii*, wild berry plants from Okinawa, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis* 28:179-82.
- Lewers, K. S., C. A. Sasaki, B. J. Cuthbertson, D. C. Henry, M. E. Station, D. S. Main, A. L. Dhanaraj, L. J. Rowland, and J. P. Tomkins (2008)** a blackberry (*Rubus* L.) expressed sequence tag library for the development of simple sequence repeat markers. *Plant Biology* 8:69-76.
- Lpek, A., E. Barut, H. Gulen, and M. Lpek (2009)** Genetic diversity among some blackberry cultivars and their relationship with Boysenberry assessed by AFLP markers. *African Journal Biotechnology*. 8:4830-4834.
- Marulanda, M. L., A. M. López, and S. B. Aguilar (2007)** Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 7:242-252.
- Marulanda, M., A. López, and S. Aguilar (2010)** Rosaceae Mora *Rubus glaucus* Benth. *En: Biotecnología Aplicada al Mejoramiento de los Cultivos de Frutas Tropicales*. D. M. Perea, R. L. P Matallana, y P. A. Tirado (eds.). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Bogotá. Colombia pp: 319-443.
- Meng, R. and C. E. Finn (1999)** Using flow cytometry to determine ploidy level in *Rubus*. *Acta Horticulturae* 505:223-227.

- Meng, R. and C. E. Finn (2002)** Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by flow cytometry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127:767-775
- Miyashita, T., H. Kunutake, N. Yotsukura, Y. Hoshino (2015)** Assessment of genetic relationship among cultivated and wild *Rubus* accessions using AFLP markers. *Scientia Horticulturae* 193:165-173.
- Moore, J. N. (1984)** Blackberry breeding. *HortScience* 19:183-185
- Moore, J. N. and R. M. Skirvin (1990)** Blackberry management. *In: Small Fruit Crop Management*. G. J. Galletta and D. G. Himelrick (Eds.). Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N J. pp:214-244.
- Muñoz, R. M. y R. M. Juárez (1997)** El mercado mundial de la frambuesa y zarzamora. Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAM, Chapingo, México. 89 p.
- Patel, A. V., J. Rojas-Vera, and C. G. Dacke (2004)** Therapeutic constituents and actions of *Rubus* species. *Current Medicinal Chemistry* 11:1501-1512
- Patil, G., M.C. Madhusudhan, B. R. Babu, and K. S. M. S. Raghavarao (2009)** Extraction, dealcoholization and concentration of anthocyan from red radish. *Chemical Engineering and Processing* 48:364-369.
- Potter, D., T. Eriksson, R. Evans, S. H. Oh, J. Smedmark, D. Morgan, M. Kerr, K. Robertson, M. Arsenault, and C. Campbell (2007)** Rosaceae phylogeny and classification. *Plant Systematics and Evolution*. 266:5-43.
- Proches, S. R., J. C. Vamosi, and D. M. Richardson (2008)** Plant diversity in the human diet: weak phylogenetic signal indicates breath. *BioScience* 2:151-159.
- Reid, W. V., and K. R. Miller (1989)** Keeping Options Alive. The Scientific Basis for Conserving Biodiversity. World Resource Institute. 128 p.

- Ryabova, D. (2007)** Population evaluation in crop wild relatives for in situ conservation: a case study for raspberry *Rubus idaeus* L. in the Leningrad region, Russia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54:973-980.
- Rzedowski, J. (1994)** Vegetación de México. Editorial LIMUSA. México. 432 p.
- Rzedowsky J. y G. Calderón-de Rzedowski (2005)** Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, Familia *Rosacea*. Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Morelia, Michoacán. No. 135. 163 p.
- SAGARPA (2015)** Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON). Consultada en agosto 2015.
- Sánchez, R. G. (2008)** La red de valor de la zarzamora: El clúster de Los Reyes Michoacán, un Ejemplo de Reconversión Competitiva. Fundación Produce Michoacán. 116 p
- Shigyo, M., K. Chikuma, H. Kunitake, and H. Komatsu (2013)** Evaluation of some wild species of *Rubus* native to Japan as breeding materials. *Horticultural Research* 12:335-342.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).** Producción Anual. <http://www.siap.gob.mx>. Consultada el 28 de Julio de 2016.
- Stafne, E. T., J. R. Clark, C. A. Weber, J. Graham, and K. S. Lewers (2005)** Simple sequence repeat (SSR) markers for genetic mapping of raspberry and blackberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 103:722-728.
- Strik, B. C., J. R. Clark, C. E. Finn, and M. P. Bañados (2008)** Worldwide blackberry production. *Acta Horticulturae* 777:209-217.
- Thompson M. M. (1997)** Survey of chromosome number in *Rubus* Rosaceae:Rosoideae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84:129-165.
- Warmund R. M. and P. L. Byers (2002)** Rest Completion in Seven Blackberry (*Rubus* spp.) Cultivars. *Acta Horticulturae* 585:693-696.

CAPÍTULO II. DISTRIBUCIÓN POTENCIAL Y CARACTERIZACIÓN ECOCLIMÁTICA DE ESPECIES SILVESTRES (*Rubus* subgenus *Eubatus*) EN MÉXICO

2.1. RESUMEN

Las zarzamoras (*Rubus* spp) son recursos fitogenéticos que se desarrollan en zonas montañosas de México y se adaptan a una gama de ambientes. Sin embargo, no se tienen información en nuestro país para su aprovechamiento en programas de investigación, es por ello que los objetivos de este trabajo fueron: (i) identificar la distribución de las zarzamoras silvestres en México a partir del Análisis de Información Geográfica, (ii) determinar la riqueza y diversidad de las especies silvestres de zarzamora, (iii) identificar zonas adecuadas para el desarrollo de las especies de zarzamora basados en el modelo climático Worldclim y (iv) conocer los principales elementos climáticos que determinan el desarrollo e influyen en la variación entre especies de zarzamora. La información ecogeográfica de las especies se obtuvo de *Global Biodiversity Information Facility* y fueron sometidos al algoritmo Bio-clim/Domain de DIVA-GIS 7.5. La información se analizó mediante componentes principales, correspondencias múltiples, clúster jerárquico y discriminante. Los resultados fueron: en México se encontraron 36 especies de zarzamora y se distribuyeron en zonas montañosas del Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. Los Estados de Morelos y CDMX presentaron mayor riqueza, mientras que los Estados de Chiapas e Hidalgo mayor diversidad. El Eje Volcánico Transmexicano, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental fueron zonas adecuadas de desarrollo de las zarzamoras. La temperatura mínima y precipitación anual determinaron el desarrollo de zarzamoras y definieron ocho grupos de especies. El 51.9 % de las especies de zarzamora presentaron diferencias entre especies en relación a los requerimientos climáticos.

Palabras clave: *Rubus* spp, recursos genéticos, zarzamoras silvestres.

2.2. ABSTRACT

Blackberries (*Rubus* spp) are plant genetic resources that grow in mountainous areas of Mexico and adapt to a range of environments. However, there is not information in our country regarding their use in research programs. Because of that objectives of this study were: (i) to identify the distribution of wild blackberries in Mexico based on Geographic Information Systems and Analysis, (ii) to determine richness and diversity of wild blackberry species, (iii) to identify appropriate areas for setting blackberry species based on climate model Worldclim and (iv) to know the main climatic elements that determine the development and that influence the variation between blackberry species. Ecogeographical information for every species was obtained from *Global Biodiversity Information Facility* and were subjected to the algorithm Bio-clim/Domain DIVA-GIS 7.5. The information was analyzed by main components, multiple correlation, hierarchical cluster and discriminant. Thirty six blackberry species were found in Mexico, all of them distributed in the mountainous areas Transmexican Volcanic Belt and Sierra Madre del Sur. The states of Morelos and Mexico presented greater richness, while the states of Chiapas and Hidalgo presented greater diversity. Transmexican Volcanic Belt, Sierra Madre del Sur and Sierra Madre Oriental were adequate development Blackberries areas. The minimum temperature and annual precipitation determined areas for Blackberries and defined eight groups of species. 51.9 % of blackberry species showed differences among in relation to climate requirements.

Key words: *Rubus* spp, Genetic resources, wild blackberries

2.3. INTRODUCCIÓN

México es el cuarto país del mundo con mayor diversidad vegetal. Esta diversidad biológica se debe principalmente a las condiciones fisiográficas, geológicas y climáticas que se presentan en el territorio mexicano, lo que genera una gama de nichos ecológicos (Rzedowski, 1994). En México existen 712 especies frutales que pertenecen a 75 familias y 169 géneros; 32 de las especies frutales nativas son aprovechadas comercialmente, mientras que 620 son cultivadas localmente en huertos familiares (Borys y Leszzyńska-Borys, 2001). Dentro de esta diversidad de frutales se encuentran los materiales silvestres, como la zarzamora (*Rubus spp* L.) (Ibañez *et al.*, 2011). Las especies silvestres del género *Rubus* son recolectadas para el consumo personal o para el comercio local en varios países (Bassil *et al.*, 2010).

Rubus spp L, conocida como zarzamora, pertenece a la familia Rosácea de la que existen alrededor de 750 especies en el mundo (Thompson, 1997; Juinn-Yih y Jer-Ming, 2009). Divididos en 12 subgéneros, el subgénero *eubatus* pertenecen a las zarzamoras (*Rubus* subgenus *Eubatus*) (Cancino-Escalante *et al.*, 2011). En México, de acuerdo con Rzedowsky y Calderón de Rzedowsky (2005) se encuentran distribuidas 61 especies de zarzamora.

Los sistemas de información geográfica ayudan a localizar las zonas donde se desarrollan o adaptan recursos fitogenéticos de interés, y contribuyen en la planeación de la colecta de germoplasma (Guarino *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2002). Para el análisis de sistemas de información geográfica se tienen datos climáticos basados en modelos de elevación digital (Hijmans *et al.*, 2005). El algoritmo Bioclim/Domain de DIVA GIS permite modelar zonas climáticas adecuadas para el desarrollo de recursos fitogenéticos en cuadrículas de 2.5 minutos de exactitud, tanto de latitud y longitud, basandose en bases de datos climáticos y de la ubicación de la especie de estudio, el algoritmo busca climas similares y otorga una calificación si existe adaptación o no de la especie

para una determinada región geográfica (Hijmans *et al.*, 2004). Sin embargo este algoritmo no toma en cuenta características climáticas referentes al viento ni al suelo (Nuñez-Colin *et al.*, 2012).

Las zarzadoras silvestres se desarrollan adecuadamente en varias zonas montañosas de México hasta el Ecuador (Cancino-Escalante *et al.*, 2011) y no cuentan con un estudio de caracterización de germoplasma, mismo que puede ser de interés para la producción y mejoramiento genético (Ibañez *et al.*, 2011). Con base en lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivos: (i) identificar la distribución de las especies silvestres de zarzadora en México a partir del Análisis de Información Geográfica (Diva Gis 7.5), (ii) determinar la riqueza y diversidad de las especies de zarzadora en México, (iii) identificar las zonas adecuadas de desarrollo de las especies silvestres de zarzadora basado en el modelo climático Worldclim (Hijmans *et al.*, 2005) y (iv) conocer los principales elementos climáticos que están asociados al desarrollo y la variación entre especies de zarzadora.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo información de 36 especies silvestres de zarzadora, con sus respectivos datos de pasaportes ecogeográficos (altitud, longitud y latitud), mediante el esquema de Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (www.gbif.org). Y la confirmación de las especies se realizó a través de la revisión de herbario del Instituto de Ecología, A. C., México (IE-BAJIO).

Los datos de pasaporte ecogeográficos de las accesiones se analizaron mediante el algoritmo Bioclim/Domain de DIVA-GIS versión 7.5 (Hijmans *et al.*, 2004). Se elaboró el mapa de distribución general, riqueza y diversidad de especies a través de la metodología de Nuñez-Colin y Goytia-Jiménez (2009) y Nuñez-Colin (2010).

Para el análisis de riqueza y diversidad de las 36 especies, se exportaron los datos al programa DIVA GIS 7.5; el tamaño de la celda fue 0.5 grados y la escala de los colores del mapa van de menor a mayor intensidad (verde, amarillo y rojo), es decir, el color rojo representa la mayor riqueza y diversidad.

De acuerdo con Núñez-Colín y Goytia-Jiménez (2009) y Núñez-Colín (2010), se realizó el modelo de zonas adecuadas de desarrollo donde se utilizó la base de datos Worldclim, la cuál fue desarrollada para conocer el clima existente con datos reales de 1950 al año 2000 (Hijmans *et al.*, 2005). En el mapa de distribución, las zonas de desarrollo se clasificaron en cinco escalas: baja, mediana, alta, muy alta y excelente desarrollo en percentiles. Los mapas se basaron en las regiones biogeográficas reportadas para México por Morrone (2005).

Con el programa de Diva Gis 7.5 (Hijmans *et al.*, 2004) se obtuvieron los datos climatológicos siguientes: temperatura promedio anual (B1), rango medio diario (B2), temperatura máxima menos temperatura mínima, isothermalidad (B3, $B1/B7*100$), estacionalidad en temperatura (B4), temperatura máxima del período más caliente (B5), temperatura mínima del período más frío (B6), rango anual de temperatura (B7, B5-B6), temperatura media en el trimestre más lluvioso (B8), temperatura promedio en el trimestre más seco (B9), temperatura promedio en el trimestre más caluroso (B10), temperatura promedio en el trimestre más frío (B11), precipitación anual (B12), precipitación en el periodo más lluvioso (B13), precipitación en el periodo más seco (B14), estacionalidad de la precipitación (B15), precipitación en el trimestre más lluvioso (B16), precipitación en el trimestre más seco (B17), precipitación en el trimestre más caluroso (B18) y precipitación en el trimestre más frío (B19).

Con datos de los elementos climáticos se realizó el análisis de componentes principales (ACP) y el análisis de correspondencias múltiples (ACM). Se realizó un análisis de agrupación no jerárquica

utilizando el método de UPGM y distancia eucladiana al cuadrado. Finalmente, se realizó un análisis de correlación de Stepwise y un análisis discriminante de Mahalanobis entre especies. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS Institute Inc. 2002)

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1. Distribución general

Se obtuvieron 357 accesiones de zarzamora silvestre registradas en GBIF, las cuales pertenecieron a las siguientes especies: *Rubus arboriginum* Rydb (1), *R. adenotrichos* Schltdl (65), *R. arizonicus* Rydb (5), *R. arizonensis* Focke (4), *R. caudatisepalus* Calderón (4), *R. cordifolius* Weihe (29), *R. cymosus* Rydb (35), *R. eriocarpus* Liem (14), *R. fagifolius* Schltdl (7), *R. flagellaris* Willd (16), *R. floribundus* Weihe (1), *R. glaucus* Benth (5), *R. hodrocarpus* Standley (4), *R. humistratus* Steud (11), *R. indica* Focke (1), *R. irasuensis* Liebm (5), *R. macvaghianus* (5), *R. miser* Liebm (4), *R. nelsonii* Rydb (2), *R. occidentalis* Focke (1), *R. odoratus* Bailey (1), *R. oligospermum* (1), *R. palmeri* Rydb Rydb (11), *R. parviflorus* Nutt (1), *R. pringlei* Rydb (36), *R. pumilus* Focke (20), *R. rosifolius* Sm (1), *R. sapidus* Schltdl (8), *R. schiedeianus* Steud (9), *R. scolocaulon* Brandege (5), *R. terenbithifolia* Schltdl (2), *R. trichomallus* Poir (1), *R. trilobus* Moc (23), *R. trivialis* Michx (4), *R. urticifolius* Poir (13) y *R. verae-crucis* Rydb (2). De acuerdo a los resultados, existe diversidad genética en las especies de *Rubus* en México. De acuerdo con Rzedowsky y Calderón de Rzedowsky (2005), en México existen 61 especies de zarzamora silvestre, por lo que falta reportar información en el programa GIBF para contar con toda la diversidad de las mismas en México. El conocimiento de los recursos fitogenéticos permite el aprovechamiento de los mismos. Finn *et al.* (2002) mencionan que se han utilizado al menos 58 especies silvestres del género *Rubus* para el mejoramiento genético en las últimas dos décadas y se han obtenido variedades comerciales.

Las accesiones de zarzamora silvestre se distribuyeron principalmente en la región que Morrone (2005) denominó como la región biogeográfica del Eje Volcánico Transmexicano, y Sierra Madre del Sur y en menor proporción en la Sierra Madre Occidental y Oriental, Cuenca de Balsas, Costa Pacífico de México y Golfo de México (Figura 1). De acuerdo con Clark y Finn, (2011), las zarzamoras se desarrollan excelentemente en zonas de vegetación natural en bosques de pino y encino, y se adaptan en diferentes climas y tipos de suelos, por sus características morfológicas y fisiológicas juegan un papel importante en la producción comercial.



Figura 1. Distribución de 357 ejemplares de las especies de zarzamora silvestre en la República Mexicana, obtenidos de la Plataforma Mundial de Información en Biodiversidad (GBIF) (www.gbif.org).

La mayor riqueza de especies de zarzamora se encontraron en los Estados de Morelos y CDMX (14 a 16 especies), seguido por el Estado de Chiapas (11 a 13 especies) (Figura 2). Los Estados de Chiapas e Hidalgo presentaron la mayor diversidad de especies (1.36 a 2.00 percentiles), seguidos por las entidades federativas de México, CDMX, Morelos y Puebla (1.02 a 1.36 percentiles) (Figura 3).

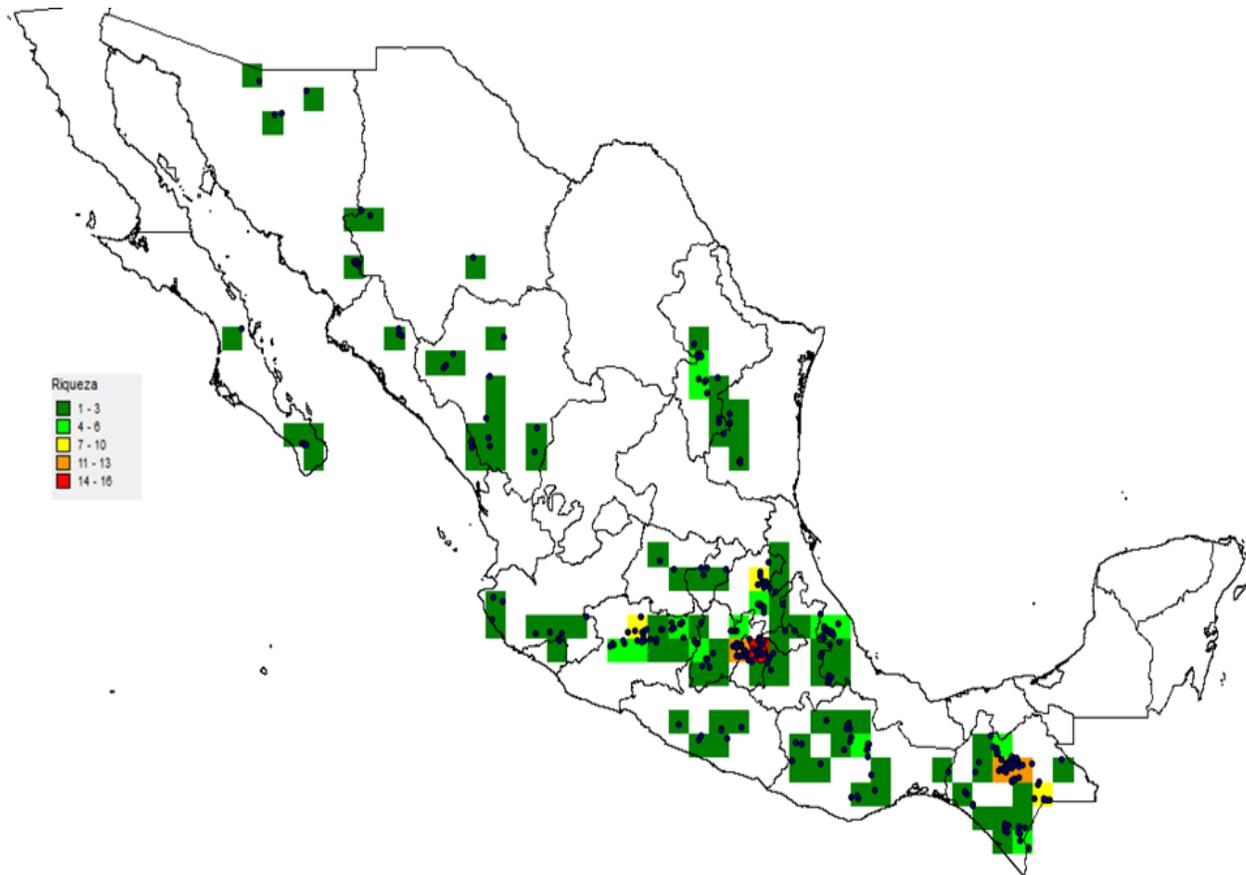


Figura 2. Riqueza de las 36 especies de zarzamora silvestre en México, con datos disponibles en GBIF (www.gbif.org).

De acuerdo con Hijmans *et al.* (2004), estos resultados pueden ayudar a planear la colecta de germoplasma con la finalidad de abarcar la mayor variabilidad genética de las especies de interés.

Villaseñor y Téllez-Vañadez (2004) mencionan que los estudios de diversidad vegetal de México son útiles como fuente de información potencial para estudios taxonómicos y biogeográficos.

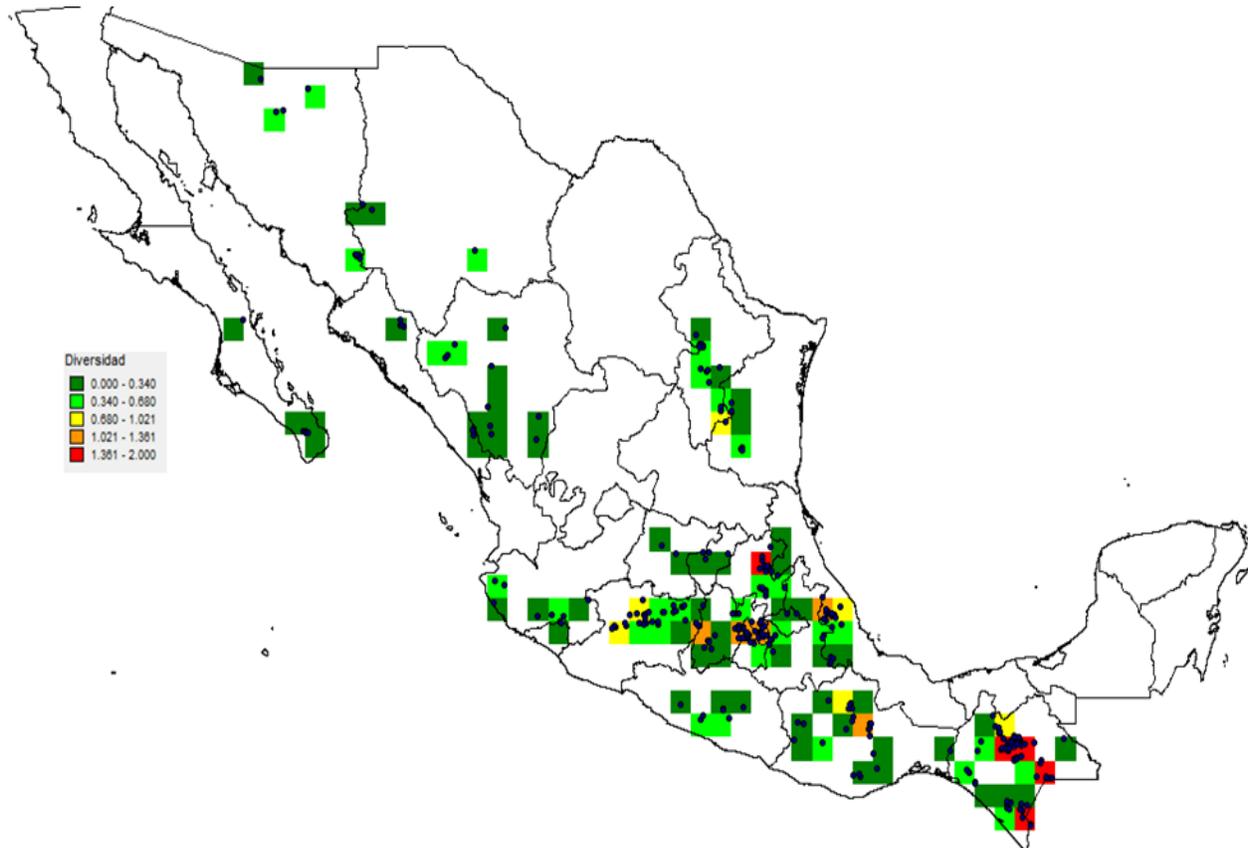


Figura 3. Diversidad de las 36 especies de zarzamora silvestre en México, con datos disponibles en GBIF (www.gbif.org).

2.5.2. Modelo de zonas de adecuadas de desarrollo de las especies de zarzamora silvestre

De acuerdo con Leal-Nares *et al.* (2012), los estudios de distribución potencial proporcionan información valiosa para la ejecución de estrategias de restauración que incluyan actividades de conservación y reforestación, tomando en cuenta diversos factores ambientales que determinan la aptitud del territorio para la especie. Con el modelo Worldclim, las zarzamos silvestres

presentaron zonas adecuadas de desarrollo de alto a excelente en el Eje Volcánico Transmexicano, la Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental; por el contrario, en la Sierra Madre Occidental, Cuenca de Balsas, Costa Pacífico de México y Golfo de México el desarrollo fueron de mediana a baja (Figura 4). Esto coincide con lo planteado por Ibáñez *et al.* (2011), quienes aseveran que en México las zarzamoras silvestres se desarrollan adecuadamente en zonas montañosas. Al respecto, Nuñez-Colin (2010) mencionan que estas regiones son aptas para establecer un banco de germoplasma *in situ* y pueden servir para planear las mejores zonas adecuadas para establecer el cultivo.

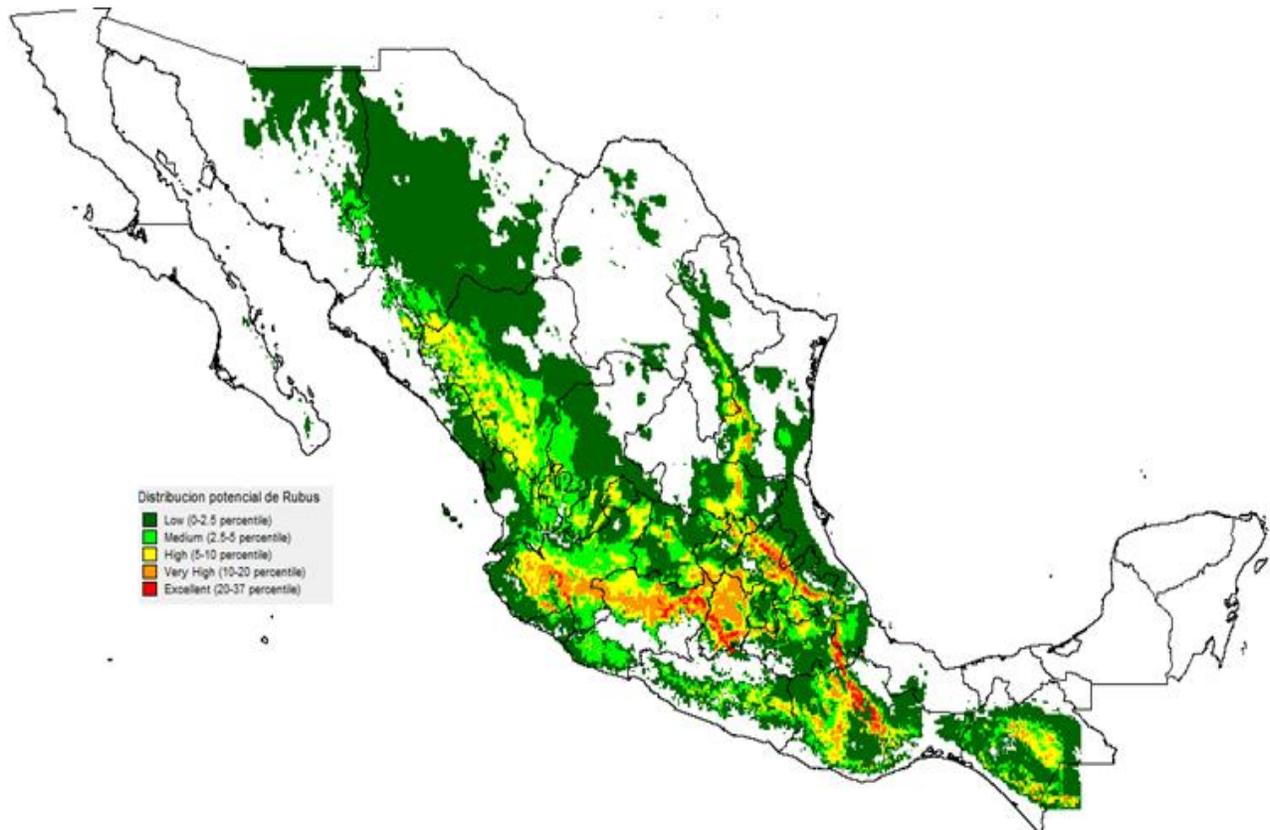


Figura 4. Modelo de las zonas de adecuadas de desarrollo de las especies silvestres de zarzamoras en México utilizando la base de datos climáticos Worldclim (Hijmans *et al.*, 2005) y el algoritmo Bioclim/Domain de Diva Gis 7.5 (Hijmans *et al.*, 2004).

2.5.3. Análisis de componentes principales

En el análisis de componentes principales, los primeros dos componentes explicaron 71.9 % de la variación (Cuadro 1).

Cuadro 1: Valores propios y proporción de la varianza explicada en análisis de componentes principales (CP).

Componente	Autovalor	Diferencia	Proporción	Acumulada
CP1	7.619	1.567	0.401	0.401
CP2	6.051	3.806	0.318	0.719
CP3	2.245	0.945	0.118	0.837
CP4	1.299	0.523	0.068	0.906

CP: Componente principal

En el CP1 y CP2, la temperatura mínima y precipitación anual destacaron en el desarrollo de las especies silvestres de zarzamora (Figura 5). De acuerdo con Warmund y Byers (2002), la zarzamora requiere para un buen desarrollo de flores y frutos, exposición a temperaturas bajas, denominadas unidades frío (UF), por debajo de 7 °C durante la brotación de yemas. Drake y Clark (2000) encontraron que el requerimiento de la zarzamora ‘Arapaho’ es de 400 a 500 UF y de 800 a 900 para ‘Navajo’. La acumulación de UF en latitudes bajas es insuficiente para las zarzamosas, por lo tanto, la producción disminuye (Warmund y Byers, 2002).

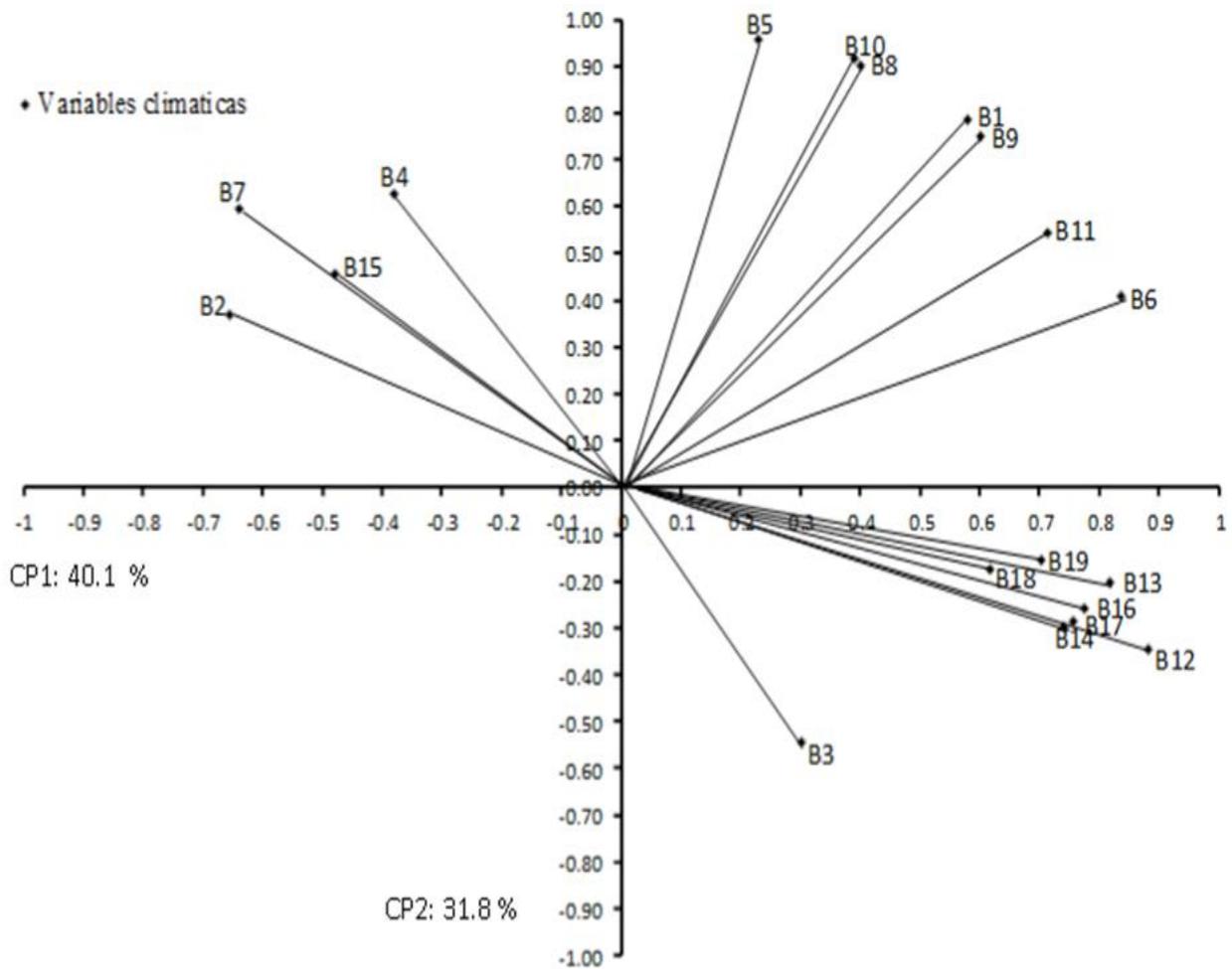


Figura 5. Asociación de los elementos climáticos sobre los dos primeros componentes principales que caracterizan la adaptación de las zarzamoras silvestres en México: temperatura promedio anual (B1), rango medio diario (B2, temperatura máxima menos temperatura mínima), isothermalidad (B3, $B1/B7 \times 100$), estacionalidad en temperatura (B4), temperatura máxima del período más caliente (B5), temperatura mínima del período más frío (B6), rango anual de temperatura (B7, $B5 - B6$), temperatura media en el trimestre más lluvioso (B8), temperatura promedio en el trimestre más seco (B9), temperatura promedio en el trimestre más caluroso (B10), temperatura promedio en el trimestre más frío (B11) precipitación anual (B12), precipitación en el periodo más lluvioso (B13), precipitación en el periodo más seco (B14), estacionalidad de la precipitación (B15),

precipitación en el trimestre más lluvioso (B16), precipitación en el trimestre más seco (B17), precipitación en el trimestre más caluroso (B18) y precipitación en el trimestre más frío (B19).

2.5.4. Análisis de correspondencias múltiples (ACM)

El ACM con dos factores explicaron el 80.7 % de la variación total. Los elementos climáticos que determinaron los dos primeros factores fueron: temperatura máxima del período más caliente, temperatura promedio en el trimestre más caluroso, temperatura mínima del período más frío, temperatura media en el trimestre más lluvioso, precipitación anual, precipitación en el período más lluvioso y precipitación en el trimestre más lluvioso.

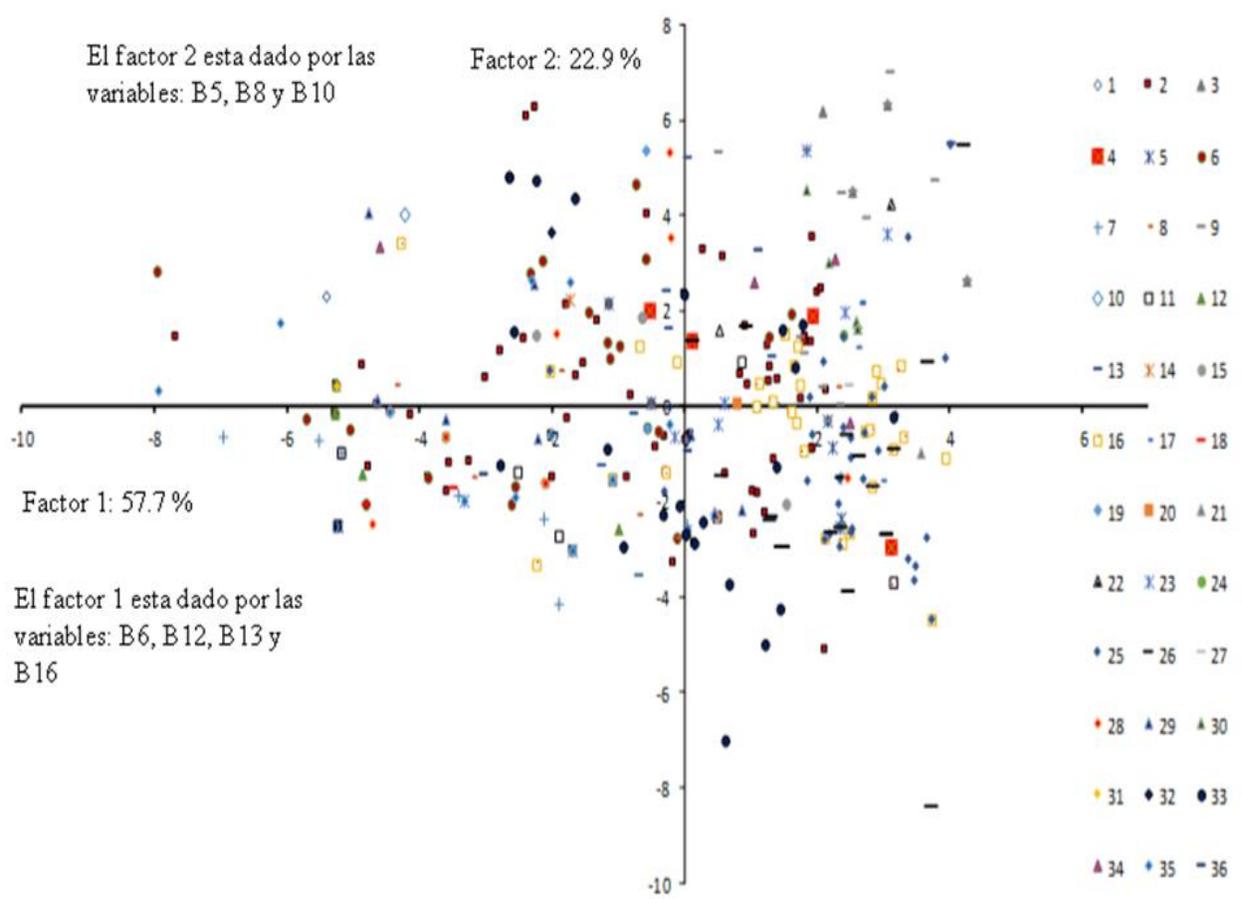


Figura 6: Dispersión de las especies silvestres de zarzamora sobre el plano de los dos primeros factores: 1) *Rubus arboriginum* Rydb, 2) *R. adenotrichos* Schltldl (65), 3) *R. arizonicus* Rydb, 4) *R.*

arizonensis Focke, 5) *R. caudatisepalus* Calderón, 6) *R. cordifolius* Weihe, 7) *R. cymosos* Rydb, 8) *R. eriocarpus* Liem, 9) *R. fagifolius* Schltldl, 10) *R. flagellaris* Willd, 11) *R. floribundus* Weihe, 12) *R. glaucus* Benth, 13) *R. hodrocarpus* Standley, 14) *R. humistratus* Steud, 15) *R. indica* Focke, 16) *R. irasuensis* Liebm, 17) *R. macvaghianus*, 18) *R. miser* Liebm, 19) *R. nelsonii* Rydb, 20) *R. occidentalis* Focke, 21) *R. odoratus* Bailey, 22) *R. oligospermun*, 23) *R. palmeri* Rydb Rydb, 24) *R. parviflorus* Nutt, 25) *R. pringlei* Rydb, 26) *R. pumilus* Focke, 27) *R. rosifolius* Sm, 28) *R. sapidus* Schltldl, 29) *R. schiedeanus* Steud, 30) *R. scolocaulon* Brandege, 31) *R. terenbithifolia* Schltldl, 32) *R. trichomallus* Poir, 33) *R. trilobus* Moc, 34) *R. trivialis* Michx, 35) *R. urticifolious* Poir y 36) *R. verae-crucis* Rydb.

De acuerdo con Hamilton *et al.* (2007), el conocimiento de los requerimientos climáticos para el desarrollo de las especies permite planear la conservación *in situ* y *ex situ* de los recursos genéticos, debido que se podría predecir los lugares apropiados para establecer las parcelas experimentales *in situ* y bancos de germoplasma *ex-situ*.

Las especies silvestres de zarzamoras presentaron diferentes requerimientos climáticos para su desarrollo (Figura 6); lo cual se explica por la variabilidad genética en el género *Rubus*, en el que se encuentran especies de diploides a dodecaploides, la apomixis y la heterocigosis (Marulanda *et al.*, 2007). Por otro lado, Cancino-Escalante *et al.* (2011) mencionan que el sistema de reproducción de las plantas influye en la variabilidad, por el efecto de la hibridación entre especies de *Rubus*. Dosset y Finn (2015) mencionan que la diversidad genética que existe en las especies de *Rubus*, permite la variación de las características morfológicas, arquitectura de la planta, época de fructificación, vigor y tolerancia en enfermedades. Por lo tanto, el germoplasma de las especies silvestres exhibe un rango de variación potencial que pueden ser empleados en un futuro en programas de mejoramiento genético.

2.5.5. Análisis de agrupación (AA)

Con el AA se definieron ocho grupos de acuerdo a los requerimientos climáticos de las especies silvestres de zarzamora; el número de especies que formaron en los grupos fueron dos, uno, diecinueve, nueve, uno, uno, uno y dos, respectivamente para cada grupo (Figura 7). Las especies que forman el mismo grupo comparten requerimientos climáticos similares. De acuerdo a Guarino *et al.* (2002) es importante realizar colectas de germoplasma en cada uno de los grupos climáticos, debido que el germoplasma de cada uno de ellos podrían haber sufrido cambios genéticos específicos para adaptarse a condiciones ambientales específicas (Dobzhansky, 1970).

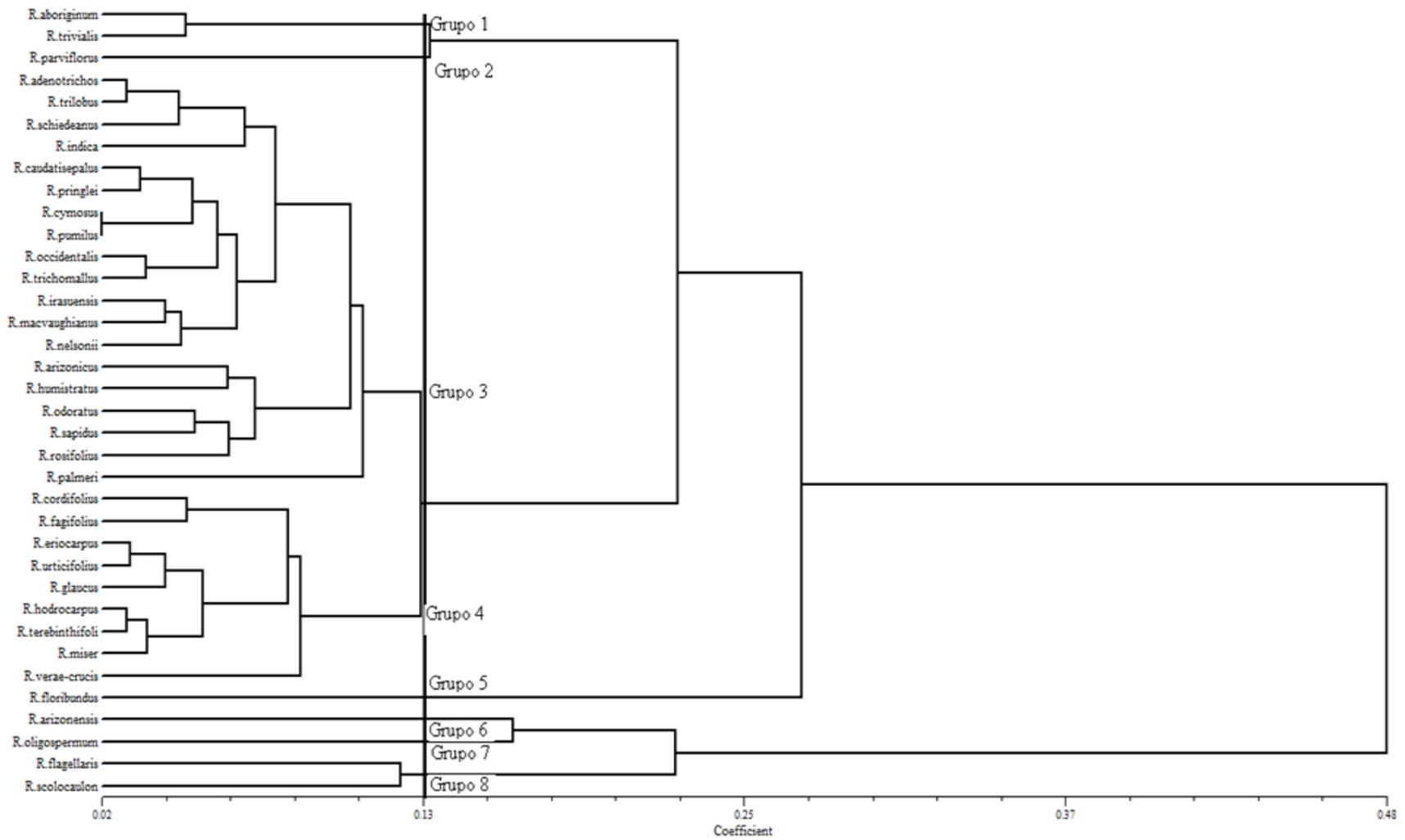


Figura 7: Dendrograma construido mediante el método de UPGM, de 36 especies silvestres de zarzamoras formado por 19 elementos climáticos, obtenidos a partir del programa Diva Gis 7.5 (Hijmans *et al.*, 2004).

2.5.6. Análisis discriminante

Se utilizó el procedimiento de selección de variables por el método hacia adelante (Stepwise), que permitió discriminar cuatro de 19 elementos climáticos: Temperatura mínima del periodo más frío (B6), precipitación en el periodo más lluvioso (B13), precipitación en el trimestre más lluvioso (B16) y precipitación en el trimestre más frío (B19) que presentaron una discriminación eficaz en la separación de cada una de los elementos climáticos (Cuadro 2). Warmund y Byers (2002) encontraron diferencias entre especies en la respuesta al frío y se relacionan con la brotación de yemas, mientras que la exposición a altas temperaturas fueron favorables para el desarrollo de la planta.

Cuadro 2: Variables aceptadas y eliminadas ^{1 2 3 4}

Pasos	Variables aceptadas	Cuadrado mínimo					
		Estadística	Entre grupos	Estadística	Df1	Df2	Significancia
1	B16	0.000	7 y 36	0.000	1	321.000	0.987
2	B13	0.015	17 y 22	0.006	2	320.00	0.994
3	B6	0.059	3 y 9	0.063	3	319.000	0.979
4	B9	0.210	7 y 3	0.453	4	318.000	0.770

¹ El número máximo de pasos son 38

² Mínimo parcial de F para entrar es 3.84

³ Máximo nivel de F para remover es 2.71

⁴ Nivel F, tolerancia o para hacer cálculos insuficientes

La distancia Mahalanobis se obtuvo de la comparación entre las 36 especies de zarzamora silvestre. El 51.9 % de las correlaciones entre las especies silvestres presentaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$). Las especies *R. arizonensis* Focke, *R. flagellaris* Willd, *R. floribundus* Weihe, *R. hodrocarpus* Standley, *R. humistratus* Steud, *R. indica* Focke , *R. cymosus* Rydb, *R. macvaughianus*, *R. palmeri* Rydb , *R. scolocaulon* Brandegees, *R. trichomallus* Poir y *R. trilobus* Moc presentaron mayor número de diferencias estadísticas significativas entre especies; por el contrario, las especies *R. adenotrichos* Schltldl, *R. eriocarpus* Liem, *R. fagifolius* Schltldl, *R. miser* Liebm, *R. nelsonii* Rydb, *R. occidentalis* Focke, *R. odoratus* Bailey, *R. oligospermum*, *R. parviflorus* Nutt, *R. rosifolius* Sm, *R. sapidus* Schltldl y *R. verae-crucis* Rydb mostraron menor número de diferencias estadísticas significativas en relación con las especies en estudio, es decir, estas especies presentaron requerimientos climáticos similares con respecto a las demás especies. El estudio permite conocer la diferencia entre especies en relación a los requerimientos climáticos, lo que puede suponerse que son genotipos diferentes (Dobzhansky, 1970). Se puede asumir que al utilizar como progenitores estos individuos con características genéticas diferentes en un programa de mejoramiento genético, disminuiría la probabilidad de obtener progenies endogámicas, lo que permitiría mayor heterosis en sus poblaciones F1 (Wright, 1978).

2.6. CONCLUSIONES

En México se encontraron 36 especies silvestres de zarzamoras; éstas se encuentran distribuidas principalmente en las zonas montañosas del Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur.

Los Estados de Morelos y CDMX presentaron mayor riqueza, mientras que los Estados de Chiapas e Hidalgo presentaron la mayor diversidad.

El Eje Volcánico Transmexicano, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental fueron las zonas adecuadas para el desarrollo de las zarzamoras, de acuerdo al modelo Worldclim.

Los elementos climáticos relacionados con la temperatura mínima y precipitación anual determinaron la distribución y desarrollo de las especies de zarzamora y definieron ocho grupos de especies de acuerdo a las condiciones de requerimiento climático. Y el 51.9 % de las especies de zarzamora silvestre presentaron diferencias entre especies en relación a los requerimientos climáticos.

2.7. LITERATURA CITADA

- Bassil, N. V., A. M. Muminova, and W. Njuguna. (2010)** Microsatellite-based fingerprinting of Western blackberries from plants, IQF Berries and Puree. *Acta Horticulturae* 859:73-80
- Borys, M. W., and H. Leszzyńska-Borys (2001)** El Potencial Frutícola de la República Mexicana. Fundación Salvador Sánchez Colín. CICTAMEX, S.C. Coatepec Harinas, Toluca, Estado de México. México. 99 p.
- Cancino-Escalante, G. O., L. R. Sánchez-Montaño, E. Quevedo-García y C. Díaz-Carvajal (2011)** Caracterización fenotípica de accesiones de especies de *Rubus L.* de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. *Universitas Scientiarum* 16:219-233.
- Clark, J. R., C. E., Finn. (2011)** Blackberry breeding and genetics. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 1:27-43.
- Drake C. A., and J. R. Clark. (2001)** Chilling requirement of Arkansas thornless blackberry cultivars. In: Horticulture Studies 2000 Lindstrom. J. T. and J. R. Clark (eds). Arkansas. Agr Exp Sta Res Ser, Vol. 438. pp:30-32
- Dobzhansky, T. (1970)** Genetics of the Evolutionary Process. Columbia University Press, New York, USA. 505 p.
- Dosett, M., and C. E. Finn. (2015)** Performance and phenology of wild black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) germplasm in a common garden. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 1-21.
- Finn, C., H. Swartz, P. P. Moore, J. R. Ballington. (2002)** Use of 58 *Rubus* Species in Five North American Breeding Programmes Breeders Notes. *Acta Horticulturae*. 585:113-119.
- Guarino, L. A., R. Jarvis, J. Hijmans, and N. Maxted (2002)** Geographic Information Systems (GIS) and the conservation and use of plant genetic resources. In: Managing plant genetic diversity. J. M.

- M. Engels; V. Ramanatha Rao, A. H. D. Brown, and M. T. Jackson (eds). International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Roma, Italia pp. 387-404.
- Hamilton, R. S, J. Engels, and T. H. Van-Hintum. (2007)** Consideraciones para mejorar los conceptos y estrategias de conservación y utilización. En: Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma, Manuales para Bancos de Germoplasma Núm. 6. J. Engels, and L. Visser (eds.). Bioersivity Internacional, Roma, Italia. pp. 49-67.
- Hijmans, R. J., L. Guarino, C. Bussink, P. Mathur, M. Cruz, I. Barrantes, y E. Rojas. (2004)** DIVA-GIS Versión 4. Sistema de Información Geográfica para el Análisis de Datos de Distribución de Especies, Guía de usuario. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 83 p.
- Hijmans, R. J., S. E. Cameron, J. L. Parra, P. G. Jones, and A. Jarvis. (2005)** Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25:1965-1978.
- Ibañez, M. A., E. Avitia-García, A. M. Castillo-González, T. Corona-Torres, Ma. T. Colinas-León y E. Martínez-Moreno. (2011)** Caracterización de zarzamora silvestre (*Rubus spp*) en la Sierra Norte y Nororiente de Puebla, y Sierra Centro de Veracruz. Tesis de doctorado en Ciencias . Universidad Autónoma Chapingo. México. 118 p.
- Jones, P. G., L. Guarino y A. Jarvis. (2002)** Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 2. Floramap. *Plant Genetic Resource Newsletters* 130:1-6.
- Juinn-Yih, H. and H. Jer-Ming. (2009)** Revision of *Rubus* (Rosaceae) in Taiwan. *Tawania* 54:285-310.
- Leal-Nares, O., M. E. Mendoza, D. Péres-Salicrups, D. Genneletti, E. López-Granados y E. Carranzas. (2012)** Distribución potencial del *pinus martinezii*: un modelo espacial basado en conocimiento ecológico y análisis. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83:1152-1170.

- Marulanda, M. L., A. M. López y S. B. Aguilar (2007)** Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*.7:242-252.
- Morrone, J. J. (2005)** Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76:207-252.
- Núñez-Colín, C. A. (2010)** Distribución y caracterización eco-climática del membrillo Cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16(3):195-206
- Núñez-Colín, C. A. y M.A Goytia-Jiménez. (2009)** Distribution and agroclimatic characterization of potential cultivation region of physic nut in México. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 44:1078-1085.
- Núñez-Colín, C. A., D. Escobedo-López, M. A. Hernández-Martínez, C. Ortega-Rodríguez. (2012)** Modelos de las zonas adecuadas de adaptación del tejocote (*Crataegus Mexicana* DC.) por el efecto del cambio climático. *Agronomía Mesoamericana* 23:241-246.
- Rzedowski, J. (1994)** Vegetación de México. Editorial LIMUSA. México. 432 p.
- Rzedowsky, J. y G. Calderón de Rzedowski. (2005)** Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, Familia *Rosácea*. Fascículo 135 *Rosácea*. Instituto de Ecología A. C. y CONABIO, Morelia, Michoacán. 157 p.
- SAS, Statistical Analysis System. (2002)** SAS System for Windows Version 8.0 by SAS Institute Inc. Cary, NC. USA.
- Villaseñor, J. L. y O. Tellez-Valdés. (2004)** Distribución potencial de las especies del género *Jefea* (Asteraceae) en México. *Serie Botánica* 75:205.
- Thompson M. M. (1997)** Survey of chromosome number in *Rubus* (Rosaceae: *Rosoideae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84:129-165.

Warmund, R. R. M., and L. P. Byers. (2002) Rest Completion in Seven Blackberry (*Rubus sp.*) Cultivars. *Acta Horticulturae* 585:693-696.

Wright, S. (1978) Evolution and the Genetics of Populations, Variability within and among natural populations, University of Chicago Press, Chicago, USA. Volumen 4:580 p.

CAPITULO III. DISTRIBUCIÓN Y VARIABILIDAD MORFOLÓGICA DE ESPECIES

DE ZARZAMORA (*Rubus* spp L.)

3.1. RESUMEN

Las especies de zarzamora silvestre que se encuentran en México se utilizan para consumo humano; además de que contienen potencial genético que podría ser aprovechado. En este trabajo se estudiaron los elementos climáticos que determinan la distribución de especies de zarzamora silvestre y la variabilidad morfológica inter e intraespecífica de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl provenientes de los Estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán. La información ecogeográfica se obtuvo de la base de datos Global Biodiversity Information Facility. Los datos de pasaporte fueron sometidos al algoritmo Bio-clim/Domain de DIVA-GIS 7.5. Las variables morfológicas se registraron *in situ* en los Estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán; los datos climáticos de cada sitio fueron analizados por componentes principales y las variables morfológicas por correspondencias múltiples. Se encontró que las especies de zarzamora se distribuyeron principalmente en las zonas montañosas del Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. La temperatura y precipitación fueron los elementos climáticos que determinaron la distribución de las zarzamoras silvestres en México. Las especies presentaron variabilidad en los caracteres morfológicos relacionados con porte de la planta, forma de la espina en tallo, densidad de tricomas en tallo, margen de la hoja, forma de la base de la hoja y número de drupas por polidrupa. Las especies *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb y *R. pringlei* Rydb mostraron variabilidad morfológica entre los estados de colecta, principalmente en porte de planta, pigmentación del tallo, ápice del foliolo, forma de espinas en tallo, número drupas y polidrupas. Por las características morfológicas del polidrupa durante la cosecha, *Rubus pringlei* Rydb se consideró una frambuesa.

Palabras Clave: *Rubus* spp L., recursos fitogenéticos, variabilidad morfológica y zarzamoras silvestres.

3.2. ABSTRACT

Wild blackberry species in Mexico are used for human consumption; in addition to the genetic potential that could be used for breeding programs. In this research, climatic elements determining the distribution of six species of wild blackberry as well as inter and intraespecific morphological variability were analyzed. The species studied were: of *Rubus adenotrichos* Schltdl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb, *R. sapidus* Schltdl from Chiapas, Hidalgo, and Michoacán. Ecogeographical information was obtained from Global Biodiversity Information Facility. Passport data were submitted to Bio-climate algorithm/Domain in DIVA-GIS 7.5. Morphological variables were recorded *in situ* in the states of Chiapas, Hidalgo and Michoacán. Climate data were analyzed by principal components and morphological traits by multiple correspondence. It was found that blackberry species are mainly distributed in mountainous areas in Transmexican Volcanic Belt and Sierra Madre del Sur. Temperature and precipitation were the climatic elements that determined the distribution of wild blackberries in Mexico. The species showed interespecies variability in plant height, thorn morphology on stem, stem pilosity, leaf margin, leaf base morphology, and drupes number by polidrupa. *Rubus adenotrichos* Schltdl, *R. cymosus* Rydb, and *R. pringlei* Rydb showed morphological variability among states of origin, mainly in plant height, stem pigmentation, pinna apex, thorn morphology on stem and leaf, number of fruits and polidrupes. *Rubus pringlei* Rydb was considered a raspberry due its polidrupe morphological characters recorded during harvest.

Index words: *Rubus* spp L., phylogenetic resources, morphological variability, and wild blackberries.

3.3. INTRODUCCIÓN

Rubus spp L., conocida como zarzamora, pertenece a la familia Rosácea de la que existen alrededor de 750 especies en el mundo (Thompson, 1997; Juinn-Yih y Jer-Ming, 2009). El subgénero *Eubatus* pertenecen a las zarzamoros (*Rubus* subgenus *Eubatus*) y se distribuye en las zonas de alta montaña tropical desde México hasta Ecuador (Cancino-Escalante *et al.*, 2011). En México, de acuerdo con Rzedowsky y Calderón de Rzedowsky (2005) existen 61 especies.

El género *Rubus* se caracteriza por su variabilidad morfológica, pues incluye especies arbustivas y leñosas, pequeñas herbáceas trepadoras o postradas, con láminas foliares reducidas (Clark *et al.*, 2007). Las diferencias son propias del género y de sus especies, ya que usualmente las especies de *Rubus* presentan variabilidad morfológica y genética debido la poliploidía (Cancino-Escalante *et al.*, 2011). Por otro lado, presentan hibridación entre sus especies (Marulanda *et al.*, 2007). Los procesos de selección natural permiten que las zarzamoros se adapten a las condiciones ecológicas de su hábitat y desarrollen mecanismos de resistencia natural a factores abióticos y bióticos (Dujnovic-Purgar *et al.*, 2012).

De acuerdo con Moreno *et al.* (2011) la colección, la caracterización y la evaluación del germoplasma vegetal es tarea prioritaria para la conservación, mejoramiento y obtención de materiales sobresalientes con características potenciales. La caracterización debe efectuarse en diferentes órganos de la planta, estados fisiológicos y tipos de caracteres, debiéndose analizar en conjunto, otorgándoles la misma importancia (González-Andrés, 2001). La mayoría de los caracteres son heredables; sin embargo, estos son afectados por los factores ambientales (Hidalgo, 2003). Enríquez (1991) señala que los órganos menos influenciados por los factores ambientales son los más útiles para la descripción morfológica, como flor y fruto; en importancia decreciente las hojas, tronco, ramas, raíces y los tejidos celulares.

En un estudio de seis especies de zarzamora silvestre de Michoacán, México, Segura *et al.* (2012), reportaron que éstas comparten caracteres morfológicos y distribución eco geográfica. Sin embargo, es importante realizar estudios que permitan ampliar el conocimiento sobre la diversidad genética y morfológica en especies silvestres de zarzamoras en diferentes localidades. En el presente estudio se plantearon como objetivos: (i) identificar la distribución de las especies *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl a partir del Análisis de Información Geográfica (Diva Gis 7.5); (ii) conocer los principales elementos climáticos que determinan la distribución de las especies de zarzamora silvestre en donde se distribuyen y (iii) determinar la variabilidad morfológica inter e intraespecífica de las especies de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl provenientes de los estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo información geográfica de seis especies silvestres de zarzamora (*Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl), con sus respectivos datos de pasaporte ecogeográficos (altitud, longitud y latitud), mediante el esquema de Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (www.gbif.org). Los datos de pasaporte ecogeográficos de las accesiones se analizaron mediante el algoritmo Bio-clim/Domain de DIVA-GIS versión 7.5 (Hijmans *et al.*, 2004), y se elaboró el mapa de distribución general a través de la metodología de Núñez-Colín y Goytia-Jiménez (2009) y Núñez-Colín (2010). Posteriormente se determinaron los estados con mayor diversidad que abarcaron las seis especies de interés para la caracterización morfológica y con ello reducir los costos de operación de esta investigación.

La caracterización morfológica se llevó a cabo *in situ* en los estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán (Cuadro 1). Las variables morfológicas se registraron con base en descriptores cualitativos (Guías de la UPOV, 2006) y la confirmación de las especies se realizó mediante la revisión de herbario del Instituto de Ecología, A. C., Méxco (IE-BAJIO).

Las escalas que se usaron para registrar las variables fueron: nominal (n), ordinal (o) y binario (b), y se clasificaron de acuerdo con el órgano (tallo, hoja, flor y fruto) de la planta. Las variables de tallo fueron: porte de la planta (PP, n), longitud del tallo principal (TLP, o), diámetro del tallo principal (TDP, o), número de ramas nuevas (TRN, o), longitud de las ramas nuevas (TLR, o), pigmentación del tallo (TPP, 0), distribución de las ramas en el tallo principal (TDR, n), cerosidad en tallos de principal (TCP, b), número de espinas en tallo principal (TPE, o), densidad de tricomas en tallo (TPD, o), forma del tallo (TFT, n) y forma de la espina en tallo (TFE, n). Las variables foliares fueron: longitud de la quinta hoja (HLQ, o); número de foliolos (HNF, n), forma del foliolo (TFF, n), ancho de la hoja (HA, o), forma de la hoja (HF, n), forma de la base de la hoja (HFB, n), forma del ápice de la hoja (HFA, n), espinas en la hoja (HE, o), color del envés de la hoja (HCE, n) y margen de la hoja (HM, n). Las variables del órgano floral fueron: diámetro del pétalo (FDP, o), color de pétalos (FCP, n) y forma de pétalo (FFP, n). Las variables del fruto fueron: fructificación lateral (DFL, o), longitud del fruto (DLF, o), ancho del fruto (DAF, o), número de drupas por polidrupa (DND, o) y tamaño de drupas por polidrupa (DTP, o).

Cuadro 1. Coordenadas geográficas de los sitios de colecta de las zarzamoras silvestres.

Especies	Chiapas		Hidalgo		Michoacán	
	Latitud	Longitud	Latitud	Longitud	Latitud	Longitud
<i>R. adenotrichos</i> Schltl	16° 30' 50"	92° 29' 23"	20° 11' 29"	98° 09' 22"	19° 37' 17.6"	100° 08' 59.3"
<i>R. cymosus</i> Rydb	16° 59' 11"	92° 59' 07"	20° 16' 21"	98° 09' 08"	19° 37' 01.3"	101° 32' 54.1"
<i>R. humistratus</i> Steud	-----	-----	-----	-----	19° 29' 25.7"	101° 32' 54.1"
<i>R. palmeri</i> Rydb	-----	-----	20° 09' 60"	98° 15' 38"	-----	-----
<i>R. pringlei</i> Rydb	16° 47' 08"	92° 31' 05"	-----	-----	19° 29' 25.7"	101° 41' 16.4"
<i>R. sapidus</i> Schltl	-----	-----	20° 10' 09"	98° 10' 19.7"	19° 38' 33.1"	101° 15' 25.2"

..... No disponible

En cada sitio de colecta se obtuvieron los siguientes datos de los elementos climáticos mediante el programa de Diva Gis 7.5 (Hijmans *et al.*, 2004): temperatura promedio anual (B1), rango medio diurno (B2, temperatura máxima menos temperatura mínima), isothermalidad (B3, $B1/B7*100$), estacionalidad en temperatura (B4), temperatura máxima del período más caliente (B5), temperatura mínima del período más frío (B6), rango anual de temperatura (B7, B5-B6), temperatura media en el trimestre más lluvioso (B8), temperatura promedio en el trimestre más seco (B9), temperatura promedio en el trimestre más caluroso (B10), temperatura promedio en el trimestre más frío (B11) precipitación anual (B12), precipitación en el periodo más lluvioso (B13), precipitación en el periodo más seco (B14), estacionalidad de la precipitación (B15), precipitación en el trimestre más lluvioso (B16), precipitación en el trimestre más seco (B17), precipitación en el trimestre más caluroso (B18) y precipitación en el trimestre más frío (B19).

Con los datos de los elementos climáticos se realizó un análisis de componentes principales (ACP), mientras que las variables morfológicas se analizaron mediante correspondencias múltiples (ACM), con el uso del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS Institute Inc. 2002).

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1. Distribución geográfica

Se encontraron 66 accesiones de la especie *Rubus adenotrichos* Schtdl, 35 de *R. cymosus* Rydb, 11 *R. humistratus* Steud, 11 *R. palmeri* Rydb, 36 *R. pringlei* Rydb y 8 de *R. sapidus* Schtdl de la base de datos GBIF. La especie *Rubus adenotrichos* Schtdl presentó mayor número de accesiones distribuidas en el país. Dicha distribución es importante desde el punto de vista nutracéutico. *Rubus*

adenotrichos Schltldl presenta altos contenidos de elaginas (2.2 a 3.8 a mg g⁻¹) y de antocianinas (0.20 a 1.34 mg g⁻¹); que favorecen la dieta humana (Acosta-Montoya *et al.*, 2010).

Las especies se distribuyeron principalmente en la región que Morrone (2005) denominó como la región biogeográfica Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur (Figura 1). De acuerdo con Hijmans *et al.* (2004), estos resultados pueden ayudar a planear la colecta de germoplasma con la finalidad de tener la mayor diversidad de especies de interés. Al respecto, Núñez-Colín (2010) menciona que estas regiones son aptas para establecer un banco de germoplasma *in situ*.

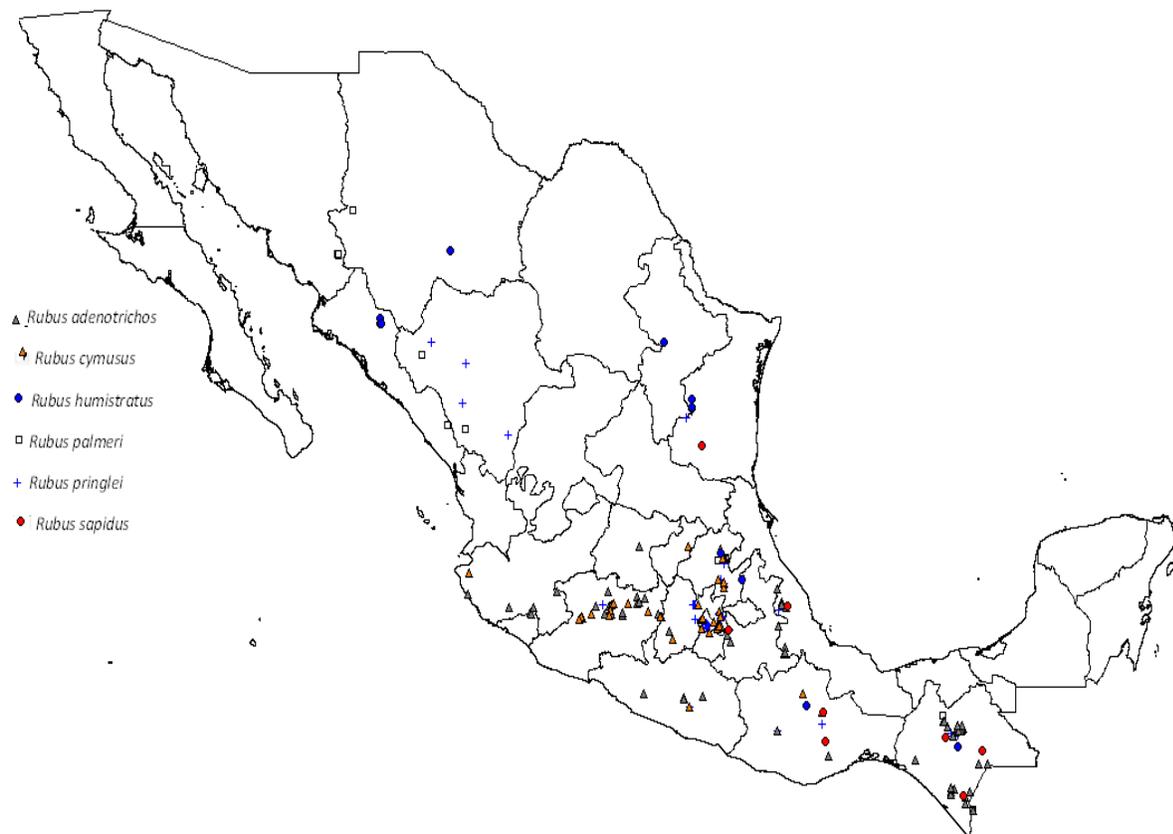


Figura 1: Mapa de distribución de especies silvestre de zarzamora en México, elaborado con información de la Plataforma Mundial de Información en Biodiversidad (GBIF).

De acuerdo a la Figura 1, *Rubus cymosus* Rydb y *Rubus pringlei* Rydb no se localizan en Chiapas, sin embargo, durante el muestreo en campo se encontraron dichas especies. En contraste, *Rubus palmeri* Rydb y *R. sapidus* Schltld no se encontraron debido a que en los sitios por donde fueron reportados han cambiado el uso de suelo de forestal a agrícola.

3.5.2. Análisis de los elementos climáticos

En el análisis de componentes principales, los primeros dos componentes explicaron el 78 % de la variabilidad total y con el tercer componente se acumuló el 90 %. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores propios y proporción de la varianza explicada en análisis de componentes principales.

Componente	Valor propio	Diferencia	Proporción	Acumulada
	(λ/p)		(%)	(%)
CP1	8.76	2.65	0.46	0.46
CP2	6.12	3.80	0.32	0.78
CP3	2.31	1.22	0.12	0.90
CP4	1.08	0.74	0.06	0.96

CP = componente principal.

En el CP1 y CP2, los elementos climáticos relacionados con la temperatura y precipitación (temperatura promedio anual, rango medio diurno, estacionalidad en temperatura, temperatura máxima del periodo más caliente, temperatura mínima del periodo más frío, rango anual de

temperatura, temperatura media en el trimestre más lluvioso, precipitación anual y precipitación en el trimestre más seco) destacaron para determinar la distribución de las especies silvestres de zarzamora (Figura 2). La temperatura es uno de los factores que presenta impacto en la calidad de los frutos, Granelli *et al.* (2012) encontraron que en los frutos de zarzamora presentan diferencias en peso del fruto, contenido de sólidos solubles y acidez titulable en función de los cambios de temperatura diurna y nocturna.

De acuerdo con la separación angular que forman las proyecciones de las variables (Figura 2), se encontraron asociaciones entre las variables: temperatura promedio anual con temperatura promedio en el trimestre más seco, precipitación en el trimestre más caluroso con precipitación en el periodo más lluvioso y precipitación en el trimestre más frío; que indican que la precipitación favorece la acumulación de unidades frío de las zarzamoras. Cancino-Escalante *et al.*,(2011) mencionan que las asociaciones dependen de la constitución genética de la especie y de la interacción genotipo por ambiente, por lo tanto los individuos expresan su genotipo de acuerdo al hábitat donde se desarrollan.

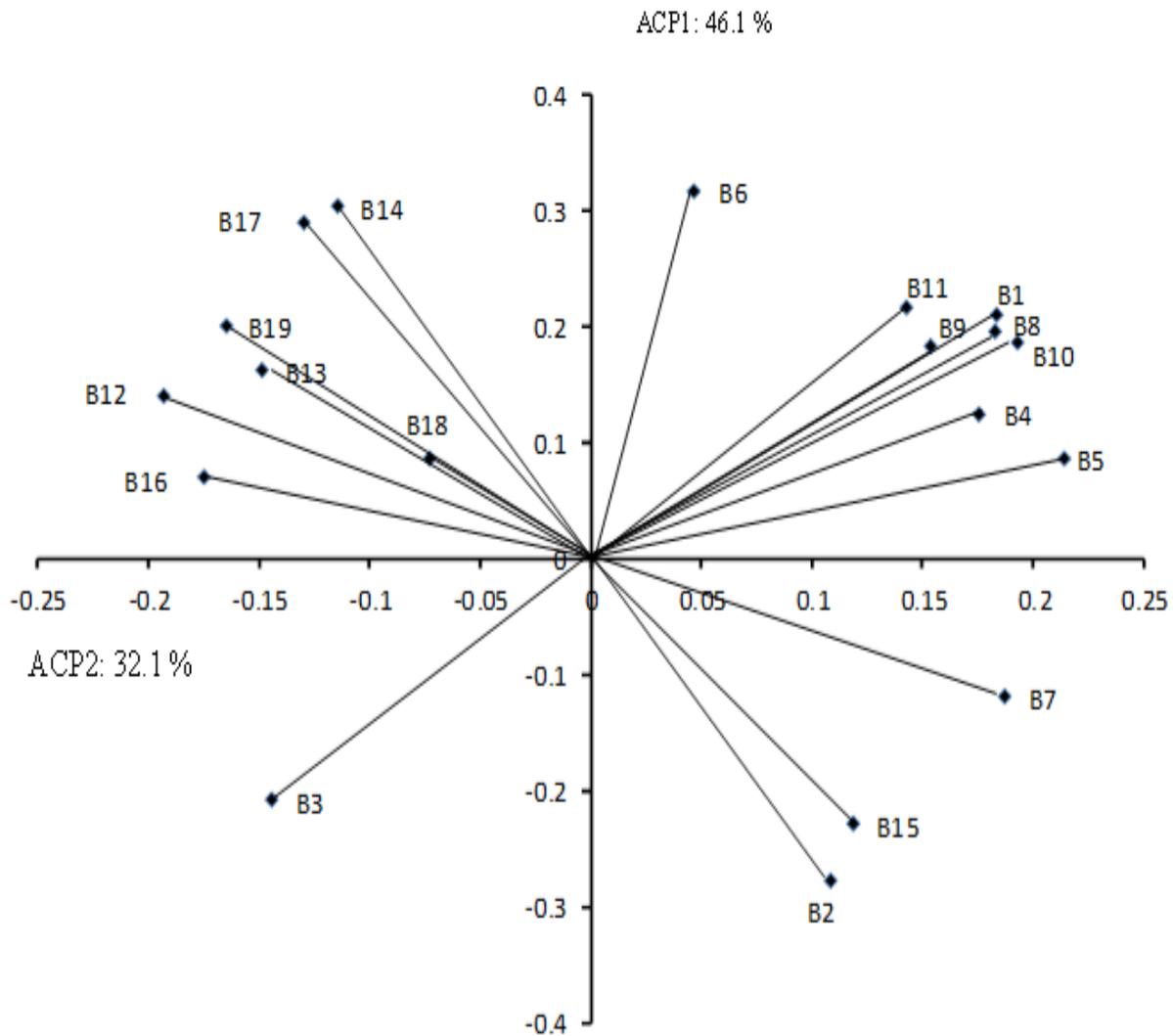


Figura 2: Asociación de los elementos climáticos sobre los dos primeros componentes que caracterizan a las zarzamoras silvestres en México.

3.5.3. Variabilidad morfológica inter e intraespecífica

El análisis de correspondencia múltiple permitió establecer un total de cinco factores que explicaron el 73.1 % de la variabilidad total, misma que se obtuvo del análisis de variables morfológicas. El comportamiento se explica por la variabilidad morfológica y genética en el género *Rubus*, en la que se encuentran especies diploides a dodecaploides (Marulanda *et al.*, 2007).

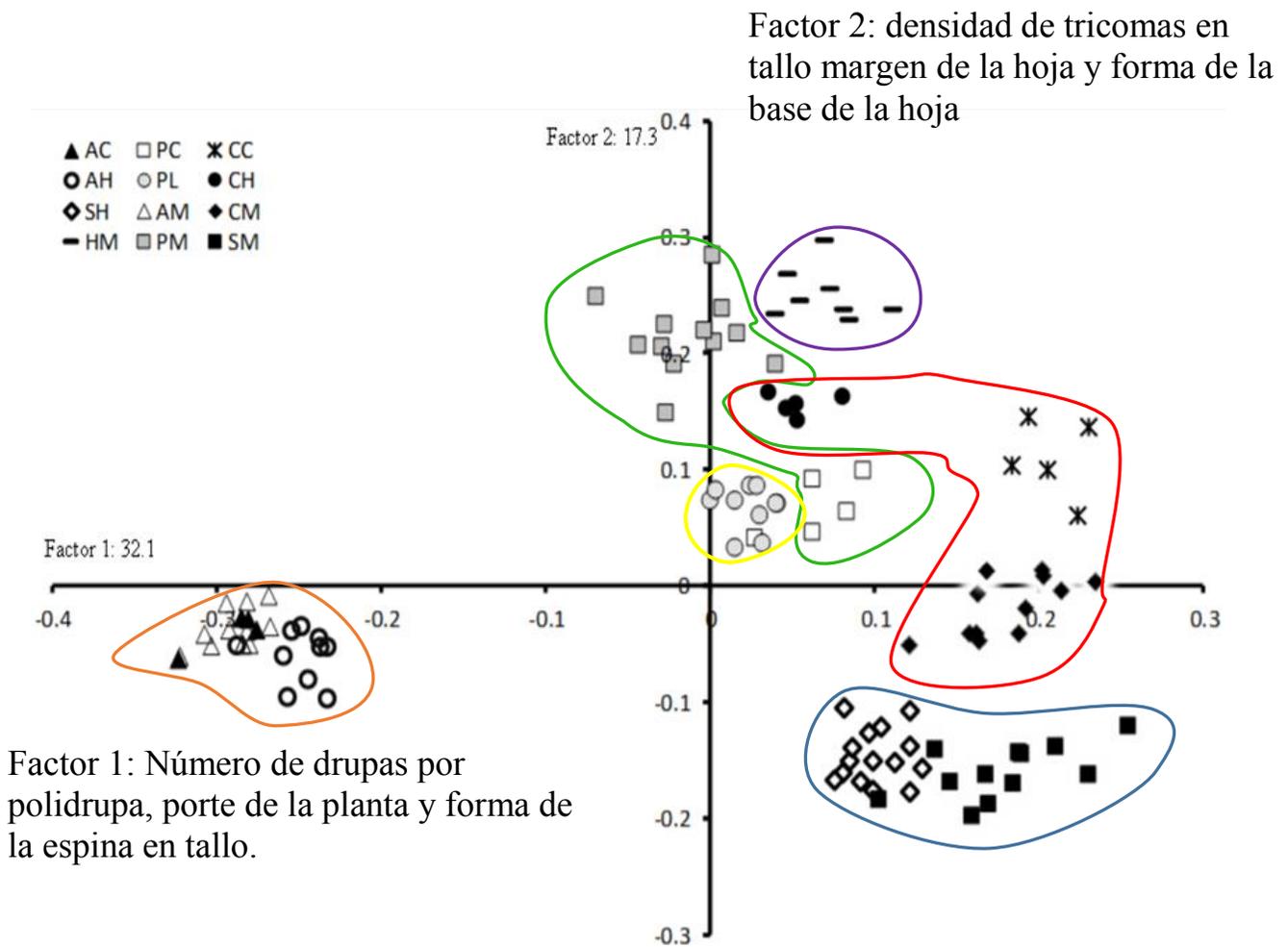


Figura 3: Dispersión de las especies silvestres de zarzamora sobre el plano de los dos primeros factores (AC: *Rubus adenotrichos* Schltdl de Chiapas, AH: *Rubus adenotrichos* Schltdl en Hidalgo, AM: *Rubus adenotrichos* Schltdl de Michoacán, CC: *R. cymosus* Rydb de Chiapas, CH: *R. cymosus* Rydb de Hidalgo, CM: *R. cymosus* Rydb de Michoacán, HM: *R. humistratus* Steud en Michoacán, PLH: *R. palmeri* Rydb de Hidalgo, PC: *R. pringlei* Rydb de Chiapas, PM: *R. pringlei* Rydb de Michoacán, SH: *R. sapidus* Schltdl de Hidalgo, SH: *R. sapidus* Schltdl de Michoacán).

La dispersión de las especies en el diagrama bidimensional en un plano mostró la variación entre las especies provenientes de los estados de Chiapas, Hidalgo y Michoacán (Figura 3). De acuerdo con Cancino-Escalante *et al.* (2011), el sistema de reproducción de las plantas influye en la variabilidad, por el efecto de la hibridación entre las especies de *Rubus*.

El Factor 1 se definió por las variables número de drupas por polidrupa, porte de la planta y forma de la espina en tallo, mientras que el Factor 2 fue definido por las variables densidad de tricomas en tallo, margen de la hoja y forma de la base de la hoja. Por lo tanto, los resultados que se obtuvieron coinciden con Cancino-Escalante *et al.* (2011), es decir, los caracteres de tallo, órganos foliares y reproductivos presentaron mayor variabilidad entre especies de zarzamora silvestre. Stephens *et al.* (2012) encontraron correlación genética entre las variables peso del fruto, longitud y diámetro del tallo. Por lo tanto, es importante incluir variables que involucren los componentes de rendimiento en los estudios de caracterización para definir especies silvestres de mayor rendimiento y calidad de fruto. De acuerdo con Dosett y Finn (2015) la variación fenotípica permite seleccionar las especies silvestres de *Rubus* para mejoramiento genético. Con la finalidad de incorporar características como vigor y resistencia a enfermedades a partir de especies silvestres.

Las especies de zarzamora estudiadas presentaron variación en la forma del tallo (Figura 4), densidad de tricomas del tallo y forma de la espina en tallo (Figura 5). Monasterio y Macía (2002) reportan que en las especies de *Rubus*, la superficie de las distintas partes de la planta está cubierta de tricomas y espinas, cuyo número y forma varían de una especie a otra, modificándose en función de los factores ecológicos y exposición a la radiación solar. Sin embargo, Moreno *et al.* (2011), mencionan que las espinas son atributos no deseables dentro de los programas de mejoramiento en *Rubus*, debido que dificultan las labores del cultivo.



Figura 4: Forma del tallo: a) *Rubus adenotrichos* Schltld, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb y e) *R. sapidus* Schltld.



Figura 5: Densidad de tricomas en tallo y forma de la espina en tallo: a) *Rubus adenotrichos* Schltld, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb, e) *R. pringlei* Rydb y f) *R. sapidus* Schltld.

Cuadro 3: Características morfológicas interespecíficas de las especies silvestres de zarzamoras

Variables morfológicas	Especies silvestre de zarzamora					
	<i>R. adenotrichos</i>	<i>R. cymosus</i>	<i>R. humistratus</i>	<i>R. palmeri</i>	<i>R. pringlei</i>	<i>R. sapidus</i>
Porte de la planta	Erecto a semierecto	Semierecto	Semierecto	Rastrero	Semierecto a rastrero	Semierecto a rastrero
Forma de tallo	Acanalado	Redondo	Redondo	Angular	Redondo	Angular
Densidad de la tricomas en tallo	Largos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Cortos	Cortos
Forma de espina en tallo	Recta e inclinada	Curveada	Punzón	Curveada	Punzón	Curveada
Margen de la hoja	Serrada	Serrulada	Biserrada	Serrada	Serrada	Serrulada
Forma de la base de hoja	Subtruncada	Obtusa	Obtusa	Subcordada	Subcordada	Obtusa
Número de foliolos	Pentafoliada	Trifoliada	Trifoliada	Pentafoliada	Trifoliada	Trifoliada
Forma del foliolo	Rómbico	Ovado-elíptico	Rómbico	Ovado	Ovado-elíptico	Ovado-elíptico
Forma del ápice de la hoja	Acuminado	Agudo	Acuminado	Redondeado	Agudo	Agudo
Color de pétalos	Blanco con traza rosa	Blanco	Blanco	Rosáceo	Blanco	Blanco
Forma de pétalos	Redondos	Elípticos	Lanceolados	Redondos	Elípticos	Lanceolados
Número de drupas por polidrupa	Muy alto (50 a 100)	Medio (8 a 20)	Poco (4 a 6)	Medio (9 a 19)	Alto (30 a 50)	Bajo (3 a 7)
Número de polidrupas por racimo	40 a 60	6 a 10	4 a 6	50 a 100	30 a 50	6 a 20

En relación al número de foliolos, los resultados concuerdan con los reportados por Cancino-Escalante *et al.* (2011), quienes encontraron que *R. adenotrichos* Schltldl presentan tallos acanalados, foliolos ovados, 3 a 5 foliolos y ápices acuminados (Figura 6).

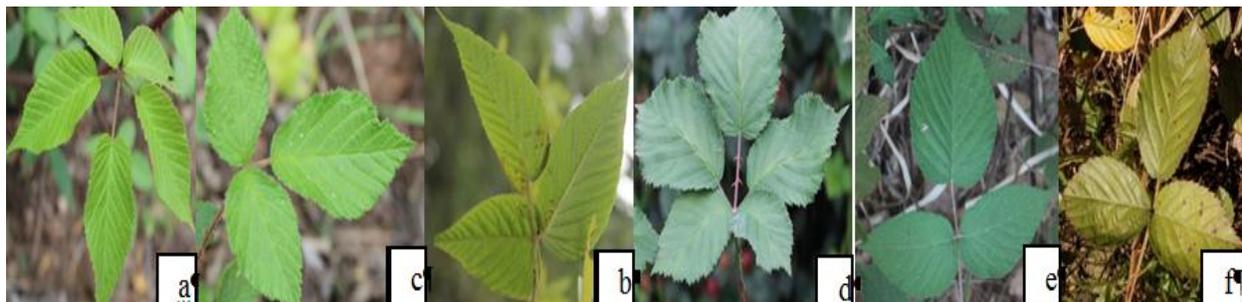


Figura 6: Número de foliolos por hoja: a) *Rubus adenotrichos* Schltldl, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb, e) *R. pringlei* Rydb y f) *R. sapidus* Schltldl.

El color y la forma del pétalo permitieron diferenciar las especies (Figura 7). En cuanto a los caracteres del fruto *R. adenotrichos* Schltldl y *R. pringlei* Rydb presentaron caracteres reproductivos deseables en un programa mejoramiento genético (Figura 8), el número de drupas por polidrupas coinciden con Zamorano *et al.* (2007) en materiales comerciales de zarzamora.



Figura 7: Forma y color de pétalos: a) *Rubus adenotrichos* Schltldl, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb, e) *R. pringlei* Rydb y f) *R. sapidus* Schltldl.



Figura 8. Número de drupas por polidrupa: a) *R. adenotrichos* Schltl, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. humistratus* Steud, d) *R. palmeri* Rydb, e) *R. pringlei* Rydb y f) *R. sapidus* Schltl.

El número de drupas por polidrupa presentaron diferencias en relación al número y la forma de los polidrupas, *R. adenotrichos* Schltl y *R. pringlei* Rydb presentaron mayor número de drupas por polidrupa con forma alargada (Figura 9).



Figura 9. Forma del fruto y número de drupas por polidrupa: a) *R. adenotrichos* Schltl, b) *R. cymosus* Rydb, c) *R. palmeri* Rydb, d) *R. pringlei* Rydb y e) *R. sapidus* Schltl.

En el análisis de la variabilidad morfológica intraespecífica, *R. sapidus* Schltl de Hidalgo y Michoacán mostraron agrupación estrecha en función del origen o sitio de estudio, por el contrario, *R. cymosus* Rydb presentaron variabilidad entre sitios de colecta. Este comportamiento lo reportó Cancino-Escalante *et al.* (2011) y explican que ningún carácter o grupo de caracteres conforman

grupos a los que pertenezcan todos los miembros de la misma especie aunque provengan de un mismo ambiente, localidad o rango altitudinal.

La especie *R. cymosus* Rydb proveniente del estado de Hidalgo y Michoacán presentó porte de planta semierecto y longitud de ramas largas. En contraste, la colecta proveniente de Chiapas fue de porte semierecta a rastrera y longitud de ramas laterales cortas. En relación a la fructificación, en las accesiones provenientes de Chiapas y Michoacán, el número de drupas por polidrupa fue medio, es decir, de 9 a 14 y de 8 a 12, respectivamente, en tanto que, las colectas del estado de Hidalgo presentaron un número bajo, es decir, de 3 a 7.

La especie *Rubus pringlei* Rydb proveniente de Chiapas no presentó pigmentación de antocianinas en tallos; las espinas en tallos y hojas fueron curvadas, y el número de drupas por polidrupa fue alto de 30 a 50. En contraste, *R. pringlei* Rydb proveniente de Michoacán mostró pigmentación con antocianinas en tallos de primocañas pero ausentes en floricañas, espinas puntiagudas, y el número de drupas por polidrupa fueron muy alto de 50 a 100. Estas diferencias morfológicas permitieron agrupar a la especie de *R. pringlei* Rydb por sitio de colecta. Las polidrupas de la especie *Rubus pringlei* Rydb no se adhirieron al receptáculo. Este es un atributo característico de las frambuesas del subgénero *Idaeubatus*, en contraste a las polidrupas de las zarzamoras se encuentran unidas al receptáculo, mismo que es parte comestible del fruto (Galleta y Violette, 1989), por lo tanto, *R. pringlei* Rydb se consideró una frambuesa.

3.6. CONCLUSION

Las especies de *Rubus adenotrichos* Schtdl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schtdl se distribuyeron principalmente en el Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. Los elementos climáticos relacionados con la temperatura y precipitación determinaron la distribución de las especies de zarzamora. Los caracteres morfológicos relacionados con porte de la planta, forma de la espina en tallo, densidad de tricomas en tallo, margen de la hoja, forma de la base de la hoja y número de drupas por polidrupa presentaron variabilidad morfológica en las especies de zarzamora. Las especies *Rubus adenotrichos* Schtdl, *R. cymosus* Rydb y *R. pringlei* Rydb mostraron variabilidad morfológica intraespecífica entre sitios de colecta. Por las características morfológicas de la polidrupa, *R. pringlei* Rydb se consideró una frambuesa.

3.7. LITERATURA CITADA

Acosta-Montoya O., F. Vaillan, S. Cozzano, C. Mertz, A. M. Pérez and M. V. Castro (2010)

Phenolic content and antioxidant capacity of tropical Highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schlttdl) during three edible maturity stages. *Food Chemistry* 119:1497-1501.

Cancino-Escalante G. O., L. R. Sánchez-Montaño, E. Quevedo-García y C. Díaz-Carvajal

(2011) Caracterización fenotípica de accesiones de especies de *Rubus L.* de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. *Universitas Scientiarum* 16:219-233.

Clark J. R., E. T. Stafne, H. K. Hall and C. E. Finn (2007) Blackberry breeding and genetics.

In: Plant Breeding Reviews. J. Janick (ed), John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, Vol. 29. pp:19-144.

Dosett M. and C. E. Finn (2015) Performance and phenology of wild black raspberry (*Rubus*

occidentalis L.) germplasm in a common garden. *Genetic Resources and Crop Evolution* 1-21.

Dujmović-Purgar D., D. Boris, S. Voća, A. Vokurka and S. Ercisli (2012) A comparison of

fruit chemical characteristics of two wild grown *Rubus* species from different locations of Croatia. *Molecules* 17:10390-10398.

Enríquez G. (1991) Descripción y evaluación de los recursos genéticos. *In: Técnicas Para el*

Manejo y Uso de los Recursos Genéticos Vegetales. R. Castillo, J. Estrella y C. Tapia (eds). Editorial Porvenir. Quito Ecuador. pp:116-160.

Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (www.gbif.org), Consultado, marzo 2015.

- González-Andrés F. (2001)** Caracterización morfológica: *In: conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos*. F. González-Andrés y J. Pita-Villamil (eds). Publicaciones Instituto Nacional de Educación Agrícola. Valladolid, España. pp:199-217.
- Granelli G., L. Mariani, S. Parisi, T. Eccher, V. Ughini, R. Lo Scalzo, M. Buccheri and G. Cortellino. (2012)** Influence of genotype, location and year factor quality and health promoting compounds of *Rubus* fruits. *Acta Horticulturariae* 926:697-704.
- Hidalgo R. (2003)** Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. *In: Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos*. T. L. Franco y R. Hidalgo (eds). Boletín Técnico No. 8. IPGRI, Cali, Colombia. pp:2-26
- Hijmans R. J., L. Guarino, C. Bussink, P. Mathur, M. Cruz, I. Barrantes y E. Rojas (2004)** DIVA-GIS Versión 5.2. Sistema de Información Geográfica para el Análisis de Datos de Distribución de Especies, Guía de Usuario. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 83 p.
- Juinn-Yih H. and H. Jer-Ming (2009)** Revisión of *Rubus* (Rosácea) in Taiwan. *Tawania* 54:285-310
- Marulanda M. L., A. M. López and S. B. Aguilar (2007)** Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 7:242-252.
- Monasterio H. y E. Macía (2002)** Revisión taxonómica del género *Rubus* L. (Rosácea) en la Península Ibérica e Islas Baleares. Tesis Doctoral. Departamento de Biología Vegetal Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, Madrid. 217 p.

- Moreno M., D. Villarreal, T. C. Lagos, H. Ordoñez y H. Criollo (2011)** Caracterización “*In situ*” de genotipos silvestres y cultivadas de mora *Rubus* spp en el municipio de Pasto. *Revista de Ciencias Agrícolas* XXVII:109-128.
- Morrone J. J. (2005)** Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76:207-252.
- Núñez-Colín C. A. (2010)** Distribución y caracterización eco-climática del membrillo cimarrón (*Amelanchier denticulata* (Kunth) Koch) en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16:195-206.
- Núñez-Colín C. A. and M. A. Goytia-Jiménez (2009)** Distribution and agroclimatic characterization of potential cultivation regions of physic nut in México. *Pesquisa Agropecuaria Brasilia* 44:1078-1085.
- Rzedowsky J. y G. Calderón-de Rzedowski (2005)** Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, Familia *Rosácea*. Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Morelia, Michoacán. No. 135. 163 p.
- SAS, Statistical Analysis System (2002)** SAS System for Windows Version 8.0 by SAS Institute Inc. Cary, NC. USA.
- Segura S., Á. Rebollar-Alviter, J. Boyzo-Marín, M. Hernández-Bello y J. López-Medina (2012)** Genetic Resources of Blackberry Wild Species in Michoacán, México. *Acta Horticulturae* 946:107-111.
- Stephens M. J., P. A. Alspach and C. Winefield (2012)** Genetic parameters associated and yield and yield components in red raspaberry. *Acta Horticulturae* 946:37-42.
- Thompson M. M. (1997)** Survey of chromosome number in *Rubus* (Rosaceae: *Rosoideae*). *Journal Annals of the Missouri Botanical Garden* 84:129-165.

Unión Internacional para la Protección de las obtenciones Vegetales (UPOV) (2006) *Rubus* subgenus *Eubatus* sect. *Moriferi* & *Ursini* e híbridos (www.upov.int), consultada, octubre 2014.

Zamorano M., A. C. Morillo, Y. C. Morillo, H. A. Vásquez, and J. E. F. Muñoz (2007) Caracterización morfológica de mora en los departamentos del Valle del Cauca, Cauca y Nariño, de Colombia. *Acta Agronómica* 56:51-60.

CAPITULO IV: POLIPLOIDÍA EN ZARZAMORAS (*Rubus* spp L.)

4.1. RESUMEN

Las especies del género *Rubus* presentan poliploidía, y la observación del número de cromosomas en zarzamoras silvestres y cultivadas es importante para estudios evolutivos, filogenéticos, mejoramiento genético y taxonómico. De acuerdo a la importancia de los cromosomas, los objetivos de este trabajo fueron determinar la poliploidía de especies silvestres y variedades de zarzamora y describir las características morfológicas que asocian o definen la poliploidía de dichos materiales genético. El estudio se realizó mediante la técnica de citología en las especies *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydby, *R. sapidus* Schltldl; las variedades de Tupí y Kiowa, y las cruzas Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus*. El conteo de cromosomas se realizó en células somáticas mediante aplastado de las puntas de raíz. Se observaron y contaron cromosomas en metafase para cada especie, la poliploidía se determinó con base en el número de juegos cromosómicos partiendo de $n=x=7$. Se encontró que las especies de zarzamora presentaron variabilidad en el número de juegos cromosómicos *Rubus adenotrichos* $2n = 2x = 14$, *R. cymosus* $2n = 5x = 35$, *R. humistratus* $2n = 2x = 14$, *R. palmeri* $2n = 4x = 28$, *R. pringlei* $2n = 3x = 21$ y *R. sapidus* $2n = 3x = 21$; las variedades Tupí $2n = 3x = 21$ y Kiowa $2n = 4x = 28$, y las progenies de las cruzas Tupí x *R. sapidus* $2n = 3x = 21$ y Kiowa x *R. sapidus* $2n = 4x = 28$. Cada especie presentó características particulares que las caracteriza, sin embargo, no se determinó qué características morfológicas se asocian o definen la poliploidía en las especies analizadas.

Palabras clave: *Rubus* spp L., aplastado de raíces, cromosomas, poliploidía.

4.2. ABSTRACT

From de Genus *Rubus* species usually present polyploidy. Chromosome number observation on both wild and cultivated blackberries is important for evolutionary, phylogenetic, genetic breeding, and taxonomic studies. Due to the importance on chromosome number, the main objective of this research work was to determine polyploidy number on both wild and cultivated blackberries and to describe morphological traits that either are associated with or describe polyploidy level. The study was performed in species: *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydby, and *R. sapidus* Schltldl; as well as varieties Tupi and Kiowa, and the crosses of these with *R. sapidus*; all this by using the cytology technique. Chromosome counting was done in somatic cells that were on metaphase stage by crushing of root tips. Polyploidy was determined based on chromosome sets of $n = x = 7$. Chromosome number on blackberries varied as follow: *Rubus adenotrichos*: $2n = 2x = 14$; *R. cymosus*: $2n = 5x = 35$; *R. humistratus*: $2n = 2x = 14$; *R. palmeri*: $2n = 4x = 28$; *R. pringlei*: $2n = 3x = 21$; *R. sapidus*: $2n = 3x = 21$; Tupí: $2n = 2x = 14$; Kiowa: $2n = 4x = 28$; Tupí x *R. sapidus*: $2n = 3x = 21$; and Kiowa x *R. sapidus*: $2n = 4x = 28$. Each species presented particular traits; however, it was not determined what morphological traits were associated with or define polyploidy in the species studied.

Index words: *Rubus* spp L., crushed roots, chromosomes, polyploidy.

4.3. INTRODUCCIÓN

Es importante conocer el número de cromosomas de las plantas para hacer fitomejoramiento, estudios evolutivos, filogenéticos, genéticos y taxonómicos (Nathewet *et al.*, 2009). Las especies del género *Rubus* presentan la no reducción de gametos, duplicación de genoma y apomixis (Otto y Whitton, 2000; Meg y Finn, 2002). La poliploidía en *Rubus* va desde $2n = 2x = 14$ a $2n = 14x = 98$; posiblemente, también existen $2n = 18x = 126$, incluyendo número de cromosomas impares y aneuploides (Delgado *et al.*, 2010; Meng y Finn, 1999; Thompson, 1995; 1997). En especies diploides el tamaño de los cromosomas miden de 1 a 3 μm de longitud, con un contenido de ADN de 0.56 a 0.59 pg (Lim *et al.*, 1998; Meng y Finn, 2002). Sin embargo, los genotipos con el mismo número de cromosomas pueden diferir en el contenido de ADN y producir progenies poliploides (Meng y Finn (2002)).

La poliploidia plantea un desafío en la segregación de los cromosomas, debido que cada cromosoma presenta más de un homólogo (Mercier *et al.*, 2015). La duplicación del genoma entero o poliploidía juega un papel importante en la evolución de todas las angiospermas, permite que los híbridos interespecíficos fértiles generen múltiples genes para alelos en cada locus, mediante la liberación de genes duplicados de las mutaciones y a través de la especiación con flujo limitado de genes (Proost *et al.*, 2011; Soltis y Burleigh, 2009). Por otro lado, las cruas heteroploides son utilizadas para introducir genes deseables de especies silvestres o materiales élite entre especies o cultivos capaces de generar progenies con variación en niveles de ploidía (Meng y Finn, 2002). De acuerdo con Rieseberg y Willis (2007), la poliploidía permite que las especies presenten una rápida evolución y adaptación.

Existen metodologías para clasificar y contar el número de cromosomas (Nathewet *et al.*, 2009), entre ellas, el método convencional del conteo de cromosomas en células somáticas bajo

microscopio, usando tejidos meristemáticos o tipos de brotes y a través de células madres del polen (Thompson, 1997). Otros métodos para determinar el nivel de ploidía son: la medición del tamaño del polen (Otto y Whitton, 2000) y número de cloroplastos en las células guarda de la epidermis, tamaño de los estomas (Masterson, 1994). Sin embargo, éstas son técnicas no precisas.

Las técnicas modernas que se están utilizando son: la *hibridación genómica in situ* (GISH), la cual usa el ADN genómico total (Heslop-Harrison y Schwarzacher, 2011) y la técnica del citómetro de flujo (Bennett y Leitch, 2011), que consiste en determinar el contenido de ADN de forma rápida y eficiente en las plantas y animales (Galbraith *et al.*, 1983).

La citometría de flujo ofrece alternativas para determinar el tamaño, composición y niveles de poliploidía de genomas en especies con interés taxonómico y para el mejoramiento genético en plantas (Bennet *et al.*, 2000). Además, permite esclarecer la taxonomía y biodiversidad, e incluso plantear estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* (Palomino y Allen, 2005).

En general el 70 % de las angiospermas presentan poliploidia (Masterson, 1994). En programas de mejoramiento genético de zarzamoras y frambuesas (*Rubus idaeus* L.) es importante conocer el nivel de ploidía de los genotipos de *Rubus* para predecir el entrecruzamiento y combinaciones parentales (Meng y Finn, 2002), distinguir las características taxonómicas de las colecciones de *Rubus* (Thompson, 1995) y conocer la evolución y filogenia de los genotipos entre las especies y familias (Heslop-Harrison y Schwarzacher, 2011). Por otro lado, al cruzar progenitores con diferentes niveles de ploidía pueden generar progenies estériles o genéticamente inestables (Poehlman y Allen, 2003).

En el género *Rubus* se han realizado conteos de cromosomas en 387 especies, que corresponde al 40 % de las especies que se conocen, y en 90 variedades y selecciones de zarzamoras (Thompson,

1997). Sin embargo, se carece de información respecto al número de cromosomas de las especies silvestres presentes en México, y de acuerdo con Zamorano *et al.* (2007) para que el germoplasma de las especies de *Rubus* se pueda conservar, manejar y utilizar de forma eficiente, éste se debe caracterizar morfológica y genéticamente. Por lo tanto, los objetivos de este estudio fueron determinar el número de cromosomas de las especies silvestres de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydby, *R. sapidus* Schltldl; así como de las variedades Tupí y Kiowa, y las cruzas Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus* mediante la técnica de citología y describir las características morfológicas que definen o asocian la poliploidía de las especies silvestres y variedades de las zarzamoras.

4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Las plantas de zarzamoras fueron establecidas bajo condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados: seis especies silvestres (*Rubus adenotrichos*, *R. cymosus*, *R. humistratus*, *R. palmeri*, *R. pringlei* y *R. sapidus*), dos variedades (Tupí y Kiowa) y dos progenies de las cruzas Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus*.

La determinación del número de cromosomas se realizó mediante la técnica de aplastado de los ápices de raíz en crecimiento. Se seleccionaron los ápices de las raíces vigorosas y se colectaron durante la mañana. El pretratamiento consistió en poner las puntas de las raíces en agua a 4 °C durante 24 horas para acumular células en metafase. Después del pretratamiento, el fijado de las raíces se realizó en la solución de Carnoy, (alcohol 96 °: ácido acético glacial:cloroformo 3:1:1 por volumen), durante 30 minutos. Posteriormente, las puntas de raíz fueron hidrolizadas en ácido clorhídrico (HCl) 1N durante 15 minutos a 60 °C, se tiñeron con solución de Feulgen durante 15 minutos a 60 °C y se utilizó acetocarmin 1 % para el aplastado.

Una vez obtenida la tinción de las raíces se procedió a analizar, mediante observación directa en un microscopio con un objetivo de 100x (Marca ZEISS, Alemania), 50 células en metafase de los ápices de las raíces de cada especie, se contó el número de cromosomas por célula para cada especie y se obtuvo el nivel de ploidía con base en el número haploide partiendo de $n=x=7$.

4.4.1. Descripción morfológica

La descripción de las características morfológicas de cada una de las especies se realizó con base en descriptores cualitativos (Guías de la UPOV, 2006) y su confirmación se hizo a través de la revisión del Herbario del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-BAJÍO).

Las escalas que se usaron para registrar las variables fueron: nominal (n), ordinal (o) y binario (b) y se clasificaron de acuerdo con el órgano (tallo, hoja, flor y fruto) de la planta. Las variables de tallo fueron: porte de la planta (PP, n), densidad de la pilosidad en tallo (TPD, o), forma del tallo (TFT, n) y forma de la espina en tallo (TFE, n). Las variables foliares fueron: número de foliolos (HNF, n), forma del foliolo (HFF, n), forma de la base de la hoja (HFB, n), forma del ápice de la hoja (HFA, n), y margen de la hoja (HM, n). Las variables del órgano floral fueron: color de pétalos (FCP,n), forma de pétalo (FFP, n). Las variables del fruto fueron: número de polidrupas por racimo (DNP,o) y número de drupas por polidrupa (DND, o).

4.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.5.1. Caracterización cromosómica

Las observaciones citológicas mostraron variación en el número de juegos cromosómicos de diploide a pentaploide ($2n=2x = 14$, $3x = 21$, $4x = 28$ y $5x =35$) en las especies y cruzas bajo estudio. De acuerdo con Heslop-Harrison y Schwarzacher (2011) cada especie presenta un número característico de cromosomas en su núcleo, el número varía entre especies y frecuentemente

incrementa y decrece durante la evolución y la especiación, por lo que la poliploidía juega un papel muy importante en la evolución del género *Rubus* (Thompson, 1997).

Los cromosomas en estas especies son pequeños, lo que impide identificar sus características morfológicas. De acuerdo con Masterson (1994), las especies poliploides incrementan el volumen de la célula y originan cambios fenotípicos que afectan el metabolismo y la regulación de genes durante el desarrollo de la planta.

Las especies *R. adenotrichos* y *R. humistratus* fueron diploides, es decir, $2n = 2x = 14$ (Figura 1 y 2). En el caso de *R. adenotrichos* se confirmó el número de cromosomas reportados por Thompson (1995).

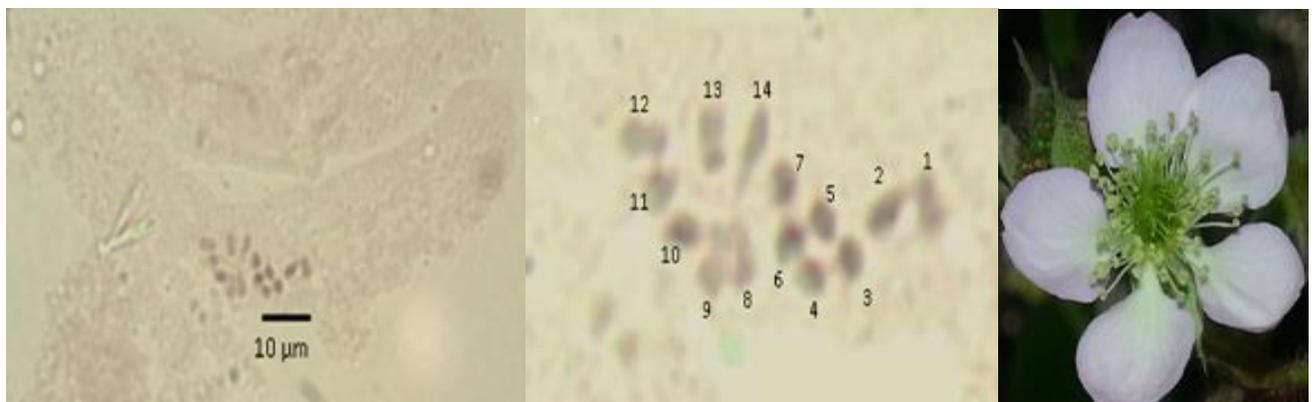


Figura 1. Número de cromosomas en *Rubus adenotrichos* Schltl ($2n = 2x = 14$).



Figura 2. Número de cromosomas en la especie *Rubus humistratus* Steud ($2n = 2x = 14$).

Las especies *R. pringlei* (Figura 3), *R. sapidus* (Figura 4), la variedad Tupí (Figura 5) y la cruce Tupí x *R. sapidus* (Figura 6) presentaron 21 cromosomas, es decir, $2n = 3x = 21$, por lo tanto, son triploides. De acuerdo con Ramsey y Schemske (1998), las especies triploides presentan baja fertilidad y tienden a producir gametos aneuploides, por los emparejamientos cromosómicos y la segregación durante el proceso de la meiosis, que dan origen a gametos euploides (diploide); estos pueden producir descendencias triploides y tetraploides, como consecuencia, los triploides pueden facilitar la transición de diploides a tetraploides permitiendo la propagación de poliploides.

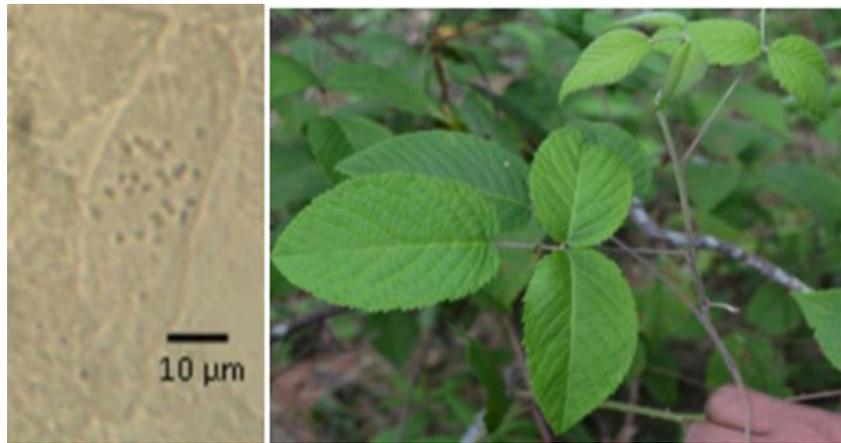


Figura 3. Número de cromosomas en *Rubus pringlei* Rydb ($2n = 3x = 21$).



Figura 4. Número de cromosomas en *Rubus sapidus* Schtdl ($2n = 3x = 21$).



Figura 5. Número de cromosomas de la variedad Tupi ($2n = 3x = 21$).



Figura 6. Número de cromosomas de la crucea Tupi x *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$).

El número de cromosomas de *Rubus palmeri* (Figura 7), la variedad Kiowa (Figura 8) y la crucea Kiowa x *R. sapidus* (Figura 9) fueron $2n = 4x = 28$, es decir, tetraploides. Cuando un cromosoma se involucra en una asociación múltiple se forman gametos desequilibrados y la fertilidad se reduce (Ramsey y Schemske, 2002). Sin embargo, la reducción de la fertilidad va de acuerdo al tipo de polipliodía (Mercier *et al.*, 2015). En especies autoploiploides, las copias de cada cromosoma comparten las mismas posibilidades de recombinación entre sí; como consecuencia con frecuencia presentan quiasmas múltiples, aunque no de forma sistemática (Grandont *et al.*, 2013). Por el

contrario, en las especies aloploidoides, los cromosomas presentan intercambio genético parcial (Jenczewski y Alix, 2004).



Figura 7. Número de cromosomas en *Rubus palmeri* Rydb ($2n = 4x = 28$).



Figura 8: Número de cromosomas de la variedad Kiowa ($2n = 4x = 28$).



Figura 9: Número de cromosomas de la cruce Kiowa x *R. sapidus* ($2n = 4x = 28$).

La especie *R. cymosus* presentó $2n = 5x = 35$ cromosomas (Figura 10). Los poliploides presentan mayor avance en relación a la evolución en comparación con sus ancestros diploides (Fawcett *et al.*, 2009; Proost *et al.*, 2011). Las especies poliploides generalmente marcan diferencias de sus progenitores en las características morfológicas, ecológicas, fisiológicas y citológicas que pueden contribuir en el conocimiento de nuevos nichos ecológicos y reproductivos (Levin, 2002). Por lo tanto, la poliploidía es un mecanismo importante de adaptación y especiación en las plantas (Levin, 2002; Otto y Whitton, 2000).



Figura 10: Número de cromosomas en *Rubus cymosus* Rydb ($2n = 5x = 35$).

4.5.2. Descripción morfológica de las especies de zarzamora

***Rubus adenotrichos* Schldl:** es un arbusto erecto a semi erecto, ramas de 4 m de longitud aproximadamente, tallos acanalados, abundante pilosidad y antocianinas en primocañas y floricañas, numerosas espinas rectas e inclinadas en el tallo y nervaduras de las hojas. Presentan hojas pentafoliadas, folíolos rómbicos con margen serrada, forma de la base de la hoja subtruncada y el apice del folíolo acuminado. En relación a las flores tienen pétalos de color blanco y redondos; los racimos de frutos presentan entre 40 a 60 polidrupas y cada polidrupa está compuesta de 50 a 100 drupas. Los frutos son recolectados para la elaboración de bebidas artesanales como bebida

espesa a base de masa de maíz y licores, de la misma manera se utilizan para la elaboración de tamales por su sabor agridulce. Esta especie forma parte de la flora silvestre de México y localmente es apreciada por sus frutos comestibles y por sus propiedades medicinales, también presentan compuestos fenólicos con actividad antioxidante (Acosta-Montoya *et al.*, 2010; Martínez-Cruz *et al.*, 2011; Mertz *et al.*, 2007)

***R. cymosus* Rydb:** planta semierecta a erecta, tallos redondos y sin pubescencias, con espinas curvadas. Sus hojas trifoliadas, con foliolos rómbicos y márgenes serruladas, ápices acuminados y base de la hoja obtusa. Tiene pétalos blancos y elípticos; los racimos presentaron de 6 a 10 polidrupas y cada polidrupa compuestos de 8 a 14 drupas.

***R. humistratus* Steud:** plantas de porte semierecta, tallo redondo y ausencia de pilosidad, con espinas en el tallo en forma de punzón. Hojas trifoliadas, con márgenes biserradas, foliolo rómbico, base obtusa y el ápice acuminado, las flores son blancas y lanceoladas. Los racimos presentan de 4 a 6 polidrupas y estas están compuestas de 10 a 20 drupas.

***R. palmeri* Rydb:** posee plantas robustas y rastreras, tallo angular con ausencia de pilosidad y espinas curvadas. Las primocañas y floricañas tienen una pigmentación de antocianinas. Las hojas pentafoliadas, presentaron foliolos rómbicos, base subcordada, con margen biserrada y ápice ovado. Sus pétalos son rosas y redondos; los racimos están compuestos de 50 a 100 polidrupas, y está su vez está formada de 9 a 14 drupas.

***R. pringlei* Rydb:** las plantas son semierectas a rastreras, tallos redondos y pilosidad abundante, los tallos de primocaña son de color gris y las espinas en forma de punzón. Sus hojas son trifoliadas, de color gris en el envés, con margen serrada y base subcordada, la forma del foliololo es ovado y el ápice redondo. Sus pétalos son blancos y elípticos. Los racimos están compuestos entre 8 a 10 polidrupas y las polidrupas están formados entre 30 a 50 drupas.

***R. sapidus* Schltl.:** arbustos de porte semierecto a rastrero, tallo angular, pilosidades cortos, y las espinas del tallo son curvadas. Sus hojas son trifoliadas con márgenes biserradas, folíolos rómbicos, base del folíolo obtuso y ápices acuminados. Las Flores son blancas y de forma lanceoladas. Los racimos formados de 4 a 6 polidrupas y cada polidrupa compuesta de 6 a 20 drupas.

Variedad Tupí: es una de las principales variedades utilizadas por los productores de zarzamora, se caracteriza por presentar porte semierecto, tallos acanalados y espinas rectas e inclinadas. Sus hojas son pentafoliadas y folíolos ovales con márgenes serrados. Presenta flores de color rosa y pétalos ovados. Sus frutos son grandes con drupas de 30 a 50 por polidrupas.

Variedad Kiowa: plantas de porte semierecto, tallos redondos, espinas en tallo rectas e inclinados; hojas trifoliadas y pentafoliadas, folíolos ovales con márgenes biserrados, base subcordada y ápice acuminado. Sus flores son de color blanco y redondo, con polidrupas formados entre 30 a 40 drupas.

Cruzas Tupí x *R. sapidus*: plantas de porte semi-rastreras, tallos redondos y espinas rectas e inclinadas; hojas trifoliadas, folíolos rómbicos, con márgenes de los folíolos serradas y ápices acuminados. Pétalos blancos y lanceolados, las polidrupas presentan entre 8 a 14 drupas.

Cruza Kiowa x *R. sapidus*: plantas de porte semi-rastreras, tallos redondos y con espinas rectas e inclinadas; hojas pentafoliadas y el margen de los folíolos biserradas y folíolos acuminados. Flores redondas y blancas.

La variación de los juegos cromosómicos en las especies de zarzamora se debe principalmente a la variación genética. Gianoli (2004) argumenta que la variación genética también se apoya en la “plasticidad fenotípica”, que se define cómo la capacidad de un organismo para producir fenotipos

diferentes como respuesta a cambios ambientales, aspecto que tiene que ver con la interacción genotipo por ambiente.

La caracterización morfológica ha permitido reconocer las principales características que distinguen a cada una de las especies silvestres y variedades. Moreno *et al.* (2011) mencionan que la colecta, caracterización y evaluación del germoplasma son tareas prioritarias para la conservación, el mejoramiento y la obtención de materiales sobresalientes con mejores características productivas.

En mejoramiento genético de frutales, generalmente se da importancia a aquellos atributos que aportan al rendimiento, calidad y tamaño de frutos. Por ello, es conveniente que los genotipos *R. palmeri*, *R. pringlei* y *R. sapidus*, junto con la variedad Tupí, se integren en programas de pre-mejoramiento, con el propósito de disminuir la vulnerabilidad genética de las especies a través de la utilización de especies silvestres (Lobo, 2006). Los resultados obtenidos en este trabajo proveen las bases científicas para el uso racional de las especies en el mejoramiento genético y generación de nuevas variedades.

4.6. CONCLUSIONES

Las especies de zarzamora presentaron variabilidad en el número de juegos cromosómicos: *Rubus adenotrichos* ($2n = 2x = 14$), *R. cymosus* ($2n = 5x = 35$), *R. humistratus* ($2n = 2x = 14$), *R. palmeri* ($2n = 4x = 28$), *R. pringlei* ($2n = 3x = 21$) y *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$); las variedades Tupí ($2n = 3x = 21$) y Kiowa ($2n = 4x = 28$), y las progenies de las cruzas Tupí x *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$) y Kiowa x *R. sapidus* ($2n = 4x = 28$).

Cada especie presentó características particulares que las caracteriza; sin embargo, no se determinó qué característica morfológicas se asocian o definen la poliploidía en las especies analizadas.

4.7. LITERATURA CITADA

- Acosta-Montaya O., F. Vaillant, S. Cozzano, C. Mertz, A. M. Pérez, M. y V. Castro (2010)** Phenolic content and antioxidant capacity of tropical Highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schlttdl) during three edible maturity stages. *Food Chemistry* 4:1497-1501.
- Bennett M. D., P. Bhandol y I. J. Leitch (2000)** Nuclear DNA Amounts in angiosperms and their modern uses 807 new estimates. *Annals of Botany* 86:859-909.
- Bennett M. D., and I. J. Leitch (2011)** Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. *Annals of Botany* 17:467-590.
- Delgado-Lina M., A. Uribe-Lastra y M. L. Marulanda-Ángel (2010)** Estandarización de la técnica citogenética “Squash” para conteo de cromosomas mitóticos en *Rubus glaucus* Benth. *Scientia et Technica* 46:74-79.
- Fawcett J. A., S. Maere and Y. Van de Peer (2009)** Plants with double genomes might have had a better chance to survive the Cretaceous-Tertiary extinction event. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America* 106:5737-5742.
- Galbraith D.V., K. R. Harkins, J. M. Mardox, N. M. Ayres, D. P. Sharma and E. Firoozabady (1983)** Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissue. *Science* 220:1049-1051.
- Gianoli, E. (2004)** Plasticidad Fenotípica Adaptativa en Plantas. *En: Fisiología Ecológica en Plantas: Mecanismos y Respuestas al Estrés en los Ecosistemas.* M. Cabrera. (ed). Departamento de Botánica. Universidad de Concepción, Chile. pp:13-25.

- Grandont L. E. Jeczewski and A. Lloyd (2013)** Meiosis and its deviations in polyploid plants. *Cytogenetic and Genome Research* 140:171-184.
- Heslop-Harrison J. S. (Pat) and T. Schwarzacher (2011)** Organization of the plant genome in chromosomes. *Plant Journal* 66:18-33.
- Jeczewski E. and K. Alix (2004)** From diploids to allopolyploids the emergence of efficient pairing control genes in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 23:21-45.
- Levin, D.A. (2002)** The Role of Chromosomal Change in Plant Evolution. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press. 231p.
- Lim K. Y.; I. J. Leitch and A. R. Leitch (1998)** Genomic characterisation and the detection of raspberry chromatin in poliploid *Rubus*. *Theoretical and Applied Genetics* 97:1027-1033.
- Lobo M. (2006).** Recursos genéticos y mejoramiento de frutales andinos: Una visión conceptual. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnologia Agropecuaria* 7:40-54.
- Martínez-Cruz, N. S., K. Arévalo-Niño, M. J. Verde-Star, C. Rivas-Morales, A. Oranday-Cárdenas, Ma. A. Núñez-González y Ma. E. Morales-Rubio (2011)** Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltldl (Zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 4:66-71.
- Masterson J. (1994)** Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264:421-423.
- Meng R. and C. E. Finn (1999)** Using Flow cytometry to determine ploidy level in *Rubus*. *Acta Horticulturae* 505:223-227.

- Meng R. and C. E. Finn (2002)** Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by cytometry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127:767-775.
- Mercier R., C. Mezard, E. Jenczewski, N. Macaisne and M. Grelon (2015)** The molecular biology of Meiosis in plants. *Annual Review Plant Biology* 66:297-327.
- Mertz C., V. Cheynier, Z. Gunata y P. Brat. (2007)** Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus* Schldtl) by High-Performance Liquid Chromatography with diode array detección and electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal Agriculture Food* 55:8616-8624.
- Moreno M., D. Villarreal, T. C. Lagos, H. Ordoñez y H. Criollo (2011)** Caracterización “*In-situ*” de genotipos silvestres y cultivados de mora *Rubus* spp en el municipio de pasto. *Revista de Ciencias Agrícolas* 2:109-128.
- Nathewet P., T. Yanagi, Y. Iwastubo, K. Sone, T. Takamura and N. Okuda (2009)** Improvement of staining method for observation of mitotic chromosomes in octoploid strawberry plants. *Scientia Horticulturae* 120:431-435.
- Otto P. Sarah and J. Whitton (2000)** Polyploid incidence and evolution. *Annual Reviews of Genetics* 34:401-437.
- Palomino J. M. y D. Allen (2005)** Citotipos en *Agave angustifolia* Haw Determinados por citometria de flujo y análisis en sus cariotipos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 1:49-54.
- Poehlman J. M. y D. Allen (2003)** Mejoramiento Genético de las Cosechas. O. M. Guzmán, C. M. A. Hernández y C. L. M. Serrano (Trad.). Editorial Limusa. México. 506 p.

- Proost S., P. Pattyn, T. Gerats and Y. Van Der Peer (2011)** Journey through the past: 150 million years of plant genome evolution. *Plant Journal* 66:58-65.
- Ramsey J. and D. W. Schemske (1998)** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:467-501.
- Ramsey J. and D. W. Schemske (2002)** Neopolyploidi in flowering plants plants. *Annual Reviews in Ecology and Sistematics* 33:589-639.
- Rieseberg L. H. and J. H. Willis (2007)** Plant speciation. *Science* 5840:910-914.
- Soltis D. E. and J. G. Burleigh (2009)** Surviving the K-T mass extinction: new perspectives of polyploidization in angiosperms. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:5456-5456.
- Thompson M. M. (1995)** Chromosome numbers of *Rubus* cultivars at the National Clonal Germplasm Repository. *HortiScience* 30:1453-1456.
- Thompson M. M. (1997)** Survey of chromosome number in *Rubus* (Rosaceae: *Rosoideae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84:129-165.
- Unión Internacional para la Protección de las obtenciones Vegetales (UPOV) (2006)** *Rubus* subgenus *Eubatus* sect. *Moriferi* & *Ursini* e híbridos (www.upov.int), consultada, octubre 2014.
- Zamorano M., A. C. Morillo C., Y. Morillo C., H. Vásquez A. and J. E. F. Muñoz (2007)** Caracterización morfológica de mora en los departamentos del Valle del Cauca, Cauca y Nariño, de Colombia. *Acta Agronómica* 56:51-60.

CAPITULO V: DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

5.1. DISCUSIÓN GENERAL

México es un país con diversidad vegetal; la diversidad se debe a las condiciones fisiográficas, geológicas y climáticas, que presentan una gama de variación y combinaciones, generando un mosaico de nichos ecológicos. Sin embargo, se pierden entre 600 y 700 mil hectáreas de vegetación al año. Por cada especie vegetal que se extingue, al final se pierden entre 10 y 15 de organismos vivos entre ellos insectos, animales u otras especies de plantas (Rzedowski, 1994). Entre éstas, se encuentran las plantas silvestres que forman parte de la biodiversidad del planeta, y están expuestas a diversos factores que pueden amenazar su supervivencia.

En el presente estudio se identificaron 36 especies de zarzamora silvestre en México, con base en las accesiones de GIBF y posteriormente verificadas en herbario, las zarzamoras son distribuidas principalmente en las zonas montañosas del Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur, donde Chiapas e Hidalgo presentaron la mayor diversidad de las especies, mientras que la mayor riqueza se encontró en los estados de Morelos y CDMX. Debido a la diversidad de especies encontradas en el Estado de Hidalgo y su ubicación geográfica en el país sería factible establecer un banco de germoplasma *in situ* con la finalidad de conservar las especies de zarzamora y aprovecharlas en diversos programas de mejoramiento genético.

La ubicación geográfica de las zonas de mayor riqueza y diversidad de especies de zarzamora coincide con las zonas adecuadas de desarrollo y establecimiento de las especies de zarzamora silvestre en el Eje Volcánico Transmexicano, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental. Por lo tanto, son regiones o áreas aptas para que productores pequeños o grandes establezcan cultivos de zarzamora.

En relación a los requerimientos climáticos, la temperatura mínima y la precipitación anual determinaron el desarrollo de las especies de zarzamora, y formaron ocho grupos de acuerdo a las necesidades de climáticas, es decir, las especies presentan diferentes requerimientos climáticos.

En la caracterización de la variabilidad morfológica inter e intraespecífica de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltldl se utilizaron 30 caracteres, divididos en variables nominales, ordinales y binarias que facilitaron el trabajo en campo y mostraron la mayor variabilidad entre y dentro de especies. De acuerdo con González-Andrés, (2001) los estudios de caracterización no deben basarse en un número reducido de caracteres, sino que debe analizarse un amplio rango de ellos. Los caracteres morfológicos que sobresalieron en la presente investigación fueron: porte de la planta desde rastreras a erectas, forma de la espina en tallo, densidad de tricomas en tallo, margen de la hoja, forma de la base de la hoja y número de drupas por polidrupa.

Las especies *R. adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb y *R. pringlei* Rydb presentaron variabilidad morfológica intraespecífica en los estados del país donde se hicieron colectas, principalmente en los caracteres porte de planta, pigmentación del tallo, forma del ápice del foliolo, forma de las espinas en tallo, número de drupas por polidrupa y número de polidrupas por racimo. Los caracteres estudiados, es decir, los descriptores establecidos para variedades cultivadas (UPOV, 2006), contienen variación y representan una base para futuros trabajos de caracterización en zarzamoros. Por lo tanto, el presente estudio incluye una fuente de información sobre el aprovechamiento, evolución y conservación de un recurso fitogenético. Las especies de zarzamora presentaron variabilidad y dicha variabilidad se distribuye a su dispersión en diferentes localidades debido a la acción del hombre y de la fauna silvestre, continuándose así un amplio programa de propagación y evolución natural.

Se observó cruzamientos entre especies y niveles de ploidía, por lo tanto, la variabilidad fenotípica complica la descripción de las especies. La caracterización de *Rubus pringlei* Rydb permitió clasificarlo como frambuesa, por las características que presentan al momento de la cosecha.

Las especies de zarzamora interactúan con individuos de la misma y otras especies y constantemente están sometidos a cambios ambientales, por lo que, mantienen características importantes para su adaptación y desarrollo. Por ejemplo, las especies *Rubus adenotrichos* Schltdl y *R. palmeri* Rydb presentaron crecimiento vigoroso y mayor número de polidrupas por racimo por lo que superan a las variedades comerciales en estas características fenotípicas. Al presentar crecimientos vigorosos presentan mayor capacidad de adaptarse a ciertas condiciones ambientales. Sin embargo, en esta investigación faltó incluir caracteres relacionados como: contenido de antocianinas, manejo mecánico del fruto en poscosecha, contenido de azúcares, acidez titulable, vida de anaquel, resistencia a enfermedades y plagas, entre otras.

Los estudios citológicos mostraron que las especies de zarzamora presentan variabilidad en relación a los juegos cromosómicos, es decir, *Rubus adenotrichos* Schltdl ($2n = 2x = 14$), *R. cymosus* Rydb ($2n = 5x = 35$), *R. humistratus* Steud ($2n = 2x = 14$), *R. palmeri* Rydb ($2n = 4x = 28$), *R. pringlei* Rydb ($2n = 3x = 21$) y *R. sapidus* Schltdl ($2n = 3x = 21$); las variedades Tupí ($2n = 3x = 21$) y Kiowa ($2n = 4x = 28$), y las progenies de las cruces Tupí x *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$) y Kiowa x *R. sapidus* ($2n = 4x = 28$). De acuerdo con Meng y Finn (2002), los genotipos que presentan diversos niveles de ploidía son los indicados para utilizarlos en la generación de variedades comerciales, es decir que estas especies son recursos fitogenéticos que permitirán establecer un programa de mejoramiento genético.

En la descripción de los caracteres morfológicos que determinen la poliploidía, no se encontraron características morfológicas que asocien o definan la poliploidía. Sin embargo, Levin (2002) y

Otto y Whitton (2000) consideran que las especies poliploides generalmente marcan diferencias en las características morfológicas, ecológicas, fisiológicas y citológicas con sus progenitores diploides, de tal manera contribuyen en el conocimiento de nuevos nichos ecológicos y reproductivos. Esto sugiere que la poliploidía es un mecanismo importante de adaptación y especiación en las plantas. Inclusive, las especies poliploides presentan tejido foliar robusto, tallos más gruesos y mayor número de estructuras reproductivas, y alargamiento de estructuras florales (Ramsey y Schemske, 2002). Esto es consecuencia del incremento en el contenido de ADN, tamaño y forma de las células, y número de genes, que a su vez afectan a los procesos bioquímicos, anatómicos, la morfología de la planta (Ramsey y Schemske, 2002).

Las especies silvestres son recursos fitogenéticos fuente de características de adaptación a determinadas condiciones ambientales, de resistencia a enfermedades y plagas, de calidad nutritiva y de componentes de rendimiento (Iriando, 2001). Por lo tanto, estas especies se deben proteger y hacer uso racional de las mismas. Con frecuencia las arvenses son consideradas como malezas, debido a que compiten con las cultivadas por agua, nutrimentos y luz. Algunas arvenses ocasionalmente se transforman en plantas cultivadas si se les considera útiles para el hombre (Plucknett *et al.*, 1992).

Para sobrevivir, las zarzamoras silvestres se enfrentan a dos problemas serios; por un lado se pierden debido a la deforestación, uso del suelo para las construcciones, calentamiento global, desertificación y contaminación, entre otros; y por el otro lado, son eliminadas directamente, debido a que se consideran malezas incómodas por la presencia de espinas, inclusive en aquellas de las que se aprovecha el fruto para consumo local.

Para lograr el aprovechamiento óptimo de las especies silvestres, se requiere de un estudio exhaustivo de la biodiversidad existente en las poblaciones naturales. Por ejemplo, las especies de

zarzamora silvestre requieren estudios de caracterización para obtener información acerca de su diversidad, de tal manera, se puedan conservarlas o aprovecharlas como recursos fitogenéticos.

5.2. CONCLUSIONES GENERALES

En México, existen 36 especies silvestres de zarzamora distribuidas principalmente las zonas montañosas del Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. Los Estados de Morelos y CDMX presentaron mayor riqueza, mientras que los Estados de Chiapas e Hidalgo presentaron la mayor diversidad. De acuerdo a las condiciones ambientales, el Eje Volcánico Transmexicano, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre Oriental fueron las zonas adecuadas para el desarrollo de las zarzamos silvestres, donde los elementos climáticos: temperatura mínima y precipitación anual determinaron la distribución, desarrollo y variación de las especies de zarzamora, definiendo ocho grupos de especies de acuerdo a sus requerimientos climáticos.

Las especies de *Rubus adenotrichos* Schltld, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydb y *R. sapidus* Schltld se distribuyeron principalmente en el Eje Volcánico Transmexicano y Sierra Madre del Sur. Entre los caracteres morfológicos, el porte de la planta, la forma de la espina en el tallo, la densidad de tricomas en tallo, el margen de la hoja, la forma de la base de la hoja y el número de drupas por polidrupa permitieron la diferenciación de las especies de zarzamora. Por otro lado, las especies *Rubus adenotrichos* Schltld, *R. cymosus* Rydb y *R. pringlei* Rydb mostraron variabilidad morfológica intraespecífica entre sitios de colecta, mientras que *R. pringlei* Rydb se consideró una frambuesa.

Las especies de zarzamora presentaron variabilidad en el número de juegos cromosómicos: *Rubus adenotrichos* Schltld ($2n = 2x = 14$), *R. cymosus* Rydb ($2n = 5x = 35$), *R. humistratus* Steud ($2n = 2x = 14$), *R. palmeri* Rydb ($2n = 4x = 28$), *R. pringlei* Rydb ($2n = 3x = 21$) y *R. sapidus* Schltld ($2n = 3x = 21$); las variedades Tupí ($2n = 3x = 21$) y Kiowa ($2n = 4x = 28$), y las progenies de las cruza Tupí x *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$) y Kiowa x *R. sapidus* ($2n = 4x = 28$). No se determinó qué características morfológicas asocian o definen la poliploidía en las especies de zarzamora.

5.3. LITERATURA CITADA

González-Andrés F. (2001) Caracterización morfológica: *In: conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos*. F. González-Andrés y J. Pita-Villamil (eds). Publicaciones Instituto Nacional de Educación Agrícola. Valladolid, España. pp:199-217.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) (2009) Los Cambios Climáticos en la Sanidad Forestal. Sanidad y Bioseguridad Forestal. Documento de trabajo FBS/34S. Roma Italia. 42 p.

IPCC (Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático) 2007. Summary for Policymakers. *In: Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change 2007*. Parry, M. L., Canziani O. F., Palutikof J. P., Vander-Linden, P. J. and Hanson, C. E. (eds). Cambridge University Press, Cambridge, RU. pp:7-22.

Irion A., J. M. (2001) Conservación de recursos fitogenéticos. *In: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos*. González-Andrés F, Pita Villamil J M (eds). Publicaciones I.N.E.A. Mundi-Prensa. Valladolid, España. Pp:15-31.

Levin, D.A. (2002) The Role of Chromosomal Change in Plant Evolution. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press. 231p.

Meng R. and C. E. Finn (2002) Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by cytometry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127:767-775.

Otto P. Sarah and J. Whitton (2000) Polyploid incidence and evolution. *Annual Reviews of Genetics* 34:401-437.

Plucknett, L., J. T. Williams, N. J. H. Smith, N. M. Anishetty (1992) Los bancos genéticos y la alimentación mundial. Instituto Internacional de Agricultura Tropical. San José. Costa Rica. 255p.

Ramsey J. and D. W. Schemske (2002) Neopolyploidi in flowering plants plants. *Annual Reviews in Ecology and Systematics* 33:589-639.

Rzedowski, J. (1994). Vegetación de México. Editorial LIMUSA. México. 432 p.

Unión Internacional para la Protección de las obtenciones Vegetales (UPOV) (2006) *Rubus* subgenus *Eubatus* sect. *Moriferi* & *Ursini* e híbridos (www.upov.int), consultada, octubre 2014.

6. ANEXOS

NOMBRE		UNIDAD	CALIFICACION		
			N		
PLANTA	Porte (PP)	Erecto	1		
		Recto a semierecto	2		
		Semierecto	3		
		Semierecto a rastrero	4		
		Rastrero	5		
	Longitud de ramas nuevas (TLR)	Corto	1		
		Mediano	2		
		Largo	3		
	Número de ramas nuevas (TRN)	Muy bajo	1		
		Bajo	2		
		Medio	3		
		Alto	4		
TALLO	Longitud de tallo principal (TLP)	Muy pequeño	1		
		Pequeño	2		
		Medio	3		
		Grande	4		
		Muy grande	5		
	Diámetro del tallo principal (TDP)	Muy pequeño	1		
		Pequeño	2		

	Medio	3		
	Grande	4		
	Muy grande	5		
Pigmentación de antocianina del tallo principal (TPP)	Ausente o muy débil	1		
	Débil	2		
	Media	3		
	Fuerte	4		
Distribución de ramas en tallo principal (TDR)	En el tercio superior	1		
	En la primera mitad	2		
	En todo el tallo	3		
Cerosidad en tallo (TCP)	Presente	1		
	Ausente	2		
Número de espinas en tallo principal (TPE)	Ausentes	1		
	Bajo	2		
	Medio	3		
	Alto	4		
	Muy alto	5		
Densidad de tricomas en tallo (TPD)	Ausente	1		
	Cortos	2		
	Medianos	3		
	Largos	4		
Forma del tallo (TFT)	Redondo	1		
	Angular	2		

		Acanalado	3		
	Forma de la espina en tallo (TFE)	Recto o inclinado	1		
		Curveado	2		
		Punzón	3		
HOJAS	Número de foliolos (HNF)	Trifoliada	1		
		Pentafoliada	2		
	Forma del foliolo HFF)	Ovada	1		
		Elíptico	2		
		Rómbico	3		
	Longitud de la quinta hoja (HLQ)	Corto	1		
		Mediana	2		
		Larga	3		
	Ancho de la hoja (HA)	Estrecha	1		
		Mediana	2		
		Ancha	3		
	Forma de la hoja (HF)	Palmeada	1		
		Trifoliada	2		
		Palmeada y trifoliada	3		
	Forma del ápice de la hoja (HFA)	Acuminado	1		
		Agudo	2		
		Redondeado	3		
			Obtusa	1	

	Forma de la base de la hoja (HFB)	Subcordada	2			
		Subtruncada	3			
	Espinas en la hoja (HE)	Ausente	1			
		Bajo	2			
		Medio	3			
		Alto	4			
	Color del envés de la hoja (HCE)	Gris	1			
		Verde claro	2			
		Verde oscuro	3			
	Margen de la hoja (HM)	Serrada	1			
		Biserrada	2			
		Serrulada	3			
	FLOR	Diámetro del pétalo (FDP)	Muy pequeño	1		
			Pequeño	2		
			Medio	3		
Grande			4			
Muy grande			5			
Color de pétalos (FCP)		Sin pétalos	1			
		blanco	2			
		Blanco con trazas rosa	3			
		Violetas	4			
		Rosáceo	5			
Forma del pétalo (FFP)		Elíptico	1			

		Redondeado	2		
		Lanceolado	3		
FRUTO	Fructificación lateral (DFL)	Corto	1		
		Medio	2		
		Largo	3		
		Muy largo	4		
	Longitud del polidrupa (DLP)	Corto	1		
		Medio	2		
		Largo	3		
		Muy largo	4		
	Ancho del polidrupa (DAP)	Estrecho	1		
		Medio	2		
		Ancho	3		
		Muy ancho	4		
	Número de drupelas por polidrupas (DND)	Poco	1		
		Medio	2		
		Alto	3		
		Muy alto	4		
Tamaño de drupelas por polidrupa (DTP)	Muy pequeño	1			
	Pequeño	2			
	Mediano	3			
	Grande	4			