



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y CARIOTÍPICA
DE CRUZAS INTERESPECÍFICAS DE *Rubus* spp.

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

CHRISTIAN CAMILO CASTAÑEDA CARDONA

Bajo la supervisión de

Dra. MARGARITA GISELA PEÑA ORTEGA



Chapingo, Estado México, diciembre de 2025

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y CARIOTÍPICA DE CRUZAS INTERESPECÍFICAS DE *RUBUS* SPP.

Tesis realizada por **Christian Camilo Castañeda Cardona**, bajo la supervisión del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

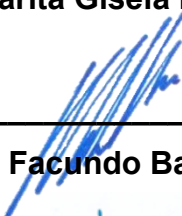
DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTORA:



Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

ASESOR:



Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego

ASESORA:



Dra. Yacenia Morillo Coronado

LECTORA EXTERNA:



Dra. Ana Cruz Morillo Coronado

TABLA DE CONTENIDO

lista de cuadros.....	vi
lista de TABLAS.....	vii
lista de figuras.....	viii
DEDICATORIA	x
AGRADECIMIENTOS.....	xi
DATOS BIOGRÁFICOS.....	xii
Resumen general.....	xiii
General abstract	xiv
Capítulo 1 Introducción general	15
1.1 Objetivo General.....	17
1.2 Objetivos específicos.....	18
1.3 Literatura citada.....	19
Capítulo 2 Revisión de literatura	22
2.1 Importancia económica del género <i>Rubus</i>	22
2.2 Potencial nutracéutico	24
2.2.1 Compuestos volátiles	25
2.2.2 Polifenoles	25
2.2.3 Flavonoides.....	26
2.2.4 Antocianinas	26
2.3 Mejoramiento genético en el género <i>Rubus</i>	27
2.3.1 Progenitores en el mejoramiento genético de <i>Rubus</i> : <i>R. glaucus</i> , 'Tupy' y <i>R. niveus</i>	29
2.4 Citogenética de <i>Rubus</i>	31
2.5 Marcadores moleculares	32
2.6 Literatura citada.....	33
Capítulo 3 Potencial nutracéutico de frutos de especies silvestres de zarzamora y frambuesa	39
Capítulo 4 Diversidad genética de cruas interespecíficas de <i>Rubus</i> spp. con marcadores moleculares microsatélites ⁴	49

4.1	Introducción	50
4.2	Materiales y métodos.....	53
4.2.1	Material vegetal.....	53
4.2.2	Extracción de ADN y amplificación de marcadores ISSR y SSR	54
4.2.3	Análisis estadístico.....	56
4.3	Resultados y discusión	56
4.4	Conclusiones	66
4.5	Literatura citada	67
Capítulo 5	Variabilidad fenotípica de la progenie de cruzas interespecíficas de <i>Rubus</i> spp. ⁵	72
5.1	Introducción	73
5.2	Materiales y métodos.....	77
5.2.1	Área de estudio.....	77
5.2.2	Material vegetal.....	77
5.2.3	Caracterización morfológica.....	77
5.2.4	Análisis estadístico.....	79
5.3	Resultados y discusión	80
5.3.1	Caracterización morfológica de los genotipos de <i>Rubus</i> usando descriptores cuantitativos	80
5.3.2	Análisis de componentes principales para los descriptores cuantitativos evaluados en genotipos de <i>Rubus</i>	83
5.3.3	Análisis de correlación para los descriptores cuantitativos evaluados en los genotipos de <i>Rubus</i>	86
5.3.4	Análisis de conglomerados para los descriptores cuantitativos evaluados en genotipos de <i>Rubus</i>	88
5.3.5	Caracterización morfológica de genotipos de <i>Rubus</i> mediante descriptores cualitativos	89
5.4	Conclusiones	92
5.5	Literatura citada.....	92
Capítulo 6	Viabilidad y germinación de polen en híbridos de cruzas interespecíficas de <i>Rubus</i> spp.	98

6.1.	INTRODUCTION	100
6.2.	MATERIALS AND METHODS	102
6.2.1.	Plant material.....	102
6.2.2.	Pollen viability and germination	102
6.2.3.	Diameter of pollen grains.....	103
6.2.4.	Statistical analysis	103
6.3.	RESULTS AND DISCUSSION	103
6.4.	CONCLUSIONS	108
6.5.	Literature Cited	108

LISTA DE CUADROS

Capítulo 3 Potencial nutraceutico de frutos de especies silvestres de zarzamora y frambuesa

Cuadro 1. Contenido de fenoles, flavonoides, antocianinas totales y capacidad antioxidante (CA) por poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) y 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS) en frutos de especies del género *Rubus*.....47

Capítulo 4 Diversidad genética de cruas interespecificas de rubus spp. Con marcadores moleculares

Cuadro 1. Progenitores y progenie de *Rubus* spp. usados en la caracterización molecular.....53

Cuadro 2. Listado de marcadores ISSR para caracterización molecular de *Rubus* spp.....55

Cuadro 3. Listado de marcadores SSR usados para la caracterización molecular de *Rubus* spp.....55

Cuadro 4. Número de bandas, número y porcentaje de loci polimórficos, heterocigosidad estimada (H_e), coeficiente de diferenciación genética (F_{st}) de 15 iniciadores ISSR evaluados (SD de 0.095).....57

Cuadro 5. Análisis de varianza (AMOVA) entre y dentro de los grupos utilizando 15 marcadores.....64

Cuadro 6. Número de cromosomas de progenitores y la progenie de las cruas controladas de *R. glaucus* x *R. niveus* y *R. glaucus* x 'Tupy'.....65

LISTA DE TABLAS

Capítulo 6 Viabilidad y germinación de polen en híbridos de cruas interespecíficas de *Rubus spp.*

Table 1. Result of *t* test for equality of means ($\pm$ standard deviation) in pollen viability (%) among evaluated *Rubus* progeny or parent.....105

Table 2. Result of *t* test for equality of means in pollen germination (%) among *Rubus* progeny or parent.....107

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 4 Diversidad genética de cruza interespecíficas de *Rubus* spp. Con marcadores moleculares

Figura 1. Dendrograma de la estructura genética de 37 individuos de *Rubus* spp basado en el coeficiente de Nei–Li y calculado de los datos combinados de 15 marcadores ISSR.....61

Figura 2. Dendrograma obtenido con el método UPGMA usando el programa TFPGA para los tres grupos evaluados. Grupo 1) progenitores. Grupo 2) plantas procedentes de la cruza *R. glaucus* x *R. niveus* Grupo 3) Plantas procedentes de la cruza *R. glaucus* x ‘Tupy’.....62

Figura 3. Conteo cromosómico de ‘Tupy’ $2n = 4X = 28$65

Capítulo 5 Variabilidad fenotípica de la progenie de cruza interespecíficas de *Rubus* spp.

Figura 1. Medidas de correlaciones para variables cuantitativas en materiales de progenitores y progenie de *R. glaucus* x *R. niveus*.....84

Figura 2. Medidas de correlaciones para variables cuantitativas en materiales de progenitores y progenie de *R. glaucus* x ‘Tupy’.....85

Figura 3. a) Análisis de correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) entre las variables cuantitativas para la cruza de *R. glaucus* x *R. niveus*. **b)** Análisis de correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) entre las variables cuantitativas para la cruza de *R. glaucus* x ‘Tupy’.....87

Figura 4. Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cuantitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruza *R. glaucus* x *R. niveus* (27 y 28, respectivamente).....88

Figura 5. Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cuantitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruza *R. glaucus* x 'Tupy' (27 y 28 respectivamente).....89

Figura 6. (a) Análisis de correspondencias múltiples que muestra la contribución de las variables, ordenando las accesiones según las variables cualitativas para la cruza *R. glaucus* x *R. niveus*. **(b)** Análisis de correspondencias múltiples que muestra la contribución de las variables, ordenando las accesiones según las variables cualitativas para la cruza *R. glaucus* x 'Tupy'.....90

Figura 7. (a) Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cualitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruza *R. glaucus* x *R. niveus* (27 y 28 respectivamente). **(b)** Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cualitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruza *R. glaucus* x 'Tupy' (27 y 28 respectivamente).....91

Capítulo 6 Viabilidad y germinación de polen en híbridos de cruzas interespecíficas de *Rubus spp.*

Figure 1. Pollen of *Rubus glaucus*. A. Viable pollen. B. Non-viable pollen.....103

Figure. 2. Pollen diameter of parents (*Rubus glaucus*, *R. niveus* and 'Tupy') and progeny (G x T: *R. glaucus* x 'Tupy'; G x N: *R. glaucus* x *R. niveus*). Equal letters are not statistically different ($P < 0.05$, Tukey). Mean $\pm$ standard deviation. Least significant honest difference (LSDH)= 1.....108

DEDICATORIA

Este proceso académico que en este documento termina, lo dedico a las personas que siempre estuvieron a mi lado contribuyendo en cada momento compartido, en cada paso dado, en cada tropiezo, en el trasegar de la vida. Personas que están aún conmigo y aquellas que están en otro plano enviando su energía. Desde aquí quiero decirte Fanny Mendoza de Castañeda que he cumplido con la promesa de ser doctor a pesar de que ya no estés aquí de forma física, pero si en mis más preciados recuerdos que guardo con nostalgia y a la vez con mucha alegría y mucha paz. Al Dr. Juan Martínez Solís por sus enseñanzas, su calidez humana y su gran corazón (QEPD).

También a mis padres Jaime Castañeda Mendoza y Nancy Cardona Holguín y a mi hermano por la paciencia y apoyo en todo momento. Demás familiares que de una u otra manera estuvieron al tanto de cada etapa.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (**SECIHTI**), por el apoyo brindado durante mis estudios de doctorado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y el Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia, por darme la oportunidad de formar parte de tan prestigioso programa de posgrado, por la disponibilidad de sus instalaciones del campo agrícola experimental y del laboratorio de Productos Naturales de la Preparatoria Agrícola para el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Juan Martínez Solís por el acompañamiento desde la maestría y hasta el último momento que Dios dispuso para tener la fortuna de conocer y compartir con tan excelente ser humano.

Al Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego por su liderazgo, disponibilidad y orientación en cada paso de la investigación.

A la Dra. Margarita Gisela Peña Ortega por ser mi directora aportando desde su experiencia y contribuyendo en sus enseñanzas, observaciones y recomendaciones que aportaron en mejorar esta investigación.

A las Dras. Yacenia Morillo Coronado y Ana Cruz Morillo Coronado por ser mis mentoras desde el pregrado y hasta la fecha, siempre aprendiendo de ellas.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez por su apoyo incondicional en el desarrollo del primer producto académico publicado y la excelente persona que es.

A mis amigos y compañeros principalmente a Nancy, Abigail, Jhusua, Francis, Elín, Gabriel y Diana por conformar más allá que una simple amistad, una familia que siempre me hizo sentir acompañado y apoyado en todo el tiempo.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombres y apellidos:	Christian Camilo Castañeda Cardona
Fecha de nacimiento:	23 de agosto de 1988
Lugar de nacimiento:	Villavicencio-Meta / Colombia
CURP:	CACC880823HNESR02
Profesión:	Ingeniero Agrónomo

Desarrollo académico

Bachillerato:	Escuela Normal Superior de Villavicencio
Licenciatura:	Ingeniero agrónomo Universidad de los Llanos-Colombia
Posgrado 2020-2021:	Maestría en Ciencias en Horticultura
2022-2025	Doctorado en Ciencias en Horticultura Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y CARIOTÍPICA DE CRUZAS INTERESPECÍFICAS DE *Rubus* spp¹

Las frutillas del género *Rubus* se distinguen por su alto contenido de compuestos fenólicos, su potencial nutraceutico y su amplia diversidad genética, para especies cultivadas como silvestres. El objetivo de este estudio fue evaluar las características morfológicas, citogenéticas, moleculares, de viabilidad del polen y la calidad del fruto en progenitores y progenies de cruzamientos interespecíficos de *Rubus* spp, con el propósito de comprender los patrones de variabilidad y la transmisión de caracteres en la F₁. Se analizaron genotipos silvestres y cultivares de zarzamoras y frambuesas para identificar materiales con elevada capacidad antioxidante y atributos agronómicos de interés para programas de mejoramiento. Los análisis químicos mostraron concentraciones de fenoles totales entre 9.67 ± 0.47 y 17.81 ± 0.54 mg g⁻¹ EAG, flavonoides entre 2.28 ± 0.20 y 10.27 ± 0.58 mg g⁻¹ EC, y antocianinas entre 0.88 ± 0.05 y 19.19 ± 0.65 mg g⁻¹ EC3G. Los genotipos silvestres Hidalgo 2.3 y Chiapas 1 presentaron la mayor capacidad antioxidante (hasta 1357.29 ± 20.76 μmol g⁻¹ ET), lo que los posiciona como potenciales progenitores para tolerancia a condiciones adversas. El análisis genético mediante marcadores ISSR y SSR en 37 individuos reveló diversidad moderada (He = 0.223) y alta diferenciación entre grupos (Fst = 0.261), junto con niveles de ploidía variables (diploides a tetraploides). Morfológicamente, los descriptores vegetativos y reproductivos diferenciaron progenitores e híbridos, siendo las espinas, el número de tallos y la pubescencia los caracteres que más contribuyeron a la variabilidad (22–26%). La evaluación de la viabilidad y germinación del polen de *R. glaucus*, *R. niveus* y la variedad 'Tupy' mostró variación entre progenitores y evidencias de androesterilidad parcial en la F₁, lo que podría limitar su fertilidad. En conjunto, los resultados confirman una amplia variabilidad morfológica, citogenética y bioquímica en *Rubus*, que permiten desarrollar cultivares más adaptables y con propiedades nutraceuticas mejoradas.

¹ Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Christian Camilo Castañeda Cardona
Director de Tesis: Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

GENERAL ABSTRACT

MORPHOLOGICAL, MOLECULAR, AND KARYOTYPIC CHARACTERIZATION OF INTERSPECIFIC CROSSES OF *Rubus* spp²

Berry species within the *Rubus* genus are distinguished by their high phenolic content, nutraceutical potential, and broad genetic diversity in both cultivated and wild forms. The objective of this study was to evaluate the morphological, cytogenetic, molecular, pollen viability, and fruit quality characteristics of parental lines and progenies derived from interspecific crosses of *Rubus* spp., in order to understand variability patterns and the transmission of traits in the F₁ generation. Wild genotypes and cultivated blackberry and raspberry varieties were analyzed to identify materials with high antioxidant capacity and agronomic attributes of interest for breeding programs. Chemical analyses showed total phenolic concentrations ranging from 9.67 ± 0.47 to 17.81 ± 0.54 mg g⁻¹ GAE, flavonoids from 2.28 ± 0.20 to 10.27 ± 0.58 mg g⁻¹ CE, and anthocyanins from 0.88 ± 0.05 to 19.19 ± 0.65 mg g⁻¹ C3GE. The wild genotypes Hidalgo 2.3 and Chiapas 1 exhibited the highest antioxidant capacity (up to 1357.29 ± 20.76 μmol g⁻¹ TE), positioning them as potential progenitors for tolerance to adverse conditions. Genetic analysis using ISSR and SSR markers in 37 individuals revealed moderate diversity ($H_e = 0.223$) and high differentiation among groups ($F_{st} = 0.261$), along with variable ploidy levels (diploid to tetraploid). Morphologically, vegetative and reproductive descriptors differentiated parental lines and hybrids, with spines, stem number, and pubescence contributing most to variability (22–26%). Assessment of pollen viability and germination in *R. glaucus*, *R. niveus*, and the cultivar ‘Tupy’ indicated variation among progenitors and evidence of partial androsterility in the F₁, which may limit fertility. Overall, the results confirm broad morphological, cytogenetic, and biochemical variability in *Rubus*, enabling the development of cultivars with improved adaptability and enhanced nutraceutical properties.

² Thesis of Doctor of Horticultural Science, Universidad Autónoma Chapingo
Author: Christian Camilo Castañeda Cardona
Advisor: Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Uno de los grupos más diversos dentro del reino lo constituye el género *Rubus*, con una estimación de entre 750 y 800 especies entre moras y frambuesas distribuidas en todo el mundo (Moreno-Medina et al., 2018). Dentro de este género se encuentran plantas de gran relevancia económica y cultural como las frambuesas y zarzamoras, caracterizadas por tener frutos con estructura en polidrupas, es decir, agregados de pequeñas drupeolas carnosas, cada una con su semilla (Romoleroux, 1996). Estas drupeolas presentan variaciones en textura, color y sabor a lo largo de su maduración, pasando del verde en estados inmaduros a tonalidades rojizas en las frambuesas y a un morado intenso y brillante en las zarzamoras (Hummer et al., 2017).

El género *Rubus* pertenece a la familia Rosaceae y comprende un amplio número de especies de frutillas de alto valor nutricional y funcional. El éxito de la producción de frambuesas y zarzamoras a nivel mundial no solo se debe a su atractivo sensorial, sino también a los beneficios que aportan a la salud, su creciente popularidad en los mercados internacionales, el control de la oferta, la expansión comercial y su alta rentabilidad (González et al., 2019). Estas características han impulsado su incorporación en programas de mejoramiento genético orientados a la obtención de cultivares con mayor calidad, adaptabilidad y resistencia.

En términos de distribución, las especies del género *Rubus* crecen principalmente en zonas templadas y frías de América, Europa, el norte de África y el noroeste de Asia, siendo China el país con la mayor diversidad (Graham et al., 2011). En México, se han identificado 42 especies de *Rubus* (Rodríguez-Bautista et al., 2021), de las cuales aproximadamente 15 son silvestres y se distribuyen en diversas regiones del país (Segura et al., 2009).

En el estado de Michoacán, particularmente en la meseta purépecha, existen poblaciones nativas de zarzamoras y frambuesas que poseen tanto valor económico como cultural, ya que sus frutos forman parte de la gastronomía tradicional (Rubio et al., 2019). Sin embargo, esta riqueza genética ha sido escasamente explorada, representando un recurso estratégico para el desarrollo de nuevos cultivares con atributos diferenciados.

La importancia económica del género es notable. En 2022, México se consolidó como el principal productor mundial de zarzamora, con 222,608 toneladas, lo que representó un incremento del 5.3 % respecto al año anterior, en una superficie cultivada de 10,208 hectáreas (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2024). Este liderazgo ha fomentado la búsqueda y el desarrollo de variedades mejoradas, como 'Tupy' y 'Brazos', que responden a las demandas del mercado y las exigencias de los productores.

Más allá de su relevancia económica y cultural, las especies de *Rubus* destacan por sus propiedades nutricionales y medicinales. En la herbolaria tradicional, diversas especies se emplean para tratar afecciones digestivas, respiratorias y metabólicas (Hummer et al., 2017). Desde el punto de vista científico, se ha comprobado la presencia de metabolitos secundarios con alta actividad biológica, entre ellos antocianinas (cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-rutinósido), flavonoides (quercetina, kaempferol y epicatequina), ácidos orgánicos (elágico y gálico) y taninos hidrolizables (elagitaninos) (Bhatt et al., 2023; Schulz & Chim, 2019). La concentración y el perfil de estos compuestos varían según la especie, el cultivar, el grado de maduración y las condiciones edafoclimáticas (Taiz & Zeiger, 2009; Lee et al., 2012), lo que abre oportunidades para el mejoramiento nutracéutico de los frutos.

Otro aspecto de relevancia es la extraordinaria capacidad de adaptación de muchas especies de *Rubus*. Esta característica ha facilitado su domesticación y cultivo en diversos ambientes, aunque también ha llevado a que algunas especies sean catalogadas como invasoras, representando un riesgo para las poblaciones silvestres (Graham et al., 2011). Los efectos del cambio climático

podrían acentuar esta problemática, reduciendo la disponibilidad de recursos genéticos. En este contexto, las especies silvestres de *Rubus* constituyen un reservorio genético de valor estratégico, pues albergan genes de resiliencia que pueden incorporarse en programas de mejoramiento (Graham et al., 2011).

La base genética y citogenética del género *Rubus* explica gran parte de su plasticidad. Su número cromosómico básico es $x = 7$, y se han documentado citotipos que van desde diploides ($2x$) hasta dodecaploides ($12x$), e incluso formas $14x$ y $18x$, además de aneuploides e impariploides (Thompson, 1995). En general, las frambuesas son diploides, mientras que las zarzamoras presentan una amplitud que abarca desde diploides hasta dodecaploides (Foster et al., 2019). Esta variabilidad citogenética confiere al género una elevada heterocigosidad y plasticidad fenotípica, favoreciendo su domesticación y diversificación. Los conteos cromosómicos realizados en 387 especies, equivalentes al 40 % de las conocidas, confirman la magnitud de esta variabilidad (Thompson, 1997).

Entre las especies de mayor interés destacan *Rubus glaucus*, originaria de las zonas altas tropicales de América, desde Ecuador hasta México (Giraldo & Franco, 1998), y *Rubus niveus*, considerada invasora por su biología reproductiva, corto ciclo de vida, hábito de crecimiento agresivo y alta capacidad de dispersión (Soria, 2001). Asimismo, cultivares como 'Tupy', obtenidos del cruzamiento entre la variedad 'Comanche' y una selección uruguaya, evidencian el potencial de la hibridación dirigida para generar materiales con alto rendimiento, calidad de fruto y adaptabilidad (Castañeda et al., 2024).

1.1 Objetivo General

Evaluar las características morfológicas, citogenéticas, moleculares y de calidad de fruto en los progenitores y en los genotipos provenientes de cruzamientos interespecíficos del género *Rubus* spp., con el fin de comprender los patrones de variabilidad y la transmisión de caracteres en la progenie F1.

1.2 Objetivos específicos

- Identificar características genéticas (morfológicas y moleculares) heredadas por la filial 1.
- Caracterizar fitoquímicamente los frutos de los progenitores y de la F1.
- Evaluar el tipo de herencia de los caracteres transmitidos.
- Evaluar los granos de polen de la F1 para determinar su viabilidad y porcentaje de germinación.

Teniendo en cuenta lo anterior, la presente investigación se enfocó en evaluar las características morfológicas, citogenéticas, moleculares y de calidad de fruto de progenitores y genotipos resultantes de cruas interespecíficas del género *Rubus* spp. Para ello, los objetivos de la tesis se organizaron en los siguientes capítulos:

Capítulo 1: En este apartado va una introducción general.

Capítulo 2: Revisión de literatura del género *Rubus* destacando su importancia económica, potencial nutracéutico, características morfológicas, moleculares y

Capítulo 3: Caracterizar fitoquímicamente los frutos de los progenitores *R. glaucus*, *R. niveus* y variedad 'Tupy' y de especies silvestres de la colección presente en el campo Agrícola Experimental de Fitotecnia. En este apartado, los frutos de los progenitores mostraron características fitoquímicas donde sobresalen los contenidos polifenólicos y antociánicos característicos de las frutillas, así como el destacado contenido nutracéutico de especies silvestres de *Rubus* spp.

Capítulo 4: Identificar características genéticas moleculares heredadas por la generación filial 1. La presencia y variabilidad de bandas a nivel del ADN con marcadores ISSR y SSR demuestran el origen híbrido de la F1 obtenida de las cruas controladas, así como la variabilidad en el número de cromosomas de la progenie.

Capítulo 5: Evaluar el tipo de herencia de los caracteres morfológicos transmitidos. En este capítulo se identificaron los caracteres morfológicos heredados por la progenie de ambas cruas entre *Rubus glaucus* x *Rubus niveus* y *R. glaucus* x variedad Tupy, donde hubo características heredadas del

progenitor masculino y otras fueron intermedias a ambos progenitores; destacándose la presencia o ausencia de espinas en tallos vegetativos y reproductivos.

Capítulo 6: Evaluar los granos de polen de la F1 para determinar su viabilidad y porcentaje de germinación. En este capítulo se compara los porcentajes de viabilidad y germinación de polen de los progenitores y la progenie, por lo que esta última muestra una escasa o nula viabilidad y germinación en ambas poblaciones de híbridos por lo que se concluye la existencia de androesterilidad.

1.3 Literatura citada

- Bhatt S. C., Naik, B., Kumar, V., Gupta, A. K., Kumar, S., Singh, M., & Rustagi, S. (2023). Untapped potential of non-conventional *Rubus* species: bioactivity, nutrition, and livelihood opportunities. *Plant Methods* 19(1) 114. <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01094-y>
- Castañeda-Cardona, C. C., Guerra-Ramírez, D., Martínez-Solís, J., Barrientos-Priego, A. F., Peña-Ortega, M. G., & Morillo-Coronado, Y. (2024). Potencial nutracéutico de frutos de especies silvestres de zarzamora y frambuesa. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 47(1), 11-17. <https://doi.org/10.35196/rfm.2024.1.11>
- Foster T. M., Bassil, N. V. Dossett, M. M., Worthington. L., & Graham, J. (2019). Genetic and genomic resources for *Rubus* breeding: a roadmap for the future. *Horticulture Research* 6, Article 116, <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0199-2>
- Giraldo-Cardona, M. J., & Franco, G. (1998). *El cultivo de la mora*. CORPOICA. <https://repository.agrosavia.co/items/af7773db-aed7-4ea6-b56e-4e4310c71c35>
- González, F., Rebollar, S., Hernández, J., Morales, J., & Ramírez, O. (2019). Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 44(1) 260-272. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.292265>
- Graham, J., & Woodhead, M. (2011). *Rubus*. In C. Kole (Ed.), *Wild crop relatives: Genomic and breeding resources* (pp. 243–280). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-16057-8_9

- Hummer, K. E. (2017). Blackberries: an introduction. Blackberries and their hybrids. *Crop Production Science in Horticulture*, 26(1):152-167. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/abs/10.1079/9781780646688.0001>
- Lee J., Dossett, M., & Finn, C. E. (2012). *Rubus* fruit phenolic research: the good, the bad, and the confusing. *Food Chemistry*, 130(4), 785-796. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.022>
- Moreno-Medina, B.L., Casierra-Posada, F., & Cutler, J. (2018). Phytochemical composition and potential use of *Rubus* species. *Gesunde Pflanzen*, 70(2) 65-74. <https://doi.org/10.1007/s10343-018-0416-1>
- Rodríguez-Bautista G., Segura L., S. D., Cruz-Izquierdo, S., López-Medina, J., Cruz-Huerta, N. & Valenzuela N., L. M. (2021). Distribución potencial y caracterización eco-climática de especies silvestres de *Rubus* subgenus *Eubatus* en México. *Polibotánica* 52(1), 103-116, <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.8>
- Romoleroux, K., (1996). Rosaceae. In G. Harling, & L. Andersson (Eds.). *Flora of Ecuador*, 56(1) 1–152. Publishing House of the Swedish Research Council.
- Rubio-Ochoa, E., Pérez-Sánchez, R., Ávila-Val, T. C., Gómez-Leyva, J. F., & García-Saucedo, P. A. (2019). Propiedades fisicoquímicas de frutos silvestres de *Rubus* con potencial nutracéutico y alimenticio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(1), 291-301. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2028>
- Schulz M., & Chim, J. F. (2019). Nutritional and bioactive value of *Rubus* berries. *Food Bioscience*, 31(1) 100438, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100438>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2024). Nuestra Riqueza: La Zarzamora. Disponible de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/nuestra-riqueza-la-zarzamora>
- Segura, S., Zavala, D., Equihua, C., Andrés, J., & Yopez, E. (2009). Los recursos genéticos de frutales en Michoacán. *Revista Chapingo Serie Horticuultura*, 15(3), 297-305. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v15n3/v15n3a11.pdf>
- Soria, M. (2001). Informe de la mora (*Rubus niveus*) en el Parque Nacional Galápagos. Departamento de Botánica, Estación Científica Charles Darwin. Ecuador.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2009). *Plant physiology*. Sinauer Associates. 4th edition. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA. 700 p.

Thompson, M. M. (1997). Survey of chromosome numbers in *Rubus* (Rosaceae: Rosoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 84(1), 128-164.
<https://doi.org/10.2307/2399958>

CAPÍTULO 2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia económica del género *Rubus*

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2021) clasifica a las zarzamoras dentro del grupo de las bayas, categoría que también incluye a la mora negra, la frambuesa, la mora blanca, la mora roja, el mirto y los arándanos. Estas frutas, pertenecientes al género *Rubus*, representan un componente importante de los cultivos frutales de alto valor comercial y nutracéutico a nivel mundial (Zamora et al., 2023).

Este género de la familia *Rosaceae*, comprende un conjunto diverso de especies comúnmente conocidas como zarzamoras y frambuesas. Se estima que existen más de 700 especies distribuidas en regiones templadas y tropicales del mundo (Brennan et al., 2014). En el continente americano, las especies de zarzamoras silvestres crecen desde México hasta Ecuador, principalmente entre los 2000 y 3100 msnm (Cancino-Escalante et al., 2011). En México, se han identificado alrededor de 42 especies (Rodríguez-Bautista et al., 2021), lo cual refleja su amplia diversidad genética y potencial de aprovechamiento.

Desde un punto de vista económico, estos frutos presentan una alta demanda mundial debido a su valor comercial y a su creciente utilización en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética debido a su bajo contenido energético, son fuente de polifenoles y compuestos bioactivos (Foito et al., 2018; Bhatt et al., 2023).

Las áreas de distribución de las especies del género *Rubus* L. abarcan seis continentes e incluyen frambuesas, moras y sus híbridos (Hummer, 2010). Ya en la antigüedad, las especies pertenecientes al género *Rubus* se asociaron con propiedades medicinales, utilizándose para tratar cólicos, inflamaciones, diarrea, heridas, diabetes y como agentes antimicrobianos (Buczynski et al., 2024).

Hoy en día, muchas especies del género *Rubus* se utilizan en el tratamiento de diversas enfermedades (Gevreona et al., 2024). Sus frutos contienen altos valores nutricionales y componentes bioactivos, lo cual ha despertado el interés en su consumo en los últimos años (Plasencia et al., 2025). Este creciente interés también se extiende a las frambuesas rojas (Pruteanu et al., 2025), cuyos frutos son conocidos por su apariencia atractiva, alto contenido de compuestos beneficiosos para la salud humana y delicioso sabor (Addelhameed et al., 2025).

El género *Rubus* representa un recurso valioso para mejorar la salud humana, y su cultivo y uso crecientes podrían contribuir significativamente a la salud y la nutrición a nivel mundial.

En México, se registró en 2022 una producción de más de un millón de toneladas en 37 mil hectáreas cultivadas, donde la fresa representó el 55.3 %, la zarzamora el 21.3 %, la frambuesa el 17.1 % y el arándano el 6.4 % (SADER, 2023). Este desempeño ha posicionado al país entre los principales productores y exportadores mundiales de frutillas (González et al., 2019).

En los últimos años, México se ha consolidado como el principal productor mundial de zarzamora, gracias a un crecimiento sostenido que ha fortalecido su posición en el mercado global de bayas. De acuerdo con datos oficiales, la producción nacional alcanzó 215,923 toneladas, distribuidas en doce estados, entre los cuales Michoacán concentra aproximadamente el 96 %, seguido de Jalisco con un 3 % (Gobierno de México, 2022; SADER, 2021; INEGI, 2021). Este alto nivel de especialización regional refleja la eficiencia productiva y el papel estratégico de la zarzamora en la economía agrícola y exportadora del país. A nivel internacional, la FAO (2021) reporta que en 2019 México lideró la producción mundial de berries, con una participación del 63 % del total global, cifra que cuadruplicó la producción de Turquía, el segundo productor en importancia. Este liderazgo ha sido posible gracias a la articulación entre productores, instituciones de investigación y programas de fomento agrícola que han impulsado la competitividad y sostenibilidad del cultivo (Zamora et al., 2023).

Este notable desempeño productivo no solo evidencia el potencial agroindustrial

del cultivo de zarzamora en México, sino que también subraya la necesidad de fortalecer las líneas de investigación orientadas al mejoramiento genético, la sostenibilidad del cultivo y la valorización de sus propiedades nutraceuticas, dada la creciente demanda en los mercados internacionales.

2.2 Potencial nutraceutico

Las frutillas pertenecientes al género *Rubus* han adquirido creciente relevancia en la industria alimentaria y farmacéutica debido a su elevado contenido de compuestos bioactivos con potencial nutraceutico. Diversos estudios han evidenciado que estas especies contienen aceites volátiles (Yang et al., 2019), polifenoles (Tian et al., 2021), terpenoides (Wan et al., 2021), esteroides (Campbell et al., 2017) y ácidos orgánicos (Chen et al., 2016), los cuales contribuyen tanto a su valor nutricional como a sus propiedades funcionales. Hasta la fecha, se han identificado más de 104 compuestos volátiles y 157 no volátiles en distintas especies del género, lo cual refleja su diversidad química y su potencial en aplicaciones nutraceuticas y farmacológicas (Gao et al., 2023).

Como alimento funcional, no solo aportan nutrientes esenciales, sino que además ejercen efectos benéficos sobre la salud humana, contribuyendo a la prevención de diversas enfermedades crónicas y al mejoramiento del bienestar general. Sus tallos y hojas han sido utilizadas tradicionalmente por propiedades cicatrizantes y los frutos para mejorar la salud en riñones e hígado (Meng et al., 2022). Su consumo regular se asocia con la reducción del riesgo de enfermedades metabólicas, cardiovasculares y degenerativas, entre otras (Tian et al., 2021). Sin embargo, muchas especies comestibles de este género permanecen poco estudiadas y su importancia es en gran medida desconocida (Bhatt et al., 2023).

A nivel mundial, las especies más cultivadas incluyen *R. fruticosus* L., *R. idaeus* L., *R. occidentalis* L. y *R. chamaemorus* L., todas caracterizadas por diversos compuestos bioactivos, su riqueza en polifenoles, taninos. flavonoides, ácidos orgánicos, vitaminas, polisacáridos y otros metabolitos secundarios de relevancia fisiológica (Bhuyan, 2021). Estudios realizados por Bobinaite et al. (2012) para 19 cultivares de frambuesa mostraron concentraciones de fenoles totales entre

278, 6 mg/100g y 714,7 mg/100g de fruta, el ácido elágico osciló entre 119.8 mg /100g y 323.5 mg/100 g. Los valores de antocianinas totales estuvieron entre 2.1 mg/100 g y 325,5 mg/100 g. En otro estudio en mora reportaron concentraciones de 241,7 mg/100 g de compuestos fenólicos, las antocianinas se encontraron en valores alrededor de los 90.5 mg /100 g (de gomes et al., 2019), en estudios de zarzamoras silvestres en México, Castañeda et al (2024), reportaron concentraciones de compuestos fenólicos 9.67 a 17.81 mg g⁻¹ equivalentes de ácido gálico (EAG) en peso seco (PS), los flavonoides totales de 2.28 a 10.27 mg g⁻¹ equivalentes de catequina (EC) en PS y antocianinas totales de 0.88 a 19.19 mg g⁻¹ equivalentes de cianidina-3-glucósido EC3G en PS. Estos frutos se emplean ampliamente en la elaboración de productos funcionales como mermeladas, vinos de frutas y jugos, los cuales gozan de alta aceptación entre los consumidores (Dey & Sireswar, 2019).

2.2.1 Compuestos volátiles

El aroma constituye una de las propiedades sensoriales más relevantes que determinan la calidad y el valor comercial de las frutas. La presencia y concentración de compuestos volátiles influyen directamente en el aroma y el sabor, variando significativamente durante las etapas de crecimiento y maduración. Estos metabolitos secundarios no solo determinan las características organolépticas, sino que también pueden intervenir en mecanismos de defensa vegetal y en la atracción de polinizadores (Yang et al., 2019).

2.2.2 Polifenoles

Los polifenoles representan una amplia familia de compuestos biológicamente activos caracterizados por la presencia de uno o más anillos aromáticos con grupos hidroxilo o fenólicos sustituyentes. De acuerdo con su estructura química, pueden clasificarse en flavonoides, taninos, ácidos fenólicos y otros subgrupos (Reynoso-Camacho et al., 2021). La riqueza polifenólica de los frutos es responsable de gran parte de sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios y

cardioprotectores, lo que justifica su consideración como alimentos funcionales naturales (Tian et al., 2021).

2.2.3 Flavonoides

Los flavonoides constituyen los compuestos más abundantes y farmacológicamente activos dentro de las bayas de *Rubus*. Estas moléculas, de bajo peso molecular, presentan una estructura característica basada en un esqueleto $C_6-C_3-C_6$, compuesto por dos anillos aromáticos enlazados mediante un anillo heterocíclico de pirano. En el género *Rubus*, los flavonoides predominantes son los flavonoles y las antocianidinas, comúnmente presentes en forma de O- o C-glucósidos, o en estructuras poliméricas naturales (Fusi et al., 2020).

2.2.4 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos naturales responsables de los tonos rojos, morados y azulados característicos de las berries, y se encuentran principalmente en forma de glucósidos. Estas moléculas poseen alta capacidad antioxidante y desempeñan un papel fundamental en la protección celular frente al estrés oxidativo (Garzón, 2008).

En *R. hirsutus* Thunb., por ejemplo, se ha identificado la delfinidina-3-pentósido mediante análisis por LC-MS combinado con reactivos cromogénicos (Fu et al., 2015). Asimismo, Bowen-Forbes et al. (2010) caracterizaron seis antocianinas entre ellas cianidina-3-glucosilrutínósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutínósido, pelargonidina-3-glucósido, pelargonidina-3-rutínósido y cianidina-3-glucosilmalonato en diferentes especies maduras del género *Rubus* mediante técnicas de HPLC-MS.

Las zarzamoras y frambuesas son especies que pertenecen al género *Rubus* y al subgénero *Eubatus* e *Ideaobatus*, respectivamente. Estas últimas son diploides ($2n = 2x = 14$) y las zarzamoras presentan plasticidad en el número cromosómico que va desde diploides hasta dodecaploides ($2n = 2x = 14$ a $2n = 12x = 84$) (Foster et al., 2019). La domesticación de las frambuesas tiene sus

orígenes en Europa, donde los primeros materiales cultivados surgieron en el siglo XVI y las primeras variedades registradas aparecieron a finales del siglo XVIII (Jennings, 1988). Durante el siglo XX, los programas de mejoramiento genético permitieron la liberación de más de cien cultivares (Moore, 2008). No obstante, la proximidad genética entre los cultivares modernos y sus progenitores silvestres ha reducido notablemente la diversidad morfológica y genética disponible (Haskell, 1960), lo que representa una limitante para obtener materiales con mayor resistencia y capacidad de adaptación frente al cambio climático (Hall & Klemper, 2011).

Aunque el género *Rubus* presenta una alta diversidad, el mejoramiento de frambuesas se ha basado principalmente en *R. idaeus* (roja) y *R. occidentalis* (negra). A partir de ellas se han desarrollado cultivares rojos, negros, amarillos y morados; estos últimos derivados del cruce entre frambuesas rojas y negras, mientras que las amarillas son mutantes de *R. idaeus* (Pritts, 1997). La frambuesa roja actual posee una base genética estrecha sustentada en cinco cultivares ancestrales (Badjakov et al., 2006).

En cuanto a la zarzamora, los primeros cultivares datan de 1830, y la introducción de 'Loganberry' en 1890 marcó el inicio del mejoramiento dirigido (Swanson et al., 2011). La mora andina (*R. glaucus*) se ha propuesto como un híbrido interespecífico y es considerada un alotetraploide, lo que contribuye a la amplia variabilidad cromosómica del género (Darrow, 1952; Jennings, 1978; Finn, 2008).

Programas modernos, como los de la Universidad de Arkansas, han desarrollado cultivares sin espinas, de alto rendimiento y frutos firmes; sin embargo, análisis de pedigree indican una base genética reducida, con casi la mitad de los cultivares derivados de solo tres clones (Clark et al., 2007; Stafne & Clark, 2004).

2.3 Mejoramiento genético en el género *Rubus*

El mejoramiento genético del género *Rubus* ha cobrado gran relevancia en las últimas décadas, ante la necesidad de incrementar la oferta de materiales de siembra con características agronómicas superiores. Esta necesidad incluye la obtención de variedades con mayor productividad, mejor calidad de fruto y

morfología favorable para las labores agrícolas (López-Gutiérrez et al., 2019).

Dentro de la amplia diversidad del género *Rubus*, las especies más utilizadas en programas de mejoramiento han sido *R. idaeus* (frambuesa roja) y *R. occidentalis* (frambuesa negra). A partir de éstas se han obtenido cultivares con frutos de mayor tamaño y rendimiento en comparación con sus parientes silvestres. Se han desarrollado además frambuesas de distintos colores, incluyendo las variedades rojas, negras, amarillas y moradas.

Las frambuesas moradas surgieron del cruce interespecífico entre frambuesas rojas y negras, mientras que las amarillas derivan de mutaciones naturales de frambuesas rojas (Pritts, 1997). Cabe destacar que solo cinco cultivares progenitores dominan la ascendencia genética de las frambuesas rojas modernas: ‘Lloyd George’, ‘Pynes Royal’, ‘Preussen’, ‘Cuthbert’ y ‘Newburgh’ (Badjakov et al., 2006).

En el caso de la zarzamora (*Rubus fruticosus*), las formas cultivadas aparecieron alrededor de 1830. El desarrollo del cultivar ‘Loganberry’ en 1890 se considera el primer intento formal de mejoramiento genético en este grupo (Swanson et al., 2011). Las zarzamoras domesticadas se agrupan en doce secciones taxonómicas, entre las cuales destacan *Allegheniensis*, *Arguti*, *Rubus* y *Ursini*.

La mora de Castilla o mora andina (*R. glaucus*), de amplia distribución en América Latina, ha sido descrita como un híbrido interespecífico entre una zarzamora del subgénero *Rubus* y una mora suramericana del subgénero *Eubatus* (Darrow, 1952). Estudios posteriores sobre pigmentos de antocianinas confirmaron esta relación genética y clasificaron a *R. glaucus* como una especie alotetraploide, es decir, con más de un tipo de genoma derivado de distintas especies parentales (Jennings, 1978).

Por su notable variabilidad genética y citogenética, el género *Rubus* es considerado uno de los más diversos del reino vegetal, integrando especies que presentan desde diploidía hasta dodecaploidía (Finn, 2008). Esta característica lo convierte en un recurso valioso para programas de fitomejoramiento,

hibridación y selección asistida por marcadores moleculares, con el fin de ampliar la base genética disponible para los cultivos comerciales.

Los principales programas de mejoramiento en *Rubus* se han desarrollado en Europa y Estados Unidos, siendo un referente la Universidad de Arkansas, donde los esfuerzos se han centrado en la obtención de genotipos sin espinas, de ramas erectas, con frutos grandes, firmes y de alto rendimiento (Clark et al., 2007). A través de análisis de pedigree, esta universidad evaluó la relación genética entre 32 cultivares de zarzamora, encontrando que tres clones aportaron cerca del 50 % de la composición genética total, lo cual evidenció una base genética estrecha en las variedades cultivadas (Stafne y Clark, 2004).

El conocimiento acumulado sobre la diversidad genética, los niveles de ploidía y las relaciones filogenéticas dentro del género *Rubus* constituye una herramienta fundamental para el desarrollo de nuevas estrategias de mejoramiento genético. Estas estrategias deben orientarse a incrementar la variabilidad, optimizar la calidad nutracéutica del fruto y garantizar la adaptación de los cultivares a condiciones ambientales cambiantes, aspectos esenciales para la sostenibilidad del cultivo en el contexto actual de cambio climático y demanda global de alimentos funcionales.

2.3.1 Progenitores en el mejoramiento genético de *Rubus*: *R. glaucus*, ‘Tupy’ y *R. niveus*

El éxito del mejoramiento genético en especies del género *Rubus* depende en gran medida del conocimiento y la adecuada selección de progenitores con características morfológicas sobresalientes, que aporten atributos de interés agronómico, productivo y comercial.

Rubus glaucus Benth., conocida comúnmente como mora de Castilla o mora andina, es una especie característica de las zonas altas tropicales de América. Presenta un hábito semitrepador, tallos blancos y espinosos con espinas ligeramente curvas de 2 a 3 mm, además de hojas trifoliadas de color verde en el haz y blancuzcas en el envés, con márgenes aserradas o biserradas. Sus

inflorescencias terminales, de 10 a 20 cm, pueden contener hasta 22 flores, cuyas corolas blancas dan origen a frutos ovoides de 1.5 a 2 cm, compuestos por 70 a 100 drupeolas (Gutiérrez, 1970; Romoleroux, 1996). La existencia de variantes sin espinas, genéticamente afines a *R. glaucus*, ha representado un avance relevante en el manejo del cultivo, al facilitar labores como la poda, tutorado y cosecha, manteniendo rendimientos de hasta 15 t·ha⁻¹ (Espinosa et al., 2009). Estas características hacen de *R. glaucus* un progenitor clave para la obtención de híbridos con alta productividad, buena adaptación a condiciones tropicales y menor demanda de mano de obra.

Por su parte, la variedad ‘Tupy’, desarrollada por EMBRAPA en 1982 a partir del cruzamiento ‘Uruguai’ × ‘Comanche’, constituye uno de los materiales más utilizados en programas de mejoramiento de zarzamora por su combinación de rusticidad y calidad de fruto. Es una planta de porte erecto, con tallos angulosos y espinas bien distribuidas; posee hojas pentafoliadas de disposición palmada. Los frutos, de color negro uniforme, alcanzan un peso promedio de 6 g, presentan una textura firme, sabor equilibrado entre acidez y dulzura, y buena aptitud tanto para consumo en fresco como para procesamiento industrial (Santos & Raseira, 1988). Estas cualidades la posicionan como un progenitor ideal para transferir vigor, rendimiento y calidad organoléptica a nuevas generaciones de híbridos.

Finalmente, *Rubus niveus*, una especie suberecta originaria del sudeste asiático, puede alcanzar hasta 5 m de altura y se caracteriza por tallos espinosos con espinas delgadas y alargadas (7–10 mm), hojas imparipinadas con folíolos ovados y márgenes biserrados, de textura subcoriácea y pubescencia ligera. Sus inflorescencias densas agrupan entre 20 y 50 flores pequeñas, que dan origen a frutos ovoides de aproximadamente 1.5 cm, formados por 50 a 80 drupeolas de tonalidades que varían del rosa al morado oscuro (Romoleroux, 1996). A diferencia de otras especies, las drupeolas se separan fácilmente del receptáculo, lo que le confiere ventajas en la cosecha y procesamiento. Su rusticidad y adaptabilidad a condiciones tropicales y subtropicales, junto con su producción de frutos firmes y coloración atractiva, la convierten en una fuente

genética valiosa para mejorar la apariencia, color y capacidad postcosecha de nuevos cultivares.

En conjunto, las características complementarias de estos tres progenitores vigor y adaptabilidad de *R. glaucus*, calidad y firmeza del fruto en 'Tupy', y rusticidad y coloración intensa de *R. niveus* ofrecen una base sólida para el desarrollo de materiales híbridos más productivos, resistentes y con mejor calidad comercial. Su integración en programas de mejoramiento genético de *Rubus* permite avanzar hacia cultivares que respondan a las exigencias del mercado y a los retos derivados del cambio climático.

2.4 Citogenética de *Rubus*

El género *Rubus* presenta una notable complejidad taxonómica derivada de su historia evolutiva, caracterizada por fenómenos biológicos como la hibridación recurrente, la apomixis y la poliploidía. Estos procesos han generado una amplia variabilidad morfológica y genética, lo que dificulta establecer límites taxonómicos precisos entre especies y subgéneros (Alice & Campbell, 1999). Tradicionalmente, la identificación de las especies de *Rubus* se ha basado en criterios morfológicos, considerando atributos como la forma y tamaño de las hojas, la disposición de las espinas, las características florales y la coloración de los frutos (Graham & Woodhead, 2009). Sin embargo, la elevada plasticidad fenotípica y la superposición de rasgos entre especies reducen la eficacia de este enfoque, lo que hace necesario complementar dichos estudios con herramientas citogenéticas y moleculares (Evans & Campbell, 2002).

Desde una perspectiva citogenética, la poliploidía constituye un rasgo distintivo del género *Rubus*, con niveles de ploidía que varían, las frambuesas suelen ser diploides ($2n = 2x = 14$), mientras que las zarzamoras pueden variar desde diploides hasta dodecaploides ($2n = 12x = 84$) (Foster et al., 2019; Thompson, 1995; Meng & Finn, 2002). Este amplio rango de poliploidía ha tenido un papel crucial en las especies para su adaptación y diversificación. Diferentes estudios realizados en México por Rodríguez et al. (2018) identificaron especies silvestres

de *Rubus* y hallaron diploides para el caso de *Rubus adenotrichus* ($2n = 2x = 14$) y *R. humistratus* ($2n = 2x = 14$); triploides para *R. pringlei* ($2n = 3x = 21$), *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$); Tupí ($2n = 2x = 21$) y Tupí x *R. sapidus* ($2n = 3x = 21$); tetraploides para *R. palmeri* ($2n = 4x = 28$), Kiowa ($2n = 4x = 28$), y Kiowa x *R. sapidus* ($2n = 4x = 28$) y pentaploide para *R. cymosus* ($2n = 5x = 35$). En la mora de castilla (*R. glaucus*) se reporta como un anfiploide fértil o alotetraploide (Jennings, 1988). Para la frambuesa silvestre (*R. niveus*) han reportado como diploide (Bolaños et al., 2021). Estas diferencias cromosómicas entre especies pueden influir en la compatibilidad reproductiva, la fertilidad de la progenie y la expresión de características de interés agronómico.

2.5 Marcadores moleculares

Los avances en el análisis molecular han complementado de manera significativa los estudios genéticos en *Rubus*. Herramientas como los marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) y SSR (Simple Sequence Repeats) se han consolidado como métodos confiables para evaluar la diversidad genética, la estructura poblacional y los patrones filogenéticos dentro del género. Los ISSR permiten generar perfiles polimórficos de alta resolución para detectar variabilidad genética entre especies y cultivares (Graham et al., 2004), mientras que los SSR, por su naturaleza codominante y alta especificidad, resultan ideales para la identificación de cultivares, el seguimiento de líneas de mejoramiento y el análisis de eventos de hibridación (Bornet & Branchard, 2001).

En este sentido, Lebedev et al. (2019) demostraron la utilidad de los SSR al evaluar la diversidad genética de poblaciones de *Rubus* en México, destacando su potencial para identificar materiales genéticamente diversos y adaptados a condiciones ambientales contrastantes. En ese mismo año, se reportaron trabajos con 22 SSR para la caracterización de 15 cultivares de *R. glaucus* en Colombia con potencial a ser progenitores en programas de mejoramiento genético (López et al., 2019). En 2025, Guo et al., realizaron estudios de diversidad genética y relaciones filogenéticas en frambuesa usando los SRAP y SSR, estos últimos aportaron en la diferenciación a nivel poblacional con el uso

de diez marcadores. En China, utilizaron los ISSR para examinar la estabilidad genética de *Rubus sachalinensis* propagada *in vitro* con 14 cebadores UBC (Zhu et al., 2024). En Turquía caracterizaron la diversidad genética de 87 genotipos de *Rubus* colectados en diferentes regiones usando 16 cebadores confirmando significativamente la diversidad existente en los materiales (Alan et al., 2025).

En conjunto, la integración de estudios fitoquímicos, morfológicos, citogenéticos y moleculares ha permitido avanzar en la comprensión de la compleja estructura genética del género *Rubus*. Este enfoque multidisciplinario es una herramienta fundamental para orientar los programas de mejoramiento genético hacia la obtención de nuevos cultivares más productivos, resilientes y de alta calidad comercial, a la vez que favorece la conservación de la diversidad genética en especies silvestres y la sustentabilidad de los sistemas productivos.

2.6 Literatura citada

- Abdelhameed, M. F., El Hawary, S., El-Raey, M. A., & Abd El-Kader, E. M. (2025). *Rubus* Species: A Natural Treasure Trove of Bioactives and Their Therapeutic Potential. *Egyptian Journal of Chemistry*, 68(3). 10.21608/ejchem.2025.350063.11098
- Alan, F., Uzun, A., & Pinar, H. (2025). Genetic diversity and population structure of some blackberry genotypes collected from different parts of Türkiye using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 72(1), 9001–9019. <https://doi.org/10.1007/s10722-025-02498-6>
- Alice, L. A., & Campbell, C. S. (1999). Phylogeny of *Rubus* (Rosaceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *American Journal of Botany*, 86(1), 81–97. <https://doi.org/10.2307/2656957>
- Badjakov, I., Todorovska, E., Kondakova, V., Boicheva, R., & Atanassov, A. (2006). Assessment the genetic diversity of Bulgarian raspberry germplasm collection by microsatellite and RAPD markers. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14(1), 61-76.
- Bhatt S. C., B. Naik, V. Kumar, A. K. Gupta, S. Kumar, M. Singh, ... & S. Rustagi (2023). Untapped potential of non-conventional *Rubus* species: bioactivity, nutrition, and livelihood opportunities. *Plant Methods* 19(1), 114. <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01094-y>
- Bhuyan, B., & Dutta, A. (2021). A review on the phytochemical, pharmacological and traditional profile on the *Rubus* genus in north-eastern and western parts of India. *Current Trends in Pharmaceutical Research*, 8(1), 73-87.

<https://oldweb.dibru.ac.in/wp-content/uploads/2021/09/05-CTPR-Review-BB-03.pdf>

- Bobinaitė, R., Viškelis, P., & Venskutonis, P. R. (2012). Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 132(3), 1495-1501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.137>
- Bolaños, P. A., de Lourdes Torres, M., Pozo, G., García, M. P. E., Ortega, M., Rojas, E., ... & Reyes, A. L. (2021). Evaluación de marcadores microsatélites (SSRs) heterólogos en *Rubus niveus* para estudios de diversidad genética en las Islas Galápagos. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 13(2), 20-20. <https://doi.org/10.18272/aci.v13i2.2293>
- Bornet, B., & Branchard, M. (2001). Marcadores de repetición de secuencias simples (ISSR) no anclados: herramientas reproducibles y específicas para la identificación de huellas genómicas. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(1), 209–215. <https://doi.org/10.1007/BF02772892>
- Bowen-Forbes, C. S., Zhang, Y., & Nair, M. G. (2010). Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 554-560. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.012>
- Brennan, R. M., Caligari, P. D. S., Clark, J. R., Brás de Oliveira, P. N., Finn, C. E., Hancock, J. F. ... & Simpson D. (2014). Berry crops. In G. Dixon, & D. Aldous (Eds.). *Horticulture: Plants for people and places* 1(1), 301-325. Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8578-5_9
- Buczyński, K., Kapłań, M., & Jarosz, Z. (2024). Review of the report on the nutritional and health-promoting values of species of the *Rubus* L. genus. *Agriculture*, 14(8), 1324. <https://doi.org/10.3390/agriculture14081324>
- Campbell, T.F., McKenzie, J., Murray, J., Delgoda, R., & Bowen-Forbes, C.S., (2017). *Rubus rosifolius* varieties as antioxidant and potential chemopreventive agents. *Journal of Functional Foods*, 37(1), 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.040>.
- Cancino-Escalante G. O., Sánchez-Montaña L. R., Quevedo-García E., & Díaz-Carvajal C. (2011). Caracterización fenotípica de accesiones de especies de *Rubus* L. de los municipios de Pamplona y Chitagá, región Nororiental de Colombia. *Universitas Scientiarum*, 16(3), 219-233. <https://doi.org/10.11144/javeriana.SC16-3.pcor>
- Castañeda-Cardona, C. C., Guerra-Ramírez, D., Martínez-Solís, J., Barrientos-Priego, A. F., Peña-Ortega, M. G., & Morillo-Coronado, Y. (2024). Potencial nutracéutico de frutos de especies silvestres de zarzamora y frambuesa. *Revista fitotecnica mexicana*, 47(1), 11-17. <https://doi.org/10.35196/rfm.2024.1.11>
- Chen, W., Su, H., Xu, Y., Bao, T., & Zheng, X. (2016). Protective effect of wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.) extract against acrylamide-induced oxidative damage is potentiated after simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 196(1), 943-952. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.024>.
- Clark, J. R., Stafne, E. T. Hall, H. K. & Finn, C. E. (2007). Blackberry breeding

- and genetics. *Plant Breeding*, 29, 17-146. Doi: 10.1002/9780470168035.ch2
- Darrow, G. (1952). *Rubus glaucus*. The Andean blackberry of Central and Northern South America. *Ceiba*, 3(1), 97-101.
- de Gomes, M. G., Del Fabbro, L., Goes, A. T. R., Souza, L. C., Donato, F., Boeira, S. P., ... & Jesse, C. R. (2019). Blackberry juice anthocyanidins limit cisplatin-induced renal pathophysiology in mice. *Pathophysiology*, 26(2), 137-143. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2019.04.004>
- Dey, G., & Sireswar, S. (2019). Emerging functional beverages: fruit wines and transgenic wines. In: *Alcoholic Beverages*, 7(1), 471–514. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815269-0.00014-3>.
- Espinosa, B. N., Sánchez, L. D., García, R. A., Ariza, N. M., Ariza, N.C., & Barrero, M.L. (2009). Evaluación agronómica, nutricional y selección participativa de materiales de mora en Sylvania Cundinamarca. *Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. Corpoica*. 34 - 42. <https://repository.agrosavia.co/items/01642441-5171-4e55-a9f6-1a2dbe75726e>
- Evans, R., & Campbell, C. (2002). The origin of the gynoecium in the Rosaceae: Insights from evolutionary developmental biology. *International Journal of Plant Sciences*, 163(5), 753–763. <https://doi.org/10.1086/342441>
- Finn, C. E. (2008). Blackberries. In *Temperate fruit crop breeding* 83 –114. Dordrecht: Springer. doi:10.1007/978-1-4020-6907-9_3
- Foito A., McDougall G. J., & Stewart. D. (2018). Evidence for health benefits of berries. *Annual Plant Reviews Online*, 1(1):105-148. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0600>
- Foster T. M., Bassil, N. V., Dossett, M., Worthington, M. L., & Graham, J. (2019). Genetic and genomic resources for *Rubus* breeding: a roadmap for the future. *Horticulture Research* 1(6)116. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0600>
- Fu, Y., Zhou, X., Chen, S., Sun, Y., Shen, Y., & Ye, X. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of Chinese wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.). *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1262-1268. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.002>.
- Fusi, F., Trezza, A., Tramaglino, M., Sgaragli, G., Saponara, S., & Spiga, O. (2020). The beneficial health effects of flavonoids on the cardiovascular system: Focus on K⁺ channels. *Pharmacological Research*, 152, 104625. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104625>.
- Gao, X., Zhang, Z., Wang, X., Qian, J., Hu, L., Li, Z. y Li, W. (2023). Estudios de valor de uso, composición química, actividades biológicas y farmacológicas, y control de calidad de las bayas de Rubus: Una revisión exhaustiva. *Journal of Food Composition and Analysis*, 124, 105707. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105707>
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biológica colombiana*, 13(3), 27-36. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-

548X2008000300002

- Gevrenova, R., Zheleva-Dimitrova, D., & Balabanova, V. (2024). The genus *Rubus* L.: An insight into phytochemicals and pharmacological studies of leaves from the most promising species. *Pharmacia*, 71(1), 1-12. DOI 10.3897/pharmacia.71.e124248
- Gobierno de México. (2022). Zarzamora, la frutilla número uno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/zarzamora-la-frutilla-numero-uno-de-mexico>
- González, F., Rebollar, S., Hernández, J., Morales, J., & Ramírez, O. (2019). Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 44(2019), 260-272. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.292265>
- Graham, J., Smith, K., Woodhead, M., & Russell, J. (2004). Development and use of simple sequence repeat SSR markers in *Rubus* species. *Molecular Ecology Notes*, 2(3), 250–252. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00203.x>
- Graham, J., Woodhead, M. (2009). Raspberries and blackberries: The genomics of *Rubus*. In K. M. Folta, & S. E. Gardiner (Eds) *Genetics and genomics of Rosaceae*. Plant genetics and genomics: Crops and models, 6. Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77491-6_24
- Guo, Z., Fan, Z., Li, X., Du, H., Wu, Z., Li, T., & Yang, G. (2025). Combined Analysis of SRAP and SSR Markers Reveals Genetic Diversity and Phylogenetic Relationships in Raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Agronomy*, 15(6), 1492. <https://doi.org/10.3390/agronomy15061492>
- Gutiérrez, V. G. (1970). Género *Rubus*. Manual práctico de botánica taxonómica. Medellín: *Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrícolas*. 1(3), 370-378. <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/136>
- Hall, H., & Kempler, C. (2011). Raspberry Breeding. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5(1), 44–62. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0763-9_8
- Haskell, G. (1960). The raspberry wild in Britain. *Watsonia*, 4, 238-55.
- Hummer, K. E. (2010). *Rubus* Pharmacology: Antiquity to the Present. *HortScience*, 45(11), 1587-1591. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.11.1587>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI]. (2021). https://www.inegi.org.mx/tablerosestadisticos/series_de_tiempo/
- Jennings D. L. (1988). *Raspberries and blackberries: their breeding, diseases and growth*. London: Academic Press., (pp.110-230).
- Jennings, D. (1978). The blackberries of South America an unexplored reservoir of germplasm. *Fruit Varieties Journal*, 32(2), 61–63.
- Lebedev, V. G., Subbotina, N. M., Maluchenko, O. P., Lebedeva, T. N., Krutovsky, K. V., & Shestibratov, K. A. (2019). Transferability and polymorphism of SSR markers located in flavonoid pathway genes in *Fragaria* and *Rubus* species. *Genes*, 11(1), 11. <https://doi.org/10.3390/genes11010011>
- López-Gutiérrez, A. M., Marulanda Angel, M. L., Gómez-López, L. M., & Barrera-Sánchez, C. F. (2019). *Rubus glaucus* Benth.: morphology and floral

- biology aimed at plant breeding processes. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(3), 8909-8915. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n1.75910>
- López, A. M., Barrera, C. F., & Marulanda, M. L. (2019). Evaluation of SSR and SNP markers in *Rubus glaucus* Benth progenitors selection. *Revista brasileira de fruticultura*, 41, e-081. <https://doi.org/10.1590/0100-29452019081>
- Meng, Q., Manghwar, H., & Hu, W. (2022). Study on supergenus *Rubus* L.: Edible, medicinal, and phylogenetic characterization. *Plants*, 11(9), 1211. <https://doi.org/10.3390/plants11091211>
- Meng, R., & Finn, C. (2002). Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by flow cytometry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(5), 767-775. <https://doi.org/10.21273/JASHS.127.5.767>
- Moore, P. P. (2008). *Rubus* spp. – red and black raspberry. In J. Janick & R. E. Paull (Eds.). *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*. 751–757. Cambridge: CABI. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99031-6_1
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]. (2021). Cultivos y productos de ganadería. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- Plasencia, P., Finimundy, T. C., Carocho, M., Calhelha, R. C., Añibarro-Ortega, M., Pires, T. C., ... & Heleno, S. A. (2025). Extraction of bioactive compounds from *Rubus idaeus* bioresidues: a full screening on phenolic composition and bioactive potential. *Waste and Biomass Valorization*, 16(2), 737-747. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02696-w>
- Pritts, M. P. (1997). Raspberries. *Journal of Small Fruit & Viticulture*, 4(3-4), 189–225. doi:10.1300/j065v04n03_02
- Pruteanu, A.; Constantin, G.A.; Vanghele, N.A.; & Vlăduț, V. (2025). Evaluation of Growth and Production Parameters of Raspberries and Blackberries Cultivated in Romania. *Horticulturae* 11(4), 369. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11040369>
- Reynoso-Camacho, R., Sotelo-González, A.M., Patino-Ortiz, P., Rocha-Guzmán, N.E., & Pérez-Ramírez, I.F. (2021). Berry by-products obtained from a decoction process are a rich source of low- and high-molecular weight extractable and non-extractable polyphenols. *Food and Bioprocess Processing*, 127, 371–387. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.03.014>
- Romoleroux, K., (1996). Rosaceae. In G. Harling, & L. Andersson (Eds.). *Flora of Ecuador* 56, 1–152. Stockholm: Publishing House of the Swedish Research Council.
- Rodríguez-Bautista, G., Segura-Ledezma, S. D., Cruz-Izquierdo, S., Corona-Torres, T., López-Medina, J., Gutiérrez-Espinosa, M. A., ... Valenzuela-Núñez, L. M. (2018). Poliploidía en zarzamoras silvestres (*Rubus* spp L.). *Nova scientia*, 10(21), 1-16. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1385>
- Rodríguez-Bautista G., S. D. Segura L., S. Cruz-Izquierdo, J. López-Medina, N. Cruz-Huerta L. M., & Valenzuela, N. (2021). Distribución potencial y caracterización eco-climática de especies silvestres de *Rubus* subgenus *Eubatus* en México. *Polibotánica* 52(1), 103-116, <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.8>

- SADER, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). Berries, segundo producto del campo con mayor valor de exportación: Agricultura. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/berries-segundo-producto-del-campo-con-mayor-valor-deexportacion-agricultura?idiom=es> (Julio 2023).
- Santos, A.M. dos, & Raseira, M. do C.B. (1988). Lançamento de cultivares de amoreira-preta. Pelotas: *EMBRAPA – CNPFT*. (EMBRAPA: Informativo 23).
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SADER]. (2021). Agricultura. <https://www.gob.mx/agricultura>
- Stafne, E. T., & Clark, J. R. (2004). Genetic relatedness among eastern North American blackberry cultivars based on pedigree analysis. *Euphytica*, 139, 95-104. Doi: 10.1007/s10681-004-2436-4
- Swanson, J. D., Carlson, J. E., Fernández-Fernández, F., Finn, C., Graham, J., Weber, C., & Sargent, D. (2011). Raspberries and blackberries. In K. M. Folta & C. Kole (Eds.). *Genetics, genomics and breeding of berries* 1 st pp. 64–78. CRC Press.
- Thompson M. M. (1995). Chromosome numbers of Rubus cultivars at the National Clonal Germplasm Repository. *HortScience*, 30(7), 1453-1456. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.30.7.1453>
- Tian, J.L., Si, X., Wang, Y.H., Gong, E.S., Xie, X., Zhang, Y., Li, B., & Shu, C. (2021). Bioactive flavonoids from *Rubus corchorifolius* inhibit α -glucosidase and α -amylase to improve postprandial hyperglycemia. *Food Chemistry*, 341, 128149. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128149>.
- Wan, J., Wang, X.J., Guo, N., Wu, X.Y., Xiong, J., Zang, Y., Jiang, C.X., Han, B., Li, J., & Hu, J.F. (2021). Highly oxygenated triterpenoids and diterpenoids from Fructus Rubi (*Rubus chingii* Hu) and their NF-kappa B inhibitory effects. *Molecules*, 26(7), 1911. <https://doi.org/10.3390/molecules26071911>.
- Yang, Y.N., Zheng, F.P., Yu, A.N., & Sun, B.G. (2019). Changes of the free and bound volatile compounds in *Rubus corchorifolius* L. f. fruit during ripening. *Food Chemistry*, 287, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.080>.
- Zamora Torres, A. I; Baez Figueroa, I. & Marín Leyva, R. A. (2023). La producción de la zarzamora en México: un análisis de rentabilidad y ventaja comparativa. *Inquietud Empresarial*, 23(1), e15333. <https://doi.org/10.19053/01211048.15333>
- Zhu, W., Wang, Y., Yue, X., Zhang, P., Bao, B., Zhao, H., ... & Zhang, J. (2024). Genetic stability of wild *Rubus sachalinensis* Leveille cultivated using tissue culture and rapid propagation techniques examined with the ISSR-PCR system. *European Journal of Horticultural Science*, 89(6). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.17660/eJHS.2024/029>

CAPÍTULO 3 POTENCIAL NUTRACÉUTICO DE FRUTOS DE ESPECIES SILVESTRES DE ZARZAMORA Y FRAMBUESA



POTENCIAL NUTRACÉUTICO DE FRUTOS DE ESPECIES SILVESTRES DE ZARZAMORA Y FRAMBUESA³

NUTRACEUTICAL POTENTIAL OF FRUITS OF WILD SPECIES OF BLACKBERRY AND RASPBERRY

Christian Camilo Castañeda-Cardona¹, Diana Guerra-Ramírez^{2*}, Juan Martínez-Solís¹, Alejandro Facundo Barrientos-Priego¹, Margarita Gisela Peña-Ortega¹ y Yacenia Morillo-Coronado³

¹Universidad Autónoma Chapingo (UACH), Departamento de Fitotecnia, Texcoco, Estado de México, México. ²UACH, Departamento de Preparatoria Agrícola, Texcoco, Estado de México, México. ³Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

*Autor de correspondencia (dguerrar@chapingo.mx)

RESUMEN

Las frutillas como zarzamoras, frambuesas, arándanos y fresas son ricas en compuestos fenólicos, metabolitos secundarios biosintetizados como resultado de la evolución de las plantas terrestres para hacer frente a los desafíos ambientales; en particular, las especies silvestres suelen tener características que les permiten adaptarse a ambientes adversos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial nutraceutico de genotipos silvestres del género *Rubus*, mediante la determinación de sus propiedades antioxidantes, para su posible inclusión en programas de mejoramiento genético. El contenido de fenoles, flavonoides y antocianinas totales, así como la capacidad antioxidante, por los ensayos ABTS y FRAP, fueron cuantificados en extractos polares de frutos correspondientes a seis zarzamoras: *Rubus glaucus*, la variedad Tupy, una muestra comercial y tres silvestres (Hidalgo 2.3, Hidalgo 2.4 y Chiapas 1) y una frambuesa (*Rubus niveus*). La concentración de compuestos fenólicos en las especies se encontró en el intervalo de 9.67 ± 0.47 a 17.81 ± 0.54 mg g⁻¹ equivalentes de ácido gálico (EAG) en peso seco (PS), los flavonoides totales de 2.28 ± 0.20 a 10.27 ± 0.58 mg g⁻¹ equivalentes de catequina (EC) en PS y antocianinas totales de 0.88 ± 0.05 a 19.19 ± 0.65 mg g⁻¹ equivalentes de cianidina-3-glucósido EC3G en PS. Los valores de la capacidad antioxidante fueron de 715.09 ± 25.22 a 1357.29 ± 20.76 y de 19.67 ± 0.94 a 93.5 ± 6.03 µmol g⁻¹ equivalentes de trolox (ET) en PS para los ensayos ABTS y FRAP, respectivamente. Se encontró que los genotipos silvestres, denominados Hidalgo 2.3 y Chiapas 1, presentaron las concentraciones más altas de compuestos fenólicos y, por lo tanto, una mayor capacidad antioxidante. Considerando que estos compuestos protegen a las plantas contra factores bióticos y abióticos adversos dentro de su ecosistema, los genotipos silvestres Hidalgo 2.3 y Chiapas 1 son candidatos para la selección en programas de mejoramiento genético.

Palabras clave: *Rubus glaucus*, *Rubus niveus*, antocianinas, capacidad antioxidante, contenido fenólico, Tupy.

SUMMARY

Berries such as blackberries, raspberries, blueberries and strawberries are rich in phenolic compounds, secondary metabolites biosynthesized as a result of the evolution of terrestrial plants to cope with environmental challenges. In particular, wild species often have characteristics that allow them to adapt to adverse environments. The objective of this study was to evaluate the nutraceutical potential of wild genotypes of the genus *Rubus*, by determining their antioxidant properties, for possible inclusion in breeding programs. The content of phenols, flavonoids and total anthocyanins, as well as the antioxidant capacity, by ABTS and FRAP assays, were quantified in polar

extracts of fruits corresponding to six blackberries: *Rubus glaucus*, the Tupy variety, one commercial sample and three wild ones (Hidalgo 2.3, Hidalgo 2.4 and Chiapas 1) and one raspberry (*Rubus niveus*). The concentration of phenolic compounds in the species was found in the range of 9.67 ± 0.47 to 17.81 ± 0.54 mg g⁻¹ gallic acid (GAE) equivalents in dry weight (DW), total flavonoids from 2.28 ± 0.20 to 10.27 ± 0.58 mg g⁻¹ catechin equivalents (CE) in DW, and total anthocyanins of 0.88 ± 0.05 to 19.19 ± 0.65 mg g⁻¹ of cyanidin-3-glucoside (C3GE) equivalents in DW. The antioxidant capacity values were from 715.09 ± 25.22 to 1357.29 ± 20.76 and from 19.67 ± 0.94 to

93.5 ± 6.03 µmol g⁻¹ of trolox equivalents (TE) in DW for ABTS and FRAP assays, respectively. Wild genotypes named Hidalgo 2.3 and Chiapas 1, were found to have the highest concentrations of phenolic compounds, and therefore, higher antioxidant capacity. Considering that these compounds protect plants against adverse biotic and abiotic factors within their ecosystem, the wild genotypes Hidalgo 2.3 and Chiapas 1 are candidates for selection in breeding programs.

Index words: *Rubus glaucus*, *Rubus niveus*, anthocyanins, antioxidant capacity, phenolic content, Tupy.

INTRODUCCIÓN

Desde un punto de vista económico, las frutillas, pertenecientes a los géneros *Rubus*, *Fragaria* y *Vaccinium*, tienen una demanda muy alta a nivel mundial. En relación con sus propiedades nutricionales, estos frutos tienen bajo contenido energético, son ricos en vitaminas, minerales y compuestos fitoquímicos como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y otros que les confieren características nutraceuticas (Foito et al., 2018; Nile et al., 2014; Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

El género *Rubus* es uno de los más diversos del reino vegetal, se estima que alrededor del mundo existen más de 700 especies (Brennan et al., 2014). En gran parte del continente americano, desde México hasta Ecuador, las diferentes especies de zarzamoras crecen entre los 2000 y 3100 msnm (Cancino-Escalante et al., 2011). Tan solo en México, se presentan alrededor de 42 especies (Rodríguez-Bautista et al., 2021). Las zarzamoras y frambuesas pertenecen al mismo género, *Rubus*, pero difieren en el

Artículo Científico

Recibido: 12 de noviembre de 2023

Aceptado: 08 de marzo de 2024

Rev. Fitotec. Mex. Vol. 47 (1): 11-17, 2024

DOI:

<https://doi.org/10.35196/rfm.2024.1.11>

³ Sometido a: Revista Fitotecnia Mexicana
Estatus: publicado

subgénero, ya que las zarzamoras pertenecen a *Rubus* y las frambuesas a *Ideaobatus*. Estas últimas son diploides ($2n = 2x = 14$) y las zarzamoras varían de diploides hasta dodecaploides ($2n = 2x = 14$ a $2n = 12x = 84$) (Foster *et al.*, 2019). Sus frutos están formados por drupeolas con diversas texturas y de forma globosa, se agrupan formando polidrupas, donde cada una de ellas contiene una semilla, pueden mantenerse unidas al receptáculo floral para el caso de las zarzamoras o desprenderse de él para el caso de las frambuesas (Romoleroux, 1996).

Entre los principales compuestos fenólicos en las especies del género *Rubus* se encuentran las antocianinas, predominando la cianidina-3-glucósido y la pelargonidina-3-rutinósido; otro tipo de flavonoides son la quercetina, el kaemferol y la epicatequina; también se encuentran presentes algunos ácidos orgánicos como el elágico y gálico y taninos hidrolizables como los elagitaninos (Bhatt *et al.*, 2023; Schulz y Chim, 2019). La concentración de estos compuestos en los frutos puede estar determinada por factores como la especie, el cultivar, la fase de maduración y las condiciones edafoclimáticas en las que se desarrollan (Lee *et al.*, 2012; Taiz y Zeiger, 2009).

Por otro lado, la síntesis de antocianinas es inducida por estrés biótico y abiótico, estos factores conducen a diferentes concentraciones y perfiles de antocianinas, ya que los tipos individuales tienen funciones distintas en la fisiología de las plantas (Chaves-Silva *et al.*, 2018). La exposición a la luz es un factor ambiental que aumenta el contenido de antocianinas en los frutos al aumentar la expresión de genes biosintéticos de flavonoides en la piel de las bayas; sin embargo, las altas temperaturas conducen a una supresión de la biosíntesis de antocianinas (Di Vittori *et al.*, 2018). Los compuestos fenólicos, encontrados en las moras y las frambuesas, están asociados con la capacidad antioxidante de dichas bayas (Yang y Choi, 2017). Otras propiedades biológicas estudiadas en diferentes especies del género *Rubus* son la anti-inflamatoria, la quimiopreventiva y la antimicrobiana. También se ha documentado que las concentraciones fisiológicas de polifenoles actúan sobre las vías de señalización celular para prevenir o retrasar la aparición de enfermedades relacionadas con la inflamación crónica, como la aterosclerosis y otras enfermedades cardiovasculares (Schulz y Chim, 2019).

Desde un punto económico, el cultivo de frutillas es altamente rentable y es una fuente de empleo por la alta demanda de mano de obra. El rápido equilibrio económico en inversión y su potencial exportador han hecho que México se ubique entre los primeros productores de arándanos, fresas, frambuesas y zarzamoras. Estos frutos se exportan a países como Estados Unidos y Canadá

(González *et al.*, 2019). En el año 2022, las frutillas fueron el segundo producto con mayor valor de exportación, generando ganancias de alrededor de cuatro mil 700 millones de dólares estadounidenses, con una producción de un millón 046 mil 264 toneladas, en una superficie sembrada de 37 mil 575 hectáreas, donde la fresa representó el 55.3 %, la zarzamora 21.3 %, la frambuesa 17.1 % y el arándano 6.4 % (SADER, 2023).

Las plantas usadas para producir zarzamoras mejoradas pertenecen a las variedades Tupy y Brazos, mientras que para el mejoramiento de las frambuesas se han descrito los cultivares Roja Europea y Norteamericana (*Rubus ideaus*) y las especies Negra (*Rubus occidentalis*) y Ártica (*Rubus arcticus*) (Foster *et al.*, 2019). Estas especies han generado un gran interés en emprendimientos comerciales y en investigación debido a su alto valor nutraceutico (Kempner *et al.*, 2012; Titirică *et al.*, 2023). Tomando en cuenta lo anterior, en México se cuenta con especies silvestres que se distribuyen en las zonas altas de las montañas, principalmente en los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla e Hidalgo, que podrían ser utilizadas para incrementar la diversidad genética. Algunos estudios han demostrado que las especies silvestres de *Rubus* cumplen con características fisicoquímicas y nutraceuticas para ser incorporadas en programas de fitomejoramiento o a la industria farmacéutica (Rubio *et al.*, 2019); sin embargo, han sido poco estudiadas y desaprovechadas en la industria alimentaria. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el potencial nutraceutico de frutillas silvestres de frambuesa y zarzamora de diferentes especies, mediante el análisis de sus propiedades antioxidantes, con el fin de identificar genotipos de mejor calidad nutraceutica que puedan ser incluidos en programas de mejoramiento genético.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron plantas de 21 accesiones de zarzamora y frambuesa silvestres en los estados de Chiapas, México, Veracruz e Hidalgo. Estos materiales fueron llevados al campo agrícola experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo ubicado en el municipio de Texcoco de Mora, Estado de México (19° 51' latitud norte y 98° 88' longitud oeste, altitud de 2258 msnm). Se trasplantaron a bolsas de vivero con suelo y peat moss en proporción 1:1, se tutoraron y se fertilizaron semanalmente con Bayfolan® (2 mL L⁻¹) y Rootex® (1 g L⁻¹). De estas accesiones solo cuatro alcanzaron su estado de fructificación, éstas fueron las zarzamoras Chiapas 1, Hidalgo 2.3, Hidalgo

longitud oeste, 1991 msnm; 20° 34' latitud norte, 98° 34' longitud oeste, 1978 msnm; 20° 34' latitud norte, 98° 34' longitud oeste, 1975 msnm; y en Chiapas a 16° 25' latitud norte, 92° 29' longitud oeste, 1840 msnm; respectivamente.

Además de los materiales silvestres, se incluyeron las zarzamoras que hacen parte del campo experimental del Departamento de Fitotecnia en el Estado de México identificadas como Mora de Castilla (*Rubus glaucus*), la variedad Tupy y una muestra comercial de zarzamora de procedencia desconocida. Se cosechó en el verano de 2022, teniendo en cuenta el estado de madurez 6 (color morado oscuro) según la tabla de colores de la norma técnica colombiana NTC 4106 del ICONTEC.

Reactivos químicos

Los reactivos Folin-Ciocalteu, ácido gálico (GA), carbonato de sodio anhidro, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) y 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), catequina, ácido acético glacial, acetato de sodio trihidratado, ácido clorhídrico y cloruro férrico hexahidratado fueron adquiridos de Sigma Aldrich.

Extracción de los compuestos antioxidantes

Una muestra de 1 g de los frutos molidos previamente liofilizados a -53 °C y 0.046 mbar de presión (Labconco®, Kansas City, Missouri, EUA), se mezcló con metanol 80 % en una proporción 1:10 (p/v). La mezcla se acidificó a pH 3 ± 0.3 con HCl 1 N y se extrajo por agitación en vortex (1000 rpm, 3 min), sonicación (15 min) y agitación en incubadora (180 rpm, 30 °C, 30 min). Finalmente, la mezcla fue centrifugada a 4500 rpm por 15 min (Ohaus, FC5718R, Parsippany, New Jersey, EUA). El sobrenadante recuperado se llevó a un volumen final de 10 mL con metanol 80 %. Los extractos se almacenaron en refrigeración y fueron protegidos de la luz hasta su análisis. A partir de estos extractos, obtenidos de cada muestra procesada por triplicado, se determinaron los contenidos de fenoles, flavonoides y antocianinas totales, así como la capacidad antioxidante, aplicando los ensayos FRAP y ABTS.

Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales fue determinado por el método de Folin-Ciocalteu adaptado a microplacas (Hernández *et al.*, 2016; Singleton y Rossi, 1965). Se construyó una curva patrón usando como estándar ácido gálico. El extracto se diluyó a niveles que se ubicaron dentro de la curva de ácido gálico en un intervalo de concentraciones de 0.001 a 0.011 mg mL⁻¹. En cada pozo

de una microplaca se colocaron 25 µL de la muestra a analizar, 125 µL de agua destilada, 20 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluído 1:10 con agua destilada) y 30 µL de Na₂CO₃ 20 %. La mezcla fue agitada y se dejó reaccionar durante 30 min en oscuridad; la absorbancia frente al blanco fue medida a 760 nm en un multidetector de microplacas Synergy 2, equipado con el software de análisis de datos Gen5 (Biotek Instruments Inc., Winoosky, Vermont, EUA). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra en peso seco (mg EAG g⁻¹ PS).

Determinación de flavonoides totales (CFT)

Los flavonoides totales se determinaron de acuerdo con Kubola y Siriamornpun (2011). Se preparó una solución stock con 29 mg de catequina y se llevó a 1 mL con metanol 80 %. De esta solución, se colocaron 250 µL en un matraz de 25 mL, que se aforó con metanol 80 %. A partir de esta disolución se tomaron alícuotas para obtener la curva de calibración en un intervalo de concentraciones de 0.001 a 0.032 mg mL⁻¹. Se tomaron 0.5 mL del extracto y se mezclaron con 2.25 mL de agua destilada y 150 µL de solución de NaNO₂ 5 %. Después de 6 min, se añadieron 300 µL de una solución de AlCl₃ 6H₂O 10 % y se dejó reposar durante otros 5 min antes de añadir 1.0 mL de NaOH 5 %. La mezcla se agitó utilizando un vórtex (Vortex Synergy, WVR International, Radnor, Pennsylvania, EUA) 3000 rpm por 3 min. La absorbancia se midió inmediatamente a 510 nm con un lector de microplacas equipado con el software de análisis de datos Gen5 (Biotek Instruments Inc., Winoosky, Vermont, EUA). Los resultados se expresaron en mg de equivalente de catequina (EC) por gramo de muestra en peso seco (mg EC g⁻¹ PS).

Determinación de antocianinas totales

Las antocianinas se cuantificaron según el método de pH diferencial (Lee *et al.*, 2015). Se prepararon dos muestras por separado con una alícuota de 0.15 mL del extracto. Una muestra se mezcló con 0.85 mL de buffer pH 1.0 y la otra, mezclando 0.15 mL de extracto con 0.85 mL de buffer pH 4.5. Ambas mezclas se agitaron por 3 min en un vórtex a 1000 rpm y posteriormente se midieron las absorbancias a 513 nm y 700 nm desde lector de microplacas Synergy 2, equipado con el software de análisis de datos Gen5 (Biotek Instruments Inc., Winoosky, Vermont, EUA). La concentración de antocianinas monoméricas se obtuvo con la siguiente ecuación, tomando como referencia los datos de la cianidina-3-glucósido (PM 449.2 g mol⁻¹) y ϵ el coeficiente de extinción molar (26900 unidades):

$$\text{Antocianinas totales (mg L}^{-1}\text{)} = A(\text{PM})(\text{FD}) (1000) / \epsilon \quad \text{Ec. 1}$$

Donde FD es el factor de dilución y A se calculó con la fórmula siguiente:

$$A = [(A_{513nm} - A_{700nm}) \text{ a pH } 1.0 - (A_{513nm} - A_{700nm}) \text{ a pH } 4.5]$$

Ec. 2)

Finalmente, los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido (EC3G) por gramo de muestra en peso seco (mg g⁻¹ de EC3G en PS) (Gaviria *et al.*, 2009).

Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos de zarzamoras y frambuesa se determinaron por los ensayos FRAP (poder antioxidante reductor del hierro) (Benzie y Strain, 1996) y ABTS [ácido 2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, A-1888] (Re *et al.*, 1999), adaptados a microplacas. Se usó Trolox como curva de calibración para ambos ensayos. Para FRAP, el extracto se diluyó a niveles que se ubicaron dentro de la curva de Trolox en un intervalo de concentraciones de 0.1295 a 1.6526 mg mL⁻¹, en cada pozo de una microplaca se colocaron 20 µL de la muestra a analizar, 60 µL de agua destilada, 180 µL de disolución FRAP para un total de 260 µL. La mezcla fue agitada y se dejó reaccionar durante 10 min en oscuridad. La absorbancia se midió a 595 nm. Para ABTS el extracto se diluyó a niveles que se ubicaron dentro de la curva de Trolox en un intervalo de concentraciones de 0.2085 a 1.1457 mg mL⁻¹. Con al menos 16 h de anticipación se preparó una mezcla con solución 7.4 mM del reactivo ABTS (2,2'-azino- bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) con una dilución de persulfato de potasio 2.6 mM (K₂S₂O₈). En cada pozo de la microplaca se adicionaron 180 µL de la solución ABTS y 20 µL del extracto de la muestra, se dejó reposar durante 10 min y se leyó la absorbancia a 734 nm. Para ambas lecturas se utilizó un lector de microplacas (software Gen5, Biotek Instruments Inc., Winooski, Vermont, EUA). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en peso seco (µmol g⁻¹ ET en PS).

Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como valor medio de tres réplicas por muestra y se analizaron mediante ANOVA unidireccional. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey y las diferencias se consideraron significativas a $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico InsfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de comparar los valores obtenidos en este trabajo con aquellos de la literatura, en algunos casos fue necesario considerar el porcentaje de humedad. El contenido de fenoles totales se encontró entre 9.67 y 17.81 mg EAG por gramo de muestra en peso seco. Estos datos fueron estadísticamente diferentes, siendo las zarzamoras silvestres Hidalgo 2.3, Chiapas 1 y *R. glaucus* los que presentaron las concentraciones más altas de compuestos fenólicos. Valores superiores (285.06 a 592.61 mg 100 g⁻¹ de EAG en PF) fueron encontrados por Rubio *et al.* (2019) en *Rubus* silvestres, mientras que en plantas cultivadas de zarzamora y fresa Wang y Lin (2000) reportaron valores similares a los de este estudio (204 a 268 mg 100 g⁻¹ de EAG en PF). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios biosintetizados por las plantas para su protección contra la radiación UV, plagas y enfermedades. Según Cheynier *et al.* (2013), estos compuestos han permitido la evolución de plantas terrestres y se acumulan en los tejidos para hacer frente a factores adversos, bióticos y abióticos, que puedan perturbar a las plantas en su ecosistema.

Dentro de los compuestos fenólicos se encuentran los flavonoides, siendo un grupo importante de metabolitos secundarios producidos por las plantas y genéticamente regulados e inducidos por factores ambientales (Gimeno, 2004). Estos compuestos tienen actividad antioxidante elevada, por lo que son capaces de reducir la producción de radicales libres (Garrido *et al.*, 2013). *Rubus glaucus* tuvo la mayor concentración de flavonoides totales (10.27 mg g⁻¹ de EC en PS), este valor es alto comparado con el reportado por Lee *et al.* (2014) (14.28 a 14.90 mg 100 g⁻¹ PF); asimismo, se documentó en otras investigaciones para la misma especie una concentración de flavonoides de 43 mg 100 g⁻¹ de EQ en PF (Rubio *et al.*, 2019). En *R. adenotrichus* Martínez-Cruz *et al.* (2011) encontraron valores de 5.26 mg g⁻¹ equivalentes de catequina (EC) en peso seco (PS) en esta especie silvestre de zarzamora.

Como se observa en el Cuadro 1, el contenido total de antocianinas mostró diferencias estadísticas significativas entre las especies estudiadas. La zarzamora silvestre Hidalgo 2.3 tuvo mayor concentración, con un valor medio de 19.19 mg g⁻¹ equivalentes a cianidina 3-glucósido (EC3G) en PS, seguidas por frutos de *Rubus* silvestres junto con la comercial, seguida por *R. glaucus* y por último *R. niveus*. Estos resultados estuvieron por debajo de otras especies de *Rubus* donde se obtuvieron valores que van de 5.69 a 11.92 mg g⁻¹ de materia fresca (Wada y Ou, 2002) y similares a los indicados por Zorzi *et al.* (2020) de 0.2 y 2.1 mg g⁻¹ de EC3G en PF en *R. fruticosus* y *R.*

POTENCIAL NUTRACÉUTICO EN *Rubus*
ideaeus, respectivamente. Esta diversidad de resultados
puede

Rev. Fitotec. Mex. Vol. 47 (1) 2024

deberse a la complejidad varietal que se manifiesta en la composición de metabolitos secundarios incidiendo en la calidad de frutos (Lee *et al.*, 2012).

La capacidad antioxidante se determinó por los ensayos ABTS y FRAP. En la primera metodología el persulfato de potasio generó un radical al reaccionar con el ABTS, por lo cual, se evaluó la capacidad de los extractos de las muestras para atrapar el radical generado por la reacción de oxidación; posteriormente, hay una disminución en la absorbancia a una longitud de onda de 732 nm. La metodología del FRAP permite medir la capacidad que tiene el extracto para reducir el ión férrico (Fe^{+3}) presente en una solución con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a la forma ferrosa (Fe^{+2}), que presenta un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590 y 595 nm (Rojano *et al.*, 2011). Los valores de capacidad antioxidante fueron similares para las tres primeras muestras, siendo *R. glaucus* y *R. niveus* las que tuvieron los valores más bajos. Aquí sobresalieron las muestras silvestres colectadas en los estados de Hidalgo y Chiapas (Cuadro 1). Los frutos de la planta Hidalgo 2.3 mostraron la concentración de antocianinas totales más alta; sin embargo, en la capacidad antioxidante comparte el mismo grupo con las otras dos muestras silvestres, esto puede deberse a las diferencias en el perfil de los diferentes tipos de antocianinas de cada especie (Lee *et al.*, 2015). Deighton *et al.* (2000) analizaron las propiedades antioxidantes de especies de *Rubus* domesticadas y silvestres y encontraron valores entre 0 y 25.3 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$, valores similares a los reportados en este estudio (19.67 a 93.5 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$). Estas diferencias entre especies y genotipos pueden corresponder a factores

genéticos que influyen en la capacidad antioxidante de un cultivo, puesto que existen procesos de hibridación que llevan a la variabilidad genética y a diferente nivel de ploidía, que va desde diploides hasta dodecaploides (Meng y Finn, 2002).

Los resultados obtenidos en cada una de las pruebas son diferentes, lo cual posiblemente se deba al tipo de especie evaluada. Así, por ejemplo, las zarzamoras presentan mayores concentraciones de flavonoides y antocianinas que las frambuesas y, por consiguiente, mayor capacidad antioxidante (Sariburun *et al.*, 2010). Esto concordó con el estudio de Zorzi *et al.* (2020) donde evaluaron diferentes tipos de frutillas, como grosellas, arándanos, zarzamoras y frambuesas, siendo estas últimas las de menor cantidad de antocianinas. En este estudio se encontró que *R. niveus*, la única frambuesa, tuvo los valores más bajos en las variables evaluadas. También influyen las condiciones ambientales del lugar de procedencia de las plantas silvestres, tal como lo documentaron Rubio *et al.* (2019), quienes evaluaron las mismas variables en frutos silvestres de *Rubus*. Hernández *et al.* (2019) obtuvieron diferencias significativas en materiales procedentes de la región de la Sierra Norte de Oaxaca, México y cultivares comerciales; las frutillas correspondientes a las plantas silvestres tuvieron mayor concentración de metabolitos secundarios y una mayor capacidad antioxidante.

Resultados semejantes se obtuvieron en el presente estudio, las frutillas de las plantas silvestres fueron las que destacaron, como el caso de la muestra de Hidalgo 2.3. Esto puede deberse a las condiciones ecológicas

Cuadro 1. Contenido de fenoles, flavonoides, antocianinas totales y capacidad antioxidante (CA) por poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) y 2,2'-azinobis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS) en frutos de especies del género *Rubus*.

Cultivar	Fenoles totales (mg EAG g^{-1})	Flavonoides (mg EC g^{-1})	Antocianinas (mg EC3G g^{-1})	ABTS ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$)	FRAP ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$)
Hidalgo 2.3	17.81 $\pm$ 1.16 a	3.48 $\pm$ 0.50 c	16.16 $\pm$ 0.65 a	1357.29 $\pm$ 20.76 a	93.5 $\pm$ 6.03 a
Hidalgo 2.4	14.53 $\pm$ 0.72 b	2.28 $\pm$ 0.20 c	7.74 $\pm$ 0.72 b	1192.47 $\pm$ 46.81 b	68.1 $\pm$ 6.19 c
Chiapas 1	17.48 $\pm$ 0.54 a	2.45 $\pm$ 0.08 c	7.06 $\pm$ 0.42 b	1276.07 $\pm$ 42.49 ab	75.84 $\pm$ 2.89 bc
Tupy	14.34 $\pm$ 1.39 b	2.97 $\pm$ 0.05 c	7.78 $\pm$ 0.09 b	1190.6 $\pm$ 42.81 b	73.09 $\pm$ 2.88 bc
Comercial	13.88 $\pm$ 0.45 b	2.95 $\pm$ 0.10 c	6.65 $\pm$ 0.41 b	1320.99 $\pm$ 46.64 a	84.34 $\pm$ 10.40 ab
<i>R. glaucus</i>	15.68 $\pm$ 0.38 ab	10.27 $\pm$ 0.58 a	3.71 $\pm$ 0.29 c	1061.8 $\pm$ 23.32 c	38.22 $\pm$ 2.17 d
<i>R. niveus</i>	9.67 $\pm$ 0.47 c	8.02 $\pm$ 1.05 b	0.88 $\pm$ 0.05 d	715.09 $\pm$ 25.22 d	19.67 $\pm$ 0.94 e
DSH (0.05)	2.27	1.39	1.24	103.32	15.08

Medias con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). EAG: equivalente de ácido gálico, EC: equivalente de catequina, EC3G: equivalente de cianidina-3-glucósido, ET: equivalente de trolox, DSH: diferencia significativa honesta. Datos expresados como

en que se desarrollan, por la necesidad de producir metabolitos secundarios en defensa ante depredadores, en comparación con los frutos comerciales (Hernández et al., 2019).

CONCLUSIONES

En este estudio destacaron las especies silvestres del género *Rubus* colectadas en los estados de Hidalgo y Chiapas, México por su mayor potencial nutraceutico, atribuido principalmente a su contenido fenolico. Esta característica es de interés para la selección de materiales elite en programas de mejoramiento genético para obtener frutillas con atributos sensoriales más atractivos y propiedades antioxidantes superiores que contribuyan a tolerar las condiciones ambientales adversas.

BIBLIOGRAFÍA

- Benzie I. F. F. and J. J. Strain (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70-76, <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bhatt S. C., B. Naik, V. Kumar, A. K. Gupta, S. Kumar, M. Singh, ... and S. Rustagi (2023) Untapped potential of non-conventional *Rubus* species: bioactivity, nutrition, and livelihood opportunities. *Plant Methods* 19:114, <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01094-y>
- Brennan R. M., P. D. S. Caligari, J. R. Clark, P. N. Brás de Oliveira, C. E. Finn, J. F. Hancock, ... and D. Simpson (2014) Berry crops. In: *Horticulture: Plants for People and Places*. Vol. 1. G. Dixon and D. Aldous (eds.). Springer, Dordrecht, The Netherlands. pp:301-325, https://doi.org/10.1007/978-94-017-8578-5_9
- Cancino-Escalante G. O., L. R. Sánchez-Montaña, 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, <https://doi.org/10.11144/javeriana.SC16-3.pcor>
- Chaves-Silva S., A. L. Dos Santos, A. Chalfun-Júnior, J. Zhao, L. E. P. Peres and V. A. Benedito (2018) Understanding the genetic regulation of anthocyanin biosynthesis in plants – Tools for breeding purple varieties of fruits and vegetables. *Phytochemistry* 153:11-27, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.013>
- Cheyrier V., G. Comte, K. M. Davies, V. Lattanzio and S. Martens (2013) Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry* 72:1-20, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>
- Deighton N., R. Brennan, C. Finn and H. V. Davies (2000) Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1307-1313, [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200007\)80:9<1307::AID-JSFA638>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200007)80:9<1307::AID-JSFA638>3.0.CO;2-P)
- Di Rienzo J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. A. Gonzalez, E. M. Tablada y C. W. Robledo (2020) InfoStat. Centro de Transferencia InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Di Vittori L., L. Mazzoni, M. Battino and B. Mezzetti (2018) Pre-harvest factors influencing the quality of berries. *Scientia Horticulturae* 233:310-322, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.058>
- Foito A., G. J. McDougall and D. Stewart (2018) Evidence for health benefits of berries. *Annual Plant Reviews Online* 1:105-148, <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0600>
- Foster T. M., N. V. Bassil, M. Dossett, M. L. Worthington and J. Graham (2019) Genetic and genomic resources for *Rubus* breeding: a roadmap for the future. *Horticulture Research* 6:116, <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0199-2>
- Garrido G., M. Ortiz y P. Pozo (2013) Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* 1:30-38.
- Gaviria M. C., C. Ochoa O., N. Sánchez M., C. Medina C., M. Lobo A., P. Galeano G., ... y B. Rojano (2009) Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8:519-528.
- Gimeno C. E. (2004) Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm* 23:80-84.
- González R. F. J., S. Rebollar R., J. Hernández-M., J. L. Morales H. and O. Ramírez A. (2019) Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México. *Revista Mexicana de Agronegocios* 44:260-272, <https://doi.org/10.22004/ag.econ.292265>
- Hernández H. I., H. Chávez D., P. Benito B., N. Arellanes J. y A. Pérez S. (2019) Comportamiento postcosecha de frutos de zarzamora (*Rubus* spp.) silvestre en refrigeración. In: *Investigación en la Educación Superior*. Academia Journals. Puebla, Puebla, México. pp:1035-1040.
- Hernández-Rodríguez G., T. Espinosa-Solares, G. Hernández-Eugenio, M. Villa-García, B. Reyes-Trejo and D. Guerra-Ramírez (2016) Influence of polar solutions on the extraction of phenolic compounds from capulin fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society* 60:73-78, <https://doi.org/10.29356/jmcs.v60i2.76>
- Kempler C., H. Hall and C. E. Finn (2012) Raspberry. In: *Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding* Vol. 8. M. L. Badenes and D. H. Byrne (eds.). Springer, Boston, Massachusetts, USA. pp:263-304, https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0763-9_8
- Kubola J. and S. Siriamornpun (2011) Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry* 127:1138-1145, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>
- Lee J., M. Dossett and C. E. Finn (2012) *Rubus* fruit phenolic research: the good, the bad, and the confusing. *Food Chemistry* 130:785-796, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.022>
- Lee H. H., Y. S. Moon, H. K. Yun, P. J. Park and E. J. Kwak (2014) Contents of bioactive constituents and antioxidant activities of cultivated and wild raspberries. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 32:115-122, <https://doi.org/10.7235/hort.2014.13114>
- Lee S. G., T. M. Vance, T. G. Nam, D. O. Kim, S. I. Koo and O. K. Chun (2015) Contribution of anthocyanin composition to total antioxidant capacity of berries. *Plant Foods for Human Nutrition* 70:427-432, <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0514-5>
- Martínez-Cruz N. S., K. Arévalo-Niño, M. J. Verde-Star, C. Rivas-Morales, A. Oranday-Cárdenas, M. A. Núñez-González y M. E. Morales-Rubio (2011) Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltdl (zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 42:66-71.
- Meng R. and C. 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, <https://doi.org/10.21273/JASHS.127.5.767>
- Nile S. H. and S. W. Park (2014) Edible berries: bioactive components and their effect on human health. *Nutrition* 30:134-144, <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007>
- Re R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26:1231-1237, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rodríguez-Bautista G., S. D. Segura L., S. Cruz-Izquierdo, J. López-Medina, N. Cruz-Huerta y L. M. Valenzuela N (2021) Distribución potencial y caracterización eco-climática de especies silvestres de *Rubus* subgenus *Eubatus* en México. *Polibotánica* 52:103-116, <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.8>

- Mart). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 64:6213-6220.
- Romoleroux K. (1996)** Rosaceae. In: Flora of Ecuador 56. G. Harling and L. Andersson (eds.). University of Gothenburg. Göteborg, Sweden; Riksmuseum, Stockholm, Sweden; Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. pp:1-151.
- Rubio O. E., R. E. Pérez S., T. C. Ávila V., J. F. Gómez L. y P. A. García S. (2019)** Propiedades fisicoquímicas de frutos silvestres de *Rubus* con potencial nutracéutico y alimenticio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Pub. Esp. 23:291-301, <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2028>
- SADER, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2023)** Berries, segundo producto del campo con mayor valor de exportación: Agricultura. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de, México. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/berries-segundo-producto-del-campo-con-mayor-valor-de-exportacion-agricultura?idiom=es> (Julio 2023).
- Sariburun E., S. Şahin, C. Demir, C. Türkbent and V. Uylaşer (2010)** Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of Food Science* 75:C328-C335, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01571.x>
- Schulz M. and J. F. Chim (2019)** Nutritional and bioactive value of *Rubus* berries. *Food Bioscience* 31:100438, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100438>
- Shahidi F. and P. Ambigaipalan (2015)** Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods* 18:820-897, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Singleton V. L. and J. A. Rossi (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158, <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Taiz L. and E. Zeiger (2009)** Plant Physiology. 4th edition. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA. 700 p.
- Titirică I., I. A. Roman, C. Nicola, M. Sturzeanu, E. Iurea, M. Botu, ... and A. F. Sestras (2023)** The main morphological characteristics and chemical components of fruits and the possibilities of their improvement in raspberry breeding. *Horticulturae* 9:50, <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010050>
- Wada L. and B. Ou (2002)** Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberrries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:3495-3500, <https://doi.org/10.1021/jf011405l>
- Wang S. Y. and H. S. Lin (2000)** Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:140-146, <https://doi.org/10.1021/jf9908345>
- Yang J. W. and I. S. Choi (2017)** Comparison of the phenolic composition and antioxidant activity of Korean black raspberry, Bokbunja, (*Rubus coreanus* Miquel) with those of six other berries. *CyTA- Journal of Food* 15:110-117, <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1219390>
- Zorzi M., F. Gai, C. Medana, R. Aigotti, S. Morello and P. G. Peiretti (2020)** Bioactive compounds and antioxidant capacity of small berries. *Foods* 9:623, <https://doi.org/10.3390/foods9050623>

CAPÍTULO 4 DIVERSIDAD GENÉTICA DE CRUZAS INTERESPECÍFICAS DE *RUBUS* SPP. CON MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITES⁴

Resumen

Las frutillas del género *Rubus* presentan gran diversidad de especies con características que aún no han sido exploradas y que existe la necesidad de generar híbridos con atributos deseables. El presente estudio evaluó la diversidad genética y citogenética de 37 individuos entre progenitores y progenies derivadas de los cruzamientos entre la mora andina sin espinas (*Rubus glaucus*), la variedad 'Tupy' (*Rubus* L., subg. Eubatus) y la frambuesa silvestre (*Rubus niveus*) mediante 15 marcadores moleculares microsatélites ISSR y 11 SSRs, complementados con análisis citogenéticos para determinar el nivel de ploidía. De los 11 marcadores SSR evaluados, sólo siete amplificaron en dos muestras correspondientes a progenitores, probablemente debido a la especificidad de las secuencias y a la variabilidad en los niveles de ploidía observados en la progenie (diploides a tetraploides). Los 15 cebadores ISSR generaron 130 bandas, con un 59.14 % de loci polimórficos. El número de loci por cebador varió entre 2 (UBC 807, UBC 831) y 11 (UBC 855). La heterocigosidad promedio ($H_e = 0.223$) reveló diversidad genética moderada. A un nivel de similitud de 0.5, los genotipos se agruparon en siete conglomerados, definidos por el progenitor y el tipo de cruce. El coeficiente F_{st} (0.26) evidenció alta diferenciación genética entre grupos, y el AMOVA reveló que el 75 % de la variación se presentó dentro de los grupos, frente a un 25 % entre ellos, lo que sugiere el uso de niveles de jerarquización más finos. Estos resultados resaltan el uso de la hibridación como fuente de variabilidad genética y de desarrollo de híbridos con cruces controladas.

Palabras clave: ISSR, SSR, citogenética, zarzamora, variabilidad genética.

⁴ Sometido a: Sin someter
Estatus: No enviado

Abstract

The berry species within the *Rubus* genus exhibit extensive diversity, including traits that remain unexplored and highlight the need to generate hybrids with desirable characteristics. This study evaluated the genetic and cytogenetic diversity of 37 individuals, including parental lines and progenies derived from crosses between the thornless Andean blackberry (*Rubus glaucus*), the cultivar 'Tupy' (*Rubus* L., subg. *Eubatus*), and the wild raspberry (*Rubus niveus*), using 15 ISSR microsatellite markers and 11 SSR markers, complemented by cytogenetic analyses to determine ploidy levels. Of the 11 SSR markers tested, only seven amplified in two parental samples, likely due to sequence specificity and the ploidy variation observed among progenies (ranging from diploid to tetraploid). The 15 ISSR primers generated 130 bands, of which 59.14 % were polymorphic. The number of loci per primer ranged from 2 (UBC 807, UBC 831) to 11 (UBC 855). The average heterozygosity ($H_e = 0.223$) indicated moderate genetic diversity. At a similarity level of 0.5, the genotypes formed seven clusters, largely defined by the parental line and type of cross. The F_{st} coefficient (0.26) revealed high genetic differentiation among groups, while AMOVA showed that 75 % of the total variation occurred within groups and 25 % among groups, suggesting the need for finer hierarchical analyses. Overall, these results underscore the value of interspecific hybridization as a source of genetic variability and as a tool for developing hybrids through controlled crosses.

Keywords: blackberry, cytogenetics, genetic variability, ISSR, SSR.

4.1 Introducción

El género *Rubus* (familia Rosaceae) comprende aproximadamente 300 especies altamente heterocigotas distribuidas en todo el mundo, con niveles de ploidía que varían desde diploides hasta dodecaploides; la mayoría de ellas presentan reproducción apomíctica (Jennings, 1998). Entre las especies de mayor importancia económica se destacan la mora andina (*Rubus glaucus*), la zarzamora (*R. fruticosus*) y la frambuesa (*R. idaeus*) (Hao et al., 2015).

A nivel mundial, los frutos del género *Rubus* son reconocidos por su alto valor nutricional y funcional, lo que ha impulsado su demanda en los mercados internacionales. México ocupa una posición destacada como uno de los principales productores y exportadores de zarzamora. En 2022, la producción nacional alcanzó 222,608 toneladas en 10,208 hectáreas cultivadas, consolidando al país como el principal productor mundial (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2024). Para 2023, las exportaciones aumentaron

a 238,112 toneladas, ocupando el primer lugar mundial en zarzamora, mientras que la fresa y la frambuesa ocuparon el segundo puesto con 641,552 t y 190,413 t, respectivamente, generando ingresos por 3.937 millones de dólares (SADER, 2025).

La creciente importancia económica de estos frutos se relaciona con sus propiedades nutraceuticas, su aroma, color y contenido de antioxidantes, que los posicionan dentro de la categoría de alimentos funcionales (Buczyński et al., 2024; Sánchez-Velázquez et al., 2024). En consecuencia, las investigaciones recientes se han orientado hacia el mejoramiento genético con el fin de optimizar la calidad del fruto, prolongar su vida postcosecha, incrementar la resistencia a factores bióticos y abióticos, y mejorar las características agronómicas deseables (Ladyzhenskaya et al., 2025)

Teniendo en cuenta la alta diversidad genética presente en el género *Rubus* spp. Se han desarrollado numerosas técnicas moleculares, ya que los marcadores basados en ADN ofrecen resultados más eficaces y confiables en la evaluación de los recursos genéticos permitiendo definir genotipos y distinguir individuos fenotípicamente similares (Alan et al., 2025). Entre éstos, las repeticiones de secuencia simple (ISSR) desarrolladas por Zietkiewicz et al., 1994, se consideran un sistema marcador de referencias debido a su base en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), elevado polimorfismo y productividad (Abdi et al., 2021; Hunková et al., 2023). Este sistema marcador se ha utilizado ampliamente en estudios de determinación de las relaciones filogenéticas entre diferentes especies de mora, determinar la diversidad genética, identificar progenitores y crear mapas genéticos (Guo et al., 2025; Zhou et al., 2024; López et al., 2019; kamnev et al., 2020). En este sentido, se conoce que el uso de marcadores moleculares es muy importante por su rapidez y facilidad de uso. Además, el método de estructuración utilizado para determinar el número de grupos y la cantidad de individuos en ellos mediante ensayo y error de acuerdo con datos genéticos de marcadores ISSR requiere de marcadores de baja correlación (Alan et al., 2025).

La mayoría de los estudios sobre la diversidad genética de las especies de *Rubus* se han realizado en frambuesa: *Rubus idaeus* (Parent et al., 1993; Graham y McNichol, 1995; Graham et al., 1997), *Rubus occidentalis* (Parent y Page, 1998), *Rubus alceifolius* (Amsellem et al., 2001), híbridos de *Rubus idaeus* y *Rubus caesius* (Alice, 1997), *R. occidentalis* (Dossett et al., 2012) y *Rubus buergeri* (Miyashita et al., 2015). Estos estudios utilizaron marcadores de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), región amplificada caracterizada por secuencia (SCAR), espaciador transcrito interno (ITS) y repetición de secuencia simple (SSR). El uso de marcadores ha permitido confirmar la filogenia de *Rubus* y sus híbridos, así como comprender su evolución (Šarhanová et al., 2017). En consecuencia, ha aumentado el interés por el uso de marcadores moleculares para facilitar el mejoramiento genético de la zarzamora. El análisis multiplexo de huellas genéticas, la caracterización del germoplasma, el desarrollo de cebadores, la elaboración de mapas genéticos y bibliotecas de etiquetas de secuencia expresada (EST) de zarzamora, la selección de plántulas asistida por marcadores y el mapeo de loci de rasgos cuantitativos (QTL) se han empleado en diversos estudios basados en ADN en zarzamora (Castro et al., 2013; Sharma et al., 2024). Especialmente se han utilizado ampliamente los marcadores de Secuencia Simple Repetida (SSR), tanto para los estudios de diversidad en zarzamoras como para la evaluación de sus híbridos, debido a su naturaleza multialélica, codominante, abundancia en el genoma, transferibilidad y alto grado de polimorfismo (Sharma et al., 2021).

En México, los estudios sobre zarzamora se han enfocado principalmente en la caracterización morfológica, problemas fitosanitarios y análisis fitoquímicos, mientras que la aplicación de marcadores moleculares aún es limitada. Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética en cruza entre la mora andina sin espinas (*R. glaucus*), la variedad 'Tupy' (*Rubus* L., subg. *Eubatus*) y la frambuesa silvestre (*R. niveus*) mediante el uso de marcadores ISSR y SSR, con el propósito de generar información que contribuya a los programas de mejoramiento genético y conservación de germoplasma en *Rubus*.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue caracterizar molecularmente los híbridos producto de cruza controladas entre las zarzamoras *Rubus glaucus*, variedad Tupy y la frambuesa *Rubus niveus* para identificar su diversidad genética entre fenotipos de la F1 y sus progenitores.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Material vegetal

Se evaluó un total de 37 individuos de *Rubus* spp., conformados por tres progenitores: *R. glaucus*, *R. niveus* y la variedad Tupy y su respectiva progenie. Así se incluyeron 23 individuos provenientes de la cruza *R. glaucus* × *R. niveus* y 11 individuos resultantes del cruzamiento *R. glaucus* × ‘Tupy’ (Cuadro 1). Tanto los progenitores como su progenie fueron establecidos en los invernaderos del Programa de Posgrado del Campo Agrícola Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, localizada en el municipio de Texcoco, Estado de México, México (19°51' latitud norte, 98°88' longitud oeste y altitud de 2,258 m s. n. m.).

Cuadro 1. Progenitores y progenie de *Rubus* spp. usados en la caracterización molecular.

Individuo	Tipo (cruza)	ID	Individuo	Tipo (Cruza)	ID
1	<i>R. glaucus</i>	G	20	gxn20	gn20
2	<i>R. niveus</i>	N	21	gxn21	gn21
3	Var. ‘Tupy’	T	22	gxn22	gn22
4	gxn1	*gn1	23	gxn23	gn23
5	gxn2	gn2	24	gxn24	gn24
6	gxn3	gn3	25	gxn25	gn25
7	gxn4	gn4	26	gxn28	gn28
8	gxn5	gn5	27	gxT1	**gT1
9	gxn6	gn6	28	gxT2	gT2
10	gxn7	gn7	29	gxT3	gT3
11	gxn8	gn8	30	gxT4	gT4
12	gxn9	gn9	31	gxT7	gT7
13	gxn10	gn10	32	gxT8	gT8
14	gxn12	gn12	33	gxT11	gT11
15	gxn14	gn14	34	gxT19	gT19
16	gxn15	gn15	35	gxT24	gT24
17	gxn17	gn17	36	gxT25	gT25
18	gxn18	gn18	37	gxT28	gT28
19	gxn19	gn19			

*gn, híbridos de la cruce entre *R. glaucus* y *R. niveus*; **gT, híbridos de la cruce entre *R. glaucus* y Var. Tupy.

4.2.2 Extracción de ADN y amplificación de marcadores ISSR y SSR

La caracterización molecular se realizó en el Laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Texcoco, Estado de México (2,230 msnm). Para la extracción de ADN, se recolectaron de dos a tres folíolos por planta, los cuales fueron macerados con nitrógeno líquido. El ADN genómico se obtuvo mediante el método CTAB (bromuro de cetil-trimetil amonio) y el método Dellaporta modificado por Morillo et al. (2014).

La calidad del ADN se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1.2 % utilizando tampón TAE 1X a 140 V durante 30 minutos en una cámara horizontal (Thermo Scientific OWL D3-14). Los geles se tiñeron con GelRed® y se visualizaron en un transiluminador UVP. La cuantificación del ADN se realizó con un NanoDrop Thermo Scientific 2000c, y las muestras se diluyeron en agua grado HPLC a un volumen final de 100 μL con una concentración de 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, almacenándose a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. Para el análisis con marcadores ISSR, se probaron 27 iniciadores sintetizados por Invitrogen™, de los cuales se seleccionaron 15 para la caracterización molecular (Cuadro 2). En el caso de los marcadores SSR, se emplearon 11 iniciadores. Las reacciones de PCR se prepararon en tubos de 1.5 mL, con un volumen final de 25 μL por muestra, conteniendo: amortiguador 1X, MgCl_2 3 mM, dNTPs 0.2 mM, Taq ADN polimerasa 1.5 U, iniciador 2 μM y 25 ng de ADN genómico.

La amplificación se realizó en un termociclador Veriti 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 min. 35 ciclos de: desnaturalización a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 s, hibridación a temperaturas específicas por iniciador - $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ACA, UBC 807, UBC 812, UBC 831), $52\text{ }^{\circ}\text{C}$ (UBC 811, UBC 829, UBC 830, UBC 836, UBC 853, UBC 855, UBC 856), $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ (UBC 835), $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ (CCA), y $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ (CGA, UBC 841) falta el tiempo—, seguidos de una extensión final a $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 7 min. Los productos amplificados se

separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % durante 45 minutos a 140 V, y se visualizaron con el software VisionWorks®. En cada ensayo se incluyó un control negativo (blanco) para verificar la ausencia de contaminación en las reacciones de PCR.

Cuadro 2. Listado de marcadores ISSR para caracterización molecular de *Rubus* spp.

Iniciadore s	Secuencia* (5'a 3')	Iniciadore s	Secuencia * (5'a 3')	Iniciadore s	Secuencia * (5'a 3')
ACA	BDB (ACA) ₅	UBC829	(TG) ₈ C	UBC856	(AC) ₈ YA
UBC807	(AG) ₈ T	UBC830	(TG) ₈ G	UBC835	(AG) ₈ CY
UBC812	(GA) ₈ A	UBC836	(AG) ₈ CTA	CCA	DDB(CCA) ₅ DHB(CGA)
UBC831	(AT) ₈ YA	UBC853	(TC) ₈ RT	CGA	⁵
UBC811	(GA) ₈ C	UBC855	(AC) ₈ YT	UBC841	(GA) ₈ CTC

*Las designaciones son usadas para los sitios degenerados: H (A ó T ó C); B (G ó T ó C); R (A ó G); D (G ó A ó T); Y (C ó T).

Cuadro 3. Listado de marcadores SSR usados para la caracterización molecular de *Rubus* spp.

Locus	Secuencia
RgA6	F: AGCGCAAGGACTTCTACC R: TTCAGCTCCGGTAGTAGC
RgA 12-1	F: TCATGTCATGTTTCGTGTG R: CTAACACGCGATAGAATAGG
CHE5 AY500570	F: CAAAACAAACAACAGACCATTATAC R: CCATTTTCGAGTAAGAAGTTAATTAG
mRaCIRRI1G3	F: CTCTACAAAAGGATCTGCATGA R: CAGCAAAAGTGAAATGGTTCA
CHE10AY500577	F: ACCATCAGAATTTTACCCACCACCC R: ATCATCATCATCAACAGAGTCTCCC
RiM019	F: ATTCAAGAGCTTAACTGTGGGC R: CAATATGCCATCCACAGAGAAA
RhM003	F: CCATCTCCAATTCAGTTCTTCC R: AGCAGAATCGGTTCTTACAAGC
RhM011	F: AAAGACAAGGCGTCCACAAC R: GGTTATGCTTTGATTAGGCTGG
mRaCIRRI1H3	F: CTGGATGTGTGGGTGTGTATC R: CCTGGATATGTTTACCCTGACC
mRaCIRRIV2A8	F: TAAAAAGGCGCAACAGTCG R: AGACACAGAAACAGGCATCG
Rubus 116 ^a	F: CCAACCCAAAAACCTTCAAC R: GTTGTGGCATGGCCTTTTAT

F: Forward. R: Reverse

4.2.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó a partir de una matriz binaria construida con base en la presencia (1) o ausencia (0) de las bandas obtenidas. La similitud genética entre los individuos se estimó mediante el coeficiente de Nei y Li (1979). El análisis de agrupamiento se efectuó con el módulo SAHN del programa NTSYS-pc (Numerical Taxonomy System for Personal Computer, versión 2.02), utilizando el método de agrupamiento jerárquico promedio (UPGMA). A partir de estos resultados se generó un dendrograma con el subprograma TREE del mismo paquete estadístico. La diversidad genética se evaluó mediante la estimación de la heterocigosidad insesgada y el porcentaje de loci polimórficos, utilizando el software TFPGA (Tools for Population Genetic Analyses, versión 1.3, 1997). Asimismo, se calculó el estadístico F insesgado con un intervalo de confianza del 95 % para determinar la diferenciación genética entre grupos. El Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) se llevó a cabo empleando el programa GenAlEx versión 6.41, con el propósito de cuantificar la distribución de la variación genética dentro y entre los grupos formados.

4.3 Resultados y discusión

Los 15 iniciadores ISSR evaluados generaron un total de 130 bandas, de las cuales 78 (59.14 %) fueron polimórficas, lo que evidenció un nivel moderado de variabilidad genética entre los genotipos analizados. El número de bandas amplificadas por iniciador varió entre tres (UBC 831) y catorce (UBC 855), siendo este último el que produjo el mayor número de loci polimórficos (11 bandas), seguido por UBC 811 y UBC 835, con ocho bandas cada uno (Cuadro 4).

Resultados contrarios a los obtenidos por Alan et al. (2025), quienes utilizaron marcadores ISSR para evaluar la diversidad genética y la estructura poblacional de zarzamora en Turquía, encontrando un total de 293 bandas, en donde 292 fueron polimórficas, y el porcentaje de polimorfismo fue de 99.75 %. En estudios previos sobre zarzamoras, se ha observado que el número de bandas por marcador y el porcentaje de polimorfismos son mayores. Estas diferencias

pueden atribuirse al background genético utilizado y la diversidad de los cebadores ISSR (Hunková et al., 2023; Abdi et al., 2021; Marulanda et al., 2012).

Cuadro 4. Número de bandas, número y porcentaje de loci polimórficos, heterocigosidad estimada (He), coeficiente de diferenciación genética (F_{st}) de 15 iniciadores ISSR evaluados (SD de 0.095).

Iniciador	Bandas totales	Loci polimórficas.	Loci Polimórficos (95 %)	He	F_{st}
ACA	5	3	60	0.181 6	0.294 4
CCA	6	3	50	0.216 8	0.127 5
CGA	8	3	37.5	0.190 5	0.481 1
UBC807	5	2	40	0.229 3	0.355 1
UBC811	11	8	72.73	0.248 8	0.392 8
UBC812	6	4	66.67	0.144 8	0.586 8
UBC829	8	6	75	0.211 1	0.208 9
UBC830	9	5	55.56	0.201 4	0.292 6
UBC831	3	2	66.67	0.358	0.105 5
UBC835	11	8	72.73	0.249 4	0.173 7
UBC836	12	7	58.33	0.281 4	0.174 1
UBC841	13	6	46.15	0.186 9	0.326 3
UBC853	12	6	50	0.13	0.086 1
UBC855	14	11	78.57	0.222	0.165 3
UBC856	7	4	57.14	0.291	0.143 5
Total	130	78	59.14	0.223	0.261

Heterocigosidad estimada (He), coeficiente de diferenciación genética (F_{st}).

Estudios previos realizados en mora andina (*Rubus glaucus*) en Colombia, utilizando la misma técnica de marcadores ISSR también conocidos como RAMs

(Random Amplified Microsatellites), han indicado niveles de diversidad genética similares a los obtenidos en el presente estudio como lo reportado por Dotor-Robayo et al. (2016) encontraron una heterocigosidad esperada (H_e) de 0.29 y un coeficiente de diferenciación genética (F_{st}) de 0.29 en poblaciones de mora andina del departamento de Boyacá. De manera comparable, Morillo et al. (2005) estimaron una H_e de 0.31 y un F_{st} de 0.60 en la colección de mora de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira (Valle del Cauca), empleando el mismo tipo de marcadores.

Por otra parte, el uso de microsatélites (SSR) en investigaciones sobre frutillas ha mostrado una mayor capacidad para detectar polimorfismo. Por ejemplo, Lebedev et al. (2020) indicaron una H_e de 0.51 en estudios sobre la ruta de los flavonoides en *Fragaria* sp. y *Rubus* sp. utilizando 25 cebadores SSR. Resultados aún más elevados fueron descritos por López et al. (2018) en *R. glaucus* Benth., donde se emplearon 22 iniciadores, de los cuales 15 amplificaron eficazmente 29 loci y 58 alelos, alcanzando una H_e de 0.60. Las diferencias entre los valores de heterocigosidad observados con ISSR y SSR pueden atribuirse principalmente a la naturaleza de los marcadores utilizados. Mientras que los ISSR son dominantes y no permiten distinguir entre individuos homocigotos y heterocigotos, los SSR son codominantes, lo que posibilita detectar ambas variantes alélicas en un locus y, por tanto, incrementar las estimaciones de heterocigosidad de encontrarse la secuencia específica para este marcador.

La heterocigosidad esperada (H_e) osciló entre 0.13 para el iniciador UBC 853 y 0.358 para UBC 831, con un promedio general de 0.223 para la población total. Estos valores reflejan una diversidad genética moderada, posiblemente relacionada con el grado de parentesco entre los individuos analizados, ya que las progenies corresponden a hermanos completos y medios hermanos. Este patrón también puede atribuirse al flujo génico existente entre diferentes poblaciones de *Rubus*, favorecido por el intercambio de material vegetal entre agricultores y por las formas vegetativas de propagación utilizadas en los cultivares.

De igual manera, el porcentaje total de loci polimórficos (59.14 %) sustentó la presencia de una variabilidad genética intermedia dentro de la población estudiada. Entre los iniciadores, UBC 855 presentó el mayor nivel de polimorfismo (78.57 %), equivalente a 11 bandas polimórficas, seguido por UBC 811 y UBC 835, con 72.73 % y 8 bandas cada uno (Cuadro 4). La alta capacidad discriminante de estos iniciadores sugiere su potencial utilidad para detectar variabilidad genética en especies relacionadas del género *Rubus* y para su aplicación en programas de mejoramiento genético y caracterización molecular.

El análisis de similitud genética, con base en el coeficiente de Nei y Li (1979), permitió distinguir los 37 individuos evaluados en siete grupos a un nivel de similitud de 0.5 (Figura 1). En el primer grupo se concentró la mayoría de los genotipos producto del cruzamiento entre *R. glaucus* y *R. niveus* (identificados como “gn”). A un coeficiente de similitud de 0.70, se ubicó el progenitor *R. glaucus*, lo que sugiere la presencia predominante de bandas de origen materno en las progenies F_1 . Este patrón puede explicarse por la heredabilidad de secuencias genéticas amplificadas mediante marcadores ISSR, que suelen reflejar la contribución genómica del parental femenino.

El segundo grupo identificado en el análisis de similitud estuvo conformado por los dos progenitores masculinos, *R. niveus* y la variedad Tupy, con un coeficiente de similitud de 0.58, ligeramente más distante del progenitor femenino (*R. glaucus*) de la craza GXN. A pesar de pertenecer a especies distintas, ambos parentales se originan del mismo género (*Rubus*) y comparten un acervo genético cercano, lo que explica la posibilidad de cruzamiento entre zarzamoras y frambuesas (Jennings, 1978), como ocurrió en el presente estudio. *Rubus niveus*, perteneciente al subgénero *Idaeobatus* al que también pertenece *R. idaeus* (frambuesa), presenta drupeolas no adheridas al receptáculo floral, característica distintiva de las frambuesas, a diferencia de *R. glaucus*, cuyas drupeolas permanecen unidas al receptáculo.

Por su parte, la ‘Tupy’ pertenece al subgénero *Eubatus* y se originó a partir del

cruzamiento entre el cultivar uruguayo 'Uruguai' y el cultivar 'Comanche' (Moore et al., 1974; Raseira et al., 1984). El cultivar 'Comanche', desarrollado en la Universidad de Arkansas (EE. UU.), proviene de la cruce entre 'Brazos' y 'Darrow' en 1974. A su vez, 'Brazos', obtenido por la Universidad de Texas en 1959, deriva de uno de los primeros programas de mejoramiento genético de zarzamoras y frambuesas desarrollados en esa región desde el siglo XIX (Antunes, 2002). Este historial genético evidencia que 'Tupy' posee una composición genómica híbrida compleja, resultado de sucesivos eventos de hibridación entre especies silvestres y cultivadas, lo cual podría explicar su comportamiento intermedio en el agrupamiento genético obtenido.

Los grupos tres y cuatro del dendrograma agruparon los genotipos F_1 derivados del cruzamiento *R. glaucus* × 'Tupy', con una similitud promedio de 0.46, que incluye 10 de los 11 individuos analizados. El genotipo gT28, en cambio, se separó del resto, conformando el grupo cinco, a una distancia genética de 0.34. Esta divergencia podría deberse al número reducido de bandas amplificadas con los 15 iniciadores ISSR utilizados, fenómeno similar al observado en los grupos seis y siete, donde se agruparon los genotipos gn3, gn4, gn5, gn6 y gn7. Estas diferencias pueden estar asociadas tanto a limitaciones técnicas en la amplificación del ADN producto de la variabilidad intrínseca de las secuencias diana de los iniciadores como a variaciones morfológicas presentes entre las progenies, las cuales podrían relacionarse con la ausencia o presencia diferencial de bandas amplificadas.

Los resultados de este estudio muestran que la diversidad genética y los patrones de agrupamiento de los genotipos evaluados obedece a la similitud genética que se relaciona principalmente más que con el origen geográfico, sin embargo, las evaluaciones del germoplasma de Turquía con ISSR mostraron que los agrupamientos de los genotipos pueden variar según la variación intraespecífica y el origen geográfico. Indicando que el aislamiento geográfico y el flujo génico limitado pueden influir significativamente en la estructura genética. Por lo tanto, respalda la idea de que el origen geográfico debe considerarse un factor

importante en la evaluación de la diversidad genética (Alan et al., 2025).

El coeficiente de diferenciación genética (F_{st}) estimado para el total de la población, utilizando los 15 iniciadores ISSR, fue de 0.261 ± 0.095 , valor que, de acuerdo con los criterios de Wright (1978), indica una alta diferenciación genética entre los genotipos evaluados. Este resultado sugiere la existencia de un flujo génico limitado y un alto nivel de estructuración poblacional, posiblemente derivado de la naturaleza reproductiva y el origen parental de los materiales analizados. Esta proximidad genética dentro del género *Rubus* permitió el cruzamiento interespecífico. Aunque las zarzamoras presentan mecanismos de propagación predominantemente asexual como acodos, esquejes o estacas, los resultados evidencian que aún mantienen niveles considerables de variabilidad genética que debe preservarse e incorporarse en programas de mejoramiento genético orientados a ampliar la base genética de los cultivares comerciales y fortalecer la adaptabilidad de las poblaciones cultivadas.

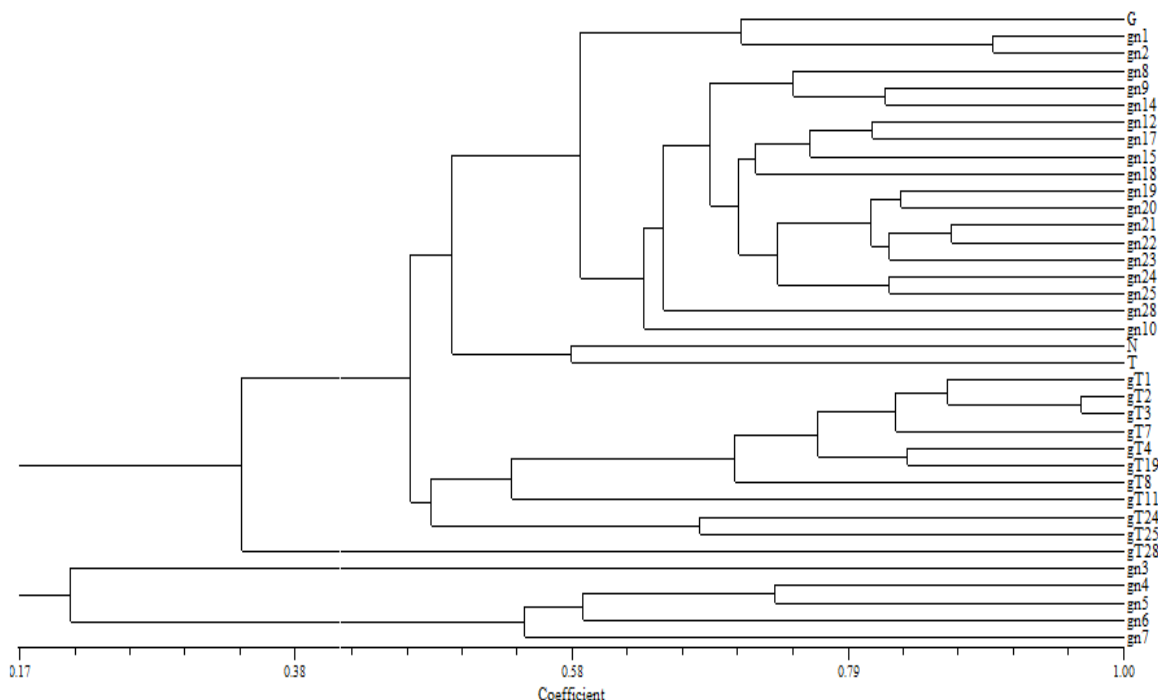


Figura 1. Dendrograma de la estructura genética de 37 individuos de *Rubus* spp. basado en el coeficiente de Nei-Li y calculado de los datos combinados de 15 marcadores ISSR.

El análisis de agrupamiento mediante el método UPGMA permitió identificar tres

grupos genéticamente relacionados entre los parentales y las progenies (Figura 2). El primer grupo correspondió a los progenitores, los cuales se separaron claramente de los grupos dos y tres, que se originaron a partir de un punto común de similitud genética. Esta estructuración sugiere que la distancia genética entre los padres y sus descendientes es mayor que la observada entre las progenies de los cruzamientos *R. glaucus* × *R. niveus* y *R. glaucus* × ‘Tupy’.

La cercanía genética entre las progenies se explica por la presencia de un progenitor común, la mora andina sin espinas (*R. glaucus*), que actuó como planta madre en ambas cruza. En consecuencia, las descendencias presentan relaciones de parentesco directo, conformadas por hermanos completos y medios hermanos, respectivamente, entre los grupos dos y tres. Este patrón de agrupamiento es consistente con la herencia compartida de loci maternos y refleja la influencia del parental femenino en la estructura genética final de la población, lo cual concuerda con los patrones de similitud observados mediante los marcadores ISSR.

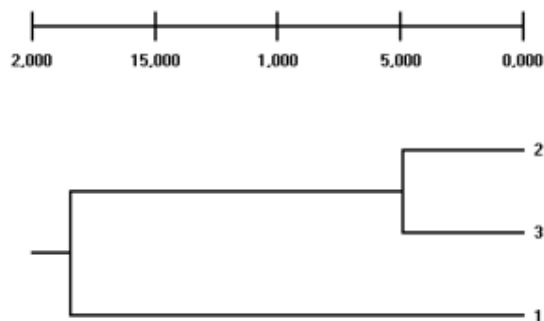


Figura 2. Dendrograma obtenido con el método UPGMA usando el programa TFPGA para los tres grupos evaluados. Grupo 1) progenitores. Grupo 2) plantas procedentes de la cruza *R. glaucus* x *R. niveus* Grupo 3) Plantas procedentes de la cruza *R. glaucus* x ‘Tupy’.

Este análisis es un método eficaz para comprender la estructura poblacional de genotipos de mora, y sus resultados aportan información valiosa sobre cómo las diferencias regionales influyen en la diversidad genética y el flujo génico. Además, nos ha ayudado a comprender mejor cómo varía la estructura genética

a nivel regional y cómo cada población conforma su composición genética. Investigaciones previas sobre especies de *Rubus* hallaron que Zhou et al. (2024) identificaron cuatro subpoblaciones en 132 individuos silvestres de *R. chingii*. Han et al. (2024) informaron que la frambuesa negra (*Rubus coreanus* Miq.), que tiene una amplia distribución entre las especies de *Rubus* presentes de forma natural en Corea, consta de tres grupos genéticos. Veljković et al. (2019), incluyendo los cultivares de mora Loganberry y Tayberry, identificaron tres subpoblaciones entre 135 individuos de *Rubus idaeus* de siete poblaciones, mientras que Lee et al. (2016) examinaron de forma similar la estructura poblacional de 69 especies de *Rubus* e informaron que el número de subpoblaciones era $K=6$. Los hallazgos obtenidos brindan la oportunidad de comprender mejor la diversidad genética y los procesos evolutivos de diferentes poblaciones regionales, al tiempo que revelan cómo las diferencias en las estructuras genéticas y el flujo génico de las especies de mora están influenciadas por las condiciones regionales (Alan et al., 2025).

El Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) mostró que el 75 % de la variación total se atribuyó a las diferencias entre individuos dentro de los grupos, mientras que el 25 % restante corresponde a la diferenciación entre grupos. Estos resultados indican que la mayor variabilidad genética se encuentra dentro de cada conglomerado, tanto en las progenies derivadas de las cruzas como en los parentales, lo cual se corroboró en el dendrograma de similitud genética (Figura 1), donde se observó el distanciamiento progresivo de los genotipos a distintos coeficientes de similitud. Este patrón sugiere que, aun dentro de cada grupo, existe una diversificación genética significativa, lo que resalta el potencial de estas poblaciones para programas de caracterización morfológica y mejoramiento genético (Cuadro 5).

Resultados similares fueron reportados por Dotor-Robayo et al. (2016) en la caracterización de *R. glaucus* en Boyacá, Colombia, donde el 77 % de la variación se presentó entre individuos y el 23 % entre grupos. De manera comparable, Moreno-Medina y Casierra-Posada (2021), utilizando marcadores

SSR en 13 materiales silvestres y cultivados del género *Rubus*, encontraron un patrón de estructuración genética equivalente. Este comportamiento, recurrente en los estudios moleculares del género *Rubus*, podría deberse a la estrecha relación genética entre especies silvestres y cultivares, que propicia un flujo génico elevado y una diversidad genética mantenida dentro de los grupos. Dicho fenómeno puede explicarse por la hibridación natural, la propagación vegetativa y la plasticidad genómica del género, factores que contribuyen a la amplia variabilidad intrapoblacional observada en esta y otras investigaciones.

Cuadro 5. Análisis de varianza molecular (AMOVA) entre y dentro de los grupos utilizando 15 marcadores ISSRs. ($P \leq 0.001$).

Fuente de variación	G l	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Componentes de variación	Variación (%)
Entre grupos	2	128.83	64.41	5.14	25%
	3				
Dentro grupos	4	512.47	15.07	15.07	75%
	3				
Total	6	641.30		20.22	100%

Gl: grados de libertad.

Para el caso de los marcadores microsatélites de los once solo siete amplificaron para dos muestras que corresponden a los progenitores *R. glaucus* y *R. niveus*. Esto puede deberse a la especificidad del marcador ya que debe encontrarse la secuencia para amplificar el ADN. Estudios preliminares citogenéticos de los progenitores y la progenie muestran que los niveles de ploidía varían para cada uno de ellos desde diploides $2n=2x=14$ hasta tetraploides $2n=4x=28$. Siendo para los progenitores *R. glaucus* y 'Tupy' 22 y 28 cromosomas respectivamente.

Rubus glaucus es considerada una especie alotetraploide (Darrow, 1952; Jennings, 1978; López et al., 2019) en la cual la poliploidía surge a partir de procesos de hibridación entre especies emparentadas (Ramsey & Ramsey, 2014; Ranney, 2006). En este tipo de organismos, la formación de asociaciones multivalentes y proporciones tetrasómicas durante la meiosis es poco frecuente, lo que implica un comportamiento citogenético similar al de especies diploides (Soltis et al., 2003). Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio difieren parcialmente de lo descrito en la literatura, lo que podría atribuirse a la

naturaleza genética particular de los parentales empleados y a la variabilidad en los niveles de ploidía que caracteriza al género *Rubus*.



Figura 3. Conteo cromosómico de 'Tupy' $2n = 4X = 28$.

En el caso del progenitor 'Tupy', se determinó un nivel de ploidía de $2n = 4x = 28$ (Figura 3), lo que contrasta con los resultados reportados por Rodríguez et al. (2018), quienes observaron 21 cromosomas, clasificándose como una variedad triploide. No obstante, estudios previos han descrito en 'Tupy' rasgos típicos de organismos poliploides, tales como la producción de gametos viables y la formación de frutos y semillas sexuales, características que difieren del comportamiento esperado en triploides. En las progenies derivadas de ambos cruzamientos, se observaron desbalances cromosómicos en algunos genotipos; por ejemplo, en gn8 y gn14, el número promedio de cromosomas fue de ocho (Cuadro 6), lo que sugiere la posible ocurrencia de irregularidades meióticas o recombinaciones asimétricas durante la formación de gametos. Este patrón puede deberse a errores durante la segregación meiótica o a la presencia de reordenamientos estructurales, lo cual repercute directamente en la expresión fenotípica y en la diversidad genética detectada mediante los marcadores moleculares.

Cuadro 6. Número de cromosomas de progenitores y la progenie de las cruzas controladas de *Rubus glaucus* x *Rubus niveus* y *R. glaucus* x 'Tupy'.

Población	Muestra	Cromosomas
Progenitor	<i>R. glaucus</i>	22
Progenitor	'Tupy'	28
Progenitor	<i>R. niveus</i>	42
Progenie	gn8	8
Progenie	gn10	11
Progenie	gn14	8

Progenie	gn16	10
Progenie	gn 20	28
Progenie	gn22	26
Progenie	gn27	28
Progenie	gT2	23
Progenie	gT7	27
Progenie	gT13	21
Progenie	gT16	15
Progenie	gT20	27
Progenie	gT23	19
Progenie	gT25	21
Progenie	gT26	18
Progenie	gT27	18

(gn) *R. glaucus* x *R. niveus*, (gT) *R. glaucus* x 'Tupy'.

4.4 Conclusiones

La caracterización molecular permitió establecer un agrupamiento claro de las poblaciones según su tipo de cruce y progenitor, evidenciando la eficacia de los marcadores ISSR para discriminar genotipos dentro del género *Rubus*.

Las principales diferencias genéticas se observaron en las poblaciones F₁ derivadas de cruzamientos entre especies distintas, pero genéticamente cercanas, lo que confirma que los cultivares modernos de zarzamora conservan una estrecha relación con los progenitores silvestres utilizados históricamente en los programas de mejoramiento genético.

El uso de marcadores moleculares representa una herramienta eficaz para estimar la diversidad genética en etapas tempranas de desarrollo y comprender las relaciones de parentesco entre genotipos. En este estudio, la aplicación de marcadores ISSR reveló una alta diferenciación genética, resultado del cruzamiento entre especies compatibles del mismo género, lo que contribuye a ampliar la base genética de los materiales disponibles.

Estos hallazgos tienen implicaciones directas en el mejoramiento genético de zarzamoras y frambuesa, ya que la variabilidad detectada puede aprovecharse para desarrollar cultivares con características agronómicas deseables, como la ausencia de espinas, mayor resistencia a factores bióticos y abióticos, y mejor

calidad de fruto. En conjunto, los resultados refuerzan la utilidad de los marcadores ISSR como herramienta complementaria en programas de fitomejoramiento y caracterización molecular, orientados hacia la conservación y aprovechamiento sostenible de la diversidad genética del género *Rubus*.

4.5 Literatura citada

- Alice, L. A., Eriksson, T., Eriksen, B., & Campbell, C. S. (1997). Intersubgeneric hybridization between a diploid raspberry, *Rubus idaeus*, and a tetraploid blackberry, *R. caesius* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, 84, 171.
- Antunes, L. E. C (2002). Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. *Ciência Rural, Santa Maria*, 32(1),151-158. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000100026>
- Alan, F., Uzun, A., & Pinar, H. (2025). Genetic diversity and population structure of some blackberry genotypes collected from different parts of Türkiye using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-19. <https://doi.org/10.1007/s10722-025-02498-6>
- Abdi, N., Moradi, H., & Hadadinejad, M. (2021). Evaluation of genetic diversity in blackberry germplasm in Iran by using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(4), 915-927. 20.1001.1.16807073.2021.23.4.5.4
- Amsellem, L., Chevallier, M. H., & Hossaert-Mckey, M. (2001). Ploidy level of the invasive weed *Rubus alceifolius* (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction. *Plant Systematics and Evolution*, 228(3), 171-179.<https://doi.org/10.1007/s006060170027>
- Buczyński, K., Kaplan, M., & Jarosz, Z. (2024). Review of the report on the nutritional and health-promoting values of species of the *Rubus* L. Genus. *Agriculture*, 14(8), 1324. <https://doi.org/10.3390/agriculture14081324>
- Castro, P., Stafne, E. T., Clark, J. R., & Lewers, K. S. (2013). Genetic map of the primocane-fruiting and thornless traits of tetraploid blackberry. *Theoretical and Applied Genetics*, 126(10), 2521-2532. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2152-3>
- Darrow, G. (1952). *Rubus glaucus*. The Andean blackberry of Central and Northern South America. *Ceiba*, 3, 97-101.
- Dossett, M., Bassil, N. V., Lewers, K. S., & Finn, C. E. (2012). Genetic diversity in wild and cultivated black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) evaluated by simple sequence repeat markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(8), 1849-1865. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9808-8>
- Dotor-Robayo, Mónica Yadira, González-Mendoza, Leonardo Ariel, Castro,

- Mayerly Alejandra, Morillo-Coronado, Ana Cruz, & Morillo-Coronado, Yacenia. (2016). Análisis de la diversidad genética de la mora (*Rubus* spp.) en el departamento de Boyacá. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 10-17. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)10-17](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)10-17)
- Graham, J., & McNicol, R. J. (1995). An examination of the ability of RAPD markers to determine the relationships within and between *Rubus* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(7), 1128-1132. <https://doi.org/10.1007/BF00222932>
- Graham, J., Squire, G. R., Marshall, B., & Harrison, R. E. (1997). Spatially dependent genetic diversity within and between colonies of wild raspberry *Rubus idaeus* detected using RAPD markers. *Molecular Ecology*, 6(11), 1001-1008. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1997.00272.x>
- Guo, Z., Fan, Z., Li, X., Du, H., Wu, Z., Li, T., & Yang, G. (2025). Combined analysis of SRAP and SSR markers reveals genetic diversity and phylogenetic relationships in raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Agronomy*, 15(6), 1492. <https://doi.org/10.3390/agronomy15061492>
- Han, S. K., Shin, H., Lee, J. W., Hong, K. N., & Ahn, J. Y. (2024). Genetic diversity and population relationships in wild Korean black raspberry (*Rubus coreanus* Miq.) based on microsatellite markers: establishing a fruit tree breeding strategy. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 65(2), 293-302. <https://doi.org/10.1007/s13580-023-00563-6>
- Hao, D.A. Gu, X.J. & Xiao, P.G. (2015). *Potentilla* and *Rubus* medicinal plants: potential non-Camellia tea resources. *Medicinal Plants Chemistry, Biology and Omics*, 373-430. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002192X2014000200009
- Hunková, J., Kleman, J., Gažo, J., & Gajdošová, A. (2023). Adventitious regeneration of blackberry, blueberry, and kiwiberry and assessment of genetic stability by ISSR markers. *Biologia*, 78(2), 349-359. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01211-7>
- Jennings, D.L. (1978) The blackberries of South American unexplored reservoir of germplasm. *Fruit Varieties Journal*, 32, 61-63. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19901610038>
- Jennings, D. L. (1988). Raspberries and blackberries: their breeding, diseases and growth. Academic Press.
- Kamnev, A. M., Antonova, O. Y., Dunaeva, S. E., Gavrilenko, T. A., & Chukhina, I. G. (2020). Molecular markers in the genetic diversity studies of representatives of the genus *Rubus* L. and prospects of their application in breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 24(1), 20-30. <https://doi.org/10.18699/VJ20.591>

- Ladyzhenskaya, O., Aniskina, T., Simakhin, M., Donskih, V., Pashutin, V., Tazin, I., & Kryuchkova, V. (2025). Productivity of modern raspberry varieties and prospects for their selection. *Crops*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.3390/crops5010001>
- Lebedev, V.G., Subbotina, N., Maluchenko, O., Levedeva, T., Krutovsky, K., & Shestibratov, K. (2020). Transferability and polymorphism of SSR markers located in flavonoid pathway genes in *Fragaria* and *Rubus* species. *Genes*, 11(1), 11-35. doi:10.3390/genes11010011
- Lee, K. J., Lee, G. A., Kang, H. K., Lee, J. R., Raveendar, S., Shin, M. J., ... & Ma, K. H. (2016). Genetic diversity and population structure of *Rubus* accessions using simple sequence repeat markers. *Plant Breeding and Biotechnology*, 4(3), 345-351. <https://doi.org/10.9787/PBB.2016.4.3.345>
- López, A., Barrera, C., & Marulanda, M. (2019). Evaluation of SSR and SNP markers in *Rubus glaucus* Benth progenitors selection. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(1), Article e-081. <https://doi.org/10.1590/0100-29452019081>
- López-Gutiérrez, A. M., Marulanda-Ángel, M. L., Gómez-López, L. M., & Barrera-Sánchez, C. F. (2019). *Rubus glaucus* Benth.: morphology and floral biology aimed at plant breeding processes. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(3), 8909-8915. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n1.75910>
- Marulanda, M., López, A. M., & Uribe, M. (2012). Caracterización molecular de la mora andina, *Rubus glaucus*, mediante marcadores SSR. *Genetics and Molecular Research*, 11, 322-331. <http://dx.doi.org/10.4238/2012.February.10.3>
- Miyashita, T., Kunitake, H., Yotsukura, N., & Hoshino, Y. (2015). Assessment of genetic relationships among cultivated and wild *Rubus* accessions using AFLP markers. *Scientia Horticulturae*, 193, 165-173. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.004>
- Moore, J. N., Brown, E., & Sistrunk, W. A. (1974). 'Comanche' blackberry. *HortScience*, 9(3), 245-246. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19740322108>
- Moreno-Medina, B., & Casierra-Posada, F. (2021). Molecular characterization of a species in the genus *Rubus* in Boyacá, Colombia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 43(2), Article e-713. <https://doi.org/10.1590/0100-29452021713>.
- Morillo, A., Morillo, Y., & Pinzón, E. (2014). Caracterización con RAMs de la colección de durazno (*Prunus persica* (L.) Batsch existente en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. *Acta Agronómica*, 63(4), 367-376. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)10-17](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)10-17).
- Morillo, A., Morillo, Y., Muñoz, J., Vásquez, H., & Zamorano, A. (2005).

- Caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAMs de la colección de mora, *Rubus* spp, de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. *Acta Agronómica*, 54(2) 15-24. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000083&pid=S0122-7483200900020000200008&lng=en
- Nei, M., & Li, W.H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleasa. *Proceedings of the National Academic of Sciences of United States of America*, 79, 5267-5273. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>
- Parent, J. G., & Page, D. (1998). Identification of raspberry cultivars by sequence characterized amplified region DNA analysis. *HortScience*, 33(1), 140-142. <https://journals.ashs.org/hort/hort/published/rest/pdf-watermark/v1/journals/hortsci/33/1/article-p140.pdf/watermark-pdf/>
- Parent, J. G., Pagé, D., & Fortin, M. G. (1993). Identification de cultivars de framboisier par l'analyse d'ADN polymorphe amplifié au hasard (RAPD). *Canadian Journal of Plant Science*, 73(4), 1115-1122. <https://doi.org/10.4141/cjps93-150>
- Ramsey, J., & Ramsey, T. S. (2014). Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1648), Article 20130352. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0352>
- Ranney, T. G. (2006). Polyploidy: From evolution to new plant development. In *Combined proceedings international plant propagators' society*, 56, 137-142. https://ena.ipps.org/uploads/docs/56_85.pdf
- Raseira, M. do C.B., Santos, A. M. Dos, & Madail, J. C. M. (1984). Amora preta: cultivo e utilização Pelotas: EMBRAPA. CNPFT. Circular Técnica 11, 20. <https://agris.fao.org/search/en/providers/123819/records/6473630f08fd68d54604e927>
- Rodríguez Bautista, G., Segura Ledezma, S. D., Cruz Izquierdo, S., Corona Torres, T., López Medina, J., Gutiérrez Espinosa, M. A., ... & Valenzuela Núñez, L. M. (2018). Poliploidía en zarzamoras silvestres (*Rubus* spp L.). *Nova Scientia*, 10(21), 1-16. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1385>
- Sánchez-Velázquez, O. A., Rivera-Atondo, M., Milán-Carrillo, J., Montes-Ávila, J., Mora-Rochín, S., & Cuevas-Rodríguez, E. O. (2024). Morphological and nutritional characterization of wild edible blackberries (*Rubus* spp.) from Sinaloa, Mexico. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 68(2), 248-263. <https://doi.org/10.29356/jmcs.v68i2.1868>
- Šarhanová, P., Sharbel, T. F., Sochor, M., Vašut, R. J., Dančák, M., & Trávníček, B. (2017). Hybridization drives evolution of apomicts in *Rubus* subgenus *Rubus*: Evidence from microsatellite markers. *Annals of botany*, 120(2), 317-328. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx033>

- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2024). Nuestra Riqueza: La Zarzamora. Disponible de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/nuestra-riqueza-la-zarzamora>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2025). Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-se-posiciona-como-pais-altamente-productor-y-exportador-de-berries>
- Sharma, S., Kaur, R., Kumar, K., & Sagar, H. (2024). Cross-transferability of *Rubus ellipticus* EST–SSR markers for genetic diversity analysis of peach (*Prunus persica*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(4), 1615-1633. <https://doi.org/10.1007/s10722-023-01725-2>
- Sharma, S., Kaur, R., Kumar, K., Kumar, D., & Solanke, A. K. U. (2021). Genetic variability in *Rubus ellipticus* collections assessed by morphological traits and EST-SSR markers. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 30(1), 37-55. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00567-8>
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., Bennett, M. D., & Leitch, I. J. (2003). Evolution of genome size in the angiosperms. *American Journal of Botany*, 90(11), 1596-1603. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.11.1596>
- Veljković, B., Šoštarić, I., Dajić-Stevanović, Z., Liber, Z., & Šatović, Z. (2019). Genetic structure of wild raspberry populations in the Central Balkans depends on their location and on their relationship to commercial cultivars. *Scientia Horticulturae*, 256, Article 108606.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the genetics of populations* (Vol. 4, Variability within and among natural populations) University of Chicago Press.
- Zhou, Z., Liu, F., Xu, Y., & Hu, W. (2024). Genetic diversity analysis and core germplasm construction of *Rubus chingii* Hu. *Plants*, 13(5), 618. <https://doi.org/10.3390/plants13050618>
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

CAPÍTULO 5 VARIABILIDAD FENOTÍPICA DE LA PROGENIE DE CRUZAS INTERESPECÍFICAS DE *RUBUS* SPP.⁵

Resumen

El género *Rubus* es uno de los de mayor importancia económica dentro de la familia Rosaceae, con amplia variabilidad genética y fenotípica para suplir la demanda del mercado y sus diferentes usos. Sin embargo, son escasos los estudios reportados de evaluación fenotípica de cruzas interespecíficas. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo la caracterización morfológica de tres progenitores de *Rubus* spp. (*R. glaucus*, *R. niveus* y 'Tupy') y los híbridos derivados de los cruzamientos *R. glaucus* × *R. niveus* y *R. glaucus* × 'Tupy' empleando 23 descriptores vegetativos siendo diez descriptores cuantitativos y trece cualitativos y 13 descriptores reproductivos con análisis descriptivo, correlación de Pearson y análisis de componentes principales y conglomerados. Los resultados mostraron varias características cuantitativas en las progenies con valores intermedios con base a los progenitores como DT (4.83 mm), LP (7.59 cm), el carácter longitud del foliolo superó en 50% aproximadamente a los promedios parentales en ambas cruzas. Los descriptores con mayor variación y que permitieron la diferenciación entre genotipos fueron la presencia y longitud de espinas en tallos vegetativos y reproductivos. El análisis de componentes principales (ACP) en *R. glaucus* × *R. niveus* reveló que las variables asociadas a las espinas fueron las de mayor contribución (22.3 %), mientras que en *R. glaucus* × 'Tupy' la principal variable determinante fue el número de tallos principales (25.6 %). Los análisis de correspondencia múltiple explicaron entre el 74.8 % y el 83.1 % de la variabilidad, confirmando la relevancia de caracteres como la forma de la espina, la pubescencia y el número de foliolos en la diferenciación de progenies. Dichas características podrían ser de gran utilidad para la identificación de genotipos élitos en futuros trabajos de mejoramiento en el género.

Palabras clave: cruzas, frambuesa, hibridación, marcadores morfológicos, zarzamora.

⁵ Sometido a: Sin someter
Estatus: No enviado

Abstract

The genus *Rubus* is one of the most economically important within the Rosaceae family, with wide genetic and phenotypic variability to meet market demand and its different uses. However, there are few reported studies on the phenotypic evaluation of interspecific crosses. Therefore, this study aimed to morphologically characterize three *Rubus* spp. parents (*R. glaucus*, *R. niveus*, and 'Tupy') and the hybrids derived from the crosses *R. glaucus* × *R. niveus* and *R. glaucus* × 'Tupy' crosses using 23 vegetative descriptors, ten quantitative and thirteen qualitative, and 13 reproductive descriptors with descriptive analysis, Pearson's correlation, and principal component and cluster analyses. The results showed several quantitative characteristics in the progeny with intermediate values based on the parents, such as DT (4.83 mm) and LP (7.59 cm), while the leaflet length exceeded the parental averages by approximately 50% in both crosses. The descriptors with the greatest variation and which allowed differentiation between genotypes were the presence and length of spines on vegetative and reproductive stems. Principal component analysis (PCA) in *R. glaucus* × *R. niveus* revealed that the variables associated with spines were those with the greatest contribution (22.3 %), while in *R. glaucus* × 'Tupy' the main determining variable was the number of main stems (25.6 %). Multiple correspondence analyses explained between 74.8% and 83.1% of the variability, confirming the relevance of characters such as spine shape, pubescence, and number of leaflets in the differentiation of progenies. These traits could be very useful for the identification of elite genotypes in future breeding work in the genus.

Keywords: crosses, raspberry, hybridization, morphological markers, blackberry.

5.1 Introducción

La familia Rosaceae está representada por 3000-3200 especies, 90-100 géneros, 20 tribus y cuatro subfamilias (Zhang et al., 2017). El género *Rubus* Linnaeus (1753) presenta el mayor número de especies 750 a 800 especies que incluyen frambuesas, moras, especies autóctonas y algunas de carácter invasor (Moreno-Medina et al., 2018). El suroeste de China se considera el centro de origen de las especies de *Rubus* en el mundo debido a su rica diversidad genética, gran número de subgéneros, amplia variación morfológica y el mayor endemismo de especies. Es un género, que se caracteriza por arbustos caducifolios o perennes, subarbustos, árboles ornamentales y hierbas con estípulas, generalmente espinas, y un fruto compuesto por un grupo de drupas (Kumar et al., 2024). En este grupo se incluyen frambuesas, moras, frambuesas de floración ártica y se

conoce comúnmente como zarzas, las cuales se caracterizan por tener importancia económica y ecológica como frutal, planta ornamental, maleza invasora y una de las especies en la sucesión forestal temprana (Mucioki, 2024).

La taxonomía de *Rubus* ha sido históricamente difícil debido a la diversidad morfológica, la apomixis, la poliploidización y la hibridación (Konečná & Sochor, 2025; Mimura et al., 2024; Sabooni et al., 2022). Este género tiene un número básico de cromosomas de siete y niveles de ploidía que van desde diploides a tetradecaploides (u octadecaploides) (Sochor et al., 2019; Roque et al., 2023). La hibridación en *Rubus* ocurre principalmente entre especies estrechamente relacionadas, pero también en algunos casos entre especies clasificadas en diferentes subgéneros (Gao et al., 2023).

Las moras se consideran un superalimento debido a sus propiedades antioxidantes, atribuidas a su alto contenido de metabolitos secundarios, como antocianinas y otros compuestos fenólicos (Gil-Martínez et al., 2023). Sin embargo, el desarrollo tecnológico es insuficiente para responder a los desafíos del cultivo. Por lo tanto, el fitomejoramiento contribuye a mejorar la productividad del material de siembra y se complementa con buenas prácticas en el manejo técnico del cultivo (González-Castro et al., 2019). En México, Rzedowski & Calderón de Rzedowski (2005) catalogaron 61 especies de *Rubus*, pero recientemente, Rodríguez-Bautista et al. (2021) reportaron solo 42 especies de este género utilizando herramientas bioinformáticas. Las especies de *Rubus* más estudiadas en México se ubican principalmente en el Eje Volcánico Transmexicano y la Sierra Madre del Sur, aunque algunas de estas especies son subutilizadas como fuente de alimento estacional por las comunidades humanas locales (Rodríguez et al., 2019). Sin embargo, todas estas investigaciones mencionan la necesidad de más estudios sobre la sistemática, taxonomía, fitomejoramiento, evolución y ecología de este grupo para México y el mundo.

Estudios anteriores han mostrado que *Rubus* se encuentra distribuido predominantemente en el hemisferio norte, presentando una alta diversidad en las regiones templadas de Norteamérica, Europa y Asia (Meng, 2022). Estudios

filogenéticos dentro del género han mostrado su compleja historia evolutiva (Jyotiraditya et al., 2025) que origina un alto nivel de poliploidía, reproducción apomíctica, la aparición de especies crípticas y variedades locales. Esto plantea desafíos importantes para la clasificación taxonómica, los estudios de caracterización morfológica, bioquímica y molecular y en términos generales para el mejoramiento genético de la especie (Pruteanu et al., 2025).

Comprender la diversidad morfológica de una especie vegetal es fundamental ya que proporciona información sobre la variabilidad genética, la adaptabilidad y el rendimiento de un determinado cultivar en las condiciones locales. Un conocimiento profundo de la diversidad genética de un cultivo es crucial para los fitomejoradores a la hora de seleccionar las plantas parentales deseables para sus programas de mejoramiento (Kumar et al., 2025).

La caracterización y evaluación de la diversidad son vitales para utilizar eficazmente genotipos élites en el mejoramiento de los cultivos y garantizar una mejor conservación de los recursos genéticos. El cruzamiento de diversos genotipos puede conducir al desarrollo de híbridos con alto rendimiento, resistentes a una serie de estreses abióticos y bióticos, de amplia adaptabilidad, entre otras características de importancia agronómica. Un enfoque para caracterizar y clasificar el germoplasma es mediante el uso de descriptores agromorfológicos (Kumar et al., 2025).

Estudios recientes del germoplasma en frambuesa y mora se han centrado en analizar aspectos del crecimiento y su productividad en diferentes condiciones climáticas (Pruteanu et al., 2025). En Moldavia (Balan et al., 2017), evaluaron la fenología y la resistencia a la sequía de 29 variedades de frambuesa. En Bulgaria los estudios realizados por Atanasova et al. (2022) y Georgiev et al. (2023), evaluaron caracteres vegetativos y reproductivos de las variedades de frambuesa Magdalena y Shopska Alena, destacando la influencia de la distancia de plantación (0.3 m y 0.5 m), la altura (1.83 m, 1.38 m, respectivamente) y el grosor de los brotes (6.31–7.52 mm, respectivamente, 8.41 mm), así como en el rendimiento (1.69 kg/m², para la variedad Shopska Alena). En la variedad

Magdalena, el mayor número de brotes se registró para una distancia de plantación de 0.3 m y la mayor altura de brote para una distancia de plantación de 0.5 m. Además, se observó una correlación entre la altura, el grosor de los brotes y el rendimiento en el segundo y tercer año después de la siembra. En Kosovo, el estudio realizado por Lepaja et al. (2021) evaluaron la calidad del fruto en cinco cultivares de frambuesa, identificando el cultivar Delniwa con el mayor diámetro de fruto (24.79 mm), y el cultivar Mapema con el mayor diámetro de fruto, con los mayores valores de longitud (29.84 mm) y peso (6.10 g). En otro estudio Maj et al. (2024), analizaron el impacto de los cultivares de frambuesa en los parámetros de crecimiento y las características de la biomasa, siendo el cultivar Polana el que presentó el mayor número de brotes laterales y 'Polonez' la mayor longitud y grosor de brote. En el caso de las moras, Espinosa et al. (2016) quienes evaluaron la colección del género *Rubus* existente en el Banco de Germoplasma de Colombia, mediante 38 descriptores morfológicos entre cuantitativos y cualitativos. Los autores reportaron que los descriptores morfológicos permitieron hacer distinciones claras entre las tres especies de *Rubus* en estudio. En Kenia se realizaron estudios para caracterizar recursos genéticos de *Rubus* subgénero *Rubus* mediante marcadores morfológicos de accesiones silvestres e introducidos en seis regiones del país (Ochieng et al., 2019).

Todos los estudios anteriores hacen una correlación entre los parámetros vegetativos y reproductivos para la selección y el mejoramiento genético de *Rubus*. En México, se han realizado investigaciones sobre la caracterización morfológica de especies silvestres y cultivadas, considerando factores climáticos específicos (Rodríguez-Bautista et al., 2018). Sin embargo, no se ha analizado la variación fenotípica existente en las progenies resultantes de la hibridación interespecífica en *Rubus*. En este contexto, el objetivo de la presente investigación fue caracterizar morfológicamente tres progenitores de *Rubus* spp. y los híbridos obtenidos de sus cruzamientos empleando descriptores vegetativos y reproductivos.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Área de estudio

La caracterización fenotípica se llevó a cabo en el Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado a una altitud de 2,258 metros, con coordenadas 19°29'23" de latitud norte y 98°53'37" de longitud oeste. El clima de la región es templado subhúmedo, con menos del 5 % de la precipitación en invierno, y se caracteriza por una oscilación térmica reducida (García, 2005).

5.2.2 Material vegetal

Se evaluaron tres genotipos progenitores: uno correspondiente a la frambuesa silvestre (*Rubus niveus*) y dos zarzamoras identificadas como 'Tupy' y *Rubus glaucus*, así como la progenie del cruzamiento entre *R. glaucus* x 'Tupy' (GxT) y *R. glaucus* x *R. niveus* (GxN). De los dos cruzamientos se obtuvieron 28 plantas, evaluándose así un total de 59 plantas. Las plantas crecieron bajo condiciones de invernadero con manejo agronómico convencional.

5.2.3 Caracterización morfológica

La caracterización morfológica se realizó cuando las plantas tenían dos años de establecidas en invernadero, teniendo en cuenta las directrices de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) en *Rubus* sp. Se evaluaron 23 descriptores vegetativos (13 cualitativos y 10 cuantitativos) y 13 descriptores reproductivos siendo el color de la flor el único descriptor cualitativo. De cada descriptor morfológico evaluado se tomaron tres mediciones en cada planta seleccionada. En los cuadros 1 y 2 se detallan las variables evaluadas tanto en los progenitores como en sus respectivas progenies.

Las variables cuantitativas se midieron utilizando un flexómetro graduado Truper® FC-3M y un calibrador digital Steren® HER-411, en tanto que, las variables cualitativas se determinaron mediante calificación, puntuación y codificación.

Cuadro 1. Descriptores morfológicos vegetativos evaluados en genotipos de *Rubus* spp.

Descriptor cualitativo	Sigla	Descriptor cuantitativo	Sigla
1. Serosidad del tallo (presencia-ausencia)	ST	14. Diámetro del tallo (mm)	DT
2. Forma del tallo (circular, acanalado)	FT	15. Número de espinas en entrenudos 7 u 8.	NET
3. Espinas en el tallo (presencia-ausencia)	ET	16. Número total de tallos principales	NTP
4. Pubescencia de la hoja nervadura principal (presencia-ausencia)	PH	17. Longitud del tallo (cm)	LT
5. Forma de las espinas del tallo (rudimento, curvados hacia abajo o ambos)	FE	18. Longitud del foliolo terminal (cm)	LF
6. Base de la espina en el tallo (angosta-amplia)	BET	19. Longitud de entrenudo (entrenudo 7 u 8) (cm)	LEN
7. Pigmentación antociánica del tallo	PAT	20. Longitud del ancho del foliolo terminal (cm)	LAF
8. Forma de la hoja (número de foliolos) (tri, penta o heptafoliada)	NF	21. Longitud del peciolo (cm)	LP
9. Margen de la hoja (biserrado, serrado)	MH	22. Longitud del peciolo terminal (cm)	LPT
10. Forma de la base de la hoja (subcordada-subtruncada, o ambas, obtusa)	FBH	23. Longitud de las espinas del tallo (mm)	LET
11. Forma del ápice de la hoja (acuminado, agudo)	FAH		
12. Forma del foliolo terminal (ovado, elíptico, rómbico)	FFT		
13. Color del envés (blanco (1) o verde (0))	CE		

Cuadro 2. Descriptores morfológicos reproductivos evaluados en genotipos de *Rubus* spp.

Descriptor	Sigla	Descriptor	Sigla
1. Diámetro de tallo	RDT	8. Longitud de entrenudo	RLEN
2. Número de espinas en el tallo	RNET	9. Ancho de foliolo terminal	RAFT
3. Número de pétalos	RNPE _T	10. Longitud de peciolo	RLP
4. Número de sépalos	RNS	11. Longitud de peciolo terminal	RLPT
5. Longitud de pétalo	RLPET	12. Longitud de espinas en el tallo	RLET
6. Ancho de pétalo	RAPE _T	13. Color de pétalos	RCPE _T
7. Longitud de foliolo terminal	RLFT		

5.2.4 Análisis estadístico

Para los descriptores cualitativos y cuantitativos se hizo inicialmente la estadística descriptiva, se verificaron las asunciones para los análisis paramétricos. Estos análisis se realizaron con el R Core Team software (2020) (R Development Core Team, 2020) y el paquete missMDA (Josse & Husson, 2016). Los análisis multivariados se estimaron usando el Agrupamiento Jerárquico de los Componentes Principales (HCPC), junto con los algoritmos incluidos en el paquete extra-factor del programa R (Kassambara & Mundt, 2020). Los componentes se representaron en un plano de dos dimensiones con el paquete FactoMineR. En los análisis de conglomerados se consideraron las distancias Euclidianas y la distancia mínima de Ward con el FactoMineR. Los análisis de correlación de Pearson para las variables cuantitativas se hicieron con el “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix (Versión 0.84) (Taiyun, 2017). Adicionalmente, se realizó el análisis de clúster para los descriptores morfológicos cuantitativos y cualitativos, a estos últimos se les realizó análisis de correspondencia múltiple empleando el software estadístico R e InfoStat (Di Rienzo et al., 2020).

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Caracterización morfológica de los genotipos de *Rubus* usando descriptores cuantitativos

La caracterización morfológica de los progenitores y la progenie obtenida de los cruzamientos GxT y GxN mediante descriptores cuantitativos permitió reconocer aspectos botánicos ya reportados para el parental *R. glaucus* el cual se caracteriza por ser una especie de hábito semitrepador que puede alcanzar una altura de 3 m, con tallo circular y tonalidad blanquecina, puede presentar espinas finas, curvadas y de 2 a 3 mm, sin embargo, para este estudio el genotipo utilizado no presentaba espinas (Romoleroux, 1996). Las hojas están formadas por tres folíolos con margen aserrada o biserrada, de color verde en el haz y blanco en el envés con pubescencia (Gutiérrez, 1970; Romoleroux, 1996).

Cuadro 3. Valores medios por cruza y progenitores de *Rubus* de los rasgos morfológicos de las variables cuantitativas.

ID	DT (mm)	NET	NTP	LT (cm)	LF (cm)	LEN (cm)	LAF (cm)	LP (cm)	LPT (cm)	LET (mm)
GN	4.73	4.67	2.62	97.94	9.12	3.32	5.40	8.01	3.45	4.16
GT	4.83	8.01	1.50	62.37	8.37	17.63	5.58	7.59	2.32	2.08
RG	6.30	0.00	2	331.0	6	11.47	5.80	11.03	2.67	0.00
RN	5.37	7.67	3	158.0	5.10	5.00	8.07	3.27	2.23	6.33
T	4.03	9.00	3	213.0	5.12	5.84	4.10	6.92	2.33	6.97

ID	RDT (mm)	RNET	RNPET	RNS	RLPET (mm)	RAPET (mm)	RLFT (cm)	RLEN (cm)	RAFT (cm)	RLP (cm)	RLPT (cm)	RLET (mm)
GN	3.42	3.30	5.12	5.31	3.66	1.72	6.28	3.58	4.04	4.31	1.63	3.46
GT	4.13	4.77	5.00	5.00	12.14	8.22	5.79	5.72	3.38	5.82	1.62	2.50
RG	4.78	0	5	5	8.71	4.01	8	5.2	4.1	8.1	1.1	0
RN	3.32	4	5	5	4.52	3.91	4.5	4.1	3.5	2	2.7	2.5
T	5.8	7	5	5	21.3	10.3	5.3	3.9	3.6	5	1.5	1.8

ID: identificación, GN: Progenie *R. glaucus* x *R. niveus*, GT: Progenie *R. glaucus* x 'Tupy', RG: *Rubus glaucus*, RN: *Rubus niveus*, T: 'Tupy'.

En el estado vegetativo se pudo observar que la progenie del cruzamiento GxN, presentó un diámetro de tallo promedio de 4.73 mm (Cuadro 3), valor más cercano al progenitor *R. niveus* (5.37 mm), comportamiento similar en las variables reproductivas de diámetro de tallo, longitud de entrenudos, longitud de

pétalos. Sin embargo, variables reproductivas como longitud y ancho del foliolo terminal (6.28 cm; 4.04 cm; respectivamente) se acercaron a los valores del progenitor *R. glaucus* (8 cm; 4.1 cm), el promedio del ancho de pétalo estuvo en 1.72 mm muy por debajo de los valores de ambos progenitores (4 mm). Valores cercanos a los reportados en estudios taxonómicos, en donde el tamaño de los pétalos en la *R. glaucus* es de 5 a 8 mm y de la *R. niveus* entre 3 y 7 mm (Romoleroux,1996).

Cuadro 4. Valores medios, desviaciones estándar (SD) y coeficientes de variación (CV %) de los rasgos morfológicos de las variables cuantitativas evaluadas en genotipos de las cruza *R. glaucus* x *R. niveus* y *R. glaucus* x 'Tupy'.

Cruza (<i>R. glaucus</i> x <i>R. niveus</i>)				Cruza (<i>R. glaucus</i> x 'Tupy')			
Variable	Media	DS	CV (%)	Variable	Media	DS	CV (%)
DT	4.81	0.61	12.68	DT	4.86	0.65	13.44
NET	1.94	2.6	133.97	NET	7.76	7.74	99.65
NTP	2.61	0.83	31.9	NTP	1.57	0.88	55.93
LT	108.41	50.8	46.86	LT	77.35	60.91	78.75
LF	9.06	1.71	18.9	LF	8.17	1.21	14.8
LE	3.47	0.87	25	LE	16.99	4.54	26.71
LAF	5.51	0.94	17.02	LAF	5.53	0.68	12.32
LP	7.94	1.47	18.53	LP	7.69	2.9	37.71
LPT	3.38	0.66	19.61	LPT	2.34	0.38	16.39
LET	1.71	2.21	129.32	LET	2.18	2.16	99.01
RDT	3.46	0.59	16.91	RDT	4.21	0.81	19.33
RNET	1.32	1.76	133.56	RNET	4.68	4.75	101.44
RNPET	5.11	0.42	8.15	RNPET	5	0	0
RNS	5.29	1.01	19.17	RNS	5	0	0
RLPET	3.87	1.32	34.25	RLPET	12.35	2.92	23.64
RAPET	1.88	0.76	40.27	RAPET	8.14	1.88	23.06
RLFT	6.28	1.28	20.39	RLFT	5.85	1.04	17.8
RLEN	3.65	1.3	35.52	RLEN	5.64	1.66	29.44
RAFT	4.02	3.71	92.23	RAFT	3.41	0.62	18.07
RLP	4.36	2.06	47.33	RLP	5.87	1.61	27.43
RLPT	1.65	0.81	49.36	RLPT	1.6	0.78	48.68
RLET	1.33	1.76	132.85	RLET	2.38	2.29	96.06

DS: Desviación estándar. CV (%): Coeficiente de variación.

En descriptores morfológicos cuantitativos como diámetro de tallo, ancho del foliolo, longitud del peciolo, longitud y ancho del pétalo, la progenie del cruzamiento GxT valores promedios a los obtenidos por ambos parentales. En tanto, la variable la longitud del foliolo obtuvo valores por encima de los

progenitores (Cuadro 3). Al comparar las progenies resultantes de los dos cruzamientos se puede concluir que la mayoría de las variables cuantitativas evaluadas son similares al promedio parental. Se destacan algunas diferencias en el número de espinas en el tallo, para la progenie de GxN, con un promedio de cinco espinas por entrenudo, frente a ocho de la progenie de GxT, en el ancho y largo de los pétalos también se registra grandes diferencias debido al tamaño reducido de la flor de la *R. niveus*, la cual influye directamente en la herencia de este carácter para su progenie.

En cuanto al coeficiente de variación (CV) obtenido en la evaluación de los 22 descriptores cuantitativos se pudo observar una diferenciación de la progenie respecto a los progenitores (Cuadro 4). Aquellas variables con CV menores del 20 % como RNPET y DT, fueron las que menos contribuyeron a la variación fenotípica observada, poniendo de manifiesto que estas características ya están estables en el germoplasma. Por otra parte, las variables NET, RNET y longitud de espinas en el tallo vegetativo y reproductivo, fueron las características que más aportaron a la diferenciación de los individuos evaluados. En la progenie del cruce de GxN se observó que el 63 % de los caracteres evaluados mostraron grandes diferencias morfológicas y el 59 % para la cruce GxT, siendo RNET y RLET las variables que más contribuyeron a la diferenciación entre las poblaciones.

En el Cuadro 4 se pueden observar CV por encima de 100, para los descriptores NET, LET, RNET y RLET, lo cual no muestra un sesgo en la toma de datos, más bien se debe a la ausencia de espinas en uno de los progenitores y en algunos individuos de la progenie por lo cual su valor fue igual a cero. Resultados similares fueron reportados por Espinosa et al. (2016) quienes agruparon *R. glaucus* sin espinas por un lado y por otro, varias accesiones de especies del mismo género, donde además el resto de las variables no fueron significativas.

Por otra parte, Mimura y Suga (2020), quienes evaluaron diferencias morfológicas entre especies parentales e híbridos naturales bajo condiciones controladas en Japón, encontraron que las características foliares como el ancho,

largo y área foliar son debidas a factores genéticos que a la plasticidad fenotípica. Por lo cual, muchas de las características evaluadas muestran más relación de dominancia con algunos de los dos progenitores, especialmente con el parental masculino.

5.3.2 Análisis de componentes principales para los descriptores cuantitativos evaluados en genotipos de *Rubus*.

El análisis de componentes principales para los 22 descriptores cuantitativos evaluados en los progenitores y las progenies de las cruzas de *Rubus*, mostró que los cinco primeros componentes explicaron el 75 % de la variación fenotípica total observada en el cruce GxN (Cuadro 5).

El primer componente explicó el 22.3 % de la varianza total, en donde las variables de mayor contribución fueron: NET, RNET, LET y RLET. Por otra parte, la longitud del pecíolo (LP) contribuyó de forma negativa. Lo anterior muestra que en este componente se encuentran las progenies que se caracterizan por presentar espinas en tallos y ramas reproductivas y menor tamaño del pecíolo (Figura 1).

Cuadro 5. Valores propios y proporción de la varianza explicada por análisis de componentes principales de progenitores y cruzas de *Rubus* spp.

Cruza GxN				Cruza GxT			
Componente	Valor propio	Varianza (%)		Componente	Valor propio	Varianza (%)	
		(%)	Acumulada			(%)	Acumulada
1	4.92	22.3	22.3	1	51.85	72	72
2	4.48	20.4	42.7	2	5.12	7	79
3	2.76	13	55	3	3.5	5	84
4	2.24	10	65	4	2.78	4	88
5	2.02	9	75	5	1.84	3	91
6	1.45	7	81	6	1.4	2	93

El segundo componente principal contribuyó con el 20.3% de la varianza total (Cuadro 5). Las variables que hicieron una mayor contribución a este componente fueron: LT, RLPET y RAPET.

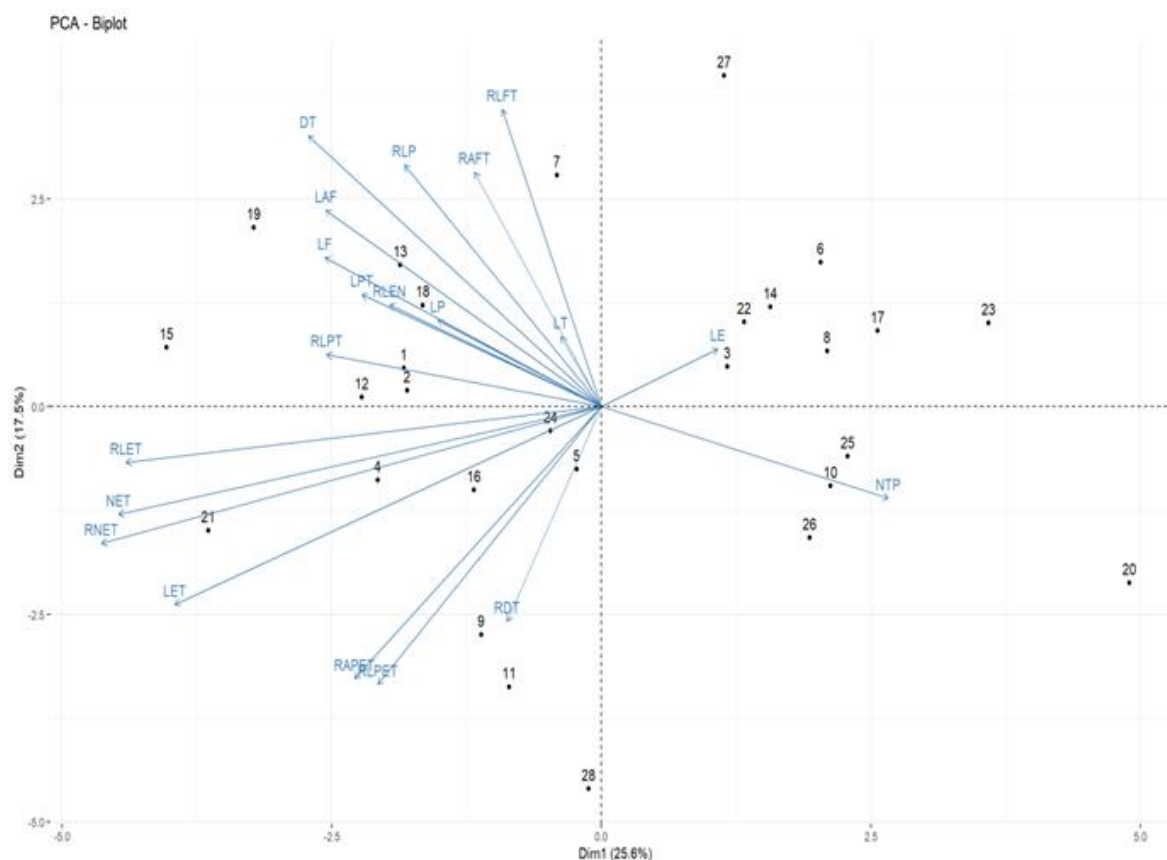


Figura 2. Medidas de correlaciones para variables cuantitativas en materiales de progenitores y progeñie de *R. glaucus* x 'Tupy'.

Para determinar correlaciones de características de interés agronómico y de mercado en *Rubus*, Radovich et al. (2013), utilizaron el análisis de componentes principales, ya que puede ayudar a reducir el número de características evaluadas en poblaciones híbridas de *Rubus*. Por lo tanto, el PCA se puede aplicar a la evaluación de recursos genéticos y la diversidad de cultivares, así como a poblaciones híbridas. La principal información revelada por los componentes principales PC1 y PC2 en el PCA obtenida por Haffner et al. (2002) en donde encontraron que los cultivares con el mismo sitio de procedencia se agruparon de acuerdo con sus rasgos físicos y químicos. Yu et al. (2022), utilizaron el análisis de componentes y de conglomerados para evaluar la calidad de 24 variedades de frambuesa roja en el noreste de China. De acuerdo con las propiedades fisicoquímicas, los compuestos bioactivos y las características sensoriales, los autores lograron seleccionar genotipos aptos para el consumo

como para la industria. Además, Bradish et al. (2012) sugirieron que el PCA podría ser útil en el mejoramiento de frambuesas, al permitir la selección rápida de híbridos cuyos frutos presentan un alto valor nutricional, altos niveles de compuestos bioactivos y altas concentraciones de fitoquímicos. Titirică et al. (2023) concluyen que su investigación respalda la identificación de cultivares de frambuesa con alta productividad, calidad del fruto y valor nutricional, además el fitomejoramiento de *Rubus* debe la creciente demanda de fruta de alta calidad y valor químico por parte de los consumidores, la industria de la fruta fresca y los procesadores.

5.3.3 Análisis de correlación para los descriptores cuantitativos evaluados en los genotipos de *Rubus*

En el cruzamiento GxN el análisis de correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) entre las variables cuantitativas (Figura 3a) mostró que no hay diferencia entre el número y el tamaño de las espinas tanto en tallo vegetativo ($r = 0.96$) como en reproductivo ($r = 0.94$). Se observaron correlaciones altas y positivas entre RLFT y RLP, ambos en rama reproductiva ($r = 0.87$), mostrando así que ambas variables aumentan de manera proporcional. También hubo correlaciones negativas entre NET y LP ($r = -0.61$), lo cual significa que mientras una variable aumenta la otra disminuye. Los resultados encontrados para GxT, destaca correlaciones negativas entre NTP y LFT ($r = -0.83$) y la RLFT y el ancho del pétalo RAPET ($r = -0.70$), las positivas se asemejan al grupo anterior (Figura 3b).

Para aumentar la eficacia de los procesos de selección en el mejoramiento genético de *Rubus*, además de la estimación de parámetros genéticos como la heredabilidad, heterosis, ganancia genética, los análisis multivariados y las correlaciones son una herramienta muy útil en la evaluación de germoplasma y su selección dentro de los programas de mejoramiento de *Rubus* (Radovich et al., 2013). Como se pudo observar en este estudio, los caracteres cuantitativos son los que mostraron mayor variación, resultados similares a los reportados en otros estudios de caracterización morfoagronómica del germoplasma de *Rubus*, como los realizados por Titirică et al. (2023), en donde pone de manifiesto que

caracteres como el rendimiento y la calidad del fruto son complejos, pero son los que determinan la productividad de un cultivo. Por lo tanto, algunos de estos componentes pueden ser predictores útiles de una mayor productividad, calidad del fruto u otros objetivos de interés en el mejoramiento genético de nuevos cultivares, y dicha información contribuye al establecimiento de estrategias eficaces de mejoramiento genético y selección en los programas de mejoramiento genético (Zhou et al., 2024).

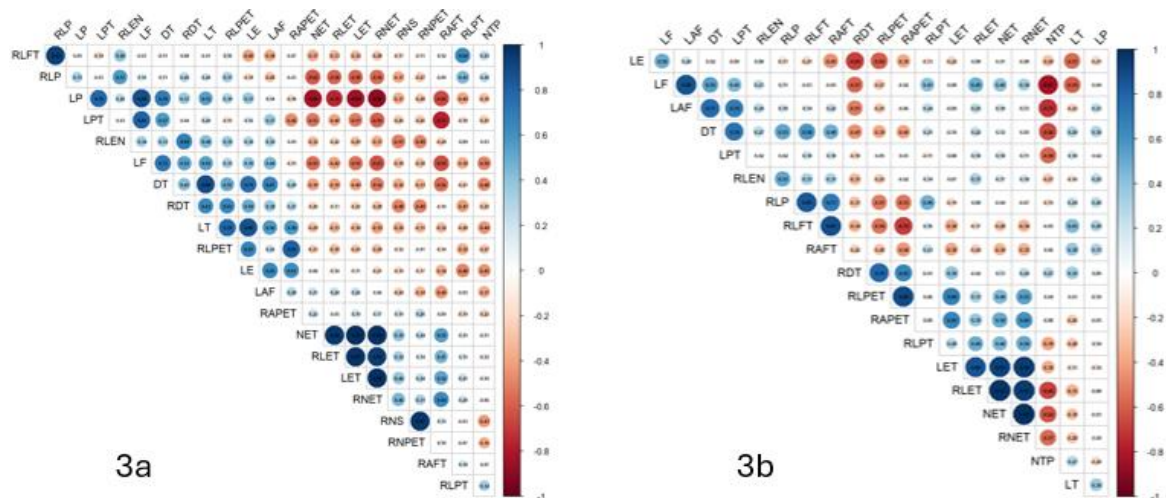


Figura 3. a) Análisis de correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) entre las variables cuantitativas para la cruce de *R. glaucus* x *R. niveus*. **b)** Análisis de correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) entre las variables cuantitativas para la cruce de *R. glaucus* x 'Tupy'.

Al igual que en otras especies las correlaciones se pueden utilizar en el mejoramiento de *Rubus* como índices de selección indirecta (Sanchez-Betancour et al., 2025). Por ejemplo, dado que el tamaño grande del fruto suele estar fuertemente correlacionado con un alto rendimiento, la selección para el primer rasgo también asegurará el segundo, por lo cual si el mejorador selecciona frutos de mayor tamaño simultáneamente mejorará la productividad (Vieira et al., 2017; Willman et al., 2022, Ladyzhenskaya et al., 2025). Por lo tanto, la selección indirecta de características agrónomicamente deseables sería una estrategia para aumentar la eficiencia en el proceso de selección (Wang et al., 2024).

5.3.4 Análisis de conglomerados para los descriptores cuantitativos evaluados en genotipos de *Rubus*

En la Figura 4 se observa el análisis de conglomerados realizado entre el progenitor *R. niveus* y su progenie, mostrando así la relación que existe entre ellos, ya que muchas de las características morfológicas del parental masculino fueron heredadas a la progenie, como la presencia de espinas, largo y ancho del pétalo. En el subgrupo de color verde agrupa aquellas progenies que no presentaron espinas por lo cual su cantidad y longitud fue cero.

En la Figura 5 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de agrupamiento del cruzamiento de GxT, en donde se conformaron tres grupos, quedando los progenitores aparte en el grupo de color rojo, siendo ambas variedades zarzamoras (*R. glaucus* y 'Tupy'), los otros dos grupos (verde y azul) corresponde a la progenie que exhibió características compartidas de ambos progenitores.

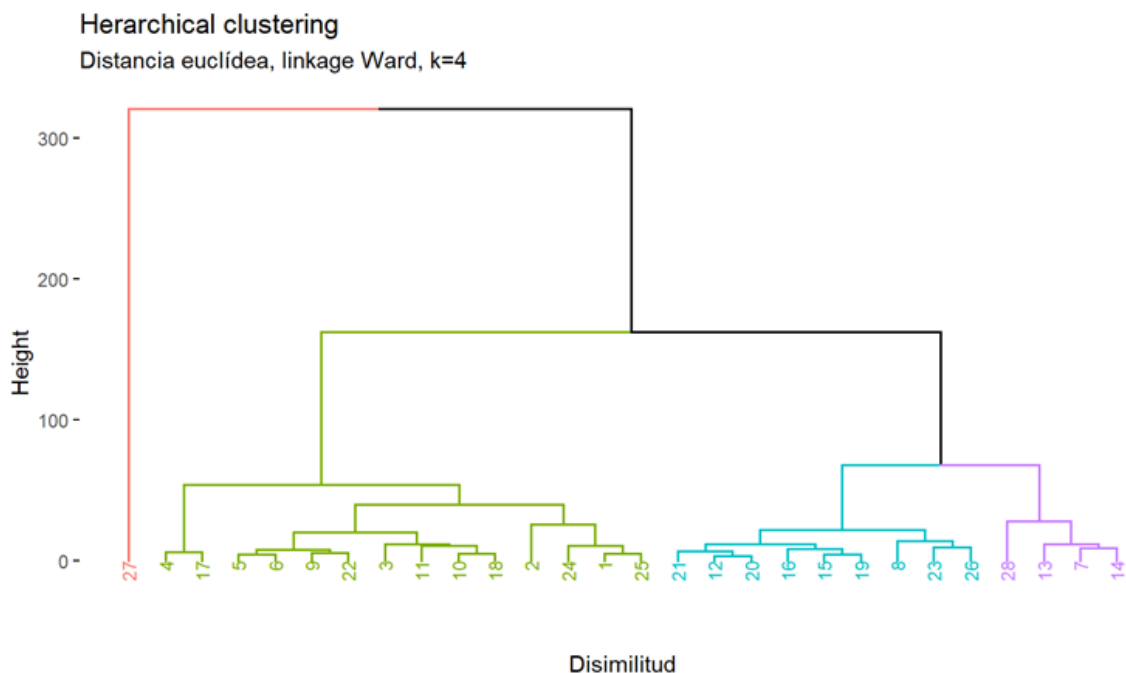


Figura 4. Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cuantitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruce *R. glaucus* x *R. niveus* (27 y 28, respectivamente).

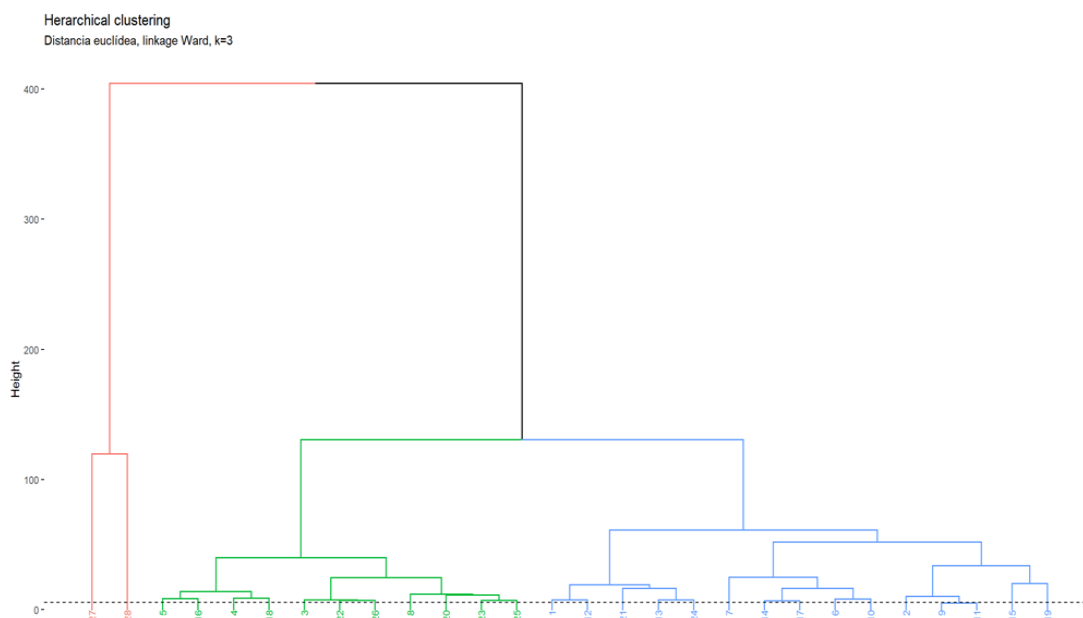
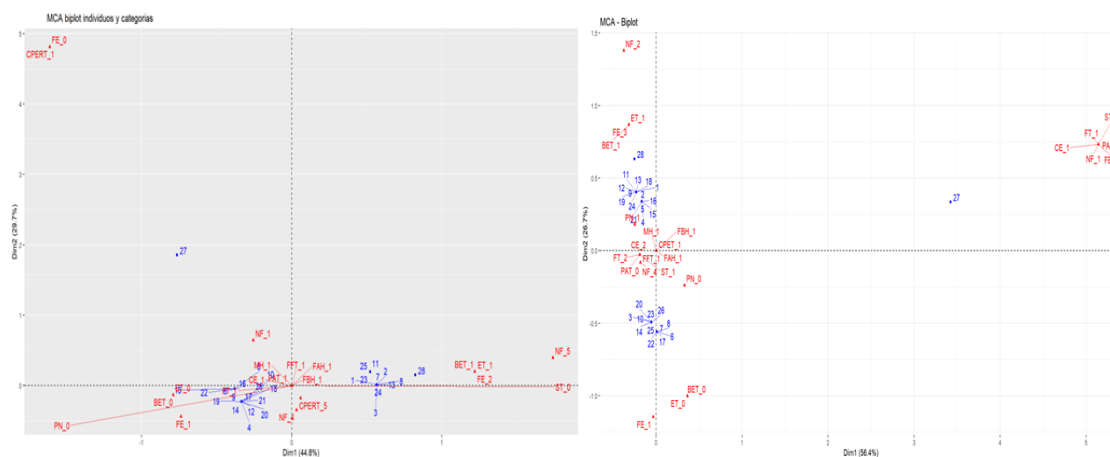


Figura 5. Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cuantitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruz *R. glaucus* x 'Tupy' (27 y 28 respectivamente).

5.3.5 Caracterización morfológica de genotipos de *Rubus* mediante descriptores cualitativos

En la evaluación de los descriptores morfológicos en 26 progenies y dos progenitores, el análisis de correspondencia múltiple mostró la cruz de GxN (Figura 6a) que el 74.8 % de la varianza total se explicó por los primeros dos componentes CP1 (44.8 %) y CP2 (29.7 %). En el primer componente se observa que las variables que hicieron la mayor contribución fueron FE_0 que está ausente, y RCPET_1, además, allí encontramos al progenitor femenino (*R. glaucus*) apartándose del resto de muestras, así como a *R. niveus* (progenitor masculino) y algunas progenies que se caracterizaron por la presencia de espinas curvas y con forma angosta en la base, hojas compuestas entre cinco a siete folíolos y con presencia de serosidad en el tallo. En el segundo componente se encontraron los individuos que no presentaron pubescencia en la nervadura central, la forma de la espina siendo rudimentaria o ausente (Figura 6a). se

agrupó según la ausencia de pubescencia en la nervadura central, la forma de la espina siendo rudimentaria o ausente (Figura 6a).



a)

b)

Figura 6. (a) Análisis de correspondencias múltiples que muestra la contribución de las variables, ordenando las accesiones según las variables cualitativas para la cruce *R. glaucus* x *R. niveus*. (b) Análisis de correspondencias múltiples que muestra la contribución de las variables, ordenando las accesiones según las variables cualitativas para la cruce *R. glaucus* x 'Tupy'.

Para la cruce de GxT (Figura 6b), el 83.1 % de la varianza total se explicó por los primeros dos componentes CP1 (56.4 %) y CP2 (26.7 %). La ausencia de serosidad en el tallo, la forma del tallo redondo, las hojas trifoliadas y ausencia de espinas en el tallo hacen parte de las características más discriminantes en el primer componente principal, allí se ubica la muestra 27 que corresponde nuevamente al progenitor femenino (*R. glaucus*) apartándose del resto de muestras. Al lado opuesto se agrupan los individuos con espinas de base angosta y el número de folíolos iguales a cinco (pentafoiliadas) (Figura 6b).

En el análisis de conglomerados considerando las variables cualitativas, conformaron cuatro grupos para cada tipo de cruzamiento. En la Figura 7a, se puede observar que los grupos de color rojo y verde agrupan principalmente aquellos individuos que no presentaron espinas. Mientras que los otros incluyen a progenies y al progenitor *R. niveus*, caracterizados por presentar espinas, y hojas penta y heptafoiliada. En la Figura 7b se presenta el análisis de

agrupamiento del cruzamiento GxT, así como los dos progenitores, en donde se pudo observar la divergencia genética que existe entre estos dos, al quedar ubicados en los extremos y con las progenies que heredaron más rasgos de cada uno de ellos. La expresión de caracteres parentales o caracteres intermedios expresados en los híbridos depende principalmente del control genético y la influencia del ambiente (Meng et al., 2022). El análisis de conglomerados y de componentes principales realizados en estudios del germoplasma de *Rubus* en Filipinas, mostraron la existencia de alta variabilidad entre las especies estudiadas debido principalmente a las características de forma de la hoja, número de lóbulos en los folíolos y pubescencia en el pedicelo (Real & Madulid, 2019).

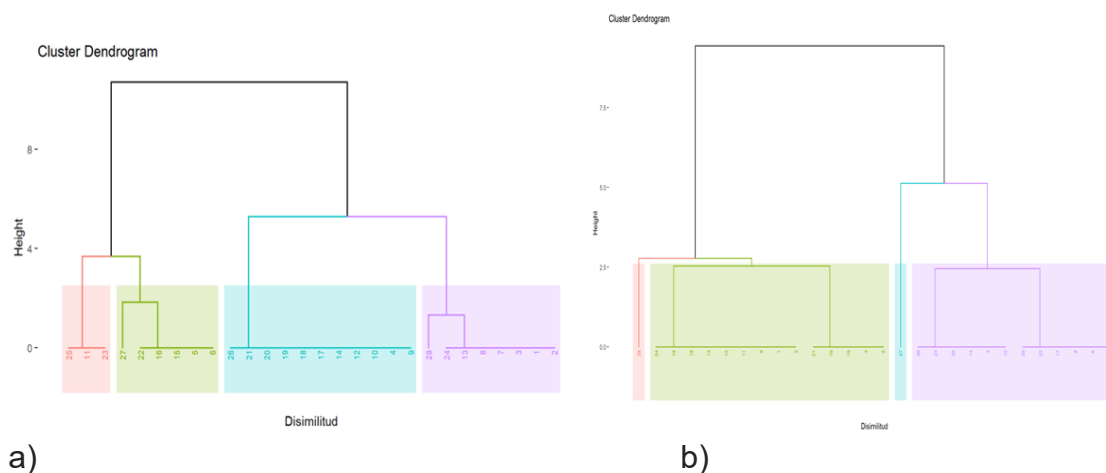


Figura 7. (a) Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cualitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruce *R. glaucus* x *R. niveus* (27 y 28 respectivamente). **(b)** Dendrograma de distancia Euclídea entre descriptores morfológicos cualitativos en progenies (1 al 26) y progenitores de la cruce *R. glaucus* x 'Tupy' (27 y 28 respectivamente).

La selección de progenitores adecuados es crucial para la producción de nuevos cultivares de *Rubus*. Su capacidad para transmitir rasgos deseables a la progenie determinará el éxito de la selección (Worthington et al., 2023). Los programas de mejoramiento de *Rubus* deben seleccionar progenitores en función de los componentes de rendimiento, además de comprender los mecanismos genéticos que determinan la herencia de los rasgos más deseables y cómo los factores

ambientales influyen en su expresión (Marchi et al., 2019; Sánchez-Betancour et al., 2025). Por lo tanto, la identificación de híbridos con alta capacidad de fructificación y frutos de alta calidad, así como otras características de interés, podría dar lugar a mejores cultivares (Mimura & Suga, 2020; Toshima et al., 2021; da Silva et al., 2024).

La caracterización morfológica y bioquímica y la eficiencia de los recursos son necesarias para el mejoramiento de *Rubus* y la explotación del germoplasma (Sagbas et al., 2020). La perspectiva de utilizar ciertos genotipos como formas parentales en hibridaciones artificiales para adquirir variabilidad que pueda explotarse mediante la selección y la creación de cultivares también es de interés. Por lo tanto, para ayudar a los mejoradores de *Rubus* a satisfacer las demandas de los clientes, en este estudio, se realizaron cruzas controladas para observar las características morfológicas heredadas de los progenitores, destacándose la ausencia de espinas cercanas a la mitad de los genotipos resultantes de cada cruzamiento debido a la combinación de rasgos entre progenitores a través del mejoramiento tradicional (Khadgi & Weber, 2020). Sin embargo, debido a que este género es de los más diversos y numerosos en especies y con varias estrategias reproductivas como la poliploidía, apomixis y la hibridación (Carter et al., 2019) hay alta heterocigosidad entre cultivares y especies de *Rubus* que dificultan la expresión de características deseables hasta la producción de gametos viables.

5.4 Conclusiones

El análisis de la variabilidad morfológica permitió establecer los caracteres discriminantes más significativos para la clasificación y el agrupamiento de híbridos y progenitores en grupos genéticos diferenciados. La ausencia de espinas se determinó como un carácter de relevancia agronómica entre los rasgos evaluados, en virtud de su impacto positivo en la optimización del manejo del cultivo y en la eficiencia de las labores culturales en zarzamora.

5.5 Literatura citada

- Atanasova, S., Georgieva, M., & Georgiev, D. (2022). Interaction between vegetative and reproductive manifestations in raspberry candidate cultivar 'Magdalena'. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 28(6). https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A9%3A27440409/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A160923789&crl=c&ink_origin=scholar.google.com
- Balan, V., Sava, P., Calalb, T., Ciorchină, N., Cumpanici, A., Dodica, D., Roșca, I., Todiraș, V., & Zbancă, A. (2017). *Culture of fruit shrubs and strawberries*. HEKS Publishing House EPER. <https://agrobiznes.md/wp-content/uploads/2018/03/Manual-didactic-Cultura-arbustilor-fructiferi-si-a-capsunului.pdf>
- Bradish, C. M., Perkins-Veazie, P., Fernandez, G. E., Xie, G., & Jia, W. (2012). Comparison of flavonoid composition of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) grown in the Southern United States. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(23), 5779-5786. <https://doi.org/10.1021/jf203474e>
- Carter, K. A., Liston, A., Bassil, N. V., Alice, L. A., Bushakra, J. M., Sutherland, B. L., ... & Hummer, K. E. (2019). Target capture sequencing unravels *Rubus* evolution. *Frontiers in plant science*, 10, 1615. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01615>
- da Silva, A. V., Prado, M., Campos, G. R., Borges, K. L. R., Yassue, R. M., Husein, G., ... & Fritsche-Neto, R. (2024). Comparing strategies for genomic predictions in interspecific biparental populations: a case study with the *Rubus* genus. *Euphytica*, 220(10), 146. <https://doi.org/10.1007/s10681-024-03406-2>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2020). InfoStat. Centro de Transferencia InfoStat.
- Espinosa B., N., Ligarreto M., G. A., Barrero M., L. S., & Medina C., C. I. (2016). Variabilidad morfológica de variedades nativas de mora (*Rubus* sp.) en los Andes de Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 211-221. <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.4755>
- Gao, X.-F., Xiong, X.-H., Boufford, D.E., Gao, Y.-D., Xu, B., & Zhang, C. (2023). Phylogeny of the Diploid Species of *Rubus* (Rosaceae). *Genes*, 14, 1152. <https://doi.org/10.3390/genes14061152>
- García, E. (2005). *Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen* (4.^a ed.). Distrito Federal: Instituto de Geografía. Universidad Autónoma de México. <https://publicaciones.geografia.unam.mx/index.php/ig/catalog/book/83>
- Georgiev, D., Georgieva, M., Hristova, D. (2023). Dependencies Between Vegetative and Reproductive Performances in 'Shopska Alena' Raspberry Cultivar. *Horticulture* LXVII, 76–79. https://horticulturejournal.usamv.ro/pdf/2023/issue_2/Art11.pdf
- Gil-Martinez, L., Mut-Salud, N., Ruiz-Garcia, J. A., Falcon-Pineiro, A., Maijo-Ferre, M., Banos, A., De la Torre-Ramirez, J. M., Guillamon, E., Verardo, V., & Gomez-Caravaca, A. M. (2023). Phytochemicals determination, and antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and anticancer activities of blackberry fruits. *Foods*, 12(7), 1505. <https://doi.org/10.3390/foods12071505>

- Gonzalez-Castro, Y., Manzano-Duran, O., & Garcia-Hoya, O. (2019). Puntos críticos de la cadena productiva de la mora (*Rubus glaucus* Benth) en el municipio de Pamplona, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 10(1), 9–22. <https://doi.org/10.19053/20278306.v10.n1.2019.10008>
- Gutiérrez, V. G. (1970). Género *Rubus*. *Manual práctico de botánica taxonómica*. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrícolas. 1(3), 370-378. <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/136>
- Haffner, K., Rosenfeld, H. J., Skrede, G., & Wang, L. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 279-289. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00147-8)
- Josse, J., & Husson, F. (2016). missMDA: a package for handling missing values in multivariate data analysis. *Journal of statistical software*, 70, 1-31. <https://doi.org/10.18637/jss.v070.i01>
- Jyotiraditya D., Umesh S., & Shilpa S. (2025). Exploration of the descriptive phyto-geography of genus *Rubus*: A systematic review with global and Indian perspectives. *Plant Science Today*, 12(2), 1-12. <https://doi.org/10.14719/pst.7780>
- Kassambara, A., & Mundt, F. (2020). factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses (version 1.0. 7). *CRAN-R Package*.
- Khadgi, A. & Weber, C. A. (2020). Morphological Characterization of Prickled and Prickle-free *Rubus* Using Scanning Electron Microscopy. *HortScience*, 55(5), 676–683. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14815-20>
- Konečná, M., & Sochor, M. (2025). Lack of natural gene flow despite high crossability: what are the reproductive barriers in diploid brambles (*Rubus* subgenus *Rubus*)? *Botanical Journal of the Linnean Society*, boaf028. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boaf028>
- Kumar, V., Sharma, A., Sharma, N., Saini, R., Dev, K., El-Shazly, M., & Bari, A. B. A. (2024). A review of botany, traditional applications, phytochemistry, pharmacological applications, and toxicology of *Rubus ellipticus* Smith fruits. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(7), 4483-4497. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-02964-5>
- Kumar, S. S., Prasad, S., Wani, O. A., El-Hendawy, S., Mattar, M. A., & Salem, A. (2025). Genetic diversity and agro-morphological characterization of cassava varieties provides insight for breeding and crop improvement. *Scientific Reports*, 15(1), 17498. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-02527-5>
- Lepaja, K., Lepaja, L., & Kullaj, E. (2021). Fruit quality parameters of five primocane raspberry cultivars in Kosovo. In *IV International Symposium on Horticulture in Europe-SHE2021* 1327 (pp. 269-272). 10.17660/ActaHortic.2021.1327.35
- Ladyzhenskaya, O., Aniskina, T., Simakhin, M., Donskih, V., Pashutin, V., Tazin, I., & Kryuchkova, V. (2025). Productivity of Modern Raspberry Varieties and Prospects for Their Selection. *Crops*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.3390/crops5010001>

- Maj, G., Buczyński, K., Klimek, K. E., & Kaplan, M. (2024). Evaluation of Growth and Energy Parameters of One-Year-Old Raspberry Shoots, Depending on the Variety. *Energies*, 17(13), 3153. <https://doi.org/10.3390/en17133153>
- Marchi, P. M., Carvalho, I. R., Höhn, D., Carra, B., Szareski, V. J., Dini, M., ... & Antunes, L. E. C. (2019). Genetic parameters prediction (REML/BLUP) for morphological, physical-chemical, phytochemical, and mineral components of primocane-fruited raspberries. *Genetics and Molecular Research*, 18(2). <http://dx.doi.org/10.4238/gmr18254>
- Meng, Q., Manghwar, H., & Hu, W. (2022). Study on supergenus *Rubus* L.: Edible, medicinal, and phylogenetic characterization. *Plants*, 11(9), 1211. <https://doi.org/10.3390/plants11091211>
- Mimura, M., & Suga, M. (2020). Ambiguous species boundaries: Hybridization and morphological variation in two closely related *Rubus* species along altitudinal gradients. *Ecology and Evolution*, 10(14), 7476-7486. <https://doi.org/10.1002/ece3.6473>
- Mimura, M., Tang, Z., Shigenobu, S., Yamaguchi, K., & Yahara, T. (2024). Genomic Introgression in the Hybrid zones at the Margins of the Species' Range Between Ecologically Distinct *Rubus* Species. *Ecology and Evolution*, 14(11), e70476. <https://doi.org/10.1002/ece3.70476>
- Moreno-Medina, B. L., Casierra-Posada, F., & Cutler, J. (2018). Phytochemical composition and potential use of *Rubus* species. *Gesunde Pflanzen*, 70(2), 65-74. <https://doi.org/10.1007/s10343-018-0416-1>
- Mucioki, M. (2024). Climate and land-use change impacts on cultural use berries: Considerations for mitigative stewardship. *Plants, People, Planet*, 6(4), 791-802. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10500>
- Ochieng, J. A., Gesimba, R. M., Oyoo, M. E., Korir, P. C., & Owuoche, J. O. (2019). Morphological characterization of blackberry (*Rubus* subgenus *Rubus* Watson) genetic resources in Kenya. *African Journal of Plant Science*, 13(11), 297-308. <https://doi.org/10.5897/AJPS2018.1703>
- Pruteanu, A., Constantin, G. A., Vanghele, N. A., & Vlăduț, V. (2025). Evaluation of Growth and Production Parameters of Raspberries and Blackberries Cultivated in Romania. *Horticulturae*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/horticulturae11040369>
- Radovich, A., Aksich, M. F., Rakonjac, V., Milivojevic, J., Nikolich, D., & Nikolich, M. (2013). Diversity and relationship of yield components and fruit quality in promising florican raspberry hybrids. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19, 750-755. https://www.researchgate.net/profile/Milica-Fotiric-Aksic/publication/267033488_Diversity_and_relationship_of_yielded_components_and_fruit_quality_in_promising_floricane_raspberry_hybrids/links/5444ea6c0cf2e6f0c0fbf2e9/Diversity-and-relationship-of-yield-components-and-fruit-quality-in-promising-floricane-raspberry-hybrids.pdf
- R Core Team. (2020). R Development Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing.
- Real, M. S. B., & Madulid, D. A. (2019). A phenetic analysis of Philippine *Rubus* species (Rosaceae) by morphology. *Philippine Journal of Systematic Biology*, 13(1), 85-96. DOI 10.26757/pjsb2019a13009

- Rodríguez-Bautista, G., Ledesma Segura, S., Izquierdo, S., López-Medina, J., Gutierrez Espinosa, M. A., Cruz-Huerta, N., Carrillo-Salazar, J., & Valenzuela-Núñez, L. (2019). Distribution and morphological variability of blackberries species in Mexico (*Rubus* spp. L.). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud Biotecnia*, 21(2), 97-105. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i2.935>
- Rodríguez Bautista, G., S. D. Segura Ledezma, S., Cruz Izquierdo, T., Corona Torres, J., López Medina, M. A., Gutiérrez Espinosa, N., Cruz Huerta and L. M. Valenzuela Núñez. (2018). Poliploidía en zarzamoras silvestres (*Rubus* spp L.). *Nova Scientia* 10(21): 1-16. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1385>.
- Rodríguez-Bautista, G., Segura Ledezma, S. D., Cruz-Izquierdo, S., López-Medina, J., Cruz-Huerta, N., & Valenzuela Nuñez, L. M. (2021). Potential distribution and eco-climatic characterization of wild species of *Rubus* subgenus *Eubatus* in Mexico. *Polibotánica*, (52), 103-116. DOI: <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.8>.
- Romoleroux, K., (1996). Rosaceae. In G. Harling, & L. Andersson (Eds.). *Flora of Ecuador* 56, 1–152. Stockholm: Publishing House of the Swedish Research Council.
- Roque, M. F., Pergolotti, V., Sabbadini, S., Trindade, C. S., Valdivieso, T., Oliveira, P. B., & Mezzetti, B. (2023). Successful in vitro germination of *Rubus* genotypes induced to polyploidy using three different antimetabolic agents. In *Acta Horticulturae, In XIII International Rubus and Ribes Symposium* (Vol. 1388, pp. 365–372). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2024.1388.53>
- Rzedowski, J., & Calderón de Rzedowski, G. (2005). *Rosaceae. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes* (Fascículo 135, pp. 1–163). Instituto de Ecología, A.C. <https://doi.org/10.21829/fb.113.2005.135>
- Sabooni, N., & Gharaghani, A. (2022). Induced polyploidy deeply influences reproductive life cycles, related phytochemical features, and phytohormonal activities in blackberry species. *Frontiers in Plant Science*, 13, 938284. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.938284>
- Sagbas, H. I., İlhan, G., Zitouni, H., Anjum, M. A., Hanine, H., Necas, T., ... & Ercisli, S. (2020). Morphological and biochemical characterization of diverse strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) genotypes from northern Turkey. *Agronomy*, 10(10),1581. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101581>
- Sanchez-Betancourt, E., Cubillos, F. G. M., & García-Arias, F. L. (2025). Evaluation of yield and fruit quality in five genotypes of Castilla blackberry (*Rubus glaucus* Benth.). *Agronomía Colombiana*, 43(1), e119251-e119251. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v43n1.119251>
- Sochor, M., Trávníček, B., & Király, G. (2019). Ploidy level variation in the genus *Rubus* in the Pannonian Basin and the northern Balkans, and evolutionary implications. *Plant Systematics and evolution*, 305(8), 611-626. <https://doi.org/10.1007/s00606-019-01593-3>

- Taiyun, W.; Simko, V (2017). R package “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). *Statistician* 56, e24.
- The R Development Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.
- Titirică, I., Roman, I. A., Nicola, C., Sturzeanu, M., Iurea, E., Botu, M., ... & Sestras, A. F. (2023). The main morphological characteristics and chemical components of fruits and the possibilities of their improvement in raspberry breeding. *Horticulturae*, 9(1), 50. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010050>
- Toshima, S., Fujii, M., Hidaka, M., Nakagawa, S., Hirano, T., & Kunitak, H. (2021). Fruit qualities of interspecific hybrid and first backcross generations between red raspberry and *Rubus parvifolius*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 146(6), 445-451. DOI: 10.21273/JASHS05111-21
- Vieira, S. D., Souza, D. C., Martins, I. A., Ribeiro, G. H. M. R., Resende, L. V., Ferraz, A. K. L., Galvão, A. G., & Resende, J. T. V. (2017). Selection of experimental strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) hybrids based on selection indices. *Genetics and Molecular Research*, 16(1), Article 16019052. <https://doi.org/10.4238/gmr16019052>
- Wang, Z., Zhang, W., Zhou, Y., Zhang, Q., Kulkarni, K. P., Melmaiee, K., ... & Sun, H. (2024). Genetic and epigenetic signatures for improved breeding of cultivated blueberry. *Horticulture Research*, 11(7), uhae138. <https://doi.org/10.1093/hr/uhae138>
- Willman, M. R., Bushakra, J. M., Bassil, N., Finn, C. E., Dossett, M., Perkins-Weazie, P., ... & Fresnedo-Ramírez, J. (2022). Analysis of a multi-environment trial for black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) quality traits. *Genes*, 13(3), 418. <https://doi.org/10.3390/genes13030418>
- Worthington, M., Chizk, T. M., Johns, C. A., Nelson, L. D., Silva, A., Godwin, C., & Clark, J. R. (2023). Advances in molecular breeding of blackberries in the Arkansas fruit breeding program. In *XIII International Rubus and Ribes Symposium 1388* (pp. 85-92). 10.17660/ActaHortic.2024.1388.12
- Yazdanpour, F., Khadivi, A., & Etemadi-Khah, A. (2018). Phenotypic characterization of black raspberry to select the promising genotypes. *Scientia Horticulturae*, 235, 95-105. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.071>
- Yu, Y., Yang, G., Sun, L., Song, X., Bao, Y., Luo, T., & Wang, J. (2022). Comprehensive evaluation of 24 red raspberry varieties in northeast China based on nutrition and taste. *Foods*, 11(20), 3232. <https://doi.org/10.3390/foods11203232>
- Zhang, S. D., Jin, J. J., Chen, S. Y., Chase, M. W., Soltis, D. E., Li, H. T., ... & Yi, T. S. (2017). Diversification of Rosaceae since the Late Cretaceous based on plastid phylogenomics. *New Phytologist*, 214(3), 1355-1367. <https://doi.org/10.1111/nph.14461>
- Zhou, Z., Liu, F., Xu, Y., & Hu, W. (2024). Genetic diversity analysis and core germplasm construction of *Rubus chingii* Hu. *Plants*, 13(5), 618. <https://doi.org/10.3390/plants13050618>

CAPÍTULO 6 VIABILIDAD Y GERMINACIÓN DE POLEN EN HÍBRIDOS DE CRUZAS INTERESPECÍFICAS DE *RUBUS* SPP.

RESUMEN

Viabilidad y germinación del polen en híbridos de cruzamientos interespecíficos de *Rubus* spp.

El polen desempeña un papel vital en el éxito de la hibridación natural y la autofecundación y es de gran importancia en los programas de mejora genética. El objetivo de este estudio fue evaluar la viabilidad y la germinación de los granos de polen de los parentales *Rubus glaucus*, *Rubus niveus* y la variedad Tupy, así como de la progenie derivada de algunos cruces. La viabilidad del polen se evaluó mediante tinción con acetocarmín glicerol. Para la germinación del polen se utilizó el método del Centro Internacional de la Papa. Se realizó la prueba *t* de Student y un análisis de correlación de Pearson entre ambas evaluaciones. El diámetro del polen se midió mediante un programa de imágenes y se realizó un análisis de varianza, y la prueba de Tukey. Las evaluaciones de viabilidad del polen fueron entre 1.01 y 95.64 %, mientras que la germinación entre 0.0 y 35.86 %. En cuanto al diámetro del polen fueron entre 3.46 y 24.72 μm . No se encontraron diferencias significativas entre progenitores o progenies; sin embargo, se observaron diferencias al comparar las poblaciones de progenitores y progenies. *R. glaucus* presentó los valores mayores en diámetro, seguido de ‘Tupy’, el resto mostró los valores menores. La viabilidad y la germinación del polen en los progenitores presentaron diferencias significativas con relación en la progenie, así como el diámetro de los granos de polen. Estas características no fueron heredadas a la F1 derivadas de las cruces, por lo que en este estudio se determinó su androesterilidad.

Palabras clave adicionales: Androsterilidad, hibridación, polinización, mejora genética, Zarzamora.

6.1. INTRODUCTION

Blackberries are a promising crop due to their high demand worldwide, thanks to their organoleptic properties, nutritional content, and antioxidant capacity. In Mexico, 1,158 million tons of berries are produced annually, of this production, strawberries occupy the largest established area with 35.7 %, followed by blackberries with 26.2 %, raspberries with 23.8 % and blueberries with 14.2 % (SIAP, 2024).

In flowering plants, the development of male and female gametes plays a key role in

fertilization and crop production. For breeding programs, hybridization through controlled crosses is one of the most widely used methods to obtain progenies with desirable characteristics. To achieve this, it is necessary to know the pollen grain stability of both parents and progeny, as this is related to stigma receptivity and genetic compatibility in terms of viability and pollen tube development involving typical polar cell elongation (Wang et al, 2010). This knowledge allows the estimation of pollination and fertilization probabilities, as well as the generation of fruits with viable seeds. These seeds progenies can be characterized to continue the search for desirable materials in both plant and fruit quality.

Since pollen grains possess unique biological characteristics and store an abundant amount of genetic information, in addition to showing high genetic conservation, they are a useful tool for species identification (Almeida et al., 2029). Thus, pollen quality is a crucial parameter for breeding programs, as it includes both viability and germination capacity of the pollen grain. This viability can be influenced by internal and external factors. Internal factors include interspecific genetic variability, pollen metabolism and number of nuclei (Hormaza and Herrero, 1999; Nikkanen et al., 2000). On the other hand, some external factors include temperature, humidity percentage and plant age (Ferri et al., 2008; Sturzeanu et al., 2020). There are different methods to evaluate pollen quality, both *in vivo* and *in vitro*. *In vivo* methods are the most reliable, as they are performed directly on the flower and allow the development of the pollen tube to be followed. This complex process involves tubular development from the stigma, traversing the style tissues, passing through the septum, extending along the funiculus and finally heading towards the ovule micropyle and finally fertilization (Zheng et al., 2020). *In vitro* methods are the most widely implemented because of their speed, simplicity and ease of use. These methods can use cytoplasmic membrane staining with acetic carmine, acetic orcein, tetrazolium salts, among others, as well as germination tests (Rejón et al., 2010) and can evaluate small amounts of pollen, which allow visualization under the microscope to identify stained grains or pollen tube development, thus determining the percentage of viability and germination (Araméndiz et al., 2012).

The aim of this study was to evaluate the viability and germination rate of pollen grains of the parents *Rubus glaucus* (Andean blackberry), *Rubus niveus* (wild raspberry) and the Tupy variety, and of the progeny derived from crosses between *R. glaucus* x *R. niveus* and *R. glaucus* x ‘Tupy’, in order to identify fertile and male sterile plants.

6.2. MATERIALS AND METHODS

6.2.1. Plant material

Three parents of *R. glaucus* (Andean blackberry), *R. niveus* (wild raspberry) and the variety Tupy were evaluated and nine plants were selected from each progeny derived from crosses of *R. glaucus* x *R. niveus* (G x N) and *R. glaucus* x 'Tupy' (G x T). The parents and the respective progenies were established inside greenhouse conditions in the facilities of the Experimental Agricultural Field of the Department of Plant Science of the Universidad Autónoma Chapingo, located in the municipality of Texcoco de Mora, State of Mexico (19°51' north latitude and 98° 88' west longitude, altitude 2258 m a.s.l.).

6.2.2. Pollen viability and germination

To evaluate the viability and germination of pollen, five flowers per plant were taken at anthesis to be emasculated. Once this was done, the anthers were placed in aluminum foil under LED light for 24 hours for opening. Subsequently, they were stored in Eppendorf tubes and kept refrigerated at 4 °C for conservation.

Of the pollen obtained for each genotype, the viability determination methods were used by staining with 2 % acetocarmine glycerol (Alexander, 1969), observed under an Olympus BX 53 microscope. Five visual fields with an objective at 40X and an eyepiece at 10X clockwise were used on the basis of 50 grains taken at random per replication and the number of viable and non-viable pollen grains was counted for each visual field. Grains with circular shape and reddish coloration were considered viable (Figure 1A), while those with irregular shape and little staining were not viable (Figure 1B).

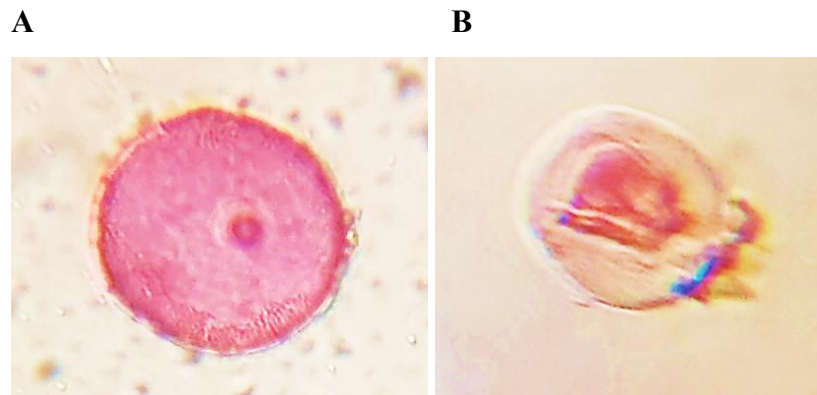


Figure 1. Pollen of *Rubus glaucus*. A. Viable pollen. B. Non-viable pollen.

For pollen germination, the pollen fertility method of the International Potato Center (CIP) was used (Ordoñez, 2014). A stock solution of boric acid at 200 mg L⁻¹, 20 g of sucrose and 0.2 mL of polysorbate 20, commercially known as Tween 20, was prepared. A 5 mL of this solution was taken and dissolved in 95 mL of distilled water for a final solution of 100 mL. Four drops of the culture medium were placed distributed on the lid of a Petri dish. With the help of a toothpick, the pollen was added and left in a humid chamber using filter paper moistened with sterile distilled water covering the bottom of the Petri dish at 24 °C for 24 hours. The following day, a drop of potassium iodide solution was added, and they were covered with 22 x 40 mm cover slips. Five visual fields of each replicate were observed with a 40X objective and a 10X eyepiece using an Olympus BX 53 microscope. The percentage of germinated pollen grains was calculated by the formula: (germinated grains/total grains) x 100.

6.2.3. Diameter of pollen grains

Pollen was measured by image analysis with ImageJ software (Schimdelin et al., 2015), where a micrometer slide was used as a reference for the respective calibration. Pollen diameter measurements of both parents and progeny were performed in five visual fields per replicate and where 50 grains per visual field were considered.

6.2.4. Statistical analysis

The results were presented as the mean value of three replicates per population. Subsequently, the Student's *t* test was performed to compare between two populations and a Pearson correlation analysis was carried out between viability and germination tests. All results were expressed as the mean value (± standard deviation). Statistical analysis was performed using the InsfoStat program (Di Rienzo et al., 2008).

Pollen diameter measurements were reported as the mean value of 50 pollen grains per triplicate and per population. Statistical analysis was performed using the InsfoStat program (Di Rienzo et al., 2008), by analysis of variance. Differences between means were determined with Tukey's test at 5 % significance.

6.3. RESULTS AND DISCUSSION

It is widely known that fruit set and fruit yield are highly dependent on pollen quantity and quality, stigma receptivity, pollination modes and effective pollination period (EEP). These

properties play a fundamental role in hybridization processes for obtaining fruit and seeds in genetic improvement programs of a particular species.

The staining of pollen grains with acetocarmine allowed easy differentiation between viable and non-viable grains when they are strongly stained with a well-defined spherical membrane. In the pollen viability tests carried out on the progenitors, mean values ranging from 68.89 to 95.64 % were found, studies carried out in Indonesia on pollen viability tests on species of *Rubus* showed values between 59.68 to 98.11 % (Normasiwi et al., 2020), which were similar to those obtained in the present study. The species *R. glaucus* had 82.93 % of viability so it differs from studies conducted in Colombia (López et al., 2029), where the average value was 57.69 %, these results suggest that this species has a high probability of having a high compatibility and stability for self-fertilization. In the comparison between parent populations, it was found that there were no significant statistical differences since all showed high percentages of pollen viability, while between the progenies of both crosses there were no differences due to the low percentage obtained in the viability test (Table 1). Because of this, the comparison between parent and progeny populations showed significant statistical differences.

Table 1. Result of *t* test for equality of means ($\pm$ standard deviation) in pollen viability (%) among evaluated *Rubus* progeny or parent

Progeny or parent (1)	Progeny or parent (2)	Mean (1)	Mean (2)	<i>P</i> value
G x N	G x T	1.89 $\pm$ 1.18 a ^z	1.01 $\pm$ 0.28 a	0.2746
G x N	<i>R. glaucus</i>	1.89 $\pm$ 1.18 b	82.96 $\pm$ 14.81 a	0.011
G x N	<i>R. niveus</i>	1.89 $\pm$ 1.18 b	68.89 $\pm$ 33.56 a	0.0445
G x T	<i>R. glaucus</i>	1.01 $\pm$ 0.28 b	82.96 $\pm$ 14.81 a	0.0107
G x T	‘Tupy’	1.01 $\pm$ 0.28 b	95.64 $\pm$ 4.81 a	0.0009
<i>R. glaucus</i>	<i>R. niveus</i>	82.96 $\pm$ 14.81 a	68.89 $\pm$ 33.56 a	0.5427
<i>R. glaucus</i>	‘Tupy’	82.96 $\pm$ 14.81 a	95.64 $\pm$ 4.81 a	0.2314
<i>R. niveus</i>	‘Tupy’	68.89 $\pm$ 33.56 a	95.64 $\pm$ 4.81 a	0.3051

^z Equal letters per row are not statistically different according to the *t* test (*P* < 0.05). G x N: F1 cross of *R. glaucus* x *R. niveus*; G x T: F1 cross of *R. glaucus* x ‘Tupy’.

Although the parents have high pollen viability rates, their offspring do not. This is possibly due to problems in the meiosis of the genotypes obtained in both crosses, since ploidy levels can vary between the parents and as a consequence the fertility difficulties of the progeny are derived, so that values between 1.01 and 1.89 % in the percentages of pollen viability were present. According to research on blackberry species, these can have different ploidy levels from diploid ($n = 2x = 14$) to tetradecaploid ($2n = 14x = 98$) or possibly octadecaploid ($2n = 18x = 126$) (Gao et al., 2023). Hybridization in *Rubus* occurs mainly between closely related species, but also in some cases between species classified in different subgenera. In the case of *R. glaucus*, it is estimated that it is an amphidiploid or fertile allotetraploid species, probably originating from genomic fusion of two species (Jennings et al., 1988). It was found 28 chromosomes in cultivars of *R. glaucus*, and assumed a basic number $n=7$ for the genus *Rubus* (Delgado et al., 2020), which confirmed its tetraploidy ($4x$) (López et al., 2019). For ‘Tupy’ it was documented as a triploid plant ($2n = 3x = 21$) (Rodríguez 2018). For wild raspberry (*R. niveus*) belonging to the subgenus *Idaeobatus* was classified as a diploid ($2n = 2x = 14$) (Bolaños et al., 2021). Hence the possibility of the male sterility between the progenies generated, which is a limitation to produce new genotypes for genetic improvement from crosses between these species.

In pollen germination tests, the parents *R. niveus* and ‘Tupy’ showed values close to 31.8 and 35.86 %, respectively, which did not show significant statistical differences between these two, unlike *R. glaucus* that had low values compared to the other parents, contrasting with studies carried out on *R. linneatus* that obtained a percentage of 69.87 % in germination rate at 24 hours (Lechowicz et al., 2020). However, the process of pollen germination can last from a few minutes to several hours or days and has a different rate depending on the species and treatments given. The comparison between parents with progeny shows significant statistical differences in all cases. Since in the F1 cross between *R. glaucus* and *R. niveus* the germination percentage was equal to zero and in the F1 cross of blackberries it was in percentages close to zero with 0.29 % (Table 2). This is related to the values in the viability tests, since the correlation analysis with a $r=0.7$ describes a positive correlation between the two variables.

Table 2. Result of *t* test for equality of means in pollen germination (%) among *Rubus* progeny or parent.

Progeny or parent (1)	Progeny or parent (2)	Mean (1)	Mean (2)	<i>P</i> value
G x N	G x T	0 ± 0.00 a ^z	0.29 ± 0.19 a	0.1153
G x N	<i>R. glaucus</i>	0 ± 0.00 b	3.64 ± 0.62 a	0.0095
G x N	<i>R. niveus</i>	0 ± 0.00 b	31.8 ± 5.78 a	0.0108
G x T	<i>R. glaucus</i>	0.29 ± 0.19 b	3.64 ± 0.62 a	0.0009
G x T	‘Tupy’	0.29 ± 0.19 b	35.86 ± 7.01 a	0.0127
<i>R. glaucus</i>	<i>R. niveus</i>	3.64 ± 0.62 b	31.8 ± 5.78 a	0.0139
<i>R. glaucus</i>	‘Tupy’	3.64 ± 0.62 b	35.86 ± 7.01 a	0.0155
<i>R. niveus</i>	‘Tupy’	31.8 ± 5.78 a	35.86 ± 7.01 a	0.4826

^z Equal letters per row are not statistically different according to the *t* test (*P* < 0.05). G x N: F1 cross of *R. glaucus* x *R. niveus*; G x T: F1 cross of *R. glaucus* x ‘Tupy’.

For pollen diameter, values ranging from 3.46 to 24.72 µm were found, where the lowest values were for the progeny of the *R. glaucus* x ‘Tupy’ cross and the highest for the pollen of Andean blackberry *R. glaucus* (Figure 2), these results are similar to those described for Andean blackberry where with measurements between 20 to 25 µm (López et al., 2029).

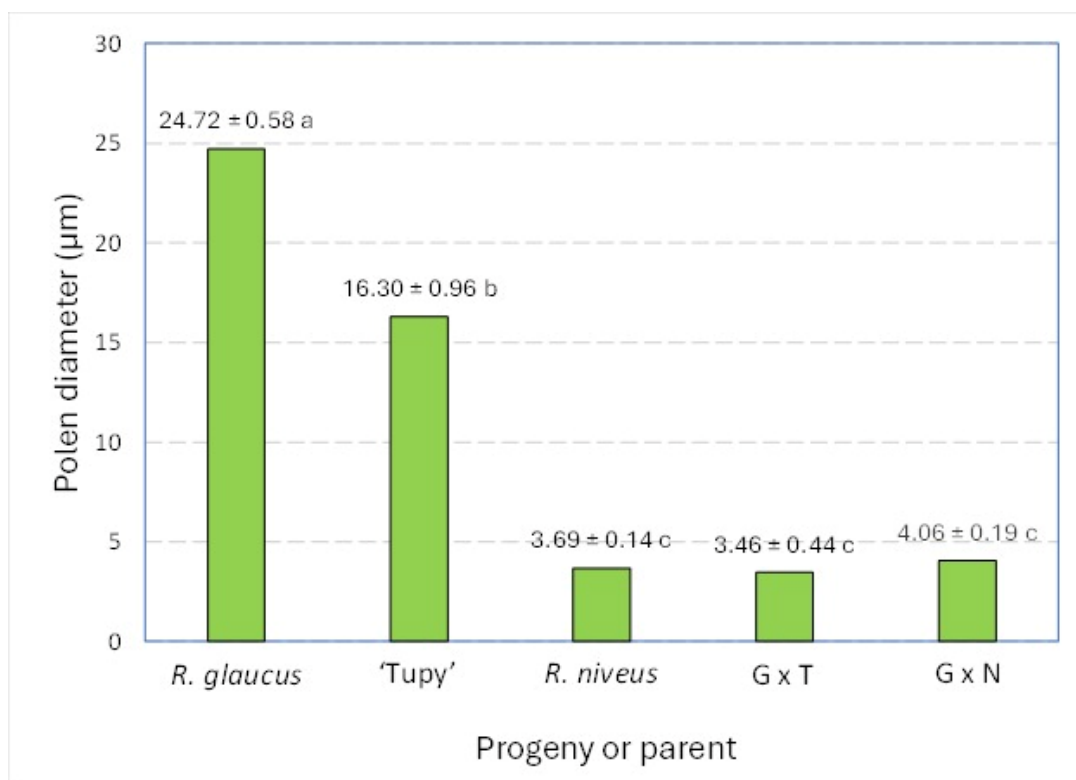


Figure. 2. Pollen diameter of parents (*Rubus glaucus*, *R. niveus* and 'Tupy') and progeny (G x T: *R. glaucus* x 'Tupy'; G x N: *R. glaucus* x *R. niveus*). Equal letters are not statistically different ($P < 0.05$, Tukey). Mean $\pm$ standard deviation. Least significant honest difference (LSDH)= 1.

Recent studies conducted in Poland on 58 European *Rubus* species, the values found were between 14 and 32 μm equatorial diameter, with a mean value of 21.66 μm (Lechowicz et al., 2020). However, the values recorded in this research for *R. niveus* was statistically different compared to the other two parents, which could be due to the fact that belongs to the subgenus *Idaeobatus* where raspberries are classified, which in studies conducted in Europe have obtained minimum values in pollen diameter of 13.88 μm (Lechowicz et al., 2020), for *R. niveus* 18 to 21 μm of equatorial diameter in pollen grains has been reported (Tomlik-Wyremblewska et al., 2004), which differs widely with what was found in the present study.

As for the progeny, the pollen grains are of reduced size compared to the female progenitor so they are statistically different, one of the reasons is their condition of not being viable so their size differs. These results may be due to the complexity in the genus *Rubus*, where interspecific hybridization, polyploidy and apparently frequent facultative apomixis are present, which originates a great variation and makes the classification of species complex, even more so in

palynology studies that are scarce for this genus (Jone et al., 2007). Cytological studies have shown that polyploid species often have larger genome sizes, which may contribute to increased pollen size due to the larger cell volume required to accommodate additional genetic material (Wrońska-Pilarek et al., 2012), which could be observed for tetraploid *R. glaucus* and triploid ‘Tupy’ in terms of pollen size, and probably *R. niveus* as it is considered diploid (Missouri Botanical Garden, 2014). This should be investigated further to determine if pollen diameter can be used to estimate ploidy as has been found for strawberry species (Barrientos-Perez, 1973), although it may have its limitations (Chambers et al., 2013).

6.4. CONCLUSIONS

The viability and pollen germination in the parents exhibited significant differences in relation to the progeny, as well as the diameter of the pollen grains. These characteristics were not inherited by the F1 crosses, so this study determined their male sterility.

Acknowledgments

Christian Camilo Castañeda-Cardona scholarship was supported by Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología.

6.5. Literature Cited

- Alexander, M. P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology* 44(3): 117–122.
- Almeida, G. D. S., A. C. Mezzonato-Pires, C. B. F. Mendonça and V. Goncalves-Esteves. 2019. Pollen morphology of selected species of *Piriqueta* Aubl. (Passifloraceae *sensu lato*). *Palynology* 43(1): 43-52.
- Araméndiz Tatis, H., C. Cardona Ayala y E. A. Lugo Torres. 2012. Germinación del polen de berenjena (*Solanum melongena* L.) en condiciones *in vitro*. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 65(2): 6637-6643.
- Barrientos-Perez, F. 1973. Development and exploitation of interspecific *Fragaria* and intergeneric *Fragaria-Potentilla* amphiploids in strawberry breeding. Ph.D. dissertation. Graduate Division, University of California Davis, CA, USA. 126 p.

251 Bolaños, P. A., M. de Lourdes Torres, G. Pozo, M. P. E. García, M. Ortega, E. Rojas, N. Barriga
 252 and A. L. Reyes. 2021. Evaluación de marcadores microsatélites (SSRs) heterólogos en
 253 *Rubus niveus* para estudios de diversidad genética en las Islas Galápagos. ACI Avances en
 254 Ciencias e Ingenierías 13(2): 20.

255 Chambers, A. H., H. Pollard and K. M. Folta. 2013. Limitations of morphological ploidy
 256 estimation methods in *Fragaria*. Journal of Berry Research 3(3): 135-149.

257 Delgado, L., M. Uribe Lastra y M. L. Marulanda Angel 2010. Estandarización de la técnica
 258 citogenética "Squash" para conteo de cromosomas mitóticos en *Rubus glaucus*
 259 Benth. Scientia Et Technica 18(46): 74-79.

260 Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada and C. W. Robledo.
 261 2008. InfoStat software estadístico, manual de usuario. Centro de Transferencia InfoStat,
 262 Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba,
 263 Argentina. 336 p.

264 Ferri, A., E. Bellini, G. Padula and E. Giordani. 2008. Viability and *in vitro* germinability of
 265 pollen grains of olive cultivars and advanced selections obtained in Italy. Advances in
 266 Horticultural Science 22(2): 1000-1007.

267 Gao, X. F., X. H. Xiong, D. E. Boufford, Y. D. Gao, B. Xu and C. Zhang. 2023. Phylogeny of
 268 the diploid species of *Rubus* (Rosaceae). Genes 14(6): 1152.

269 Hormaza, J. I. and M. Herrero. 1999. Pollen performance as affected by the pistilar genotype in
 270 sweet cherry (*Prunus avium* L.). Protoplasma 208: 129-135.

271 Jennings D. L. 1988. Raspberries and blackberries: their breeding, diseases and growth.
 272 Academic Press. London, UK. 230 p.

273 Jones, J. R., T. G. Ranney, N. P. Lynch, S. L. Krebs. 2007. Ploidy levels and relative genome
 274 sizes of diverse species, hybrids, and cultivars of *Rhododendron*. Journal of the American
 275 Rhododendron Society 61(4).

276 Lechowicz, K., D. Wrońska-Pilarek, J. Bocianowski and T. Maliński. 2020. Pollen morphology
 277 of Polish species from the genus *Rubus* L. (Rosaceae) and its systematic importance. PLOS
 278 One 15(8): e0221607.

279 Lechowicz, K., J. Bocianowski and D. Wrońska-Pilarek. 2022. Pollen morphological Inter-and
 280 intraspecific variability in selected species of *Rubus* L. (Rosaceae). Forests 13(11): 1946.

281 López, A. M., Barrera, C. F. and M. L. Marulanda. 2019. Evaluation of SSR and SNP markers in

282 *Rubus glaucus* Benth progenitors selection. Revista Brasileira de Fruticultura 41: e-081.
 283 López Gutiérrez, A. M., M. L. Marulanda Ángel, L. M. Gómez López and C. F. Barrera Sánchez.
 284 2019. *Rubus glaucus* Benth.: Morphology and floral biology aimed at plant breeding
 285 processes. Revista de la Facultad Nacional de Agronomía Medellín 72(3): 8909-8915.
 286 Missouri Botanical Garden. 2014. IPCN chromosome reports - index to plant chromosome
 287 numbers (IPCN). Missouri Botanical Garden. St. Louis, USA.
 288 Nikkanen, T., T. Aronen, H. Häggman and M. Venäläinen. 2000. Variation in pollen viability
 289 among *Picea abies* genotypes—potential for unequal paternal success. Theoretical and
 290 Applied Genetics 101: 511-518.
 291 Normasiwi, S., A. Salamah and M. I. Surya. 2020. Study on pollen viability of *Rubus* spp. at
 292 Cibodas Botanic Gardens. In: AIP Conference Proceedings 2260. AIP Publishing.
 293 Yogyakarta, Indonesia. pp. 020025-1 - 020025-8.
 294 Ordoñez, B. 2014. Determinación de la viabilidad y fertilidad del polen. Centro Internacional de
 295 la Papa (CIP). Lima, Perú. 6 p.
 296 Rejón García, J. D., C. Suárez, J. D. D. Alché Ramírez, A. J. Castro y M. I. Rodríguez García.
 297 2010. Evaluación de diferentes métodos para estimar la calidad del polen en distintos
 298 cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Polen 20: 61-72.
 299 Rodríguez Bautista, G., S. D. Segura Ledezma, S. Cruz Izquierdo, T. Corona Torres, J. López
 300 Medina, M. A. Gutiérrez Espinosa, N. Cuz Huerta and L. M. Valenzuela Núñez. 2018.
 301 Poliploidía en zarzamoras silvestres (*Rubus* spp L.). Nova Scientia 10(21): 1-16.
 302 Schindelin, J., C. T. Rueden, M. C. Hiner, K. W. Eliceiri. 2015. The ImageJ ecosystem: An open
 303 platform for biomedical image analysis. Molecular Reproduction and Development 82(7-
 304 8): 518-529.
 305 SIAP. 2024. Panorama Agroalimentario 2018-2024. Servicio de Información Agroalimentaria y
 306 Pesquera, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México, México.
 307 <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>
 308 Sturzeanu, M., I. Titirică, O. Hera and C. Mihăescu. 2020. The effect of temperature on pollen
 309 viability and germination capacity of some strawberry and blackberry cultivars. Current
 310 Trends in Natural Science 9(18): 12-19.
 311 Tomlik-Wyremblewska, A., R. W. Van Der Ham and P. Kosinski P. 2004. Pollen morphology
 312 of genus *Rubus* L. Part III. Studies on the Malesian species of subgenera Chamaebatus L.

313 and *Idaeobatus* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 73(3): 207-227.
314 Wang, H. J., J. C. Huang and G. Y. Jauh. 2010. Pollen germination and tube growth. In: J-C.
315 Kader and M. Delseny (Eds.). *Advances in Botanical Research*. Academic Press, London,
316 UK. pp. 1-52.
317 Wrońska-Pilarek, D., A. Jagodziński and T. Maliński. 2012. Morphological studies of pollen
318 grains of the Polish endemic species of the genus *Rubus* (Rosaceae). *Biologia*. 67(1): 87-
319 96. Doi:10.2478/s11756-011-0141-z
320 Zheng, Y. Y., X. J. Lin, H. M. Liang, F. F. Wang and L. Y. Chen. 2018. The long journey of
321 pollen tube in the pistil. *International Journal of Molecular Science* 19(11): 3529.
322