

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA
MORA CULTIVADA (*Rubus glaucus* BENTH) Y ESPECIES
EMPARENTADAS EN ZONAS PRODUCTIVAS DEL
ECUADOR MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES
RAPDs, ISSRs Y AFLPs**

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DE GRADO ACADÉMICO O TÍTULO
DE: INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

.....

ELABORADO POR:

PATRICIA DE LOS ÁNGELES GARRIDO HARO

SANGOLQUÍ, 30 de abril de 2009

RESUMEN

Rubus glaucus comúnmente conocida como mora de castilla es un frutal nativo de los Andes con gran potencial agronómico, se cultiva en forma comercial en muchos países a lo largo de todo el continente y ha sido objeto de un creciente interés por parte de la industria alimentaria. A pesar de la importancia local y regional de la mora de castilla, estudios relacionados al conocimiento de la base genética del cultivo en el Ecuador no se han realizado. Este estudio analizó la diversidad genética de 108 accesiones de mora cultivada y especies emparentadas, provenientes de las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar y Loja, incluyendo muestras de accesiones colombianas conservadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Se utilizaron 107 primers RAPDs y 72 primers ISSRs para realizar un sondeo de la diversidad e identificar marcadores útiles para la revelación de polimorfismo genético. Sin embargo los resultados obtenidos con estos marcadores sugieren una reducida base genética de *R. glaucus*, identificándose solamente un primer ISSR polimórfico.

El empleo posterior de marcadores AFLPs mediante el método M13-tailing en un secuenciador LI-COR 4300S, permitió caracterizar de manera más fina la diversidad de *R. glaucus*. Inicialmente se probaron 32 combinaciones AFLPs de las cuales se seleccionaron cinco combinaciones polimórficas. Del total de muestras analizadas, (21 de mora de castilla, 1 variedad brazos, 1 variedad Olallie y 6 especies silvestres emparentadas), los AFLPs corroboran la reducida base genética de *R. glaucus*, detectándose sin embargo la existencia de una estructura genética entre el material cultivado con la conformación robusta de dos grupos de accesiones, uno de los cuales conformado únicamente por materiales ecuatorianos, mientras que el segundo incluye a tres accesiones colombianas y a las variedades sin espinas recientemente promocionadas. Los análisis estadísticos realizados (bootstrap, PCO y AMOVA) corroboran la robustez de esta diferenciación genética. Este resultado es importante en materia de mejoramiento genético de la mora. A corto plazo será importante disponer de la información morfo agronómica de los materiales y de realizar análisis moleculares complementarios que permitan determinar el origen de esta divergencia genética.

Palabras claves: *Rubus glaucus*, AFLPs, ISSR, RAPDs, Ecuador, mora de castilla

ABSTRACT

Rubus glaucus commonly known as castilla's blackberry is an Andean native fruit with great economical potential, it is commercially cultivated in many countries throughout the continent and has become the object of growing interest by the food industry. Despite the local and regional importance of blackberry (*Rubus glaucus*) research about the genetic base of this crop in Ecuador have not yet been performed. In this study the genetic diversity of 108 samples of cultivated blackberry and related species from the provinces of Cotopaxi, Tungurahua, Bolivar and Loja, and Colombian samples (conserved by the INIAP) was assessed. One hundred and seven RAPDs primers and 78 ISSRs primers were used to make a poll of the diversity and identify the markers that could be useful for revealing the genetic polymorphisms. The results obtained with these markers suggest a reduced genetic base of *R. glaucus*, only one ISSR polymorphic primer was found.

The further use of AFLPs markers with the M13-tailing method in a LI-COR 4300S sequencer allowed a refined characterization of *R. glaucus*. From 32 AFLPs combinations tested, five polymorphic combinations were selected. From all plants analyzed (21 *R. glaucus* 1 "brazos" variety, 1 "Ollalie" variety and 6 wild related species), AFLPs corroborate the reduced genetic base of *R. glaucus*, although the existence of a genetic structure within the cultivated material rendering a robust conformation of two groups of samples was detected; the first formed only by Ecuadorian materials while the second includes three Colombian samples and the recently promoted thorn less varieties. Statistical analysis (bootstrap, PCO and AMOVA) confirmed the robustness of this genetic differentiation. The results are relevant for genetic improvement of blackberry. It is of short term importance to have morpho-agronomic information of the materials and to perform complementary molecular analyses that allow determining the origin of this genetic divergence.

Key words: *Rubus glaucus*, AFLPs, ISSR, RAPDs, Ecuador