

## **Poliploidía en zarzamoras silvestres (*Rubus* spp L.)**

### **Polyploidy in wild blackberries (*Rubus* spp L.)**

Geremías Rodríguez Bautista<sup>1</sup>

Sergio Damián Segura Ledezma<sup>2</sup>

Serafín Cruz Izquierdo<sup>1</sup>

Tarsicio Corona Torres<sup>1</sup>

José López Medina<sup>3</sup>

María Alejandra Gutiérrez Espinosa<sup>1</sup>

Nicacio Cruz Huerta<sup>1</sup>

Luis Manuel Valenzuela Núñez<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Programa de Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad Genética

<sup>2</sup> Universidad Autónoma Chapingo, Centro Regional Universitario

<sup>3</sup> Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez del Estado de Durango

Autor para correspondencia: Luis Manuel Valenzuela Núñez, E-mail: luisvn70@hotmail.com

### **Resumen**

El número de cromosomas es importante para estudios evolutivos, filogenéticos, mejoramiento genético y taxonómico. De acuerdo a la importancia de los cromosomas, los objetivos de investigación fueron: determinar la poliploidía de las zarzamoras *Rubus adenotrichos* Schldtl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydby, *R. sapidus* Schldtl; Tupí, Kiowa, Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus*. El conteo de cromosomas se realizó en células somáticas mediante aplastado de las puntas de raíz. Se observaron y contaron cromosomas en metafase para cada especie, la poliploidía se determinó partiendo de  $1x = 7$ . Las

características morfológicas de cada una de las especies se realizó con base en descriptores cualitativos de la UPOV 2006. Los resultados obtenidos fueron: las especies de zarzamora presentaron variabilidad en el número de juegos cromosómicos: *Rubus adenotrichos* ( $2n = 2x = 14$ ), *R. cymosus* ( $2n = 5x = 35$ ), *R. humistratus* ( $2n = 2x = 14$ ), *R. palmeri* ( $2n = 4x = 28$ ), *R. pringlei* ( $2n = 3x = 21$ ), *R. sapidus* ( $2n = 3x = 21$ ); Tupí ( $2n = 2x = 21$ ), Kiowa ( $2n = 2x = 28$ ), Tupí x *R. sapidus* ( $2n = 2x = 21$ ) y Kiowa x *R. sapidus* ( $2n = 2x = 28$ ). Cada especie presentó características particulares que las caracteriza, sin embargo, no se determinó qué características morfológicas asocian o definen la poliploidía en las especies analizadas.

**Palabras clave:** aplastado de raíces; cromosomas; recursos fitogenéticos; variabilidad morfológica

### **Abstract**

Number of chromosomes is important for evolutionary studies, phylogenetic, genetic and taxonomic improvement. Due the importance of chromosomes, this research was conducted in order to determine polyploidy on blackberries *Rubus adenotrichos* Schltdl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud, *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydby, *R. sapidus* Schltdl; Tupi, Kiowa, Tupí x *R. sapidus* and Kiowa x *R. sapidus*. Chromosome counting was performed on somatic cells by crushing root tips. Chromosomes were observed and counted in metaphase for each one of specie, polyploidy was determined starting from  $1x = 7$ . Morphological characteristics of each one of specie were based on qualitative descriptors of UPOV 2006. Blackberry showed variability in the number of chromosomal games: *Rubus adenotrichos* ( $2n = 2x = 14$ ), *R. cymosus* ( $2n = 5x = 35$ ), *R. humistratus* ( $2n = 2x = 14$ ), *R. palmeri* ( $2n = 4x = 28$ ), *R. pringlei* ( $2n = 3x = 21$ ), *R. sapidus* ( $2n = 3x = 21$ ); Tupi ( $2n = 2x = 21$ ), Kiowa ( $2n = 2x = 28$ ), Tupi x *R. sapidus* ( $2n = 2x = 21$ ) and Kiowa x *R. sapidus* ( $2n = 2x = 28$ ). Each one of the species presented particular characteristics that characterize them, however, it was not posible to determinate the morphological characteristics associate or define the poly-ploidy in the species analyzed.

**Keywords:** crushed roots; chromosomes; phylogenetic resources; morphological variability

Recibido en: 14/02/2018

Aceptado en: 09/05/2018

## Introducción

Es importante conocer el número de cromosomas de las plantas para la planeación de un programa de fitomejoramiento, estudios evolutivos, filogenéticos, genéticos y taxonómicos (Nathewet *et al.*, 2009, 432). Las especies del género *Rubus* presentan la no reducción de gametos, duplicación de genoma y apomixis (Otto y Whitton, 2000, 401; Meng y Finn, 2002, 768). La poliploidía en *Rubus* va desde  $2n = 2x = 14$  a  $2n = 14x = 98$ ; posiblemente, también existen  $2n = 18x = 126$ , incluyendo número de cromosomas impares y aneuploides (Thompson, 1995, 1455; 1997, 131; Meng y Finn, 1999, 225; Marcela-Delgado *et al.*, 2010, 74). En especies diploides el tamaño de los cromosomas mide de 1 a 3  $\mu\text{m}$  de longitud, con un contenido de ADN de 0.56 a 0.59 pg (Lim *et al.*, 1998, 1032; Meng y Finn, 2002, 774). Sin embargo, los genotipos con el mismo número de cromosomas pueden diferir en el contenido de ADN y producir progenies poliploides (Meng y Finn, 2002, 774).

La poliploidía plantea un desafío en la segregación de los cromosomas, debido a que cada cromosoma presenta más de un homólogo (Mercier *et al.*, 2015, 326). La duplicación del genoma entero o poliploidía juega un papel importante en la evolución de todas las angiospermas, permite que los híbridos interespecíficos fértiles generen múltiples genes para alelos en cada locus, mediante la liberación de genes duplicados de las mutaciones y a través de la especiación con flujo limitado de genes (Soltis y Burleigh, 2009, 5455; Proost *et al.*, 2011, 63). Por otro lado, las cruces heteroploides son utilizadas para introducir genes deseables de especies silvestres o materiales élite entre especies o cultivos capaces de generar progenies con variación en niveles de ploidía (Meng y Finn, 2002, 768). De acuerdo con Rieseberg y Willis (2007, 912), la poliploidía permite que las especies presenten una rápida evolución y adaptación.

Existen metodologías para clasificar y contar el número de cromosomas (Nathewet *et al.*, 2009, 433), entre ellas, el método convencional del conteo de cromosomas en células somáticas bajo microscopio, usando tejidos meristemáticos o tipos de brotes y a través de células madres del polen (Thompson, 1997, 163). Otros métodos para determinar el nivel de ploidía son: la

medición del tamaño del polen (Otto y Whitton, 2000, 436) y número de cloroplastos en las células guarda de la epidermis (Mastersoon, 1994); sin embargo, éstas son técnicas no precisas.

Las técnicas modernas que se están utilizando son: la hibridación genómica *in situ* (GISH), la cual usa el ADN genómico total (Heslop-Harrison y Schwarzacher, 2011, 31) y la técnica del citómetro de flujo (Bennett y Leitch, 2011, 589), que consiste en determinar el contenido de ADN de forma rápida y eficiente en las plantas y animales (Galbraith *et al.*, 1983, 1049).

La citometría de flujo ofrece alternativas para determinar el tamaño, composición y niveles de poliploidía de genomas en especies con interés taxonómico y para el mejoramiento genético en plantas (Bennet *et al.*, 2000, 907). Además, permite esclarecer la taxonomía y biodiversidad, e incluso plantear estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* (Poehlman y Allen, 2005, 52).

El 70 % de las angiospermas presentan poliploidía (Mastersoon, 1994, 423); en programas de mejoramiento genético de zarzamoras y frambuesas (*Rubus idaeus* L.), es importante conocer el nivel de ploidía de los genotipos de *Rubus* para predecir el entrecruzamiento y combinaciones parentales (Meng y Finn, 2002, 226), distinguir las características taxonómicas de las colecciones de *Rubus* (Thompson, 1995, 1455), conocer la evolución y filogenia de los genotipos entre las especies y familias (Heslop-Harrison y Schwarzacher, 2011, 32). Por otro lado, al cruzar progenitores con diferentes niveles de ploidía se pueden generar progenies estériles o genéticamente inestables (Poehlman y Allen, 2002, 234).

En el género *Rubus* se han realizado conteos de cromosomas en 387 especies, que corresponde el 40% de las especies que se conocen, 90 variedades y selecciones de zarzamoras (Thompson, 1997, 164). Sin embargo, se carece de información respecto al número de cromosomas de las especies silvestres presentes en México, y de acuerdo con Zamorano *et al.* (2007, 58), para que el germoplasma de las especies de *Rubus* se pueda conservar, manejar y utilizar eficientemente, éste se debe caracterizar morfológicamente y genéticamente. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el número de cromosomas de las especies silvestres de *Rubus adenotrichos* Schltldl, *R. cymosus* Rydb, *R. humistratus* Steud., *R. palmeri* Rydb, *R. pringlei* Rydby, *R. sapidus* Schltldl; así como de las variedades Tupí y Kiowa, y las cruas Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus* mediante la técnica de citología y describir las características

morfológicas que definen o asocian la poliploidía de las especies silvestres y variedades de las zarzamoras.

## Método

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

La determinación del número de cromosomas se realizó mediante la técnica de aplastado de los ápices de raíz en crecimiento (Huaman, 1995, 1-19). Se seleccionaron los ápices de las raíces vigorosas y se colectaron durante la mañana. El pretratamiento consistió en poner las puntas de las raíces en agua a 4°C durante 24 horas para acumular células en metafase. Después del pretratamiento, el fijado de las raíces se realizó en la solución de Carnoy, (alcohol 96°: ácido acético glacial: cloroformo 3:1:1 por volumen), durante 30 minutos. Posteriormente, las puntas de raíz fueron hidrolizadas en ácido clorhídrico (HCl) 1N durante 15 minutos a 60°C, se tiñeron con solución de Feulgen durante 15 minutos a 60°C y se utilizó acetocarmin 1% para el aplastado.

Una vez obtenida la tinción de las raíces se procedió a analizar, mediante observación directa en un microscopio con un objetivo de 100x (Marca ZEISS, Alemania), 50 células en metafase de dos o más puntas de las raíces por especie, se contaron el número de cromosomas por célula para cada especie y se obtuvo el nivel de ploidía con base en el número haploide partiendo de  $1x = 7$ .

Descripción morfológica: la descripción de los caracteres morfológicos se realizó con base en descriptores cualitativos (UPOV, 2006) y la confirmación de las especies se hizo a través de la revisión del Herbario del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-BAJÍO).

Las escalas que se usaron para registrar las variables fueron: nominal (n), ordinal (o) y binario (b), y se clasificaron de acuerdo con el órgano (tallo, hoja, flor y fruto) de la planta. Las

variables de tallo fueron: porte de la planta (PP, n); densidad de la pilosidad en tallo (TPD, o); forma del tallo (TFT, n); y forma de la espina en tallo (TFE, n). Las variables foliares fueron: número de foliolos (HNF, n); forma del foliolo (HFF, n); forma de la base de la hoja (HFB, n); forma del ápice de la hoja (HFA, n); y margen de la hoja (HM, n). Las variables del órgano floral: color de pétalos (FCP, n) y forma de pétalo (FFP, n). Las variables del fruto: número de polidrupas por racimo (DNP, o) y número de drupas por polidrupa (DND, o).

## Resultados

### Caracterización cromosómica

Las observaciones citológicas mostraron variación en el número de juegos cromosómicos de diploide a pentaploide ( $2x = 14$ ,  $3x = 21$ ,  $4x = 32$  y  $5x = 35$ ) en las especies de *R. adenotrichos*, *R. cymosus*, *R. humistratus*, *R. palmeri*, *R. pringlei* y *R. sapidus*), las variedades Tupí y Kiowa y las progenies de las cruzas Tupí x *R. sapidus* y Kiowa x *R. sapidus*. De acuerdo con Heslop-Harrison y Schwarzacher (2011, 32), cada especie presenta un número característico de cromosomas en su núcleo, el número varía entre especies y frecuentemente incrementa y decrece durante la evolución y especiación de las especies. La poliploidía juega un papel muy importante en la evolución del género *Rubus* (Thompson, 1997, 163).

Los cromosomas en estas especies son pequeños, lo que impide identificar sus características morfológicas. De acuerdo con Masterson (1994, 422), las especies poliploides incrementan el volumen de la célula y originan cambios fenotípicos que afectan el metabolismo y la regulación de genes durante el desarrollo de la planta.

Las especies, *R. adenotrichos* y *R. humistratus* fueron diploides, es decir,  $2n = 2x = 14$  (Figura 1 y 2). En el caso de *R. adenotrichos* se confirmó que presenta 14 cromosomas reportados de acuerdo al resultado obtenido por Thompson (1995, 1456).

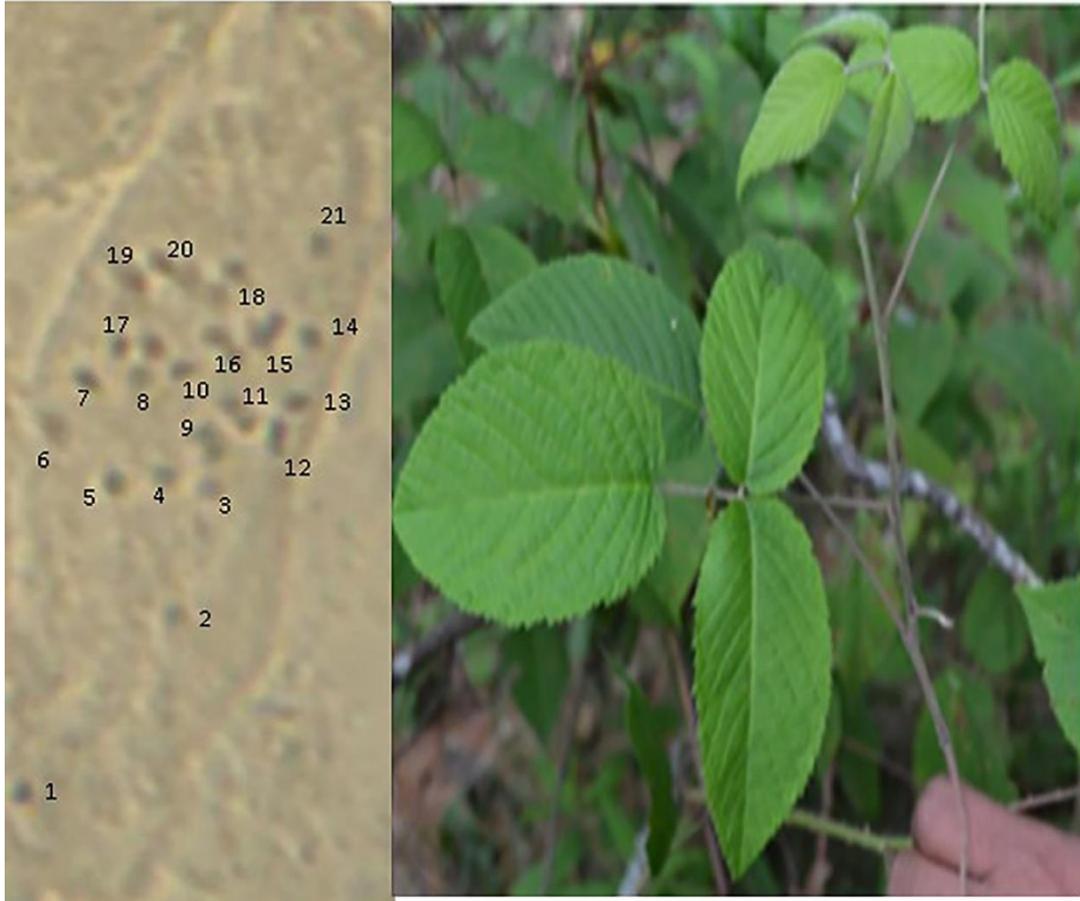


**Figura 1.** Número de cromosomas en *R. adenotrichos* Schltl (2n =2x = 14).



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

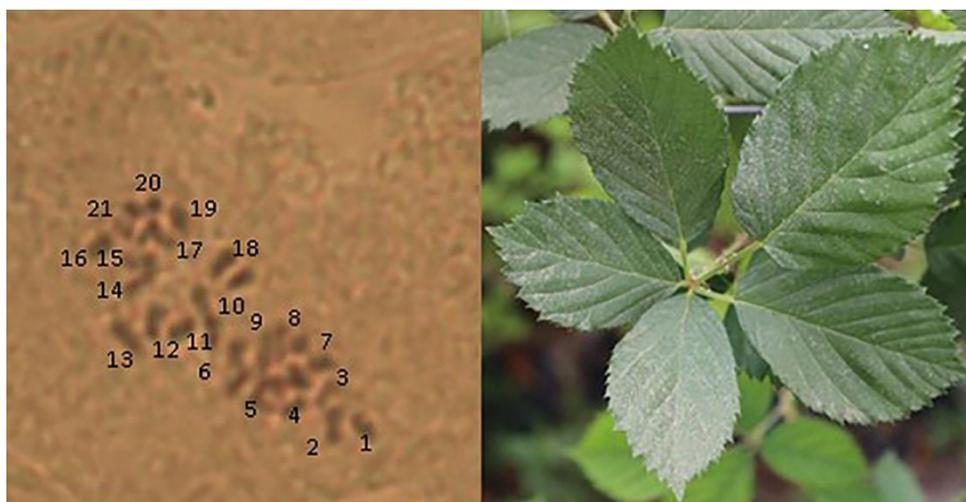
Las especies *R. pringlei* (Figura 3), *R. sapidus* (Figura 4), la variedad Tupí (Figura 5) y la cruce Tupí x *R. sapidus* (Figura 6) presentaron 21 cromosomas, es decir,  $2n = 3x = 21$ , por lo tanto, son triploides. De acuerdo con Ramsey y Schemske (1998, 500), las especies triploides presentan baja fertilidad y tienden a producir gametos aneuploides, por los emparejamientos cromosómicos y la segregación durante el proceso de la meiosis, que dan origen a gametos euploides; éstos pueden producir descendencias triploides y tetraploides, como consecuencia, los triploides pueden facilitar la transición de diploides a tetraploides permitiendo la propagación de poliploides.



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



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



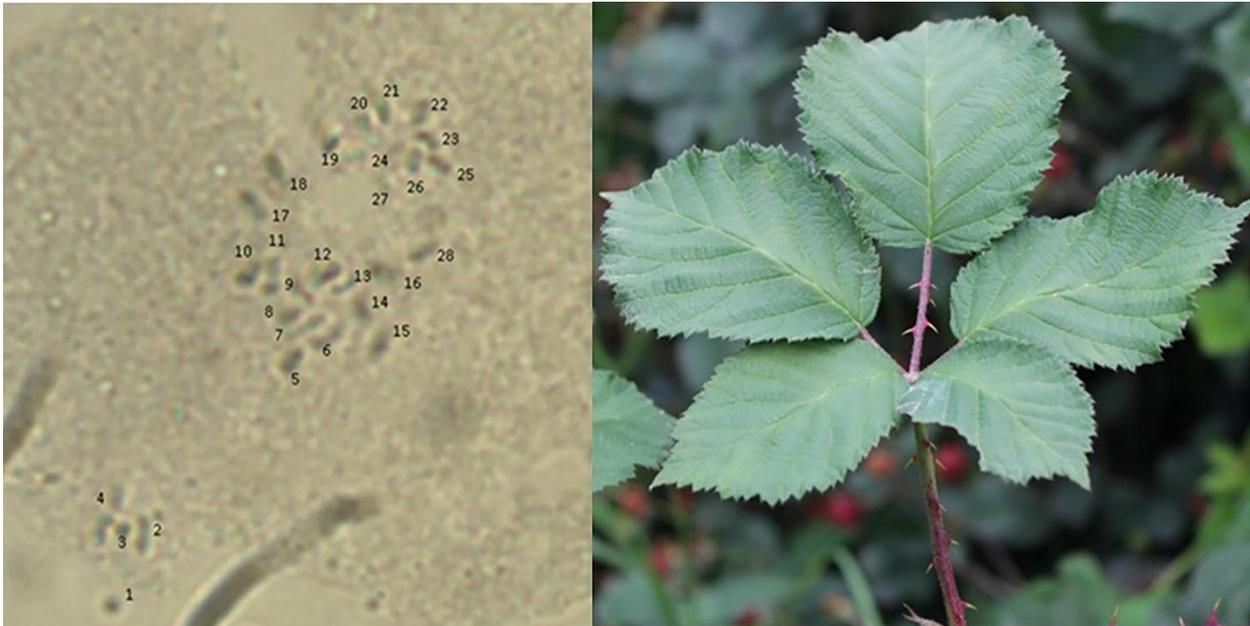
**Figura 5.** Número de cromosomas de la variedad Tupí ( $2n = 3x = 21$ ).



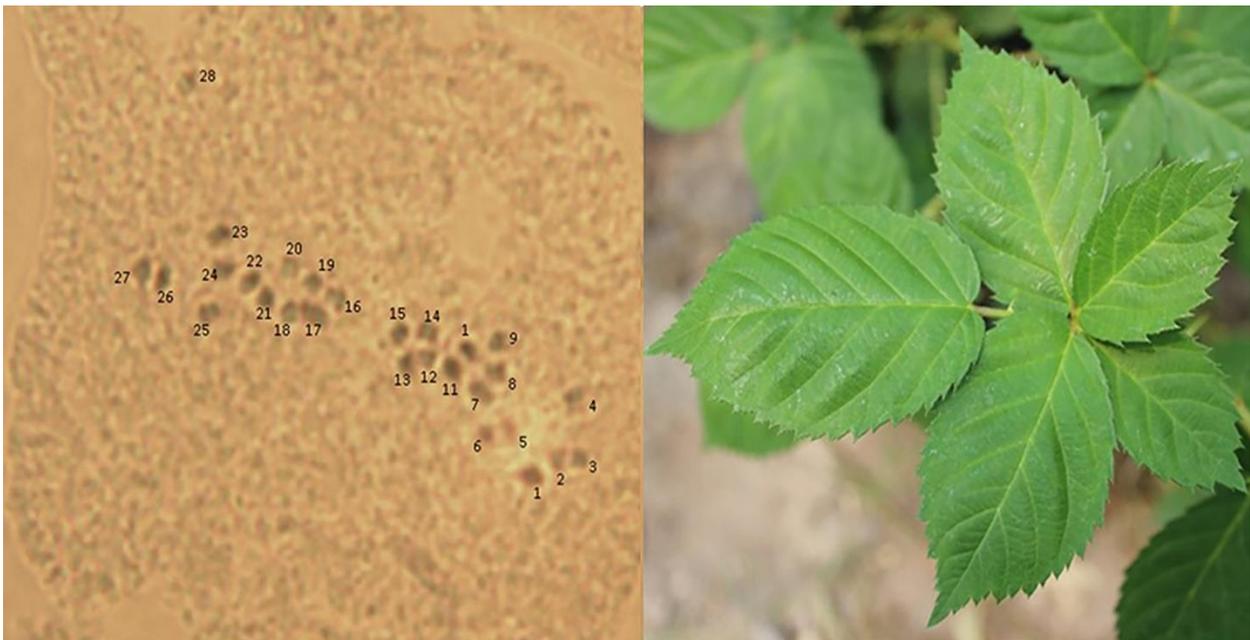
**Figura 6.** Número de cromosomas de la cruce Tupí x *R. sapidus* Schldtl ( $2n = 3x = 21$ ).

El número de cromosomas de *R. palmeri* (Figura 7), la variedad Kiowa (Figura 8) y la cruce Kiowa x *R. sapidus* (Figura 9) fueron  $2n = 4x = 28$ , es decir, tetraploides. Cuando un cromosoma se involucra en una asociación múltiple se forman gametos desequilibrados y la fertilidad se reduce (Ramsey y Schemske, 2002, 637). Sin embargo, la reducción de la fertilidad va de acuerdo al tipo de poliploidía (Mercier *et al.*, 2015, 325). En especies autoploiploides, las copias de cada cromosoma comparten las mismas posibilidades de recombinación entre sí, como

consecuencia con frecuencia presentan quiasmas múltiples, aunque no de forma sistemática (Grandont *et al.*, 2013, 182); por el contrario, en las especies aloploidoides, los cromosomas presentan intercambio genético parcial (Jenczewski y Alix, 2004, 42).



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

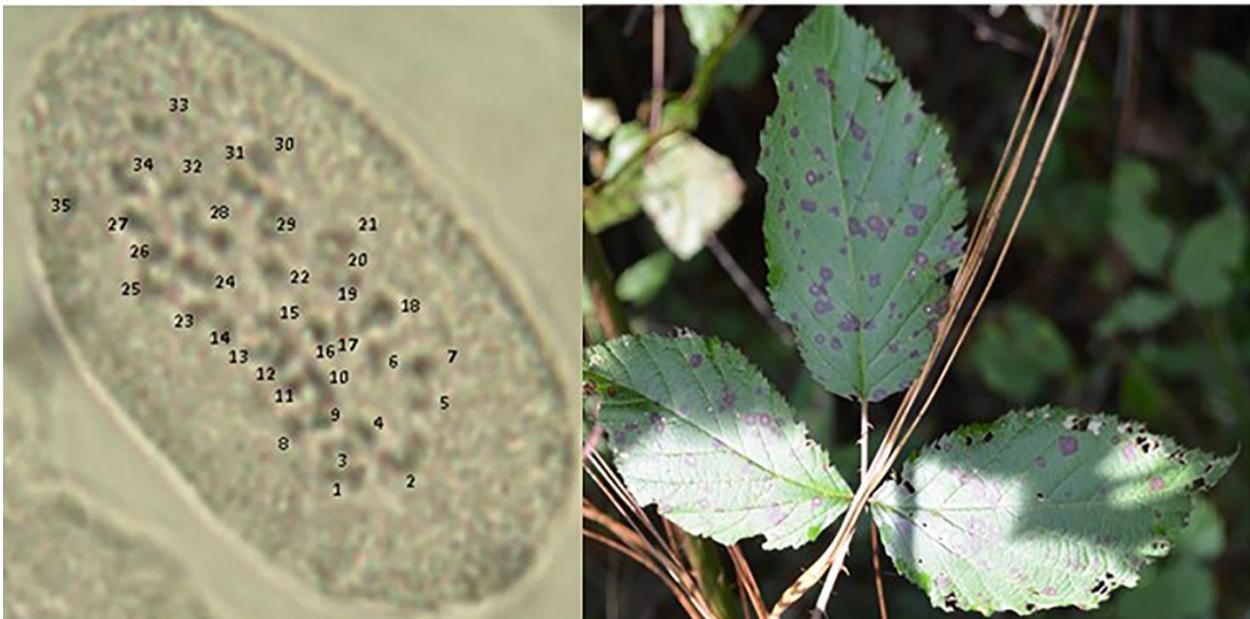


**Figura 8.** Número de cromosomas de la variedad Kiowa ( $2n = 4x = 28$ ).



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

La especie *R. cymosus* presentó  $2n = 5x = 35$  cromosomas (Figura 10). Los poliploides presentan mayor avance en relación con la evolución en comparación con sus ancestros diploides (Fawcett *et al*, 2009, 5740; Proost *et al.*, 2011, 63).



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

Las especies poliploides generalmente marcan diferencias de sus progenitores en las características morfológicas, ecológicas, fisiológicas y citológicas, que pueden contribuir en el conocimiento de nuevos nichos ecológicos y reproductivos (Levin, 2002, 187). Por lo tanto, la poliploidía es un mecanismo importante de adaptación y especiación en las plantas (Levin, 2002, 154; Otto y Whitton, 2000, 435).

## **Descripción morfológica de las especies de zarzamora**

### ***R. adenotrichos* Schldl**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Es un arbusto erecto a semi erecto, longitud de la rama larga de aproximadamente 4 m, tallo acanalado, pilosidad alta y antocianinas en primocañas y floricañas; espinas rectas e inclinadas en el tallo y en las nervaduras de las hojas. Hojas pentafoliadas, foliolos rómbicos con margen serrada, forma de la base de la hoja subtruncada y el ápice del foliolo acuminado. En relación con las flores, tiene pétalos de color blanco y redondos; los racimos presentan entre 40 a 60 polidrupas y cada polidrupa está compuesta de 50 a 100 drupas. Esta especie forma parte de la flora silvestre de México y localmente es apreciada por sus frutos comestibles y por sus propiedades medicinales, también presentan compuestos fenólicos con actividad antioxidante (Acosta-Montoya *et al.*, 2010, 1499; Martínez-Cruz *et al.*, 2011, 70; Mertz *et al.*, 2007, 8621).

### ***R. humistratus* Steud**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Plantas de porte semierecta, tallo redondo y ausencia de pilosidad, espinas en el tallo en forma de punzón. Hojas trifoliadas, con márgenes biserradas, foliolos

rómbicos, base obtusa y el ápice acuminado, los pétalos son blancas y lanceoladas. Los racimos presentan de 4 a 6 polidrupas y las polidrupas compuestas de 10 a 20 drupas.

### ***R. pringlei* Rydb**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Las plantas son semierectas a rastreros, tallos redondos y pilosidad abundante, los tallos de primocaña son de color gris y las espinas en forma de punzón. Las hojas trifoliadas, de color gris en el envés, con margen serrada y base subcordada, la forma del foliolo es ovado y el ápice redondo. Los pétalos son blancos y elípticos. Los racimos están compuestos entre 8 a 10 polidrupas y las polidrupas están formados entre 30 a 50 drupas.

### ***R. sapidus* Schldl**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Arbustos de porte semierecto a rastrero, tallo angular, pilosidades cortas, y las espinas del tallo son curvadas. Hojas trifoliadas, con márgenes biserradas, foliolos rómbicos, base del foliolo obtuso y ápices acuminados. Las flores presentan pétalos blancos y de forma lanceolados. Los racimos formados de 4 a 6 polidrupas y cada polidrupa compuesta entre 6 a 20 drupas.

### **Variedad Tupí**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Es una de las principales variedades utilizadas por los productores de zarzamora, se caracteriza por presentar porte semierecto, tallos acanalados y espinas rectas e

inclinadas. Hojas pentafoliadas y foliolos ovales con márgenes serrados. Los pétalos son ovados y de color rosa. Frutos grandes con drupas de 30 a 50 por polidrupas.

### **Cruzas Tupí x *R. sapidus***

Plantas de porte semi-rastreras, tallos redondos y espinas rectas e inclinadas; hojas trifoliadas, foliolos rómbicos, con márgenes de los foliolos serrados y ápices acuminados. Pétalos blancos y lanceolados, las polidrupas presentan entre 8 a 14 drupas.

### ***R. palmeri* Rydb**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Plantas robustas y rastreras, tallo angular con ausencia de pilosidad y espinas curveadas. Las primocañas y floricañas con pigmentación de antocianinas. Hojas pentafoliadas, las hojas presentaron foliolos rómbicos, base subcordada, con margen biserrada y ápice ovado. Pétalos de colores rosas y redondos; racimos compuestas entre 50 a 100 polidrupas, y cada polidrupa formada entre 9 a 14 drupas.

### **Variedad Kiowa**

Plantas de porte semierecto, tallos redondos, espinas en tallo, rectas e inclinadas; hojas trifoliadas y pentafoliadas, foliolos ovados con márgenes biserrados, base subcordada y ápice acuminado. Los pétalos son redondos y de color blanco, con polidrupas formados entre 30 a 40 drupas.

## **Cruza Kiowa x *R. sapidus***

Plantas de porte semi-rastreras, tallos redondos y con espinas rectas e inclinadas; hojas pentafoliadas y el margen de los foliolos biserradas y foliolos acuminados. Pétalos redondos y blancos.

## ***R. cymosus* Rydb**

J. Rzedowski 53357 (IEB). Planta semierecta a erecta, tallos redondos y sin pubescencias, con espinas curvadas. Hojas son trifoliadas, con foliolos rómbicos y márgenes serruladas, ápices acuminados y base de la hoja obtusa. Pétalos blancos y elípticos; los racimos presentaron de 6 a 10 polidrupas y cada polidrupa compuestos de 8 a 14 drupas.

La variación de los juegos cromosómicos en las especies de zarzamora se debe principalmente a la variación genética. Gianoli (2004, 13) argumenta que la variación genética también se apoya en la “plasticidad fenotípica”, que se asume como la capacidad de un organismo para producir fenotipos diferentes como respuesta a cambios ambientales, aspecto que tiene que ver con la interacción genotipo por ambiente.

La caracterización morfológica ha permitido reconocer las principales características que distinguen a cada una de las especies silvestres y variedades. Moreno *et al.* (2011, 126) mencionan que la colección, caracterización y evaluación del germoplasma son tareas prioritarias para la conservación, el mejoramiento y la obtención de materiales sobresalientes con mejores características productivas.

En mejoramiento genético de frutales, generalmente se da importancia a aquellos atributos que aportan al rendimiento, calidad y tamaño de frutos. Por ello, es conveniente que los genotipos *R. palmeri*, *R. pringlei* y *R. sapidus*, junto con la variedad Tupí, se integren en programas de pre mejoramiento. De acuerdo con Lobo (2006, 51), el uso de las especies silvestres disminuye la vulnerabilidad genética de las especies. Los resultados obtenidos en el presente trabajo proveen

las bases científicas para el uso racional de las especies en el mejoramiento genético y generación de nuevas variedades.

## Discusión o Conclusión

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

### Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento a la beca otorgada para estudios de Doctorado, y al Fideicomiso No. 167304 para la Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico, por el financiamiento al proyecto “Diversidad genética de poblaciones de zarzamora (*Rubus* spp)”.

### Referencias

- Acosta-Montoya, Óscar, Fabrice Vaillant, Sonia Cozzano, Mertz, Christian Perez, Ana M. Pérez y Marco V. Castro. (2010). Phenolic content and antioxidant capacity of tropical Highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl) during three edible maturity stages. *Food Chemistry* 4 (42):1497-1501.
- Bennett, Mike D., Parmjit Bahandol, y Ilia J. Leitch. (2000). Nuclear DNA Amounts in angiosperms and their modern uses 807 new estimates; *Annals of Botany* 86:859-909.
- Bennett, Mike D., y Ilia J. Leitch. (2011). Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. *Annals of Botany* 107 (3): 467-590.
- Fawcett, Jeffrey A., Steve Maere, y Yves Van De Peer. (2009) Plants with double genomes might have had a better chance to survive the Cretaceous-Tertiary extinction event.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America 106 (14):5737-5742.

- Galbraith, David W., Kristi R. Harkins, Joyce M. Mardox, Nicola M. Ayres, Dharam P. Sharma y Ebrahim Firoozabady. (1983). Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissue. *Science* 220 (4601):1049-1051.
- Gianoli, Ernesto. (2004). Plasticidad Fenotípica Adaptativa en Plantas. *En: Fisiología Ecológica en Plantas: Mecanismos y Respuestas al Estrés en los Ecosistemas*; M. Cabrera. (ed). Departamento de Botánica. Universidad de Concepción, Chile. pp: 13-25.
- Grandont, Laurie, Eric Jeczewski, y Andrew H. Lloyd. (2013). Meiosis and its deviations in polyploid plants; *Cytogenetic and Genome Research* 140:171-184.
- Heslop-Harrison, Pat, y Trude Schwarzacher. (2011). Organization of the plant genome in chromosomes; *Plant Journal* 66:18-33.
- Human, Zósimo. (1995). Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. Centro Internacional de la papa. Lima. Perú. 19 p.
- Jeczewski Eric, y Karine Alix. (2004). From diploids to allopolyploids the emergence of efficient pairing control genes in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 23:21-45.
- Levin, Donald A. (2002). *The Role of Chromosomal Change in Plant Evolution*. Oxford Series in Ecology and Evolution; Oxford University Press. 231 p.
- Lim, K. Yoong, Ilia J. Leitch, y Andrew R. Leitch. (1998) Genomic characterisation and the detection of raspberry chromatin in polyploid *Rubus*. *Theoretical and Applied Genetics* 97 (7):1027-1033.
- Lobo, Mario. (2006). Recursos genéticos y mejoramiento de frutales andinos: Una visión conceptual; *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7 (2):40-54.
- Marcela-Delgado, Lina; Marcela Uribe-Lastra, Marta Leonor Angel Marulanda. (2010). Estandarización de la técnica citogenética “Squash” para conteo de cromosomas mitóticos en *Rubus glaucus* Benth. *Scientia et Technica* 46 (17):74-79.
- Martínez-Cruz, Nieves del Socorro, Katiushka Arévalo-Niño, María Julia Verde-Star, Catalina Rivas-Morales, Azucena Oranday-Cardenas, María Adriana Núñez-González y María Eufemia Morales-Rubio. (2011). Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schldl (Zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 4(42):66-71.

- Mastersoon, Jane. (1994). Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264 (5157):421-423.
- Meng, Rengong y Chad Finn. (1999). Using Flow cytometry to determine ploidy level in *Rubus*. *Acta Horticulturae* 505:223-227.
- Meng, Rengong y Chad Finn. (2002). Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by cytometry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127 (5):767-775.
- Mercier, Raphaël, Christine Mézard, Eric Jenczewski, Nicolas Macaisne y Mathilde Grelon. (2015). The molecular biology of Meiosis in plants. *Annual Review Plant Biology* 66:297-327.
- Mertz, Christian, Veronique Cheynier, Ziya Gunata, y Pierre Brat. (2007). Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus* Schldl) by High-Performance Liquid Chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal Agriculture Food* 55 (21):8616-8624.
- Moreno, M; Villarreal, D; Lagos, T. C; Ordoñez, H; y Hernando Criollo. (2011). Caracterización “*In-situ*” de genotipos silvestres y cultivados de mora *Rubus* spp en el municipio de pasto; *Revista de Ciencias Agrícolas* 2 (28):109-128.
- Nathewet, Preeda; Tomohiro Yanagi, Yoshikane Iwatsubo, Kazuyoshi Sone, Takehiro Takamura y N. Okuda. (2009). Improvement of staining method for observation of mitotic chromosomes in octoploid strawberry plants; *Scientia Horticulturae* 120:431-435.
- Otto, Sara P., y Jeanette Whitton. (2000). Polyploid incidence and evolution. *Annual Reviews of Genetics* 34:401-437.
- Poehlman, John Milton y David Allen. (2002). *Mejoramiento Genético de las Cosechas*. Editorial Limusa. México. 506 p.
- Poehlman, John Milton y David Allen. (2005). Citotipos en *Agave angustifolia* Haw determinados por citometría de flujo y análisis en sus cariotipos; *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 1(21):49-54.
- Proost, Sebastian, Pattyn Pedro, Gerats Tom y Yves Van Der Peer. (2011). Journey through the past: 150 million years of plant genome evolution. *Plant Journal* 66 (1):58-65.
- Ramsey, Justin y Douglas W. Schemske. (1998). Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants; *Annual Review of Ecology and Systematics*. 29:467-501.

- Ramsey, Justin y Douglas W. Schemske. (2002). Neo polyploidy in flowering plants plants. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*. 33:589-639.
- Rieseberg, Loren H y John H. Willis. (2007). Plant speciation; *Science* 5840 (317):910-914.
- Soltis, Douglas E. Y J. Gordon Burleigh. (2009). Surviving the K-T mass extinction: new perspectives of polyploidization in angiosperms. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (7):5456-5456.
- Thompson, Maxine M. (1995). Chromosome numbers of *Rubus* cultivars at the National Clonal Germplasm Repository. *HortScience* 30 (7):1453-1456.
- Thompson, Maxine M. (1997). Survey of chromosome number in *Rubus* (Rosaceae: *Rosoideae*); *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84(1):129-165.
- Union Internacional Proteccion de las Obtenciones Vegetales (UPOV). (2006). *Rubus* subgenus *Eubatus* sect. *Moriferi* & *Ursini* e híbridos ([www.upov.int](http://www.upov.int)), consultada, octubre 2015.
- Zamorano M. Adriana, Ana Cruz Morillo, Yacenia Morillo, Herney Vasquez y Jaime E. Muñoz. (2007). Caracterización morfológica de mora en los departamentos del Valle del Cauca, Cauca y Nariño de Colombia. *Acta Agronómica* 56 (2):51-60.