



**BANCO DE GERMOPLASMA DE BAMBUSOIDEAS
DEL JARDÍN BOTÁNICO JUAN MARÍA CÉSPEDES, CON LA
REINTRODUCCIÓN DE ECOTIPOS CARACTERIZADOS
MOLECULARMENTE, PARA LA GENERACIÓN DE
INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN, QUE PERMITA MAYOR VALOR
AGREGADO PARA EL DESARROLLO SOCIAL Y EMPRESARIAL,
BAJO CRITERIOS DE SOSTENIBILIDAD**

INFORME FINAL



PRESENTADO POR:

**IVÁN ANDRES GONZALEZ V.
CARLOS ANDRES PEREZ G.
HEIBER CARDENAS HENAO
GONZALO ESPINOZA
LUIS CARLOS VILLEGAS
JUAN BAUTISTA ADARVE DUQUE**

COORDINACION: GERMAN PARRA VALENCIA

CALI - COLOMBIA, DICIEMBRE DE 2007

CONTENIDO

Pág.

CONTENIDO

0. INTRODUCCIÓN..... 1

1. ANTECEDENTES..... 2

2. IMPORTANCIA DE LA GUADUA..... 3

3.OBJETIVOS..... 5

4.PRODUCTOS ESPERADOS..... 5

5.METODOLOGÍA UTILIZADA..... 6

6. RESULTADOS..... 9

6.1. RECOLECCIÓN DE MATERIAL..... 9

6.2 REGISTRO MORFOMETRICO..... 13

6.3. ENRIQUECIMIENTO DE BANCOS DE GERMOPLASMA..... 17

6.4 EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO..... 17

6.5 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO..... 17

6.5.1 Introducción..... 17

**6.5.2 Variables de interés relacionadas con el aprovechamiento de la parte
útil de la guadua..... 20**

6.5.3 Estadística Inferencial..... 21

6.5.4 Análisis discriminante..... 25

**6.5.5 Modelo Descriptivo de los tres biotipos estudiados de *Guadua
angustifolia*..... 29**

6.5.6 Conclusiones..... 31

6.5.7 Referencias Bibliográficas..... 31

**6.6 ESTANDARIZACION DE LA EXTRACCION DE ADN DE LAS
ACCESIONES DE *Guadua angustifolia* DEL JARDIN BOTANICO JUAN
MARIA CESPEDES DE TULUA- VALLE DEL CAUCA..... 32**

6.6.1 Introducción..... 32

6.6.2 Métodos de extracción de ADN..... 32

6.6.3 Materiales y métodos..... 33

6.6.4 Resultados y discusión..... 34

6.6.5 Conclusiones..... 37

6.6.6 Referencias Bibliográficas..... 38

6.7 CARACTERIZACION MOLECULAR DE LAS ACCESIONES DE Guadua angustifolia (Poaceae: Bambusoideae) DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE BAMBUSOIDEAE DEL JARDÍN BOTÁNICO JUAN MARÍA CESPEDES DE TULÚA - VALLE DEL CAUCA

6.7.1 Creación del banco de ADN de Guadua angustifolia

6.7.2 Colecta de muestras

6.7.3. Procesamiento de las Muestras

6.7.4. Extracción del ADN

6.7.5. Evaluación de microsátélites

6.8 PROTOCOLO ESTANDARIZADO DE EXTRACCIÓN DE ADN

6.8.1 Protocolo utilizado

6.8.2 Cuantificación de ADN

6.8.3 Conclusiones

6.8.4 Referencias Bibliográficas

6.9 ESTANDARIZACION DE LAS CONDICIONES DE PCR

6.9.1 Introducción

6.9.2. Colecta de muestras

6.10.3. Procesamiento de las muestras

6.10.4. Extracción del ADN

6.10.5. Cuantificación del ADN

6.10.6 Evaluación de la amplificación del ADN

6.10.7 Estandarización de las condiciones de PCR para los marcadores microsateles

6.10.8 Conclusiones y Recomendaciones

6.11.9 Referencias Bibliográficas

6.11 CAPACITACIÓN

6.12. ORGANIZACIÓN EMPRESARIAL

6.13.DIVULGACIÓN DEL PROYECTO

7.0. EVALUACION DE L PROYECTO

8.0ANEXOS.....1

INTRODUCCIÓN

El INCIVA, conjuntamente con la Universidad Santiago de Cali- USC, la Unidad Central del Valle del Cauca- UCEVA y la Fundación para el desarrollo social del centro del Valle del Cauca- FUNCEVALLE, en el año 2006 presentó, dentro de la estrategia de Bioregión, el proyecto “Banco de germoplasma de bambusoideas del Jardín Botánico “Juan María Céspedes”, con la reintroducción de ecotipos caracterizados molecularmente, para la generación de investigación e innovación, que permita mayor valor agregado para el desarrollo social y empresarial, bajo criterios de sostenibilidad. La propuesta busca investigar y garantizar las variedades de Guadua y Bambúes que permitan su utilización y transformación y con ello generar nuevas actividades que puedan fomentar el trabajo y se pueda dar desarrollo social mediante el cuidado de los recursos naturales.

El proyecto se inició en el año 2007, adelantándose varias fases según el cronograma establecido y el compromiso de las instituciones participantes: recolección y enriquecimiento de las colecciones del Jardín Botánico del Valle y la granja El Vijal en el corregimiento de la Iberia- Tuluá, caracterización morfométrica, análisis de ADN y capacitación empresarial en el área Administrativa y de Formulación de Proyectos, cultivo de la guadua, artesanías y construcciones.

El material colectado se ha sembrado en los bancos de germoplasma del Jardín Botánico y la granja El Vijal. Con esta colección se pretende estimular un crecimiento importante de los conocimientos sobre el alcance y la distribución de la diversidad genética dentro de los biotipos para el Valle del Cauca. Una vez establecida la colección, ésta se convierte en un marco de referencia para otros estudios.

La caracterización molecular de cada uno de los ecotipos de guadua estudiados permitirá caracterizar, estimar la diversidad y establecer la estructura poblacional de los rodales de guadua, y que en asociación con estudios de tipo ecológico y silviculturales, adelantados simultáneamente, hará posible realizar planes de manejo, fomento, uso y conservación mas eficientes, de modo que se pueda mantener la diversidad localmente almacenada, en los miles de años de evolución de esta especie. Este conocimiento servirá como apoyo a comunidades e instituciones interesadas en generar estrategias efectivas de reforestación, recuperación, comercialización y manejo sostenible de la especie.

1. ANTECEDENTES

En el año 2003, nueve departamentos productores de guadua identificaron y caracterizaron los eslabones y actores que intervienen en la cadena de la guadua, el estado actual de los negocios de construcción, artesanías y laminados. Se elaboró un ejercicio de aproximación a la visión, misión y objetivos estratégicos de estos negocios en un horizonte de 20 años. Este proceso, culminó con la organización de los consejos Consultivos departamentales y del Consejo Consultivo Nacional, quien orientó la construcción, las directrices sobre la estructura y los lineamientos generales del Acuerdo Marco Nacional. Su elaboración, revisión y concertación contó con una amplia participación del sector productivo y empresarial, de instituciones públicas y privadas de carácter departamental y nacional, de varios Ministerios, de la Cooperación internacional convocadas y lideradas por los respectivos Consejos Consultivos departamentales con la dirección, coordinación y apoyo de la secretaría técnica nacional.

El banco de germoplasma de bambusoideas se estableció en el año de 1987 en el Jardín Botánico Juan María Céspedes y de donde se ha replicado, especialmente la colección de bambúes, en otras regiones: Córdoba (Quindío), El vínculo (Buga), Pereira. Este es el único banco de germoplasma de este grupo que existe en el país, con más de 40 ecotipos de guadua, siete especies de este genero, dos de las cuales son nuevas y 27 especies de bambúes, perteneciente a los géneros: Dendrocalamus, Phyllostachys, Melocanna, Gigantochloa y Bambusa. Sin embargo, tiene un alto grado de vulnerabilidad tanto a acciones antrópicas como a fenómenos naturales, especialmente a problemas climáticos, relacionas con periodos de sequía largo que han afectado a algunas especies.

Estos bancos se convierte de material disponible para adelantar procesos de investigación e innovación, por lo cual es importante no solo contar con uno solo, como es el caso del Jardín Botánico de Tulúa, sino buscar replicar y aumentar el numero de clones, ubicándolos en sitios con condiciones climáticas y edáficas más favorables como es el caso de la granja El Vijal de propiedad de la Unidad Central del Valle del Cauca y ubicada en el corregimiento de la Ibería, municipio de Tulúa, zona cafetera con mejores suelos, adecuada precipitación y humedad, entre otros.

El Banco de germoplasma de guadas y bambúes, es la base para el desarrollo tecnológico de esta cadena productiva, ya que permitirá un mayor número de investigaciones, la participación y capacitación de un buen numero de actores, la innovación tecnológica realizada a partir de los resultados de cada una de las investigaciones, la mayor diversidad de productos ante la oferta de nuevos ecotipos y especies de este grupo caracterizados molecularmente.

2. IMPORTANCIA DE LA GUADUA

La guadua está integrada estructuralmente al paisaje, a la protección y conservación de fuentes de agua. Se vislumbra como una alternativa económica viable, que puede contribuir significativamente, a la diversificación agropecuaria, al incremento de las exportaciones de productos con alto valor agregado, a la generación de empleo rural, a la construcción de capital social y de relaciones de convivencia entre las empresas transformadoras, los productores y los segmentos de población vinculados con el procesamiento primario. Para ello, es necesario superar los bajos niveles de tecnología y de organización que predominan en el sector empresarial desde la producción primaria hasta la comercialización por falta de financiamiento para el desarrollo de las iniciativas.

En el departamento del Valle del Cauca, la guadua ha jugado un papel importante en el desarrollo local y regional por la capacidad productiva y el potencial para generar desarrollo económico, social y ambiental en todos los eslabones de la cadena. Paradójicamente, es un departamento con un sinnúmero de problemas ambientales, sociales y económicos, principalmente en las comunidades rurales, donde esta especie hace parte del paisaje, como protectora de fuentes de agua y materia prima para múltiples usos.

Debido a que la explotación de los guaduales se realiza informalmente, sin criterios técnicos ni ecológicos, por equipos de aprovechadores de guadua, conformados por Guadueros, corteros, arrieros, coteros y transportadores quienes asumen la totalidad del proceso, desde la solicitud de aprovechamiento en la respectiva corporación, la negociación del gradual existente en el predio, el corte y colocación en el mercado final, la guadua, aunque está presente en buen número de fincas, ha generado el deterioro ecológico gradual y pérdida de muchos guaduales. Además, su explotación no está integrada al sistema económico de las fincas.

El tema del mercado surge como el gran interrogante que frena el crecimiento de las iniciativas. Los depósitos de venta de maderas y productos de guadua tienen una oferta básica para compradores que aplican estos productos de forma auxiliar en el sector de la construcción. Generalmente, la calidad ofrecida no satisface los requerimientos de arquitectos e ingenieros que construyen con guadua debido a que estos consumidores necesitan material para aplicaciones de tipo permanente. El poco conocimiento sobre técnicas industriales que facilite la elaboración de mejores productos, la poca o escasa investigación sobre mejoramiento genético de la guadua no ha permitido un adecuado manejo silvicultural de estas especies.

En cuanto a lo social, se presentan escasos niveles de organización y de asociación en todos los eslabones productivos, lo cual ha generado marcados desequilibrios en los ingresos y en el acceso a los servicios de seguridad social e industrial, especialmente, en el eslabón de cosecha y poscosecha.

Estas condiciones muestran el compromiso y la oportunidad para establecer un nuevo “modelo” empresarial basado en el desarrollo de procesos de valor agregado a través de unidades productivas autosostenibles y con posibilidades de crecimiento que efectúen procesos intermedios de manejo, adecuación y/o transformación de la materia prima y que actúen como proveedores de empresas que realizan los procesos finales de transformación.

Uno de los mayores problemas que se tiene en la investigación en el campo forestal y agrícola, es la falta de bancos de germoplasma que permitan la obtención de material genético fácil y adecuado. En Colombia, son escasos estos bancos, la mayoría de ellos están orientados a la agricultura, destacándose bancos de germoplasma muy importantes en instituciones como el CIAT y Corpoica. En el sector forestal estos son casi nulos. La creación del banco de germoplasma de Guadua, permitirá desarrollar programas de conservación que incluyan protocolos de micropropagación In Vitro, técnicas moleculares de caracterización de líneas, técnicas de regeneración, desarrollo de listas de descriptores y las pruebas que éstas requieren. Dichos programas serán aplicables y

confiables para todo el espectro de variación genética que se maneje. El banco de germoplasma proporcionará el grupo más apropiado para esos estudios suministrando el material ideal para tal propósito al igual que material adecuado para diversas actividades de las cadenas productivas asociadas con esta especie. La búsqueda de mejores métodos de propagación a través del montaje del vivero y/o de sistemas de propagación In Vitro, aprovechando la caracterización molecular de la diversidad de biotipos, permitirá la reforestación masiva en la región, con costos relativamente bajos de producción.

3. OBJETIVOS

- Recolectar y caracterizar morfométricamente los diferentes ecotipos de guadua existente en el Valle del Cauca y áreas circunvecinas.
- Enriquecer con nuevo material vegetal las colecciones de guadua existente en el JB de Tuluá y la Granja de la Iberia
- Evaluar los diferentes parámetros de crecimiento y desarrollo de los ecotipos introducidos y replicas de las colecciones del JB y de la Iberia. (Condiciones abióticas y bióticas)
- Estimar la variabilidad fenotípica de los rodales parentales (fuentes semilleras) y de las colecciones existentes
- Crear el banco de ADN de las colecciones del Jardín Botánico y la Granja la Iberia
- Promocionar sobre la valoración cultural, económica y social de la guadua a organizaciones comunitarias
- Promocionar y acompañar organizaciones o asociaciones empresariales de transformadores de la guadua

4. PRODUCTOS ESPERADOS

- Fortalecimiento de la colección del Jardín Botánico "JMC"
- Montaje de una nueva colección en la Granja El Vijal
- Caracterización morfométrica y molecular de 40 ecotipos de guadua
- Ensayos de adaptabilidad de 20 ecotipos de guadua
- Capacitación a tres grupos de guadua (guadueros, artesanos y constructores).
- Una empresa organizada y funcionando alrededor de la guadua
- 2 publicaciones en revistas científicas
- Una cartilla de divulgación de resultados
- Un grupo nuevo de jóvenes investigadores de la guadua

5. METODOLOGÍA UTILIZADA

Para el logro de los objetivos propuestos el proyecto se dividió en los siguientes programas

Programa 1. Recolección y siembra de material vegetal.

Se realizaron varios recorridos por diferentes áreas del departamento y regiones vecinas con el propósito de recolectar material vegetal de guadua, que enriquezca la colección de Jardín Botánico “Juan María Céspedes” y sirva de base para el establecimiento de la replica de esta en la granja El Vijal de la Iberia – Tuluá. Esto permitirá asegurar una reserva de clones de gran valor científico, ecológico, paisajístico y/o económico. La distribución de las especies en el terreno se hará de acuerdo a su tamaño y su reproducción natural.

En la recolección de material recolectado se tendrán en cuenta las características morfométrica de los individuos y el rodal. Entre los parámetros a evaluar se cuenta: diámetro y altura del culmo, longitud del entrenudo, tamaño del tabique, tamaño aproximado del rodal, especies asociadas, altura sobre el nivel del mar, etc.

Programa 2. Evaluación de las colecciones vivas.

Con base en las dos colecciones establecidas se realizaran investigaciones que aporten al conocimiento de este grupo y permita la competitividad en el mercado. Inicialmente, se evaluará la adaptabilidad de las especies sembradas en la replica de la colección viva de la Iberia. Los parámetros a medir son:

- Tiempo de rebrote de renuevos
- Crecimiento (Altura y diámetro)
- Número de renuevos por mata
- Análisis foliar.

Análisis de datos cuantitativos

Mediante el uso del programa XLSTAT 2007.6 se desarrollaron las estadísticas simples y el Análisis Discriminante (AD) con el propósito de diferenciar los biotipos muestreados. Para esto último, se estimaron los datos perdidos con base en la media o la moda y no se incluyo a Cotuda por solo haber muestreado un individuo. Se supuso que las matrices de covarianza intraclase son iguales y las probabilidades a priori fueron tomadas en cuenta un nivel de significación del 5%.

Programa 3 Caracterización molecular

Igualmente, con base en las colecciones anteriores, se caracterizó molecularmente las especies del genero Guadua con un marcador codominante (STR). Este marcador codominante es altamente reproducible y permite la evaluación de un número alto de polimorfismos por reacción respecto a otros marcadores como RFLP's o AFLP's y RAPD's. Esto permitió caracterizar molecularmente los ecotipos, estimar la diversidad genética, establecer la estructura poblacional de los rodales de guadua, que en asociación con estudios de tipo ecológico y silviculturales, adelantados simultáneamente, hará posible realizar planes de manejo, fomento, uso y conservación mas eficientes, de modo que se pueda mantener la diversidad localmente almacenada, en los miles de años de evolución de esta especie. Este conocimiento servirá como apoyo a comunidades e instituciones interesadas en generar

estrategias efectivas de reforestación, recuperación, comercialización y manejo sostenible de la especie.

Programa 4. Capacitación y educación.

La guadua presenta oportunidades para múltiples aplicaciones, algunas de ellas con características de negocios en proceso de consolidación como el de la construcción y estructuras; el de las artesanías y el más reciente, el de la guadua laminada. Una de las mayores necesidades de la región es la capacitación en estos temas para lograr hacer competitivo este importante renglón de la economía local a nivel nacional e internacional. Para ello, se programarán capacitaciones en las siguientes áreas:

- Cultivo de la guadua
- Reconocimiento molecular de los ecotipos de valor ecológico, comercial y promisorio
- Corte y aprovechamiento de la guadua
- Diseños de productos artesanales, accesorios y muebles
- Construcción de vivienda con guadua

Igualmente, con el propósito de unificar criterios, se realizará una capacitación interna dirigida al personal involucrados en el proyecto.

Programa 5. Desarrollo organizacional y empresarial.

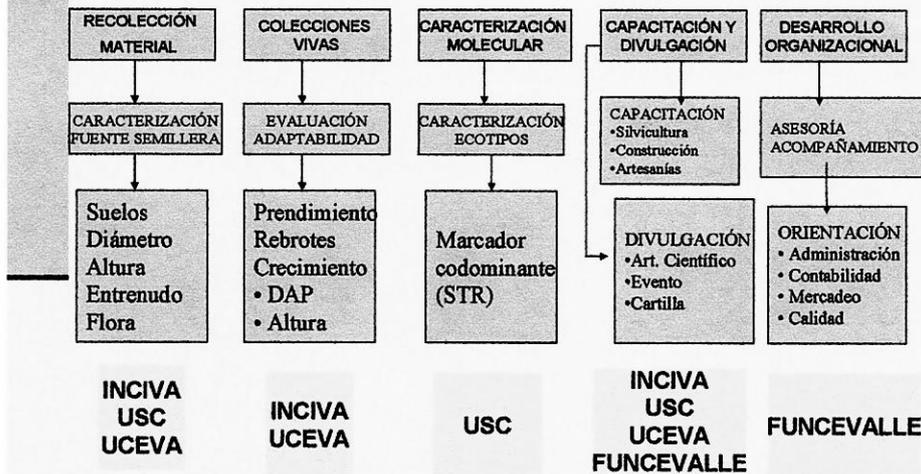
Es importante el fortalecimiento de grupo de artesanos y constructores de muebles que existen en la región, esto se debe hacer a través de la conformación del grupo y del apoyo de las instituciones en la capacitación y la organización.

Con el propósito de elevar y extender la competitividad de la región, se plantea como estrategia promover el desarrollo de pequeñas industrias alrededor de la guadua, especialmente la construcción, artesanías y muebles, desarrollando la capacidad emprendedora, empresarial y de gestión administrativa de los empresarios de la región. Para el logro de los objetivos se tendrá el acompañamiento y asesoría de FUNCEVALLE, entidad reconocida en la región por el fortalecimiento y consolidación de empresas locales. Esta actividad se desarrollará a partir de:

- Fortalecimiento, acompañamiento y asesoría a organizaciones de productores y transformadores.
- Capacitación de las organizaciones en gestión empresarial rural (aspectos administrativos, contables, financieros, de mercadeo, calidad, entre otros).

Se hará divulgación de resultados a través de publicaciones científicas nacionales e internacionales y público en general. Como complemento a lo anterior se buscará la participación en un evento relacionado con la guadua, donde se socializará los resultados de la presente investigación. Además, se diseñará una cartilla divulgativa con los temas mencionados en esta propuesta.

PROCESO METODOLOGICO



6. RESULTADOS

6.1. RECOLECCIÓN DE MATERIAL.

Se ha recolectado material en los departamentos del Valle del Cauca y Risaralda, con un total de veintinueve (29) sitios, los cuales se detallan en la tabla 1. El formulario empleado para la toma de registros de campo se puede analizar en el anexo A.

Tabla 1. Localidades de colección de guadua

C O D	ESPECIE	MUNICIPIO	DEPTO	LOCALIDAD	COORDENADAS		ASNM
					LAT.	LONG.	
J A 1 0 3 5	G. angustifolia	El Cerrito	Valle	Finca Bellavista	03°38'54,2" N	76°12'17,3"W	1240
J A 1 0 3 6	G. angustifolia	El Cerrito	Valle	Finca San Mateo	03°38'32,1" N	76°11'31,5"W	1372
J A 1 0 3 8	G. angustifolia	Sevilla	Valle	Granja proagrocafé	04°17'05,6" N	75°54'09,2"W	1550
J A 1 0 3 9	G. angustifolia	Sevilla	Valle	Vereda El Popal	04°15'03,4" N	75°56'20,8"W	1300
J A 1 0 4 0	G. angustifolia	B/grande	Valle	Finca El Paraiso, cgto Galicia.	04°13'54,3" N	76°02'19,0"W	1000
J A 1 0 4 1	G. angustifolia	Pereira	Risaralda	Comfamiliar Risaralda	04°47'58,2" N	75°48'20,0"W	1180
J A 1 0 4 2	G. angustifolia	Santa Rosa	Risaralda	Finca Guayabito	04°53'32,6" N	75°37'28,2"W	1620
J A 1 0	G. angustifolia	La Virginia	Risaralda	Ingenio Risaralda	04°53'09,7" N	75°54'45,6"W	930

4							
3							
J							
A							
1	G. angustifolia	La Virginia	Risaralda	Vereda Cañaveral	04°49'57,2" N	75°56'05,7"W	920
0							
4							
4							
J							
A							
1	G. angustifolia	Barcelona	Quindío	Río Verde.			1200
0							
4							
5							
J							
A							
1	G. angustifolia	Riofrío	Valle	Bocatoma de la EPSA	04°08'10,9" N	75°21'38,8"W	1132
0							
4							
6							
J							
A							
1	G. angustifolia	Buga	Valle	PNR El Vínculo.	03°50'10,6" N	76°17'49,5"W	993
0							
4							
7							
J							
A							
1	G. angustifolia	Tuluá	Valle	Granja de Tres Esquinas.	04°06'12,7" N	76°12'34,5"W	980
0							
4							
8							
J							
A							
1	G. angustifolia	Tuluá	Valle	Granja El Bijal.	04°03'42,0" N	76°06'24,3"W	1340
0							
4							
9							
J							
A							
1	G. angustifolia	Tuluá	Valle	Quebrada la Zorrilla	04°03'37,1" N	76°06'13,4"W	1345
0							
5							
0							
J							
A							
1	G.angustifolia	Jamundí	Valle	Urb. Alfaguara	03°15'16,3" N	76°33'17,7"W	995
0							
5							
1							
J							
A							
1	G.angustifolia	Jamundí	Valle	Urb. Alfaguara-	03°15'10,4" N	76°33'18,5"W	990
0							
5							
2							
J							
A							
1	G.angustifolia	Jamundí	Valle	Puente sobre el río Jamundí.	03°17'7,0" N	76°32'57,4"W	999
0							
5							
3							
J							
A							
1	G.angustifolia	Jamundí	Valle	A orillas del río Anchipayá-	03°14'54,9" N	76°34'58,2"W	1020

0						
5						
4						
J						
A						
1	G.angustifolia	Jamundí	Valle	Club campestre Carvajal	03°13'52,4" N	76°33'51,4"W
0						1013
5						
5						
J						
A						
1	G.angustifolia	Cali	Valle	Río Jamundí	03°17'10,6" N	76°31'31,4"W
0						1007
5						
6						
J						
A						
1	G.angustifolia	La Tebaida	Quindío	Vereda El Huerto-	04°25'07,7" N	75°51'43,4"W
0						1150
5						
7						
J						
A						
1	G.angustifolia	Quimbaya	Quindío	Finca Maracaibo	04°38'01,9" N	75°46'28,7"W
0						1277
5						
8						
J						
A						
1	G.angustifolia	Alcalá	Valle	Finca El Prado,	04°40'54,2" N	75°48'21,9"W
0						1232
5						
9						
J						
A						
1	G. angustifolia Var. bicolor	Tuluá	Valle	Q. La Frisolina,	04°00'47,9" N	76°09'26,3"W
0						1128
6						
0						
J						
A						
1	G.angustifolia	Restrepo	Valle	Vereda San Pablo.	03°49'03,1" N	76°31'33,9"W
0						1401
6						
1						
J						
A						
1	G. angustifolia Var. bicolor	Vijes	Valle	Vereda La Merced	03°48'07,1" N	76°28'28,1"W
0						1446
6						
2						
J						
A						
1	G.angustifolia	Restrepo	Valle	Urbanización Luz Marina	03°48'58,8" N	76°32'20,0"W
0						1447
6						
3						
J						
A						
1	G. angustifolia Var. bicolor	Buga	Valle	PNR El Vínculo.	03°50'14,0" N	76°17'57,6"W
0						988
6						
4						

Figura 1. Extracción de rizomas de guadua.



Como complemento al trabajo de campo, se realizaron estudios de suelos de dos sitios donde se establecieron las colecciones (Jardín Botánico en el corregimiento de Mateguadua y la Granja El Vijal en el corregimiento de la Iberia). Igualmente, de cada uno de los predios donde se recolectaron las quince accesiones de guadua.

Aunque es poca la información que sobre suelo se tiene debido a que solamente se posee 9 análisis de laboratorio de los 31 solicitados (29 localidades colectadas y 2 colecciones), se puede tener algunos datos preliminares, tales como:

- El Ph en general es neutro o ligeramente ácido y se encuentra entre 5.4 y 6.8, concordando los sitios de Ph más bajo (fuertemente ácido) con el encharcamiento de sus suelos, como son los casos de Santa Rosa de Cabal y La granja El Bijal en el municipio de Tuluá.
- Donde se encuentra la guadua, el contenido de materia orgánica es alto.
- Se observa relación con algunos elementos.
- El Fósforo y el Sodio son muy pobres.
- Calcio, potasio, boro, hierro y cobre son elementos importantes en el desarrollo de la guadua, con altos contenidos de estos elementos.
- Otros elementos como el azufre en su contenido es muy variable. Algunos guaduales presentan altos contenidos y otros poco.
- La textura de los suelos son generalmente franco o franco arenoso o franco arcilloso.

En la tabla 2 se relaciona los resultados parciales en cuanto a textura, materia orgánica y Ph.

Tabla 2. Análisis de suelos de área en estudio

Colección	Localidad	a.s.n.m.	Textura	Relieve	PH (1:2 ,5)	M.O (%)
Col Botánico	Mateguadua (Tuluá)	1100	F-Ar-A		6,2	3,40
Col El Bijal	La Iberia (Tuluá)	1345	F-A		5,4	6,50
JA 1035	La Honda (El Cerrito)	1.240	F-A	Ondulado	6,2	3,30
JA 1036	El Pomo (El Cerrito)	1.372	F-Ar-A	Ondulado	6	7,30
JA 1038	Granja La Sirena (Sevilla)	1.550	F	Ondulado	6,5	7,03
JA 1039	El Popal (Sevilla)	1.300	F-Ar	Ondulado	6,6	5,27
JA 1040	Paila arriba (B/grande)	1.000	F-Ar	Plano ondulado	6,3	8,09
JA 1041	Comfamiliar (Pereira)	1.180	F	Ondulado	6,8	7,40
JA 1042	Guayabito (Santa Rosa)	1.620	F-A	Plano	5,5	8,16
JA 1043	Ing. Risaralda (La Virginia)	930	F-A	Plano	6,1	6,27
JA 1044	Cañaveral (La Virginia)	920	F-Ar	Plano	6,1	5,20
JA 1045	Hda Jamaica (Barcelona)	1.200	Ar	plano	5,8	3,14
JA 1046	Salónica (Riofrío)	1.132	Ar-A	Plano		
JA 1047	El Vinculo (Buga)	993	Ar	ligeramente plano		
JA 1048	Tres Esquinas (Tuluá)	980	F-A	Plano		
JA 1049	La Iberia (Tuluá)	1.340	Ar-A	inclinado		
JA 1050	La Iberia (Tuluá)	1.345	Ar	ligeramente plano		

6.2 REGISTRO MORFOMETRICO.

Se caracterizó cada uno de los individuos de guadua colectados, tomándose los registros en los culmos representativos de cada mata.

Igualmente, se tomaron los registros morfométricos de los ecotipos de guadas existente en la colección del Jardín Botánico y del material leñoso del herbario Tulv.

Se evaluaron los siguientes parámetros: altura y diámetro del culmo, longitud del entrenudo, grosor de la pared del culmo y ancho de la línea nodal.

El resultado de cada uno de estos registros se puede ver en las tablas 3 y 4. Igualmente la figura dos muestra algunas partes que evaluaron: diámetro, línea nodal, entrenudo y hoja caulinar y en la figura 4, algunos de las formas y variedades evaluadas.

Figura 2. Evaluación morfológica.



Figura 3. Variedades y formas de *G. angustifolia*



Tabla 3. Caracterización morfométrica de la colección de guadua del Jardín Botánico de Tuluá

COLECCIÓN VIVA DE GUADUA DEL JARDÍN BOTÁNICO											
Colección	Forma	Altitud	Altura culmo	DAP	Long. Entrenudo	Grosor pared	Grosor línea nodal	Hoja caulinar (cm) (B x h)	Lamina foliar (cm) (A x L)	Dureza	Resistencia Bacteria
XL 076	Cebolla	1191	18	8,3	34,3	1,8	2,5	34,9 x 24,2	2,1 x 11,3	73,0	73,3
XL 091	Cebolla		17	7,4	18,5	1,8	2,0	26,5 x 26,5	2,7 x 9,5		23,0
XL 109		300	8	3,1	34,0	1,6	2,1	12,3 x 38,5	2,7 x 18	70,0	
XL 115	Cebolla		23	10,6	20,0	2,1	2,2	37,5 x 32,2	2,1 x 20,2		
XL 144		450	10	9,0	37,5	2,0	3,1	38 x 25,3	2 x 12,1	70,0	
XL 206	Cebolla	250	16	7,3	24,3	2,2	2,2	22,5 x 20,5	2,1 x 13,2	75,3	
XL 208			5	2,0	34,3	0,98	1,8	6,3 x 14,05	2,3 x 12		
XL 214		595	17	8,4	36,5	2,8	3,2	39 x 38,2	1,8 x 14	71,0	
XL 233	Macana	1181	18	11,0	21,8	2,5	2,7	35,8 x 33	1,9 x 14,2	69,5	37,5
XL 235	Cebolla	1181	14	6,8	24,5	1,4	1,8	31 x 27	1,3 x 12,8	72,0	25,0
XL 281	Cebolla	450	18	6,8	17,2	1,4	2,1	33,2 x 27,2	1,5 x 11,6	69,5	90,0
XL 282			4	1,2	29,6	0,3	1,0	6,1 x 23,2	1,9 x 24,8		
XL 289	Cebolla	450	18	10,3	17,4	2,0	1,8	44 x 56	1,6 x 1,5	75,3	36,8
XL 291	Macana	450	23	12,6	17,7	2,8	2,3	60 x 41,5	3 x 15	71,8	45,4
XL 303	Macana	450	18	11,0	16,6	2,4	2,4	51 x 27	1,2 x 9,5	69,8	60,0
XL 343	Macana	1625	22	11,6	17,5	2,2	2,2	51,6 x 27,5	2,5 x 13,1	73,3	
XL 344	Macana	1491	25	10,1	17,6	2,8	1,9	31,2 x 30	1,9 x 13	71,3	-
XL 345	Cebolla	1125	18	10,5	18,6	2,2	2,2	37 x 62	1,2 x 15,6	73,2	37,5
XL 366	Cebolla	1580	25	11,9	21,0	1,6	2,1	47x37,5	2x14,8	72,0	27,2
XL 375	Cebolla	1167	3	2,5	20,5	1,0	1,4		1,5x11,0	75,8	
XL 392	Cebolla	1969	16	7,8	20,9	1,4	1,5	33,0x32,0	2,0x12,0	75,0	83,3
XL 395	Cebolla		10	6,0	16,2	1,6	1,8	26,1 x 23,2	1,4 x 16,7		
XL 397	Cebolla		8	4,8	18,0	1,8	2,0	24,5x27,0	1,0x13,0	71,5	
XL 399	Cebolla	2125	15	5,7	19,3	1,4	1,4	34,0x34,5	1,5x15,5	71,5	50,0
XL 413	Cebolla	85	14	7,5	24,2	1,5	1,8	21,5x45,0	1,5x10,8	72,0	21,0
XL 416	Cebolla	1600	10	8,0	19,0	1,5	2,0		2 x 15,8	74,0	
XL 418	Cebolla	1358	12	7,2	17,3	1,3	1,8	16,0x18,8	1,9x15,1	74,8	
XL 542		96	7	3,6	16,2	1,3	1,7	16,0x32,1	1,0x17,5	80,0	
JA 1003		18	12	7,6	22,8	compacta	2,7	26,5x51,0	2,1x18,0	69,5	
JA 1004			8	4,8	12,1	compacta	1,5	50,3x27,5	2,0x12,1		
JA 1006			8	4,8	21,5	compacta	1,2	37,2x35,2	1,1x12,4	75,3	
JA 1012	Cebolla	1335	12	8,1	21,0	1,8	1,9	28,0x24,0	1,8x13,1	73,5	
JA 1013	Cebolla	1335	16	8,1	16,7	1,7	2,2	31,2x32,3	2,2x17,4	70,5	16,6
JA 1016	Cebolla	1300	16	8,1	18,3	1,9	2,0	35,0x20,8	1,6x13,0	71,8	-
JA 1019	Cebolla	66	14	8,0	19,1	1,5	1,7	24,5x19,0	1,5x11,5	72,0	25,0
JA 1020	Cebolla		14	7,5	17,8	1,6	1,4	20,0x20,5	1,8x14,0		60,0
JA 1023	Cebolla		20	9,9	25,2	1,8	2,4	20,5x22,0	1,6x11,5		
JA 1026	Macana	390	18	8,7	30,0	3,0	2,7	18,8x31,0	2,0x13,2	76,3	
JA 1027	Cebolla	1303	17	10,2	21,2	1,9	1,8	50,0x46,1	2,4x17,5	75,5	-
JA 1028	Cebolla	992	17	12,3	23,1	2,8	3,0	42,6x35,3	1,5x12,8	74,0	6,2
JA 1029	Cebolla	2120	24	5,5	19,0	1,0	1,8	58,0x45,5	2,3x16,0	76,0	-
JA 1031	Cebolla	1460	18	7,6	28,0	1,9	2,6	30,2x32,7	2,0x13,8	72,3	
JA 1032	Cebolla	980	20	10,2	17,3	2,2	2,0	37,0x40,5	1,7x14,0		59,2
JA 1033	var. bicolor	1100	15	9,9	19,5	1,9	1,9	40,0x30,0	1,8x16,2	71,8	

Tabla 4, Caracterización morfométrica de los ecotipos colectados en el año 2007

COLECCIÓN 2007									
Colección	Forma	Altitud	Altura culmo	DAP	Long. Entrenudo	Grosor pared	Grosor línea nodal	Hoja caulinar	Lamina foliar
JA 1035	Castilla	1240	18	14,6	17	2,9	3		
JA 1036	Castilla	1372	18	17,8	18,2	2,9	3,3		
JA 1038	Macana	1550	15	14	19	3,3	2,7		
JA 1039	Cebolla	1300	30	13,4	22	1,8	1,3		
JA 1040	Cebolla	1000	10	10,2	21	1,7	1		
JA 1041	Macana	1180	20	9,6	15	3	1,3		
JA 1042	Cebolla	1620	20	10,2	20	2	2		
JA 1043	Cebolla	930	25	9,9	17	2,3	2		
JA 1044	Cebolla	920	25	9,2	18	1,3	1,5		
JA 1045	Castilla	1200	28	16,1	21,2	3,1	3,1		
JA 1046	Macana	1132	28	10,2	14,5	3,1	2,6		
JA 1047	Macana	993	25	13,4	23,3	3,5	3,4		
JA 1048	Macana	980	25	12,4	15,6	2,5	2,5		
JA 1049	Cebolla	1340	13	9,7	21,1	2,2	2		
JA 1050	Cebolla	1345	13	7,6	17,3	1,9	1,9		
JA 1051-	Cebolla	995	18	12	21,2	2,7	3	57,2 x 58,6	2 x 17,6
JA 1051-	Macana	995	18	13,9	20,4	2,5	2,6	52,0 x 58,8	1,8 x 16,0
JA 1052	Macana	990	23	14,2	24,2	3	2,9	62,0 x 43,5	2,3 x 19,0
JA 1053	Cebolla	999	9	8,2	18,1	1,4	2,3	34,5 x 52,7	1,1 x 13,1
JA 1054	Cebolla	1020	15	12,5	15,2	2,4	3,1	48,6 x 59,2	1,8 x 18,0
JA 1055	Cebolla	1013	18	11,1	19,1	1,5	2,2	60,8 x 41,5	1,5 x 19,0
JA 1056	Cebolla	1007	15	11,9	19,3	2,2	2,7	48,8 x 35,3	2,4 x 17,5
JA 1057	Cebolla	1150	22	11,5	20	2	2,5	35,5 x 63,5	1,8 x 16,8
JA 1058	Castilla	1277	25	15,6	27,3	2,8	2,7	72 x 50,5	2 x 13,1
JA 1059-	Cebolla	1232	17	10	15	2,4	2,4	52,3 x 55,5	1,6 x 13,8
JA 1059-	Cebolla	1232	13	8,9	33,2	1,4	2,8		
JA 1060	var.bicol	1128	20	12,4	13,8	2,8	2,5	37,2 x 52,5	1,5 x 16,7
JA 1061	Cebolla	1401	18	10,5	26,1	2	2,5	48,0 x 69,0	1,7 x 14,8
JA 1062-	var.bicol	1446	14	11,7	20,8	2	2,3	48,0 x 37,6	2,2 x 17,5
JA 1062-	var.bicol	1446	10	5,8	16,5	1,5	1,6	39,0 x 69,0	1,6 x 14,6
JA 1063	Cotuda	1447	23	16,1	26	2,6	3,1	42,0 x 59,0	1,5 x 13,1
JA 1064	var.bicol	988	12	10,8	18,6	2	2	40,5 x 55,1	1,7 x 14,6

6.3. ENRIQUECIMIENTO DE BANCOS DE GERMOPLASMA

El material colectado en cada una de las salidas, se ha distribuido en los dos sitios seleccionados para establecer la colección de guaduas, bajo la responsabilidad de los funcionarios de estos centros: INCIVA para el caso del Jardín Botánico y la UCEVA, para la granja el Bijal. En la tabla 5 se relaciona los 66 individuos sembrados correspondientes a veintinueve ecotipos, distribuidos en las dos colecciones.

Tabla 5. Relación de material sembrado

ECOTIPO	LUGAR		TOTAL	ECOTIPO	LUGAR		TOTAL
	JARDIN BOTÁNICO	EL BIJAL			JARDIN BOTÁNICO	EL BIJAL	
JA- 1035	3	2	5	JA- 1052-1	1	0	1
JA- 1036	1	1	2	JA- 1053-1	1	0	1
JA- 1038	2	2	4	JA- 1054-1	1	0	1
JA- 1039	2	2	4	JA- 1055	1	0	1
JA- 1040	3	1	4	JA- 1056	1	0	1
JA- 1041	2	2	4	JA- 1057-1	0	1	1
JA- 1042	2	2	4	JA- 1057-2	1	0	1
JA- 1043	1		1	JA- 1058	1	0	1
JA- 1044	2	1	3	JA- 1059-1	0	1	1
JA- 1045	2	1	3	JA- 1059-2	1	0	1
JA- 1046	3	2	5	JA- 1060	0	1	1
JA- 1047	2	1	3	JA- 1061	1	0	1
JA- 1048	1	0	1	JA- 1062-1	0	1	1
JA- 1049	1	0	1	JA- 1062-2	1	0	1
JA- 1050	1	0	1	JA- 1063*	3	1	4
JA- 1051-1	0	1	1	JA- 1064	0	1	1
JA- 1051-2	1	0	1				
TOTAL					42	24	66

6.4 EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO

Se viene realizando la evaluación de crecimiento de cada uno de los individuos sembrados tanto en Mateguadua como en la Iberia. No se relaciona los registros debido a que en la fecha apenas comienza a emerger algunos rebrotes y solamente se tiene riendas laterales de algunas sepas. El formulario utilizado para la toma de los respectivos registros se detalla en el anexo B.

6.5 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO.

6.5.1. Introducción

Este análisis tiene como objetivo principal la ESTIMACIÓN DE LA DIVERSIDAD MORFOLÓGICA DE *Guadua angustifolia* KUNTH DEL DEPARTAMENTO VALLE DEL CAUCA, mediante análisis

morfométrico. Se estimará el grado de correlación entre variables y análisis discriminante entre biotipos. Por último, con base en los análisis realizados, se caracterizará los biotipos de *Guadua angustifolia* en el Valle del Cauca desde el punto de vista geográfico, ecológico y exomorfológico.

El guadua es un ecosistema estratégico y clave para la subsistencia de las comunidades que habitan en el territorio del departamento del Valle del Cauca, es por esto que los resultados de este proyecto, pueden ser aprovechados por las comunidades y entidades interesadas en promover estrategias de uso sostenible y conservación del recurso

El género *Guadua* incluye aproximadamente 30 especies que se distribuyen desde México por todos los países de Centroamérica y Sudamérica hasta Argentina con excepción de Chile. En Centroamérica están las especies *G. aculeata*, *G. amplexifolia*, *G. maclurii* y *G. velutina*; en Sudamérica algunas de las especies son: *G. latifolia*, *G. amplexifolia*, *G. weberbaueri*, *G. capitata*, *G. calderoniana*, *G. ciliata*, *G. paniculata*, *G. superba*, *G. Tagoara*, *G. Trinii*, *G. Paraguayana* y *G. angustifolia* que predomina en la región andina de Colombia y Ecuador.

Especies colombianas:

El género *Guadua* se distribuyen desde México por todos los países de Centroamérica y Sudamérica hasta Argentina con excepción de Chile. En Colombia se han registrado seis, ellas son:

- *Guadua angustifolia*: Predomina en la región andina de Colombia y Ecuador.
- *G. amplexifolia*: crece en el norte de Colombia y Venezuela.
- *G. glomerata*: se ha encontrado en Colombia, Brasil, Venezuela y Perú.
- *G. paniculata*: Esta en Colombia, Oeste de México, Venezuela y Brasil.
- *G. superba*: De Amazonía colombiana y Venezolana hasta Surinam, Perú y Bolivia.
- *G. macrospiculata*: Amazonía de Colombia, Brasil y Perú

Los biotipos: En la guadua hay variaciones morfológicas que han dado origen a los nombres empíricos de macana, cebolla y castilla, a estos nombres es lo que se denomina biotipo. Por Biotipo según Font Quer (1965) se entiende grupo de individuos con el mismo patrimonio hereditario homogótico o conjunto de fenotipos que corresponden al mismo genotipo o sinónimo de forma biológica y tipo biológico.

La *Guadua angustifolia* cuenta con 4 biotipos denominados Cebolla, Macana, Rayada y Castilla. Los biotipos se han diferenciado de acuerdo con características morfológicas externas, costumbres campesinas, terminología vernácula, propiedades físico - mecánicas y condiciones propias de desarrollo de la planta.

El biotipo Macana se distingue por tener culmos delgados y madera dura, ideal para construcción; se conoce popularmente con el nombre de guadua macho, posee abundantes ramas inferiores espinosas llamados ganchos, entrecruzados en tal forma que hace difícil la entrada al guadua. El biotipo Cebolla se reconoce por sus gruesos tallos y madera blanda, por ello se utiliza frecuentemente en la elaboración de esterilla. El biotipo Castilla se diferencia de las anteriores por tener paredes más delgadas y alcanza el mayor diámetro, tiene pocas ramas bajas con espinas, se caracteriza por su poca resistencia, se usa para hacer esterilla, en el Tolima se llama guadua balsa o hembra y la Rayada se caracteriza por tener rayas amarillas en el tallo y por tener la menor resistencia.

Variedades de *Guadua angustifolia*:

G. angustifolia var. *angustifolia*: De acuerdo con estudio de Gómez, Cruz, Agudelo y Giraldo (2000) esta variedad quedó conformada por los biotipos denominados Macana y Cebolla. Esta se distribuye en el norte de Sudamérica y en Colombia en los pisos cálido y templado, en el Quindío

entre los 995 y 1850 m. También crece en Risaralda, Caldas, Antioquia y Valle. Se usa principalmente en el sector de la construcción, debido a su resistencia atribuida al grosor de sus paredes, por presentar un buen comportamiento como columnas y para la obtención de esterilla.

G. angustifolia var. *bicolor*: Esta basada en el biotipo llamado Rayada Amarilla. Según Londoño en 1989 se encuentra en la cordillera occidental en los Departamentos de Cauca, Risaralda y Valle, en menor frecuencia en la Cordillera oriental y en la cordillera Central en los Departamentos de Quindío, Tolima y Valle. Sus culmos se usan en construcciones, posee gran potencial ornamental.

G. angustifolia var. *nigra*: Está basada en el biotipo llamado Rayada Negra. En la actualidad esta variedad se localiza únicamente en dos lugares del departamento del Quindío, Hacienda Nápoles ubicada en el Municipio de Montenegro a 1058 m de altitud y en el Centro Nacional para el Estudio del Bambú-Guadua, en el Municipio de Córdoba, forma parte del banco de germoplasma que allí se tiene, fue transferida desde la Hacienda Nápoles. Esta variedad no ofrece buena resistencia para la construcción y por eso es aprovechada solo para la fabricación de muebles y artesanías, además posee potencial ornamental.

G. angustifolia var. *grandicaula*: Está basada en el biotipo comúnmente conocido como castilla o guadua macho. Esta variedad se encuentra entre los 1100 y 1425 m en el Departamento del Quindío, en los municipios de Génova, La Tebaida, Montenegro, Quimbaya y Circasia. También puede encontrarse en los Departamentos de Risaralda, Caldas y Valle del Cauca. Se emplea para la obtención de esterilla y como columnas en el campo de la construcción, además para la elaboración de artesanías (guitarras, jarrones, tambores entre otras). Posee las paredes del culmo más gruesas entre las 24 especies de Guadua que se reconocen en el mundo, así como las hojas caulinares de mayor longitud. Se le asignó el nombre de grandicaula en referencia al gran diámetro y longitud del culmo.

A nivel de variedades la nigra anatómicamente no presenta diferencias significativas con respecto a var. *angustifolia* y var. *bicolor*, en cuanto a su morfología, el único carácter que permite diferenciarla es la presencia de rayas longitudinales verdes y negras en el culmo en algunas ramas y en ocasiones en hojas. Además var. *nigra* tiene un rango de distribución altitudinal muy restringido comparado con var. *angustifolia* y var. *bicolor* (La variedad grandicaula se diferencia de la var. *nigra* por no presentar variegación en su culmo y de var. *angustifolia* por tener diámetro, longitud y hojas caulinares de mayor tamaño (Gómez et al. 2003).

Respecto a la ecología su mayor grado de desarrollo se da bajo condiciones mesofíticas en alturas que no exceden los 1.500 m. La temperatura parece ser el factor limitante en su distribución latitudinal y altitudinal; no resiste periodos prolongados por debajo de 0°C y no crece bien en áreas donde la precipitación es menor de 1.200 mm. anuales (Mc Clure, 1973). Temperaturas por debajo de 11 °C con duraciones mayores de 6 horas diarias, son un limitante para su desarrollo (Londoño, 1990).

Guadua *angustifolia* presenta el más amplio rango de distribución, se extiende por las tres cordilleras, desde el norte hasta el sur a alturas entre 500 - 1.500 m (-1800 m), predominando en los valles interandinos donde forma grandes sociedades llamadas "Guaduales".

Los datos fueron tomados de las accesiones del Banco de Germoplasma de Bambusoideae que está localizado en el corregimiento de Mateguadua, Municipio de Tuluá (Valle del Cauca), aproximadamente a 800 metros de distancia de la sede administrativa del Jardín Botánico Juan María Céspedes de propiedad del Instituto para la Investigación y Preservación del Patrimonio Cultural y Natural del Valle del Cauca (INCIVA). Tiene una extensión aproximada de 2 500 m², presenta condiciones climáticas propias de bosque seco tropical con una ubicación altitudinal entre 950 a 1 100 metros

En la tabla 1 se indica el número de individuos muestreados por biotipo de la especie *Guadua angustifolia* en el Departamento del Valle del Cauca. En este muestreo se puede observar que el biotipo cebolla fue el más frecuente, 60% aproximadamente.

Tabla 1. Frecuencias absolutas y relativas (%) de los cuatro biotipos de *Guadua angustifolia* y de dos especies estudiadas de este género.

Especie - Variedad (Var.)	Categorías	Frecuencias	%
<i>G. angustifolia</i> Var. <i>Castilla</i>	1	4	5,48
<i>G. angustifolia</i> Var. <i>Cebolla</i>	2	44	60,27
<i>G. angustifolia</i> Var. <i>Macana</i>	3	13	17,81
<i>G. uncinata</i>	4	2	2,74
<i>Guadua amplexifolia</i>	5	3	4,11
<i>Guadua glauca</i>	6	2	2,74
<i>G. angustifolia</i> Var. <i>Bicolor</i>	7	5	6,85
Total		73	100,00

En la tabla 2 se indican las estadísticas descriptivas de las variables analizadas en los cuatro biotipos (Castilla, Cebolla, Macana y Bicolor) de la especie *Guadua angustifolia* en el Departamento del Valle del Cauca. Se observa en los descriptores cuantitativos de las 73 muestras un amplio rango de valores lo que indica una gran variabilidad fenotípica en los rodales de guadua estudiados en el Valle del Cauca. Esto señala la existencia de guaduales muy adultos y jóvenes, así como muy extensos y fraccionados.

6.5.2 Variables de interés relacionadas con el aprovechamiento de la parte útil de la Guadua.

Culmo y el entrenudo, presentaron valores muy altos y bajos. La variable altura total del culmo confirma la existencia de guaduales con culmos hasta de 30 metros de longitud y de culmos cortos de 3 metros. El valor de los diámetros tomados a 1.30 m del suelo, evidenciaron la existencia de poblaciones de Guadua con entrenudos muy gruesos (17,80 cm.) y otras con culmos muy delgados (1,975 cm.). La longitud del entrenudo mostró un valor máximo de 37,5 cm. (muy espaciado) y mínimo de 12,1 cm. para un promedio de 19,986 cm.

Los valores promedios de las variables cuantitativas dan una idea general de cómo son las poblaciones de guadua en el Valle del Cauca. En cuanto a la altura de culmos las poblaciones tienen un promedio de 16,8 m., los entrenudos un promedio de 20,9 cm., con un diámetro de 9.57 cm. (Tabla 2).

Los coeficientes de variación CV más bajos (<20%) se observaron en las variables: longitud y ancho de la lámina foliar y dureza en la colección viva y longitud entrenudo y Grosor de la línea nodal en especímenes de herbario. Estas, posiblemente, no son útiles para discriminar un biotipo de otro. El resto de las variables estudiadas mostraron coeficientes de variación CV mas altos (> 20%) sugiriendo alta variabilidad en los datos, lo que refleja la dinámica de las poblaciones y la distribución de rodales en la Bioregión (Tabla 2).

Tabla 2. Estadística descriptiva de las variables analizadas en este estudio para los tres biotipos de *Guadua angustifolia*. El número total de individuos analizados fue 73; no hubo datos perdidos.

Variable	Mínimo	Máximo	Media	Desviación típica	Coefficiente de variación
Altitud	18,000	2125,000	1077,209	438,238	0,407
Relieve	1,000	5,000	3,000	0,850	0,283
Altura culmo (m)	3,000	30,000	16,849	5,668	0,336
CAP (cm.)	6,200	55,986	30,056	9,754	0,325
DAP (cm.)	1,975	17,830	9,572	3,106	0,325
Longitud Entrenudo (cm.)	12,100	37,500	20,908	5,375	0,257
Grosor de la pared (cm.)	0,980	3,820	2,106	0,626	0,297
Grosor de la línea nodal (cm.)	1,000	3,400	2,203	0,547	0,248
Base de la Hoja caulinar (cm.)	6,300	72,000	37,820	11,770	0,311
Altura de la Hoja caulinar (cm.)	14,050	69,000	37,897	12,244	0,323
Ancho de la Lamina foliar (cm.)	1,000	3,000	1,844	0,367	0,199
Largo de la Lamina foliar (cm.)	9,500	20,200	14,446	2,200	0,152
Dureza	69,500	76,250	72,631	1,421	0,020
Resistencia Bacteria (%)	6,200	90,000	43,167	11,534	0,267
CAP (cm.) especímenes herbario	3,500	25,500	13,364	3,472	0,260
Longitud Entrenudo (cm.) especímenes herbario	14,100	43,200	26,061	4,921	0,189
Grosor de la pared (cm.) especímenes de herbario	0,300	2,165	0,858	0,259	0,302
Grosor línea nodal (cm.) especímenes de herbario	1,000	2,500	1,728	0,247	0,143

6.5.3 Estadística Inferencial

Matriz de Correlación

La Tabla 3 muestra los coeficientes de correlación (r) entre parejas de variables cuantitativas medidas en *Guadua angustifolia kunth* del Valle Cauca.

La **altitud** mostró valores de correlación entre $-0,483$ y $0,022$, destacándose su asociación negativa con el grosor de la línea nodal en especímenes de herbario y longitud entrenudo en la colección viva. Esta asociación indica que a mayor altitud hay un decrecimiento del grosor de la línea nodal y de la longitud entrenudo y viceversa. También se observan asociaciones positivas con la dureza y la base de aloja caulinar.

El **relieve** mostró valores de correlación entre $-0,0148$ y $0,15$. Esta variable no mostró ninguna asociación con las variables morfológicas estudiadas.

La **altura del culmo** mostró valores de correlación entre $-0,162$ y $0,652$. Se observaron asociaciones positivas con la base de la hoja caulinar ($r = 0,376$), con el grosor de la línea nodal ($r = 0,290$), con el ancho de la lamina foliar ($r = 0,207$), con el grosor de la pared ($r = 0,403$) y con CAP y DAP (1.30 m del suelo; $r = 0,652$). Estas asociaciones directas sugieren que guaduas con hojas caulinares grandes, mayores grosores de la línea nodal y de la pared, mayores anchos de la lamina foliar y CAP y DAP mayores poseen mayor altura del culmo.

Las variables **CAP** y **DAP** mostraron la asociación máxima ($r = 1$) indicando que una de las dos debe ser eliminada del análisis discriminante puesto que no contribuye con nueva información para

separar los biotipos. El rango de valores de correlación oscilo entre -0,168 y 0,652. Se destacan las asociaciones positivas con la altura del culmo ($r = 0,652$), la base y la altura de la hoja caulinar ($r = 0,538$ y $r = 0,338$), el grosor de la línea nodal ($r = 0,586$) y el grosor de la pared ($r = 0,615$).

La correlación del **diámetro del entrenudo** (1.30 m) con las mismas variables asociadas a la altura total del culmo, indica que poblaciones de guadua con entrenudos gruesos poseen culmos de mayor altura. Además, la asociación del relieve con el grosor de la línea nodal, sugiere que los culmos con diámetros mayores están relacionados con entrenudos mas espaciados y estos con culmos mas altos, y con una mayor probabilidad de encontrarse en relieves ondulados.

La **longitud del entrenudo** mostró valores de correlación entre -0,265 y 0,318, destacándose su asociación negativa con la altitud ($r = -0,265$) y la base de la hoja caulinar ($r = -0,231$). Esta asociación indica que a menor altitud y base de la hoja caulinar mayor longitud del entrenudo y viceversa. Si se tienen en cuenta las asociaciones descritas en el párrafo anterior, se podría pensar que en *Guadua angustifolia* a medida que los culmos alcanzan mayores alturas la lamina foliar es menos alargada mientras que las hojas caulinares son mas alargadas, ya que la base se reduce. Esto podría estar asociado con la necesidad de tener mayor área foliar para desarrollar mas eficientemente los procesos fotosintéticos, la captura de carbono, la respiración y la acumulación de biomasa, entre otras, acordes con los requerimientos respecto al tamaño de la planta. También se observaron asociaciones positivas con el grosor de la línea nodal en la colección viva ($r = 0,301$) y en especímenes de herbario ($r = 0,318$), ancho de la lamina foliar ($r = 0,222$) y la longitud entre nudo en especímenes de herbario ($r = 0,209$). Esto último, indica que con el tiempo las relaciones entre las variables morfológicas en la colección de herbario se modifican. Esto señala que el uso de especímenes de herbario como referentes debe ser más cuidadoso.

El **grosor de la pared** mostró valores de correlación entre -0,175 y 0,615, destacándose las asociaciones positivas con la altura del culmo ($r = 0,403$), el CAP y DAP ($r = 0,615$), el grosor de la línea nodal ($r = 0,605$), la base y la altura re la hoja caulinar ($r = 0,273$ y $r = 0,226$, respectivamente).

El **grosor de la línea nodal** mostró valores de correlación entre -0,236 y 0,605, destacándose las asociaciones positivas con la altura del culmo ($r = 0,290$), el CAP y DAP ($r = 0,586$) la longitud entrenudo ($r = 0,301$), el grosor de la pared ($r = 0,605$), la base y la altura de la hoja caulinar ($r = 0,243$ y $r = 0,212$, respectivamente) y el grosor de la línea nodal de especímenes de herbario ($r = 0,205$). Su relación con la forma de las guadas se describió anteriormente. Es importante destacar la correlación negativa que presento con dureza ($r = -0,236$) ya que esta característica es de valor industrial. A menor grosor de la línea nodal mayor dureza.

La **base de la hoja caulinar** mostró valores de correlación entre -0,233 y 0,538, destacándose su asociación negativa con la longitud entrenudo ($r = -0,231$) y el **grosor de la línea nodal en especímenes de herbario** ($r = -0,233$). También mostró asociaciones positivas con la altura del culmo ($r = 0,376$), el CAP y DAP ($r = 0,538$) la altura de la hoja caulinar ($r = 0,497$, largo lamina foliar ($r = 0,296$) y grosor de la pared ($r = 0,243$) y el **grosor línea nodal en muestras de la colección viva** ($0,205$). Esto último, indica que con el tiempo las relaciones entre las variables morfológicas en la colección de herbario se modifican. Estas alteraciones pueden incluso invertir estas relaciones como lo indican los coeficientes de correlación para la variable grosor de la línea nodal. Nuevamente, esto señala que el uso de especímenes de herbario como referentes debe ser más cuidadoso.

La **altura de la hoja caulinar** mostró valores de correlación entre -0,166 y 0,497, destacándose sus asociaciones positivas con CAP y DAP ($r = 0,338$), la longitud entrenudos ($r = 0,226$), el grosor línea nodal ($r = 0,212$) y la base de la hoja caulinar ($r = 0,425$).

El **ancho de la lamina foliar** mostró valores de correlación entre -0,180 y 0,262, destacándose sus asociaciones positivas con la altura del culmo ($r = 0,207$), la longitud entrenudo ($r = 0,222$) y el

largo de la lamina foliar ($r = 0,262$). El **largo de la lamina foliar** mostró valores de correlación entre $-0,148$ y $0,425$, sus asociaciones positivas con CAP y DAP ($r = 0,278$), con la base y la altura de la hoja caulinar ($r = 0,296$ y $r = 0,425$, respectivamente) y el ancho de la lamina foliar ($r = 0,262$).

Tanto la base y la altura de la hoja caulinar como el ancho y el largo de la lamina foliar apoyan la hipótesis de que estas asociaciones están relacionadas con la captación y almacenamiento de nutrientes indicado antes.

La **dureza** mostró valores de correlación entre $-0,246$ y $0,257$, destacándose su asociación positiva con la altitud ($r = 0,257$) y sus correlaciones negativas con el grosor de la línea nodal tanto de colección viva ($r = -0,236$) y de especímenes de herbario ($r = -0,246$). En este caso, a mayor altitud mayor dureza y menor grosor de la línea nodal. Por lo tanto, en programas futuros de mejoramiento estas características fenotípicas deben tenerse en cuenta para producir una guadua de calidad en las cadenas productivas.

La **resistencia al ataque de bacterias** mostró valores de correlación entre $-0,252$ y $0,077$, destacándose sus asociaciones negativas de la longitud entrenudos ($r = -0,252$) y el grosor de la línea nodal ($r = -0,244$) ambas de especímenes de herbario. En este caso, a mayor longitud el entrenudo y mayor grosor de la línea nodal menor resistencia. Esto podría significar que rodales con longitud entrenudos y grosor de la línea nodal mayores son más susceptibles al ataque de bacterias. Esto también debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar un plan de mejoramiento y manejo de la guadua en el Valle del Cauca.

En Especímenes De Herbario

El **CAP (medido a 1,3 m.)** mostró valores de correlación entre $-0,075$ y $0,246$, destacándose sus asociaciones con la base y la altura de la hoja caulinar ($r = 0,296$ y $r = 0,425$, respectivamente) y ancho de la lamina foliar ($r = 0,262$). La **longitud entrenudos** mostró valores de correlación entre $-0,508$ y $0,209$, destacándose sus asociaciones negativas con la resistencia bacteriana ($r = -0,252$) y el grosor de la pared ($r = -0,508$) y su correlación positiva con la longitud entrenudos ($0,209$). El **grosor de la pared** mostró valores de correlación entre $-0,508$ y $0,235$, destacándose sus asociaciones negativas con el grosor entrenudos ($r = -0,508$) y sus correlaciones positivas con CAP ($r = 0,235$) y el grosor de la línea nodal ($r = 0,233$). Por último, el **grosor línea nodal** mostró valores de correlación entre $-0,483$ y $0,318$, destacándose sus asociaciones negativas con la altitud ($r = -0,483$), la base de la hoja caulinar ($r = -0,233$), dureza ($r = -0,246$) y la resistencia bacteriana ($r = -0,244$) y sus correlaciones positivas con la longitud entrenudos ($r = 0,318$), grosor de la línea nodal ($r = 0,205$), CAP ($r = 0,246$) y el grosor de la pared ($r = 0,233$).

Tabla 3. Matriz de correlación (r) entre parejas de variables cuantitativas medidas en *Guadua angustifolia* kunth del Valle Cauca.

Variables	Altitud	Relieve	Altura culmo (m)	CAP (cm.)	DAP (cm.)	Long. Entrenudo (cm.)	Grosor pared (cm.)	Grosor línea nodal (cm.)	Base de la Hoja caulinar (cm.)	Altura de la Hoja caulinar (cm.)	Ancho de la Lámina foliar (cm.)	Largo de la Lámina foliar (cm.)	Dureza	Resist. Bactenia (%)	CAP (cm.) Espec. Herb.	Longitud Entrenudo (cm.) Espec. Herb.	Grosor de la pared (cm.) Espec. Herb.	Grosor de la línea nodal (cm.) Espec. Herb.	
Altitud	1,000																		
Relieve	0,154	1,000																	
Altura culmo (m)	0,145	-0,037	1,000																
CAP (cm.)	0,100	0,047	0,652	1,000															
DAP (cm.)	0,100	0,047	0,652	1,000	1,000														
Longitud Entrenudo (cm.)	-0,265	0,038	-0,162	0,615	0,168	1,000													
Grosor de la pared (cm.)	-0,175	0,107	0,403	0,615	0,301	-0,080	1,000												
Grosor línea nodal (cm.)	-0,155	0,039	0,290	0,586	0,301	0,273	0,605	1,000											
Base Hoja caulinar (cm.)	0,261	-0,089	0,376	0,538	0,243	1,000													
Altura Hoja caulinar (cm.)	0,098	-0,108	0,155	0,338	0,212	0,497	1,000												
Ancho Lámina foliar (cm.)	0,022	0,012	0,207	0,108	0,108	0,222	0,118	1,000											
Largo Lámina foliar (cm.)	0,075	-0,148	0,157	0,278	0,278	0,135	0,173	0,262	1,000										
Dureza	0,257	0,000	-0,023	-0,067	-0,087	0,069	0,026	0,023	0,026	1,000									
Resistencia Bactenia (%)	0,077	0,000	0,023	-0,080	0,007	0,022	0,011	0,022	0,022	0,026	1,000								
CAP (cm.) Espec. Herb.	0,056	0,000	-0,141	-0,075	-0,075	0,097	0,019	-0,002	0,011	0,047	-0,180	0,262	0,020	-0,012	1,000	0,057	0,008	0,025	
Longitud Entrenudo (cm.) Espec. Herb.	-0,010	0,000	0,067	-0,018	-0,018	0,209	-0,115	0,058	-0,132	-0,096	0,087	-0,084	-0,136	-0,252	0,057	1,000	-0,508	-0,009	
Grosor de la pared (cm.) Espec. Herb.	-0,172	0,000	-0,151	-0,081	-0,081	-0,198	0,192	-0,088	0,049	0,131	0,008	-0,085	-0,004	-0,077	0,235	-0,508	1,000	0,233	
Grosor de la línea nodal (cm.) Espec. Herb.	-0,483	0,000	-0,092	-0,040	-0,040	0,318	0,189	0,205	-0,233	0,093	0,023	0,025	-0,246	-0,244	0,246	-0,009	0,233	1,000	

Resist. = Resistencia

Espec. Herb. = especímenes herbario

6.5.4 Análisis discriminante

En la tabla 4 se indican los valores promedio de las variables estudiadas para cada uno de los biotipos de *Guadua angustifolia*. En esta tabla se puede observar que en promedio los biotipos más diferentes son el biotipo castilla y el biotipo Cebolla, mientras que el biotipo macana es intermedio, pareciéndose más cebolla. **DAP, Longitud entrenudo y grosor de la pared** diferencian significativamente a cebolla de castilla y macana. DAP y **grosor de la línea nodal** muestran a cebolla como la de menor tamaño, a macana intermedia y a castilla como la de mayor calibre. El biotipo Bicolor es similar al biotipo cebolla.

Tabla 4. Valores medios de las variables estudiadas en cada uno de los Biotipos de *Guadua angustifolia*. Donde 1: Castilla; 2= Cebolla, 3= Macana, 7 = Bicolor y en las especies 4 = *G. uncinata*, 5 = *Guadua amplexifolia* y 6 = *Guadua glauca*. Las variables subrayadas mostraron diferencias significativas mediante prueba unidimensional de igualdad de las medias de las clases (Tabla 5).

Variable	Especies del Genero <i>Guadua</i> / Variedad de <i>Guadua angustifolia</i>						
	1	2	3	4	5	6	7
Altitud	1272,25	1135,79	1031,31	420,00	724,14	522,50	1221,60
Relieve	3,75	2,91	3,08	3,00	3,00	3,00	3,00
Altura culmo (m)	22,25	16,45	21,38	6,50	9,33	13,50	14,20
CAP (cm.)	50,35	27,95	36,87	7,95	18,00	27,35	31,78
DAP (cm.)	<u>16,04</u>	<u>8,90</u>	<u>11,74</u>	<u>2,53</u>	<u>5,73</u>	<u>8,71</u>	<u>10,12</u>
Longitud Entrenudo (cm.)	<u>20,93</u>	<u>20,49</u>	<u>19,48</u>	<u>34,15</u>	<u>18,80</u>	<u>37,00</u>	<u>17,84</u>
Grosor de la pared (cm.)	<u>2,93</u>	<u>1,80</u>	<u>2,82</u>	<u>1,29</u>	<u>2,86</u>	<u>2,40</u>	<u>2,04</u>
Grosor línea nodal (cm.)	3,03	2,06	2,48	1,95	1,80	3,15	2,06
Base Hoja caulinar (cm.)	46,37	36,58	42,42	9,30	38,00	38,50	40,94
Altura Hoja caulinar (cm.)	41,05	37,42	37,06	26,28	37,90	31,75	48,84
Ancho Lamina foliar (cm.)	1,88	1,78	1,99	2,50	1,73	1,90	1,76
Largo Lamina foliar (cm.)	14,11	14,42	14,25	15,00	14,17	13,05	15,92
Dureza	72,63	72,91	72,32	71,32	72,46	70,50	72,45
Resistencia Bacteria (%)	43,17	42,86	44,20	43,17	43,17	43,17	43,17
CAP (cm.) Espec.Herb.	13,36	13,39	13,52	9,50	12,75	16,58	13,36
Longitud Entrenudo (cm.) Espec.Herb.	26,06	26,08	26,13	33,75	18,12	29,33	26,06
Grosor de la pared (cm.) Espec.Herb.	<u>0,86</u>	<u>0,83</u>	<u>0,84</u>	<u>0,65</u>	<u>1,61</u>	<u>0,68</u>	<u>0,86</u>
Grosor de la línea nodal (cm) Espec.Herb.	1,73	1,70	1,71	2,10	1,91	1,91	1,73

Tabla 5. Prueba unidimensional de igualdad de las medias para cada uno de los Biotipos de *Guadua angustifolia*. Donde 1: Castilla; 2= Cebolla, 3= Macana, 7 = Bicolor y en las especies 4 = *G. uncinata*, 5 = *Guadua amplexifolia* y 6 = *Guadua glauca*.

Variable	Lambda	F	GDL1	GDL2	p-valor
Altitud			6	66	
Relieve			6	66	
Altura culmo (m)			6	66	
CAP (cm.)			6	66	
DAP (cm.)	0,432	14,440	6	66	< 0,0001
Long. Entrenudo (cm.)	0,537	9,488	6	66	< 0,0001
Grosor pared (cm.)	0,414	15,593	6	66	< 0,0001
Grosor línea nodal (cm.)			6	66	
Base de la Hoja caulinar (cm.)			6	66	
Altura de la Hoja caulinar (cm.)			6	66	
Ancho de la Lamina foliar (cm.)			6	66	
Largo de la Lamina foliar (cm.)	0,952	0,550	6	66	0,768
Dureza			6	66	
Resistencia Bacteria (%)			6	66	
CAP (cm.) Especimenes del Herbario	0,940	0,702	6	66	0,649
Long. Entrenudo (cm.) Especimenes del Herbario			6	66	
Grosor pared (cm.) Especimenes del Herbario	0,613	6,944	6	66	< 0,0001
Grosor línea nodal (cm.)			6	66	

La tabla 6 indica que el biotipo castilla se diferencia significativamente de cebolla, Cebolla de Macana. El Biotipo Bicolor no mostro distancias de Fisher significativas con ninguno de los biotipos estudiados. Todos los biotipos de *G. angustifolia* mostraron diferencias significativas con las especies *G. uncinata* y *Guadua amplexifolia*. Ninguno se diferencio de *Guadua glauca*, sugiriendo que no existen diferencias significativas entre *G. angustifolia* y *G. glauca*. *G. glauca* solo se diferencia de *Guadua amplexifolia*.

Tabla 6. Distancias de Fisher (debajo de la diagonal) y valores de probabilidad (P). Donde 1: Castilla; 2= Cebolla, 3= Macana, 7 = Bicolor y en las especies 4 = *G. uncinata*, 5 = y 6 = *Guadua glauca*.

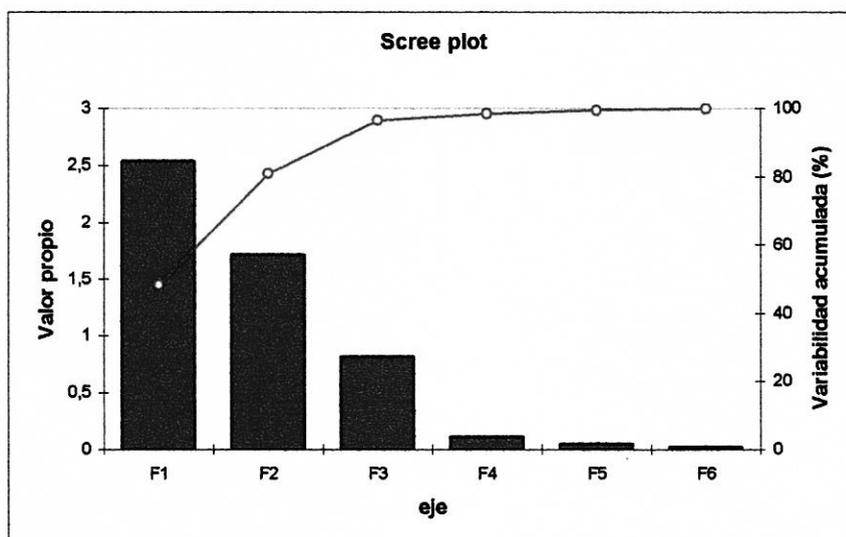
	1	2	3	4	5	6	7
1	0,000	0,004	<u>0,652</u>	< 0,0001	< 0,0001	<u>0,055</u>	<u>0,188</u>
2	2,615	0,000	0,001	0,004	< 0,0001	<u>0,115</u>	<u>1,000</u>
3	0,835	3,024	0,000	< 0,0001	0,0000	<u>0,116</u>	<u>0,614</u>
4	4,639	2,640	3,956	0,000	0,0060	<u>0,417</u>	0,007
5	4,556	4,493	3,614	2,466	0	0,005	0,001
6	1,790	1,545	1,541	1,060	2,544	0	<u>0,137</u>
7	1,372	0,187	0,870	2,451	2,978	1,484	0

Este grado de diferenciación permite continuar haciendo el análisis discriminante, explicando la varianza fenotípica de los biotipos a partir de dos factores que conjuntamente describen el 80,9 % de la varianza (Tabla 7 y Grafico 1).

Tabla 7. Valores propios y porcentaje de discriminación aportado por cada factor.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Valor propio	2,538	1,715	0,819	0,108	0,051	0,025
Discriminación (%)	48,293	32,633	15,588	2,050	0,968	0,468
Acumulado (%)	48,293	80,926	96,514	98,564	99,532	100,000

Grafico 1. Valores propios y porcentaje de discriminación aportado por cada factor.



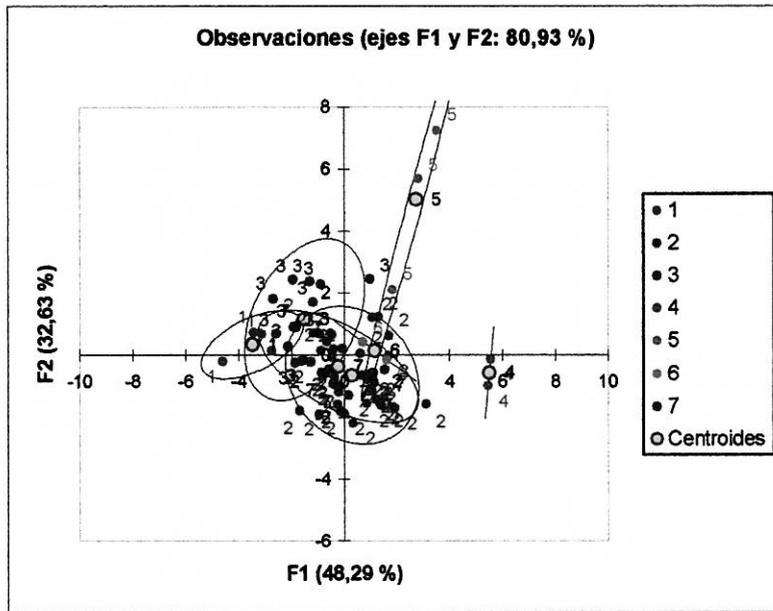
En el grafico 2 se observa que los centroides correspondientes a cada biotipo no están sobrepuestos, sin embargo, la dispersión de la nube de datos muestra áreas sobrepuestas con pocos individuos dentro de ellas.

En la tabla 8 se pone a prueba la capacidad de asignar correctamente los individuos a cada biotipo propuesto observándose un 82% de aciertos.

Tabla 8. Matriz de confusión para los resultados de validación cruzada.

de \ a	1	2	3	4	5	6	7	Total	% correcto
1	3	0	1	0	0	0	0	4	75,00%
2	0	41	2	0	0	1	0	44	93,18%
3	0	2	10	0	0	1	0	13	76,92%
4	0	0	0	2	0	0	0	2	100,00%
5	0	1	0	0	2	0	0	3	66,67%
6	0	0	0	0	0	2	0	2	100,00%
7	0	4	1	0	0	0	0	5	0,00%
Total	3	48	14	2	2	4	0	73	82,19%

Grafica 2. Representación grafica de las observaciones con base en los ejes 1 y 2.



6.5.5 Modelo Descriptivo De Los Tres Biotipos Estudiados De *Guadua angustifolia*.

Regresión de la variable Forma

En primer lugar, se asigna como variable dependiente al biotipo (forma) respecto a las variables medidas en el estudio. Luego, se realizó una regresión múltiple por etapas para seleccionar las variables que se incluirán en el modelo por describir mejor cada biotipo (tabla 9). En este análisis no se incluye el biotipo bicolor por no diferenciarse de cebolla. Las variables DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) y Dureza describen el 55,3 % de la variación de los biotipos.

En segundo lugar, se realizó un análisis de varianza con las variables incluidas para probar el modelo (tabla 10 A y B). También se estimaron los parámetros del modelo con sus significancia (Tabla 10 C).

Tabla 9. Resumen de la selección de las variables incluidas en el modelo por la regresión sobre la variable Biotipo (Forma). Donde IN significa variable incluida y OUT Excluida.

No. de variables	Variables	Variable IN/OUT	Estado	MEC	R ²	R ² ajustado
1	Altitud	Altitud	IN	0,928	0,134	0,121
2	Altitud / Longitud Entrenudo (cm.)	Longitud Entrenudo (cm.)	IN	0,858	0,212	0,188
3	Altitud / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	IN	0,802	0,275	0,241
4	Altitud / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) / Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	Grosor pared (cm.)	IN	0,764	0,319	0,276
5	Altitud / DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) / Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	DAP (cm.)	IN	0,541	0,526	0,487
4	DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) / Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	Altitud	OUT	0,541	0,518	0,488
5	DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) / Dureza / Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	Dureza	OUT	0,508	0,555	0,519
4	DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) / Dureza	Grosor pared de especímenes de herbario (cm.)	OUT	0,513	0,543	0,514
5	DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) / Base de la Hoja caulinar (cm.) / Dureza	Base de la Hoja caulinar (cm.)	OUT	0,472	0,586	0,553

Tabla 10. (A) Análisis de la varianza con las variables escogidas Calculado contra el modelo $Y = \text{Media (Y)}$. (B) Suma de cuadrados del análisis Tipo I se indica debajo de la ANOVA. (C) Parámetros del modelo con su significancia.

(A) ANOVA

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	5	41,488	8,298	17,572	< 0,0001
Error	62	29,277	0,472		
Total corregido	67	70,765			

(B) Suma de Cuadrados

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
DAP (cm.)	1	9,426	9,426	19,961	< 0,0001
Longitud Entrenudo (cm.)	1	6,159	6,159	13,043	0,001
Grosor pared (cm.)	1	0,528	0,528	1,119	0,294
Base de la Hoja caulinar (cm.)	1	2,680	2,680	5,675	0,020
Dureza	0	0,000	0,000	0,000	0,000

(C) Parámetros del modelo:

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t
Intersección	11,558	4,339	2,664	0,0100
Altitud	0,000	0,000		
Relieve	0,000	0,000		
Altura culmo (m)	0,000	0,000		
CAP (cm.)	0,000	0,000		
DAP (cm.)	-0,267	0,039	-6,933	< 0,0001
Long. Entrenudo (cm.)	0,060	0,016	3,765	0,000
Grosor pared (cm.)	1,103	0,168	6,565	< 0,0001
Grosor línea nodal (cm.)	0,000	0,000		
Base Hoja caulinar (cm.)	0,021	0,008	2,538	0,0140
Altura de la Hoja caulinar (cm.)	0,000	0,000		
Ancho Lamina foliar (cm.)	0,000	0,000		
Largo de la Lamina foliar (cm.)	0,000	0,000		
Dureza	-0,151	0,059	-2,580	0,012
Resistencia Bacteria (%)	0,000	0,000		
<u>Especímenes de Herbario:</u>				
CAP (cm.)	0,000	0,000		
Longitud Entrenudo (cm.)	0,000	0,000		
Grosor pared (cm.)	0,000	0,000		
Grosor línea nodal (cm.)	0,000	0,000		

Ecuación del modelo:

$$\text{Biotipo (Y)} = 11,5583593866196 - 0,2669203270515 \cdot \text{DAP (cm)} + 5,97815060994158 \cdot \text{Long. Entrenudo (cm.)} + 1,10322461981233 \cdot \text{Grosor pared (cm)} + 0,021375464637597 \cdot \text{Base de la Hoja caulinar (cm)} - 0,15094753230009 \cdot \text{Dureza}$$

6.5.6 Conclusiones

En este estudio, el biotipo cebolla fue el más frecuente en el Departamento del Valle del Cauca, 60% aproximadamente del número de individuos muestreados por biotipo de la especie *Guadua angustifolia*.

La correlación del **diámetro del entrenudo** (1.30 m) con las mismas variables asociadas a la altura total del culmo, indica que poblaciones de guadua con entrenudos gruesos poseen culmos de mayor altura. Además, la asociación del relieve con el grosor de la línea nodal, sugiere que los culmos con diámetros mayores están relacionados con entrenudos más espaciados y estos con culmos más altos, y con una mayor probabilidad de encontrarse en relieves ondulados.

Tanto la base y la altura de la hoja caulinar como el ancho y el largo de la lámina foliar apoyan la hipótesis de que estas asociaciones están relacionadas con la captación y almacenamiento de nutrientes indicado antes.

a mayor altitud mayor dureza y menor grosor de la línea nodal. Por lo tanto, en programas futuros de mejoramiento estas características fenotípicas deben tenerse en cuenta para producir una guadua de calidad en las cadenas productivas.

A mayor longitud el entrenudo y mayor grosor de la línea nodal menor resistencia al ataque de bacterias. Esto podría significar que rodales con longitud entrenudos y grosor de la línea nodal mayores son más susceptibles al ataque de bacterias. Esto también debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar un plan de mejoramiento y manejo de la guadua en el Valle del Cauca.

Las variables DAP (cm.) / Longitud Entrenudo (cm.) / Grosor pared (cm.) y Dureza describen el 55,3 % de la variación de los biotipos.

En promedio los biotipos más diferentes son el biotipo castilla y el biotipo Cebolla, mientras que el biotipo macana es intermedio, pareciéndose más cebolla. DAP, Longitud entrenudo y grosor de la pared diferencian significativamente a cebolla de castilla y macana. DAP y grosor de la línea nodal muestran a cebolla como la de menor tamaño, a macana intermedia y a castilla como la de mayor calibre. El biotipo Bicolor es similar al biotipo cebolla.

El biotipo castilla se diferencia significativamente de cebolla y cebolla de Macana. El Biotipo Bicolor no mostró distancias de Fisher significativas con ninguno de los biotipos estudiados. Todos los biotipos de *G. angustifolia* mostraron diferencias significativas con las especies *G. uncinata* y *Guadua amplexifolia*. Ninguno se diferencio de *Guadua glauca*, sugiriendo que no existen diferencias morfológicas entre *G. angustifolia* y *G. glauca*. *G. glauca* solo se diferencia de *Guadua amplexifolia*.

Con el tiempo las relaciones entre las variables morfológicas en la colección de herbario se modifican. Estas alteraciones pueden incluso invertir estas relaciones como lo indican los coeficientes de correlación para la variable grosor de la línea nodal. Nuevamente, esto señala que el uso de especímenes de herbario como referentes debe ser más cuidadoso.

6.5.7. Referencias Bibliográficas

GÓMEZ, M. G.; CRUZ, V. S.; AGUDELO, H. A. y GIRALDO, H. E. Caracterización morfológica de y anatómica de cuatro biotipos de *Guadua angustifolia* Kunth. En: Monografías de la flora andina. Vol. 3. ISSN 0123-9538. 2000.

McCLURE. F. A. The bamboos-A fresh perspective. Cambridge: Harvard University Press. 1966. -----Genera of bamboos native to the New World (Gramineae: Bambusoideae). Ed. T.R. Soderstrom. Smithsonian Contr. Bot. 9: xii 1-148. 1973.

6.6 ESTANDARIZACION DE LA EXTRACCION DE ADN DE LAS ACCESIONES DE *Guadua angustifolia* DEL JARDIN BOTANICO JUAN MARIA CESPEDES DE TULUA- VALLE DEL CAUCA

6.6.1 Introducción

La *Guadua* ha sido de vital importancia en aspectos históricos, económicos y culturales en Colombia, y en la naturaleza actúa como reguladora de la calidad y cantidad de aguas (Castaño & Moreno 2004; Cruz 1994). Como estrategia para su conservación se implementó en 1987 el Banco de Germoplasma de Bambusoideae en el Jardín Botánico Juan María Céspedes (Tuluá – Valle) de propiedad del INCIVA, siendo la única colección viva de *G. angustifolia* en Colombia. Este cuenta con una colección de 45 accesiones de *G. angustifolia* provenientes de 16 departamentos de Colombia (Londoño 1990, Marulanda et al. 2002), conservando así una gran variabilidad de la especie.

Como otra estrategia de conservación de *G. angustifolia* se creará un banco de ADN de las accesiones de la colección viva, para ello se requiere de un método de extracción rápido y eficiente que produzca ADN de alta calidad y concentración que pueda ser empleado en estudios de biología molecular y a su vez permanezca en buen estado por un largo periodo de tiempo.

Para generar conocimiento en la genética de cualquier organismo la obtención de ADN de alta calidad es crucial, pues de esto depende la fidelidad y reproducibilidad de las pruebas o técnicas que se utilizarán (Sunnucks & Hales 1996).

Con un ADN de alta calidad, es más fácil construir genotecas de ADN y por ende aprovechar al máximo los muestreos realizados y la colaboración entre científicos que no pueden acceder fácilmente a las muestras, así como una comparación más exacta de datos entre laboratorios (Apfalter et al. 2001).

La información sobre las técnicas de extracción de ADN y preservación del tejido en *Guadua* son importantes porque permitirán iniciar nuevos trabajos sobre caracterización de las especies y variedades del grupo, genética de poblaciones, filogenia, estudios de diversidad genética, entre otros.

Con el fin de establecer un protocolo de extracción de ADN que cumpla con las condiciones señaladas anteriormente, se considera conveniente realizar la estandarización de un método de extracción de ADN de *G. angustifolia*. Además, en futuros estudios de *G. angustifolia* se tomarán estos ADN's para llevar a cabo otras técnicas de biología molecular, laboriosas, con altas inversiones de tiempo y dinero, en donde la cantidad, la conservación y calidad del ADN juegan un papel primordial en el éxito de estas técnicas.

En el presente estudio se analizó la calidad y concentración del ADN extraído mediante tres protocolos y se estandarizó aquel con los mejores resultados para la creación del banco de ADN a partir de las accesiones de la colección viva de *G. angustifolia*.

6.6.2 Métodos de extracción de ADN

Numerosos métodos, entre otros los descritos por Dellaporta et al. (1983), Doyle & Doyle (1987), Guillemaut y Marechal (1992), Honeycutt et al (1992) y Hoisington et al. (1992), han sido desarrollados para diferentes

especies de plantas, sin embargo, la mayoría requieren una alta inversión de tiempo, material vegetal y reactivos, o producen bajo rendimiento de ADN.

Marulanda et al. (2002) evaluaron los métodos de extracción de Dellaporta et al. (1983), Gilbertson et al. (1991) y Hoisington (1992) para llevar a cabo un análisis de AFLP en *G.angustifolia*, obteniendo el ADN de mejor calidad para su estudio con el método de Hoisington (1992). Potosí et al. (2006) ensayaron los protocolos de Dellaporta et al. (1983) adaptado para arroz y el kit de extracción de Quiagen para caracterizar la diversidad de *G. angustifolia* mediante RAPDs estableciendo como método de extracción el de Dellaporta et al. (1983) adaptado para arroz con modificaciones para *G. angustifolia*.

6.6.3. Materiales y métodos

Área de estudio

El Banco de Germoplasma está localizado en el corregimiento de Mateguadua, Municipio de Tuluá (Valle del Cauca), aproximadamente a 800 metros de distancia de la sede administrativa del Jardín Botánico Juan María Céspedes de propiedad del Instituto para la Investigación y Preservación del Patrimonio Cultural y Natural del Valle del Cauca (INCIVA). Tiene una extensión aproximada de 2500 m², presenta condiciones climáticas propias de bosque seco tropical con una ubicación altitudinal entre 950 a 1100 metros, por lo que en él se encuentran en su mayoría individuos del género *Guadua* (Londofío 1990).

Material vegetal

Se colectaron hojas jóvenes y en buen estado (evitando la presencia de patógenos, hongos y líquenes) de las accesiones del Banco de Germoplasma de Bambusoideae del Jardín Botánico Juan María Céspedes, Tuluá- Valle del Cauca. El tejido foliar fue depositado en bolsas de papel que se almacenaron inmediatamente en tarros plásticos con sílica gel con indicador de cobalto.

Procesamiento de las muestras

Con las muestras en el laboratorio se procedió a macerar finamente el tejido vegetal empleando nitrógeno líquido, con el fin de fraccionar fácilmente las células y conservar la molécula de ADN al evitar que enzimas como las ADNasas lo degraden. El macerado se conservó a -80°C hasta el momento de la extracción del ADN.

Extracción de ADN

Para extraer el ADN de *G. angustifolia* se evaluaron tres protocolos seleccionados por su facilidad y seguridad al efectuarlos:

- Kit de extracción de ADN de Quiagen (Dneasy Plant Mini Kit) (Anexo 1).
- Protocolo de Micro extracción de ADN Dellaporta (1983) con modificaciones para arroz y posteriormente adaptado para *Guadua angustifolia* por Potosí et al. 2006, con nuevas modificaciones en este trabajo (Anexos 2 y 3).
- Protocolo de extracción de hojas frescas de Cucurbita (Brown & Myers 1998) adaptado a tubos de 1.5ml y tejido seco (Anexo 3).

Cada protocolo se llevó a cabo con tres muestras (1, 5 y 6), comparándose la calidad y concentración del ADN obtenido.

Cualificación y Cuantificación del ADN

El ADN fue cualificado por medio de electroforesis en gel de agarosa al 0.8%, observando el grado de degradación que hubiera en cada muestra, así como también la prueba con diluciones, pues la sobresaturación del ADN crea “ruido” y hacía parecer una muestra buena, como altamente degradada.

La concentración del ADN fue determinada en un espectrofotómetro multifuncional Genios (TECAN, Austria). En una placa de metacrilato especial para hacer mediciones con luz UV, se colocaron 10ul de ADN de cada una de las muestras diluido en 190 ul de buffer AE, para un total de 200ul por muestra, lo mismo se efectuó con ADN estándar de Salmón a una concentración de 50 ng/ul, siendo esta la dilución control, a su vez se colocaron 200ul de buffer AE como blanco y 200ul de ADN estándar. La placa fue previamente preparada y posteriormente se instaló en el espectrofotómetro, en donde se midió la absorbancia a 260 nm y 280 nm. El cálculo efectuado para llegar a la concentración de cada muestra fue:

Concentración de ADN = $\frac{((\text{Absorbancia de la muestra} - \text{Absorbancia del blanco}) \times \text{densidad óptica}) \times \text{factor de dilución}}{\text{calibración del TECAN}}$

Densidad óptica= 50

Factor de dilución= 20

Calibración del TECAN= 2

También se estimó la concentración mediante la visualización en los geles de agarosa al 0.8%, teniendo en cuenta que en teoría en este gel con 2ul de ADN lambda (ADN de concentración conocida), las bandas se visualizan a partir de una concentración de 20ng/ul.

Análisis de Datos:

Con el ADN extraído y cuantificado, se construyeron matrices de datos por protocolo de extracción para comparar la efectividad de cada uno. Dichas matrices fueron visualizadas en gráficas de líneas simples y planos de 3 dimensiones (3D) usando como software Microsoft Excel® (2003). En la Graficación en 3D, fueron usados como ejes: El tiempo que tomó cada extracción de ADN, el costo de cada extracción y la cantidad empleada de ADN en nanogramos. Esta metodología, es una adaptación de la usada por Cortés (1997).

En dicha gráficas, se seleccionaron aquellos protocolos y tejidos más efectivos en cuanto a la preservación, calidad y cantidad de ADN, tiempo empleado, la facilidad y costo del protocolo.

6.6.4. Resultados y discusión

Con los tres protocolos se logró obtener una muy buena calidad de ADN al evidenciarse la presencia de una banda única con ausencia de barrido en los geles de agarosa al 0.8% en las muestras 1 y 5 (figuras 1, 2 y 3). En la muestra 6 aparentemente se obtuvo ADN a muy baja concentración con todos los protocolos evaluados, lo cual descarta que se deba a algún protocolo como tal, quizá el tejido empleado no se encontraba en buenas condiciones en el momento en que se llevaron a cabo las extracciones.

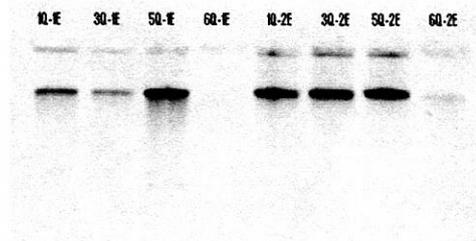


Figura 1. Evaluación del ADN obtenido mediante el kit de Quiagen en gel de agarosa al 0.8%

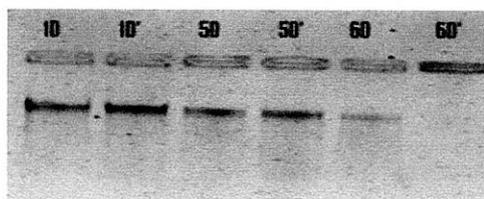


Figura 2. Evaluación del ADN obtenido mediante el protocolo de Dellaporta et al. (1987) adaptado para arroz en gel de agarosa al 0.8%

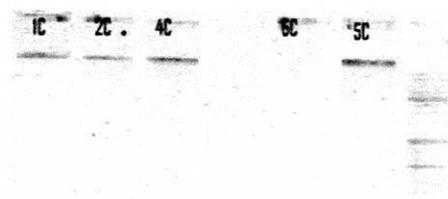


Figura 3. Evaluación del ADN obtenido mediante el protocolo de Cucurbita en gel de agarosa al 0.8%

en cuanto a la concentración se observó disparidad entre los resultados obtenidos mediante el tecan y aquellos estimados mediante la visualización en agarosa al 0.8%, por ejemplo, mientras con el espectrofotómetro se obtuvo una concentración de 78,8 ng/ul de adn de la muestra 6 extraído con el protocolo de dellaporta et al. (1983), mediante la estimación visual no se detecto ninguna banda; lo mismo sucedió con el protocolo de cucurbita y con la muestra 1 empleando el protocolo de quiagen (tablas 1 y 2).

En general, se considera que la cuantificación mediante espectrofotómetro no es muy confiable, puesto que son muchas las variables que interfieren en la misma como son la visibilidad de la placa empleada (que no esté rayada o muy utilizada), que se realice una buena dilución del adn antes de la medición, la calibración del espectrofotómetro, entre otras. a su vez, autores como csaikl et al (1998) emplean esta metodología para la evaluación de la pureza del adn, no para la cuantificación, en cuyo caso utilizan fluorómetro. debido a ello, se decidió tomar como referencia las concentraciones obtenidas mediante la visualización en los geles de agarosa al 0.8%.

La tabla 1 muestra las concentraciones (ng/ul) de adn obtenido mediante tecan en las muestras con cada protocolo evaluado. se observa que todos los protocolos tienen grandes variaciones (cv = 34% - 57%). el protocolo de dellaporta et al. (1983) adaptado para arroz con modificaciones para *g. angustifolia* mostró en promedio el mejor rendimiento y el protocolo cucurbita el peor.

Al analizar la concentración de ADN producida por los dos duplicados conjuntamente, Dellaporta et al. (1983) mostró concentraciones 2 o 4 veces más altas que Quiagen y de 8 a 23 veces la de cucurbita, además, mostró el menor coeficiente de variación (22%)

Tabla 1. Concentraciones (ng/ul) de ADN obtenido mediante TECAN en las muestras con cada protocolo evaluado

Protocolo	1	1'	5	5'	6	6'	Promedio □ Desviación estándar
Quiagen	12,6	44,6	56,6	34,2	23,2	13,4	30,77□17,66
Dellaporta et al. (1983)	150,6	81,0	111,2	61,0	76,4	78,8	93,17□32,54
Cucurbita	10,0	No	20,4	No	15,7	No	15,37□05,21

La Tabla 2 muestra las concentraciones (ng/ul) de ADN obtenido mediante la visualización en agarosa al 0.8 % en las muestras con cada protocolo evaluado. Se observa que todos los protocolos tienen grandes variaciones (CV = 64% - 92%). El protocolo de Quiagen mostró en promedio el mejor rendimiento y el protocolo Cucurbita fue el peor.

Tabla 2. Concentraciones (ng/ul) de ADN obtenido mediante la visualización en agarosa al 0.8 % en las muestras con cada protocolo evaluado

Protocolo	1	1'	5	5'	6	6'	Promedio ± Desviación estándar
Quiagen	50	80	80	100	10	20	56,67±36,15
Dellaporta et al. (1983)	50	80	50	50	20	0	41,67±27,87
Cucurbita	20	No	30	No	0	No	16,67±15,28

Al analizar la concentración de ADN producida por los dos duplicados conjuntamente, Quiagen mostró la mayor concentración seguido de Dellaporta et al. (1983), en ambos se estimaron concentraciones de 2 a 5 veces más altas que la de Cucurbita. Con ambos protocolos se obtienen concentraciones de 40 a 60 ng/ul aproximadamente por 20 mg de tejido empleado (Tabla 2). Otra ventaja de ambos protocolos respecto al de Cucurbita, es que no requieren ni de CTAB ni de cloroformo, reactivos que deben ser manipulados cuidadosamente en una cámara de extracción por su gran efecto tóxico e irritante (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación entre las metodologías de extracción empleadas.

Protocolo	Cucurbita	Quiagen	Dellaporta et al. (1983) adaptado
Tejido vegetal	20mg - 1g	20mg	20mg
Tiempo	>1 día	3 horas	>1 día

Lisis	CTAB 5X	AP1	SDS
Purificación de ADN	Cloroformo fenol	AP2- AP3	Intercambio aniónico

Además, el ADN extraído mediante Dellaporta et. al (1983) conservado a -80°C se mantiene de buena calidad por más de un año, mientras que aquel extraído mediante el uso de CTAB y PVP dura aproximadamente 4 meses en buen estado. Como consecuencia de ello resulta mucho más seguro llevar a cabo la extracción del ADN de un gran volumen de muestras por el protocolo de Dellaporta et al. (1983).

Por otro lado, como se observa en la tabla 3 con el protocolo de Quiagen se extrae ADN en menos tiempo comparado con el requerido por los protocolos de Dellaporta et al.(1983) y de Cucurbita. Sin embargo, el kit de Quiagen es muy costoso económicamente cuando se emplea para extraer un gran volumen de muestras, situación en la que el protocolo de Dellaporta et al. (1983) adaptado para arroz con modificaciones para *G. angustifolia* por Potosi et al.(2006) resulta mucho más económico.

Debido a la eficiencia, calidad y concentración con la que se extrae ADN mediante el protocolo de Dellaporta et al. (1983) adaptado para arroz con modificaciones para *G. angustifolia* por Potosi et al.(2006) de un gran volumen de muestras como es el caso de un banco de germoplasma, se llevo a cabo la estandarización del mismo efectuándose modificaciones al protocolo de Potosi et al.(2006) (Anexo 3) que incrementaron la calidad, pureza y concentración del ADN

6.6.5. Conclusiones

En general, se concluye que los métodos que producen un ADN de buena calidad y concentración son el "Kit" de Quiagen y el protocolo de Dellaporta et al.(1983) adaptado para arroz con modificaciones para *G. angustifolia* por Potosi et al.(2006). Sin embargo, para llevar a cabo la creación del banco de ADN a partir de la colección viva es más conveniente emplear el protocolo de Dellaporta et al. (1983) adaptado para arroz con modificaciones para *G. angustifolia* por Potosi et al.(2006), bajo las modificaciones realizadas en el presente trabajo, ya que esto permite tener una buena calidad de ADN que perdure mas en el tiempo.

6.6.6 Referencias bibliográficas

APFALTER, P., BLASI, F., BOMAN, J., GAYDOS, C.A., KUNDI, M., MAASS, M. MAKRISTATHIS, A., MEIJER, A., NADRCHAL, R., PERSSON, K., ROTTER, M.L., TONG, C.Y.W., STANEK, G. □ A.M., HIRSCHL. 2001. Multicenter Comparison Trial of ADN Extraction Methods and PCR Assays for Detection of *Chlamydia pneumoniae* in Endarterectomy Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(2): 519-524..

BROWN, R. N. & J.E. MYERS. A simple protocol for isolating DNA from fresh Cucurbita Leaves. *Cucurbit Genetics Cooperative Report* 21: 46-47 (1998).

CASTAÑO, F & R. D. MORENO. 2004. Guadua para todos, cultivo y aprovechamiento. Bogotá, Panamericana Formas e Impresos S.A. 187p.

CORTES, E. 1997. A Critical Review Of Methods Of Studying Fish Feeding Based On Analysis Of Stomach Content: Application To Elasmobranch Fishes. *Canadian Journal of Fisheries And Aquatic Sciences*. 54: 726-738.

CRUZ, I. A. 1994. La Guadua: Nuestro Bambú. Armenia, Fudegraf. 293p

CSAIKL, U.M., H.BASTIAN, R. BRETTSCHEIDER, S. GAUCH, A. MEIR, M.SCHAUERTE, F. SCHOLZ, C. SPERISEN, B. VORNAM & B. ZIEGENHAGEN. 1998. Comparison Analysis of different DNA extraction

protocols: a fast, universal maxi- preparation of high quality plant DNA for genetic evaluation and phylogentic studies. *Plant molecular biology reporter* 16: 69-86.

DELLAPORTA, S., WOOD, L. J. & J. B. HICKS. 1983. A plant DNA minipreparation Version II. *Planta molecular Biology Reporter* (14): 19-21.

DOYLE, J. J. and J. L. DOYLE. 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull.* 19:11-15.

GILBERTSON, R.L., MR.ROJAS, D.R. RUSSELL, & D.P. MAXWEELL. 1991. Use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability of bean golden mosaic geminivirus in the Dominican Republic. *Journal of General Virology*, (72): 2843-2848.

GUILLEMAUT, P. L. and D. MARECHAL. 1992. Isolation of plant DNA: a fast, inexpensive and reliable method. *Plant Mol. Biol. Rep.* 10:60-65.

HOISINGTON D. 1992. Laboratory protocols. CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory. Mexico, D.F. CIMMYT.

HONEYCUTT, H. J., B. W. SOBRAL, P. KIEM and J. E. IRVINE. 1992. A rapid DNA extraction-method for sugarcane and relatives. *Plant Mol Biol Rep.* 10(1):66-72.

LONDOÑO, X. 1990. Aspectos sobre la distribución y la ecología de los bambúes de Colombia (Poaceae: Bambusoideae). *Caldasia* 16 (77): 139-153

MARULANDA, M.L., P. MÁRQUEZ, & X. LONDOÑO. 2002. AFLP analysis of *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae) in Colombia with emphasis on the Coffee Region. *The Journal of the American Bamboo Society* 16(1): 32-42.

POSTOSÍ, C. T., F. A. VALLEJO Y J. D. PALACIO-MEJÍA (2006). Estimación mediante RAPD's de la diversidad genética en guadua en el departamento del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica* 55(2): 43-47.

SUNNUCKS, P. □ D.P., HALES. 1996. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera: aphididae). *Molecular Biology and Evolution*. 13: 510-524

6.7 CARACTERIZACION MOLECULAR DE LAS ACCESIONES DE *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae) DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE BAMBUSOIDEAE DEL JARDÍN BOTÁNICO JUAN MARÍA CESPEDES DE TULÚA - VALLE DEL CAUCA

6.7.1 Creación del banco de ADN de *Guadua angustifolia*

Introducción

El conocimiento de la ecología y biodiversidad de los guaduales es un prerrequisito para la protección, el manejo sostenible y conservación efectiva de estas fuentes. Para llevar a cabo lo anterior en los guaduales, es necesario estimar algunos parámetros tales como niveles de diversidad genética entre poblaciones, patrones de reproducción, relaciones de parentesco, magnitud del flujo genético entre poblaciones. Estos son inferidos a partir de los marcadores Microsatélites. Este marcador es altamente polimórfico, reproducible y por ser codominante permite la estimación de las heterocigosidades sin requerir asumir Hardy-Weinberg.

La variabilidad genética de una especie, potencia la capacidad de respuesta a cambios no direccionales o a excesivas presiones antropogénicas. Con el estudio de esta variabilidad genética, es posible detectar posibles centros de alta diversidad en el género *Guadua* y así, emprender planes urgentes que promuevan la recuperación y el mantenimiento de la estructura y la diversidad de los bosques de guadua.

Los estudios moleculares encaminados a determinar los sectores de mayor importancia para la conservación y la dispersión de las poblaciones existentes son fundamentales, teniendo en cuenta que esta especie es de reproducción apomítica, con un porcentaje mayor de reproducción asexual, tiende a reducir la variabilidad genética local y a provocar un descenso en la fertilidad de su semilla producida por reproducción sexual. Por otro lado, se incrementa la diferenciación genética entre localidades promoviéndose el incremento en la diversidad, y como consecuencia, provocando, posiblemente, diferencias fenotípicas de importancia comercial.

Como estrategia para su conservación se implementó en 1987 el Banco de Germoplasma de Bambusoideae en el Jardín Botánico Juan María Céspedes (Tuluá – Valle) de propiedad del INCIVA, siendo la única colección viva de guadua en Colombia. Este cuenta con una colección de 45 accesiones de *G. angustifolia* provenientes de 16 departamentos de Colombia (Londoño 1990, Marulanda et al. 2002), conservando así una gran variabilidad de la especie.

En el presente informe se presentan los avances en la creación del banco de ADN de *G. angustifolia* con el fin de aportar herramientas y conocimientos que contribuirán a la creación e implementación de estrategias de conservación para la especie. Y los avances en la estandarización de la caracterización molecular para la especie, determinando así la variabilidad a nivel molecular mediante el empleo de marcadores microsatélites.

6.7.2 Colecta de muestras

Se colectaron hojas jóvenes y en buen estado (evitando la presencia de patógenos, hongos y líquenes) tomando la precaución de que fueran del mismo individuo, de 60 accesiones del Banco de Germoplasma de Bambusoideae del Jardín Botánico Juan María Céspedes, Tuluá- Valle del Cauca. El tejido foliar fue depositado en bolsas de papel que se almacenaron inmediatamente en tarros plásticos con sílica gel con indicador de cobalto.

El Banco de Germoplasma de Bambusoideae está localizado en el corregimiento de Mateguadua, Municipio de Tuluá (Valle del Cauca), aproximadamente a 800 metros de distancia de la sede administrativa del Jardín Botánico Juan María Céspedes de propiedad del Instituto para la Investigación y Preservación del Patrimonio Cultural y Natural del Valle del Cauca (INCIVA). Tiene una extensión aproximada de 2 500 m², presenta condiciones climáticas propias de bosque seco tropical con una ubicación altitudinal entre 950 a 1 100 metros (Londoño 1990).

6.7.3. Procesamiento de las Muestras

Con las muestras en el laboratorio se procedió a macerar finamente el tejido vegetal empleando nitrógeno líquido, con el fin de fraccionar fácilmente las células y conservar la molécula de ADN al evitar que enzimas como las ADNasas lo degraden. El macerado se conserva a -80°C hasta el momento de la extracción del ADN.

6.7.4. Extracción del ADN

El ADN se extrajo siguiendo el protocolo de micro extracción de ADN Dellaporta (1983) modificado para arroz y posteriormente modificado para *G. angustifolia* (Potosí, *et al.*). Para la evaluación del ADN se utilizaron geles de agarosa al 0.8 % y fluorescencia de luz ultravioleta, obteniéndose ADN de buena calidad en todas las muestras, al verificar la presencia de una banda única con ausencia deBarrido (Figura 1). Lo que significa que no esta degradado el ADN.

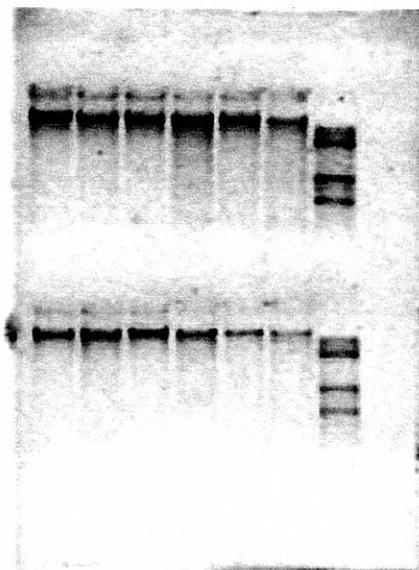


Figura 1. Evaluación del ADN en gel de agarosa al 0.8%

La concentración del ADN se estimo directamente en los geles de agarosa al 0.8% teniendo en cuenta que en teoría en este gel con 2ul de ADN, las bandas se visualizan a partir de una concentración de 20ng/ul. En promedio se obtuvo una concentración de 50ng/ul en todas las muestras. Adicionalmente se cuantificó la concentración de ADN por espectrofotometría.

6.7.5. Evaluación de microsatélites

Previa a la evaluación de los microsatélites, se corroboró que el ADN extraído mediante este protocolo amplifica a partir de cebadores específicos mediante una reacción en cadena de la polimerasa a partir de los cebadores universales NS7 y NS8, los cuales amplifican una región de 377pb.

Adicionalmente se realizaron pruebas de estandarización de las condiciones apropiadas para la amplificación de 13 primers microsatélites en cuatro muestras representativas de la variabilidad de la especie (375, 345, 391, 416). Se partió de una reacción de PCR de 25 ul de volumen final con los siguientes componentes:

Reactivo	Concentración	Volumen por individuo (ul)
Buffer	1X	2.5
MgCl ₂	2mM	2.0
dNTPs	0.1mM	0.5
Primers*	0.072 mM	0.18
TAQ	3-4U	0.2
ADN	20ng/ul	5
H ₂ O	----	14.44
Total		25

Para la amplificación se empleo el siguiente programa: 94°C 1minuto; 35 veces (94°C 30segundos; 54°C 45 segundos; 72°C 45 segundos); 72°C 10minutos, 4°C 5 minutos.

Para evaluar el producto de PCR se utilizó agarosa al 1.0% y fluorescencia de luz ultravioleta, verificándose su calidad por la presencia de una banda única.

De los 13 microsatélites analizados mediante este protocolo, solo dos amplificaron, el Bam 2-11 y el Bam 2-13. Sin embargo el Bam 2-13 no tuvo muy buena señal y amplifico en las tres muestras de *G.angustifolia*, pero no, en aquella que se considera como *Guadua sp* (Figura 2 y 3). Por su parte, el Bam 2-11 tuvo una muy buena señal y amplifico en las cuatro muestras evaluadas.

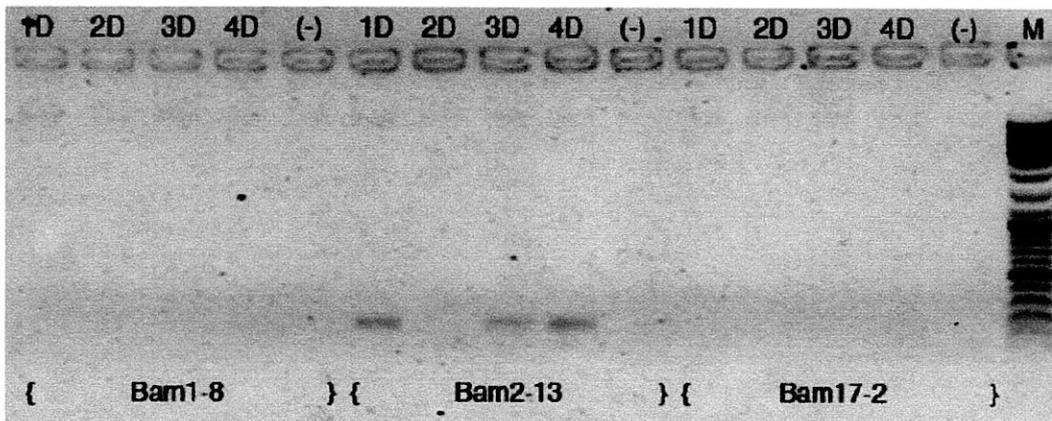


Figura 2. Evaluación del microsatélite Bam 2-13 en un gel de agarosa 1.0 %

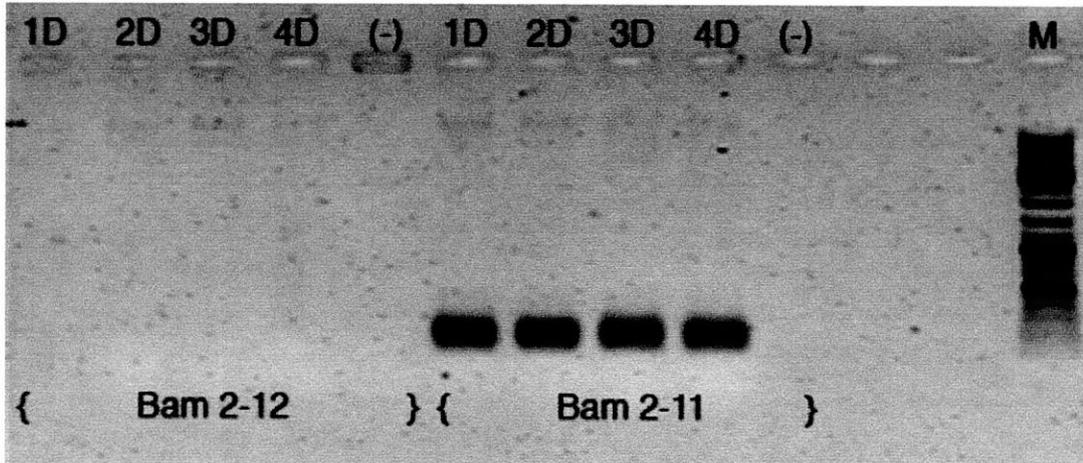


Figura 3. Evaluación del microsatélite Bam 2-11 en un gel de agarosa 1.0 %

6.7.6. Conclusión

Con los resultados de la amplificación se comprueba que el método de extracción a parte de producir buena cantidad de ADN este es de buena calidad ya que no interfiere para la amplificación.

6.8 PROTOCOLO ESTANDARIZADO DE EXTRACCIÓN DE ADN

6.8.1 Protocolo utilizado

El ADN se extrajo siguiendo el protocolo desarrollado en los laboratorios Humboldt CIAT. Para la evaluación del ADN se utilizaron geles de agarosa al 0.8 % y fluorescencia de luz ultravioleta, obteniéndose ADN de buena calidad en todas las muestras, al verificar la presencia de una banda única con ausencia de barrido (Figura 1)

Protocolo de extracción de ADN

1. Pulverizar con nitrógeno líquido tejido foliar joven recién cortado.
2. En un tubo eppendorf de 1,5 ml colocar material vegetal pulverizado hasta la marca de 500 µl y resuspender con 750 µl de buffer CTAB (2X), (2% de CTAB, 100 mM de tris base pH 8,0, 10 mM de EDTA y 0,7 M de NaCl agregar agua hasta 500 ml y autoclavar). Adicionar 30 µl de 2-β mercaptoetanol. Agitar suavemente e incubar por 30 minutos a 65 °C.
3. Agregar 300 µl de acetato de potasio (3 M, pH 4,8), mezclar suavemente e incubar en hielo por 15 min. Centrifugar 10 min a 14 000 rpm y transferir el sobrenadante a otro tubo.
4. Adicionar 500 µl de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), mezclar suavemente por inversión del tubo y centrifugar 10 min a 14 000 rpm.
5. Cuidadosamente pipetear la fase superior en tubo con 500 µl de Isopropanol frío para precipitar el ADN. Incubar en hielo durante 60 min.
6. Centrifugar en 5 min a 14 000 rpm y descartar el sobrenadante.

7. Lavar el pellet de ADN dos veces con 500 μ l de Etanol al 70% frío. Descartar el Etanol y permitir que el ADN se seque al aire libre por 30 min.

8. Resuspender el ADN en 30 a 50 μ l de buffer TE (10 mM de Tris-HCl, 1mM de EDTA pH 8,4) o agua estéril y almacenar a -20 $^{\circ}$ C.

6.8.2 Cuantificación de ADN

La calidad del ADN fue determinada a través de la relación de absorbancia A260/A280. La concentración de ADN se evaluó en geles de agarosa al 1% por comparación con marcadores estándar de ADN de λ no digerido, visualizados con Bromuro de Etidio bajo luz UV.

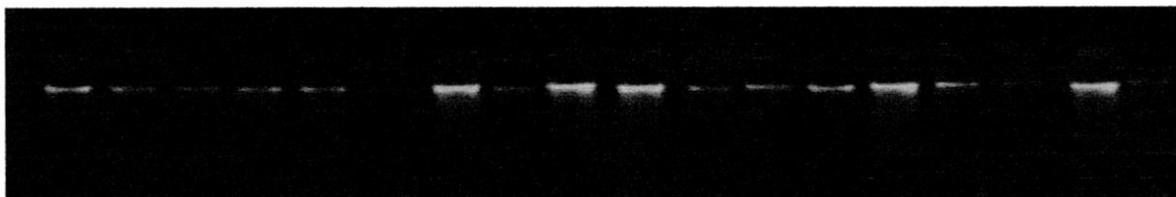


Figura 1. Evaluación del ADN en gel de agarosa al 0.8%

1. TABLA DE CUANTIFICACION DEL ADN

Muestra	Concentración de ADN(ng/ul)	Muestra	Concentración de ADN(ng/ul)
1	45,2	31	62,9
2	70,2	32	17,9
3	40,5	33	98,3
4	30,3	34	65,7
5	58,5	35	89
6	60,4	36	30
7	7,2	37	45,9
8	5	38	67,4
9	41,4	39	78,1
10	8,4	40	60,4
11	24		
12	21,8		
13	76,8		
14	45,7		
15	34,6		
16	38,9		
17	89		
18	23,6		
19	56,6		
20	34,6		
21	67,8		
22	86,4		
23	67,4		
24	27,4		
25	45,3		
26	56,7		
27	72,5		
28	81,3		
29	39,6		
30	44,5		

6.8.3 Conclusión

El método de extracción de ADN desarrollado en HUMBOLDT – CIAT, es eficaz en otras condiciones de laboratorio, lo cual permite concluir que es un método óptimo, utilizable para la extracción de ADN de cualquier especie de *Guadua* o biotipo.

6.8.4 Referencias Bibliográficas

CASTAÑO, F & R. D. MORENO. 2004. *Guadua para todos, cultivo y aprovechamiento*. Bogotá, Panamericana Formas e Impresos S.A. 187p.

CRUZ, I. A. 1994. *La Guadua: Nuestro Bambú*. Armenia, Fudegraf. 293p

LONDOÑO, X. 1990. Aspectos sobre la distribución y la ecología de los bambúes de Colombia (Poaceae: Bambusoideae). *Caldasia* 16 (77): 139-153

MARULANDA, M.L., P. MÁRQUEZ, & X. LONDOÑO. 2002. AFLP analysis of *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae) in Colombia with emphasis on the Coffee Region. *The Journal of the American Bamboo Society* 16(1): 32-42.

Postosí, C. T., F. A. Vallejo y J. D. Palacio-Mejía (2006). Estimación mediante RAPD's de la diversidad genética en *guadua* en el departamento del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica* 55(2): 43-47.

6.9. ESTANDARIZACION DE LAS CONDICIONES DE PCR

6.9.1 Introducción

La *Guadua* ha sido de vital importancia en aspectos históricos, económicos y culturales en Colombia y en la naturaleza actúa como reguladora de la calidad y cantidad de aguas (Castaño & Moreno 2004; Cruz 1994). Como estrategia para su conservación se implementó en 1987 el Banco de Germoplasma de Bambusoideae en el Jardín Botánico Juan María Céspedes (Tuluá – Valle) de propiedad del INCIVA, siendo la única colección viva de *G. angustifolia* en Colombia. Este cuenta con una colección de 45 accesiones de *G. angustifolia* provenientes de 16 departamentos de Colombia (Londoño 1990., Marulanda et al. 2002), conservando así una gran variabilidad de la especie. En el presente estudio se pretende identificar las condiciones óptimas para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de sectores específicos del genoma de *guadua angustifolia* (marcadores microsatélites) de esta manera en futuros análisis se pueda caracterizar y corroborar esta variabilidad a nivel molecular mediante el empleo de estos marcadores microsatélites con el fin de aportar herramientas y conocimientos que contribuirán a la creación e implementación de estrategias de conservación de la *Guadua*.

En el presente informe se reporta el uso del ADN extraído en técnicas de biología molecular basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) así como la estandarización de las condiciones de PCR de los marcadores microsatélites que serán empleados en la caracterización molecular de las accesiones de *G. angustifolia* del Banco de Germoplasma de Bambusoideae.

Con los avances de la biología molecular se descubrieron metodologías que permiten revelar polimorfismos en la secuencia de ADN nuclear y de organelas que pueden ser empleados como marcadores altamente informativos de la estructura y dinámica de los genomas a nivel de las poblaciones y los individuos (Bachmann 1994). Antes de la existencia de estos marcadores moleculares los estudios genéticos se llevaban a cabo en organismos que

podían cruzarse fácilmente bajo las condiciones controladas de laboratorio, como la bacteria *Escherichia coli*, el maíz *Zea mays*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y el ratón *Mus musculus*. Tanto los patrones de transmisión a través de las generaciones como las bases genéticas de caracteres taxonómicos y fisiológicos fueron deducidos en estas especies, sin embargo, mediante este tipo de análisis no se logra abarcar la complejidad y diversidad de los elementos genéticos dentro de un genoma ni es posible de llevarlos a cabo en cualquier tipo de especie. Por el contrario, los estudios genéticos mediante marcadores moleculares proveen evidencia estructural directa y sustancial de muchos genes y sus productos génicos y pueden ser empleados en cualquier organismo de la tierra (Avice 1994).

Los marcadores moleculares permiten identificar similitudes o diferencias entre individuos a nivel de la secuencia del ADN, por lo que son herramientas muy útiles en la ecología, en la evolución y en la taxonomía, así como en la conservación (Parker et al. 1998). Con estos se pueden describir y observar las poblaciones naturales con la menor interferencia posible, identificar individuos y su genotipo en donde los caracteres morfológicos no fueron de ayuda, detectar cuellos de botella y otros eventos demográficos en la historia de las poblaciones, estimar su diversidad genética y su tamaño efectivo, detectar procesos determinísticos como la selección, conocer el sexo de los individuos, sistemas de apareamiento así como relaciones de parentesco, estructura de las poblaciones, tasas de dispersión, (Frankhan et al. 2002, Bachmann 1994, Parker et al. 1998), rastrear el origen filogenético y la existencia de diferencias ecológicas entre razas o especies, caracterizar variedades, germoplasmas, genes de resistencia así como hacer un mapeo genético y el aislamiento de genes responsables de respuestas adaptativas especiales (Barrera 1996, Chasan 1991, Bachmann 1994).

Cabe anotar que el desarrollo de los marcadores moleculares fue posible gracias a la implementación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ya que uno de los prerrequisitos para muchas de estas técnicas es la disponibilidad de grandes cantidades de un segmento específico de DNA. Estos se obtenían a menudo después de un trabajo intensivo y tedioso de clonación y reclonación (Klug & Cummings 1999; Avice 1994). En 1986 K. Mullis desarrollo una técnica denominada reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Innis & Gelfand 1990), la cual permite la amplificación directa de segmentos de DNA específicos sin clonación, y puede utilizarse en fragmentos de DNA que estén presentes, inicialmente, en cantidades muy pequeñas. La PCR se basa en la replicación de un segmento de DNA utilizando DNA polimerasa y cebadores, oligonucleótidos (secuencias cortas de nucleótidos) que hibridan con la cadena complementaria a la secuencia a replicar (Hillis et al. 1996). Hay tres pasos fundamentales en la reacción de PCR, y la cantidad de ADN amplificado producido está limitado, en teoría, por el número de veces que se repiten estos pasos (Mathieu- Daude et al. 1996). Primero, el DNA que se quiere amplificar se desnaturaliza o separa en cadenas sencillas, este no necesita estar purificado o clonado puede provenir de DNA genómico, muestras forenses, sangre seca o semen, pelos, restos momificados, fósiles, etc. Segundo los cebadores hibridan al DNA de cadena sencilla, estos son oligonucleótidos previamente fabricados que se unen a las secuencias flanqueantes del segmento que se desea amplificar. Generalmente se utilizan dos cebadores diferentes; cada uno de ellos tiene la secuencia complementaria a una de las dos cadenas del DNA.

Estos se alinean con sus extremos 3' encarados ya que hibridan a cadena opuestas. En tercer lugar se presenta la extensión de los cebadores por una DNA polimerasa, la cual tiene la cualidad de ser resistente al calor. La más empleada es la Taq polimerasa, enzima que es aislada de la bacteria termoresistente *Thermus aquaticus* (Klug & Cummings 1999; Rychlik et al. 1990)). Cada grupo de tres pasos (desnaturalización el producto de doble cadena, hibridación de los cebadores y extensión por la polimerasa) se denomina ciclo. Empezando con una molécula de DNA, el primer ciclo produce dos moléculas de DNA, dos ciclos producen cuatro, tres ciclos producen ocho, etc.

El proceso es automático y se utiliza una maquina denominada termocycler que puede programarse para realizar un numero predeterminado de ciclos, produciendo grandes cantidades de segmentos de DNA amplificado en unas pocas horas (Hillis et al. 1996, Klug & Cummings 1999).

Tanto la desnaturalización de la doble cadena de ADN como la hibridación de los cebadores y la extensión de los mismos se llevan a cabo a temperaturas específicas, debido a ello y a que la PCR en si es una reacción enzimática, se requiere ajustar las condiciones bajo las cuales es posible obtener una buena concentración y calidad del

segmento de ADN que se desea amplificar. Esto implica estandarizar la concentración de ADN a utilizar, de los cebadores, de la Taq polimerasa, del buffer que mantiene el pH de la reacción y del MgCl₂ que es necesario para el funcionamiento de la enzima, así como establecer las temperaturas óptimas de denaturación del ADN, de hibridación de los cebadores y de funcionamiento de la polimerasa, especialmente la temperatura de alineamiento de los cebadores, ya que de esta depende la especificidad con que se amplifica la región de interés (Wu et al. 1991; Innis & Gelfand 1990; Mathieu- Daude et al. 1996).

Debido a ello, cada vez que se empieza con un nuevo juego de cebadores se requiere cierto tiempo de análisis y experimentación en donde se logre obtener el protocolo y las condiciones a seguir en la PCR para obtener el segmento de ADN que se desea estudiar a una concentración y calidad adecuada y sin contaminación de otras regiones.

En *Guadua angustifolia*, Marulanda et al. (2002) y Potosi et al (2006) emplearon los marcadores AFLP (polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados) y RAPD (DNA polimórfico amplificado aleatoriamente), respectivamente, con el fin de estimar la diversidad genética de la especie y caracterizar genéticamente los biotipos reportados a nivel morfológico, siendo las únicas investigaciones llevadas a cabo en *Guadua* mediante marcadores moleculares. Marulanda et al. (2002) reportaron una diversidad genética no significativa para la *Guadua* en el eje cafetero y no lograron caracterizar molecularmente los biotipos, mientras que Potosi et al.(2006) encontraron una alta diversidad genética en la cuenca Cauca, y a su vez, logró caracterizar y diferenciar genéticamente los biotipos.

Aunque los estudios de Marulanda et al. (2002) y Potosí et al. (2006) son bastante informativos, los marcadores empleados en los mismos (AFLPs y RAPDs, respectivamente) solo permiten responder algunas de las preguntas sobre las poblaciones de *G. angustifolia*. A su vez, estos, al ser dominantes, no estiman directamente (sin asumir equilibrio Hardy – Weimberg) las frecuencias génicas, la variabilidad y no permiten hacer una buena asignación de parentales (Frankhan et al. 2002). Adicionalmente, a la hora de identificar o genotipificar cada uno de los individuos de forma específica los AFLPs requerirían de un gran número de polimorfismos (Parker et al.1998).

A diferencia de los AFLPs y los RAPID, los microsatélites, secuencias de no más de seis bases de largo repetidas en tándem (Goldstein & Schlotterer 1999),son altamente polimórficos y de herencia codominante (Parker et al.1998, Chambers & MacAvoy 2000), por lo que son muy utilizados en la identificación y seguimiento de individuos, en estudios de asignación de parentales (Castro et al. 2006) y análisis de pedigrí, en estudios de dispersión de plantas (Ouborg et al. 1999), sistemas de reproducción (Young & Hammock 2007), flujo génico y migración, introgresión, en filogeografía, en la detección de cuellos de botella, en la estimación del tamaño efectivo, diversidad genética y la estructura de las poblaciones (Wilson & Provan 2003) y en la caracterización de variedades o cultivares facilitando su identificación y selección (Frankhan et al. 2002, Chambers & MacAvoy 2000, Barrera 1996).

6.9.2. Colecta de muestras

Se colectaron hojas jóvenes y en buen estado (evitando la presencia de patógenos, hongos y líquenes) de 60 accesiones del Banco de Germoplasma de Bambusoideae del Jardín Botánico Juan María Céspedes, Tuluá- Valle del Cauca. El tejido foliar fue depositado en bolsas de papel que se almacenaron inmediatamente en tarros plásticos con sílica gel con indicador de cobalto.

El Banco de Germoplasma de Bambusoideae está localizado en el corregimiento de Mateguadua, Municipio de Tuluá (Valle del Cauca), aproximadamente a 800 metros de distancia de la sede administrativa del Jardín Botánico Juan María Céspedes de propiedad del Instituto para la Investigación y Preservación del Patrimonio Cultural y Natural del Valle del Cauca (INCIVA). Tiene una extensión aproximada de 2 500 m², presenta condiciones climáticas propias de bosque seco tropical con una ubicación altitudinal entre 950 a 1 100 metros (Londofío 1990).

6.9.3. Procesamiento de las muestras.

Con las muestras en el laboratorio se procedió a macerar finamente el tejido vegetal empleando nitrógeno líquido, con el fin de fraccionar fácilmente las células y conservar la molécula de ADN al evitar que enzimas como las ADNasas lo degraden. El macerado se conserva a -80°C hasta el momento de la extracción del ADN.

6.9.4. Extracción del ADN

El ADN se extrajo siguiendo el protocolo de micro extracción de ADN Dellaporta (1983) planteado por Potosi et al. (2006) con modificaciones para *G. angustifolia* realizadas en el desarrollo de este proyecto. Para la evaluación del ADN se utilizaron geles de agarosa al 0.8 % y fluorescencia de luz ultravioleta, obteniéndose ADN de buena calidad en todas las muestras, al verificar la presencia de una banda única con ausencia de barrido (Figura 1)

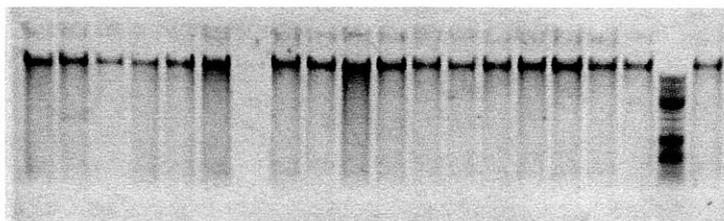


Figura 1. Evaluación del ADN en gel de agarosa al 0.8%

6.9.5. Cuantificación del ADN

La concentración del ADN se estimó directamente en los geles de agarosa al 0.8% teniendo en cuenta que en teoría en este gel con 2ul de ADN, las bandas se visualizan a partir de una concentración de 20ng/ul. A su vez se realizó una comparación respecto a un ADN estándar de concentración conocida. En promedio se obtuvo una concentración de 80ng/ul en todas las muestras.

6.9.6 Evaluación de la amplificación del ADN

Generalmente el ADN extraído con muy buena calidad y concentración puede contener restos de reactivos empleados en la extracción, como el etanol, así como polisacáridos y proteínas que inhiban su desempeño en reacciones claves en análisis de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (Csaikl et al. 1998).

Debido a ello, se evaluó la pureza y capacidad de amplificación del ADN extraído mediante el protocolo de Potosi et al. (2006) con modificaciones para *G.angustifolia* realizando ensayos de PCR con los cebadores universales NS7 y NS8, los cuales amplifican una región de 377 pares de bases aproximadamente. Para evaluar el producto de PCR se utilizó agarosa al 1.0% y fluorescencia de luz ultravioleta, verificándose su calidad por la presencia de una banda única. En el gel se observó una banda con un tamaño entre 300 y 400 pares de bases indicando la efectiva amplificación de los cebadores con el ADN extraído.

6.9.7 Estandarización de las condiciones de PCR para los marcadores microsatelites

Debido a que los microsatélites que se emplearon para la caracterización molecular de las accesiones de *G. angustifolia* del Banco de Germoplasma de Bambusoideae no han sido estandarizados, se procedió a hacer una evaluación de las condiciones apropiadas para la amplificación empleando 10 accesiones representativas de la variabilidad de la especie. Las condiciones iniciales bajo las cuales amplificaron los microsatélites en AT GENETICS fueron: 1X Ultra Therm buffer, 0.2 uM de cada dNTP, 0,5 uM de cada primer, 1,5mM MgCl₂, 0.05 U Ultratherm DNA polimerasa, 0.0125 U Vent DNA polimerasa para un total de reacción de 12.5 ul. La denaturación inicial del ADN se llevo a cabo a 95°C por 3 minutos, la amplificación de los fragmentos se realizo en 35 ciclos como el siguiente: 95°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos. Al final de los 35 ciclos se llevo la temperatura a 72°C por 5 minutos.

A pesar de contar con estas condiciones de amplificación fue necesario ajustarlas al contexto bajo el que se trabaja en el laboratorio de biología molecular del Instituto de Investigación en Recursos Naturales Alexander Von Humboldt, en donde se está realizando el trabajo de investigación, ya que tanto los componentes y concentraciones de los reactivos como los termocicladores (maquina automatizada que realiza la PCR) cambian de un laboratorio a otro, ocasionando modificaciones en la calidad de las amplificaciones.

Debido a ello se llevó a cabo la estandarización de 15 marcadores microsatelites con 10 accesiones representativas de la variabilidad de *G. angustifolia* siguiendo los lineamientos de (Innis & Gelfand, 1990, Wu et al. 1991, Rychlik et al. 1990) y partiendo de las siguientes condiciones: buffer () 1X, 2mM de MgCl₂, 0.1 mM de dNTPs, 0.072mM de primers (por efectos practicos se combinaron el forward y el reverse), 3 U de TAQ y 20ng/ul de ADN para un volumen final de reaccion de 25 ul. El programa del que se partió fue: 94°C 1minuto; 35 veces (94°C 30segundos; 54°C 45 segundos; 72°C 45 segundos); 72°C 10minutos, 4°C 5 minutos. Para evaluar el producto de PCR se utilizó agarosa al 1.0% y fluorescencia de luz ultravioleta, verificándose su calidad por la presencia de una banda única. Se realizaron geles al 1.5 % de 60ml. Se sirvió 8ul de producto+ 2ul de bluejuice; 4.2 ul de Mix. Los individuos empleados en la estandarización fueron los siguientes:

Código de Extracción	Código de Accesoión	Especie	Región de origen
1	375	<i>G.angustifolia</i>	Cauca
2	345	<i>G. angustifolia</i>	Santander
3	391	<i>G. angustifolia</i>	Nariño
8	1003	<i>G. amplexifolia</i>	Meta
17	282	<i>G. paniculata</i>	Córdoba
25	291	<i>G.angustifolia</i>	Meta
26		<i>Bambusa bambos</i>	
31	1029	<i>G.angustifolia</i>	Antioquia
38	1027	<i>G. angustifolia</i>	San Juan de Rio Seco
55		<i>Bambusa vulgaris</i>	

La PCR se realizó en un volumen total de 25 ul por muestra conteniendo 10X de buffer, 25mM de MgCl₂, 5mM de dNTPs, 10mM de primers(forward y reverse combinados), 3 U de Taq polimerasa y 4ng/ul de ADN. La denaturación inicial se llevo a cabo a 94°C por 1 minuto, luego se dejo a esta misma temperatura por 30 segundos, la hibridación de los primers se efectuó a 54°C por 45 segundos, la extensión se realizó a 72°C por 10 minutos. Este proceso se repitio 35 veces desde la segunda denaturación. La extensión final se efectuó a 72°C por 10 minutos y finalmente se dejo a 4°C por 5 minutos.

De los microsatélites analizados mediante este protocolo, solo dos amplificaron sin bandas inespecíficas: el Bam 2-11 y el Bam 2-13. Sin embargo el Bam 2-13 no tuvo muy buena señal y amplifico en las tres muestras de *G. angustifolia*, pero no, en aquella que se considera como *Guadua sp* (Figura 1 y 2). Por su parte, el Bam 2-11 tuvo una muy buena señal y amplifico en cuatro de las muestras evaluadas.

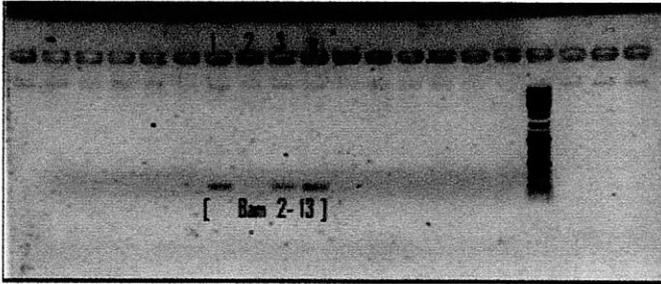


Figura 1. Evaluación del microsatélite Bam 2-13 en un gel de agarosa 1.0 %

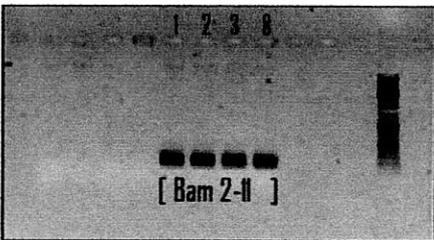


Figura 2. Evaluación del microsatélite Bam 2-11 en un gel de agarosa 1.0 %

Los microsatélites Bam 1- 15, Bam 9-2 y Bam 1- 1 (Figura 3) amplificaron claramente en una sola muestra, sin embargo, en esta se observan dos bandas con el Bam 1-15 y el Bam 9-2, indicando una posible contaminación del ADN. El Bam 9- 2 amplificó con buena calidad para la muestra 31, siendo el único sistema de los estudiados que amplificó en dos muestras. En el Bam 1-15 amplificaron muchas bandas inespecíficas en la mayoría de las muestras, por lo que sería recomendable incrementar la temperatura de alineamiento en este sistema (Innis & Gelfand, 1990).

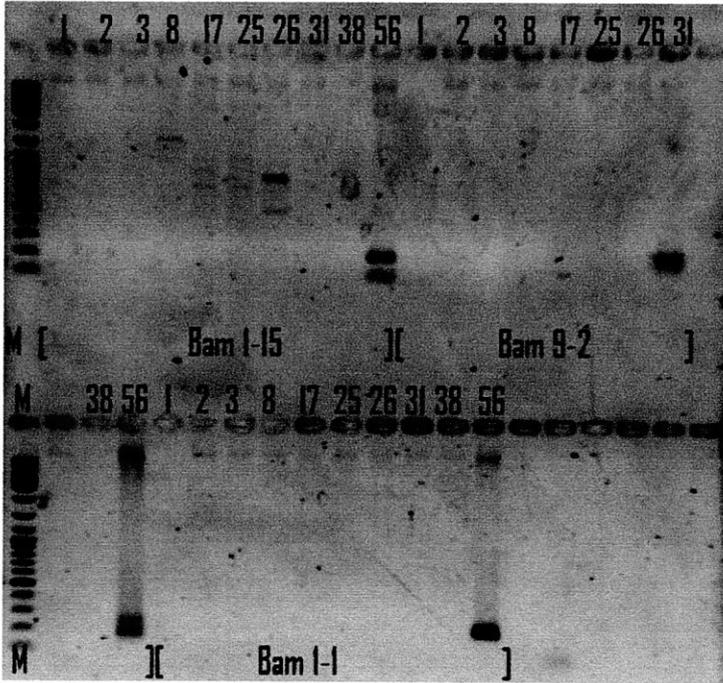


Figura 3. Evaluación de los microsatélites Bam 1-1, Bam 1-15 y Bam 9-2 en un gel de agarosa 1.0 %

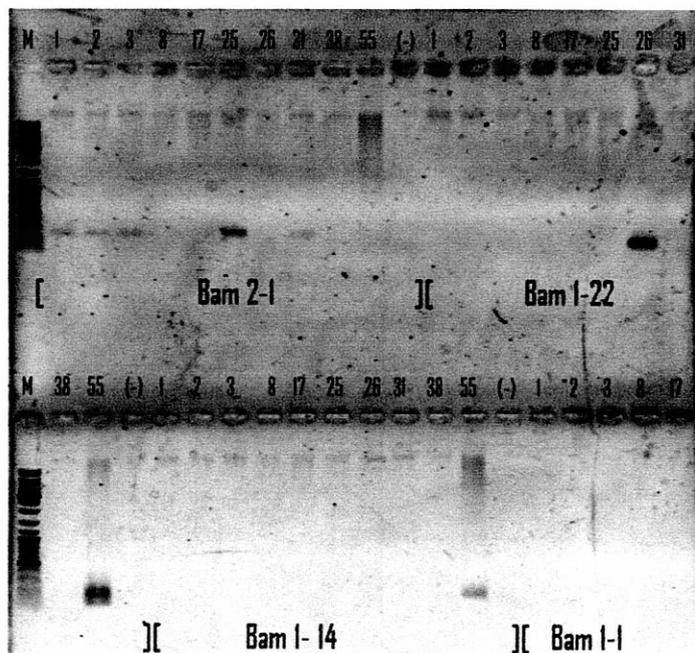


Figura 4. Visualización del producto de PCR de los microsatélites Bam 2-1, Bam 1-22, Bam 1-14 y Bam 1-11 en gel de agarosa al 1.5%.

El juego de primers **Bam 2-1** que debe amplificar en las muestras de *G. angustifolia*, amplifico en todas menos en la 38. A pesar de que la amplificación presenta baja señal, es posible que se obtenga un buen patrón de bandas en los geles de acrilamida. El fragmento amplificado por este sistema oscila entre 200 y 300 pares de bases.

El juego **Bam 1-22** amplifico con buena señal en las especies de *Bambusa*, en ninguna otra muestra amplifico. Tal vez en acrilamida salgan bastantes bandas inespecíficas. Su tamaño oscila entre 100 y 200 pares de bases.

El juego **Bam 1-14** amplifico únicamente en *B. vulgaris*. El Bam 1-1 no amplifico en ningún individuo del genero *Guadua* y tampoco de *Bambusa* (Figura 4)

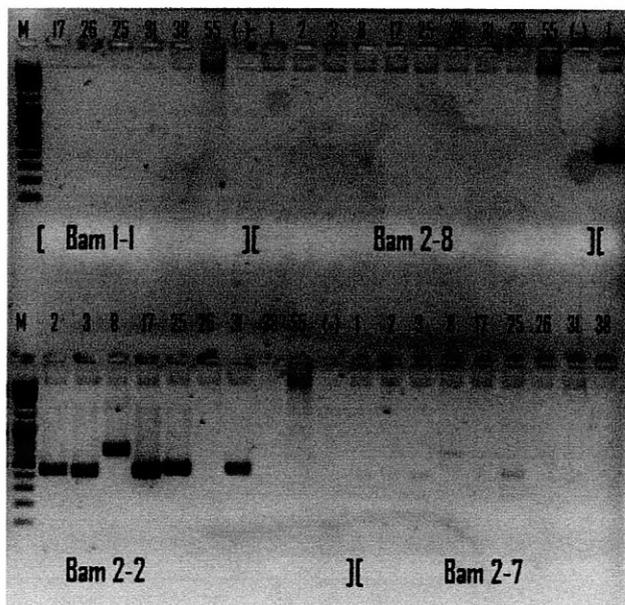


Figura 5. Visualización del producto de PCR de los microsatélites Bam 1-1, Bam 2-8, Bam 2-2 y Bam 2-7 en gel de agarosa al 1.5%.

Para el juego de primers **Bam 2-8** que debería amplificar para las muestras de *G.angustifolia* no se reporto ninguna banda, tal vez sea necesario reducir la temperatura de hibridación o modificar el protocolo para este sistema

Los primers **Bam 2-2** amplificaron exitosamente en todas las muestras del genero Guadua menos en la 38, reportando un tamaño del producto entre 400 y 500 pares de base en todas las muestras menos en la 8, correspondiente a *G. amplexifolia*. Este sistema parece ser muy informativo para el género.

El **Bam 2-7** amplificó tenuamente las muestras 8, 25 y 3, sería conveniente verificar el producto en geles de acrilamida (Figura 5).

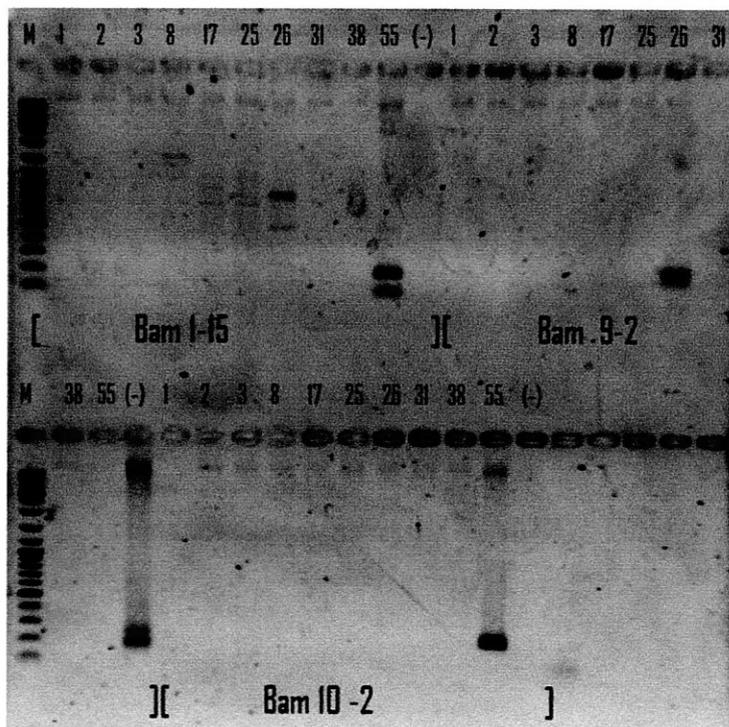


Figura 6. Visualización del producto de PCR de los microsatélites Bam 1-15, Bam 9-2 y Bam 10-2 en gel de agarosa al 1.5%.

El **Bam 1-15** amplificó en las dos especies de *Bambusa*, sin embargo, las bandas en la muestra 26 tal vez no sean del micro como tal sino bandas inespecíficas, ya que respecto a la banda amplificada en la muestra 55 hay una diferencia de aproximadamente 500 pares de bases, la cual es muy grande para un microsatélite. A su vez, la doble banda observada en la muestra 55 puede ser inespecífica. Se piensan confirmar estos resultados en geles de acrilamida. (Figura 6)

El **Bam 9-2** también amplificó únicamente en las dos muestras de *Bambusa*, presentando mayor señal en la muestra de *B. bambos*.

El **Bam 10-2** solo amplificó en la muestra 55, es decir, en *B. vulgaris*. (Figura 6)

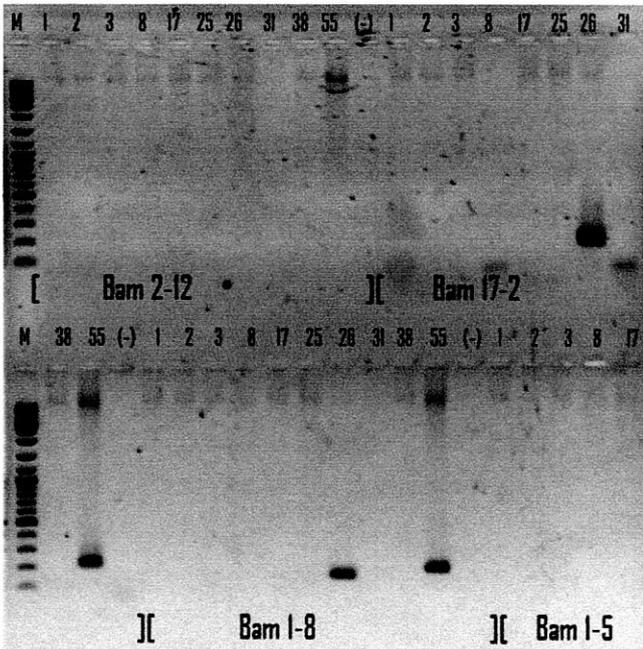


Figura 7. Visualización del producto de PCR de los microsatélites Bam 2-12, Bam 17-2, Bam 1-8, Bam 1-5 en gel de agarosa al 1.5%.

Los juegos de primers **Bam 17-2** y **Bam 1-8** amplificaron las muestras correspondientes a *Bambusa*. Sus tamaños oscilaron entre 200 – 300 pb y 100- 200pb respectivamente.

Bam 2-12 no amplificaron en ninguna de las muestras, se debe modificar el protocolo de para estos sistemas.

Bam 1-5 solo amplificó en la muestra 55, es decir, en *B.vulgaris* (Figura 7 y 9)

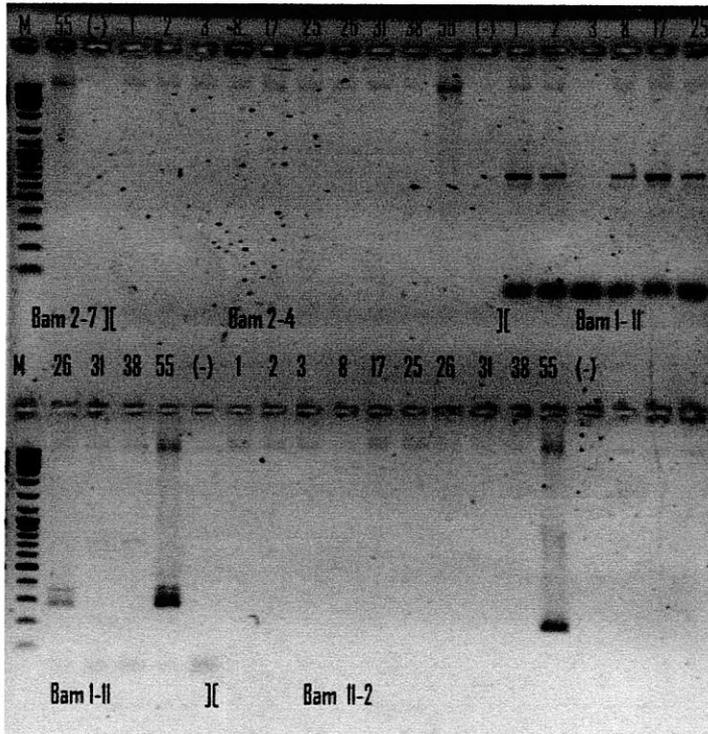


Figura 8. Visualización del producto de PCR de los microsatélites Bam 2-7, Bam 2-4, Bam 1-11, Bam 11-2 en gel de agarosa al 1.5%.

El **Bam 2-4** no amplificó en ninguna muestra, se deben replantear las condiciones de amplificación.

El **Bam 1- 11** amplificó en la mayoría de muestras menos en la 3, 31 y la 38 correspondientes a *G. angustifolia*, sin embargo este sistema parece ser bastante informativo para la familia, pues amplifica tanto en Bambusa como en Guadua. Las bandas que se distinguen debajo del marcador de peso son por la formación de dímeros de primer durante la reacción. A su vez, cabe anotar que la región que amplifica este sistema es de 600 a 700 pares de bases aproximadamente para Guadua y de 300 pb para Bambusa.

El **Bam 11-2** solo amplificó en *B. vulgaris* (Figura 8)

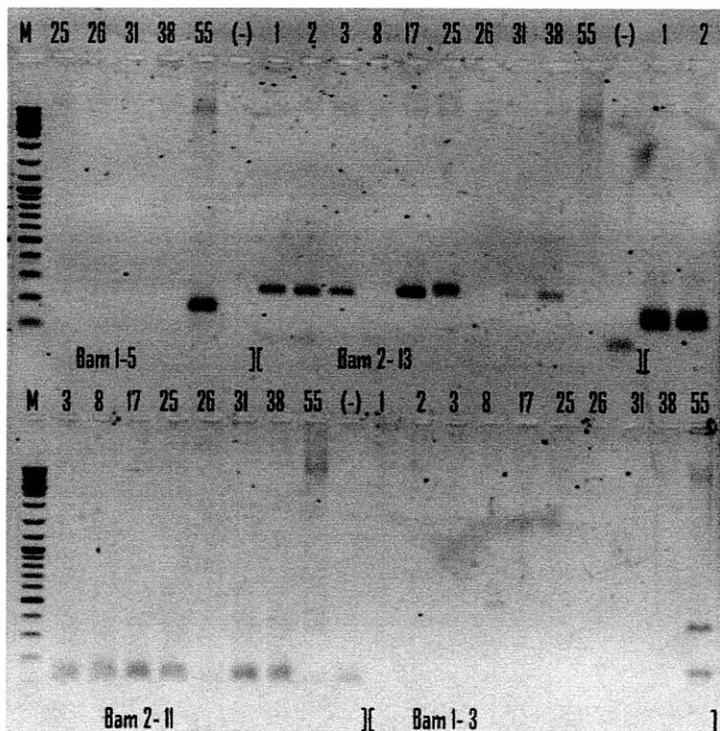


Figura 9. Visualización del producto de PCR de los microsatélites Bam 1-5, Bam 2-13, Bam 2-11, Bam 1-3 en gel de agarosa al 1.5%.

El **Bam 2-13** amplificó en todas las muestras de *G.angustifolia*, aunque en la 31 y la 38 la señal es muy baja. A su vez, se obtuvo producto para la muestra 17 correspondiente a *G. paniculata* pero no para *G. amplexifolia*. El producto está entre 200 y 300 pares de bases. (Figura 9)

El **Bam 2- 11** amplificó en todas las muestras del género Guadua.

El **Bam 1- 3** solo amplificó en *B. vulgaris*.

Tabla 2. Lista de microsatélites que amplificaron en esta estandarización.

Microsatélites	<i>G. angustifolia</i>	<i>G. amplexifolia</i>	<i>G. paniculata</i>	<i>B.bambos</i>	<i>B. vulgaris</i>
Bam 2-1(O)	X				
Bam 1-22 (P)				X	X
Bam 1-14 (Q)					X
Bam 1-15 (M)				X	X
Bam 9-2 (N)				X	X
Bam 10-2 (R)					X
Bam 2-2 (U)	X	X	X		
Bam 17- 2 (H)				X	X
Bam 1-8 (I)				X	X
Bam 1-5 (K)					X
Bam 2-13	X		X		
Bam 2-11	X	X	X		
Bam 1-3					X
Bam 1-11	X	X	X	X	X
Bam 11- 2					X

6.9.8 Conclusiones y Recomendaciones

Al parecer existen dos grupos de cebadores microsatélites, uno que amplifica muy bien para *G. angustifolia* y otro grupo que amplifica para *B. bambos* y *B. vulgaris* (Bam 1- *, y Bam 2- *)

Bam 2-2 Es específico para el género *Guadua*.

Solo cinco cebadores microsatélites amplificaron para *G. angustifolia* (2-1, 2-2, 2-11, 2-13 y 1-11)

Bam 1-11 es un cebador que amplifica tanto para el género *Guadua* como para *Bambusa*.

Bam 2-4 y 2-12 no amplificaron en ninguna muestra

Se considera necesario ajustar el protocolo de PCR incrementando la temperatura de alineamiento y la concentración de MgCl₂ en aquellos sistemas que amplificaron, de tal forma que se pueda aumentar la señal y calidad del producto de PCR. En los sistemas en que no se observó resultado alguno es conveniente replantear gran parte del protocolo partiendo por variar la temperatura de alineamiento principalmente (Rychlik et al. 1990). Se sugiere por la naturaleza de cada sistema microsatélite optimizar independientemente las condiciones de PCR.

Es necesario estandarizar el protocolo de PCR independientemente, para los cebadores bam 1- * y 2-*, ya que presentan comportamientos diferentes en la amplificación y en los individuos analizados. Adicionalmente, se sugiere continuar con este estudio, ya que hubo muestras que no amplificaron para ningún sistema microsatélite (Bam 2-4 y 2-12)

6.9.9 Referencias Bibliográficas

- AVISE, J.C. 1994. Molecular markers, natural history & evolution. New York, Chapman & Hall. 511p.
- BACHMANN, K. 1994. Tansley Review No. 63: molecular markers in plant ecology. *New Phytologist*, 126 (3): 403-418.
- BARRERA, E. 1996. Obtención de frecuencias microsatélites en frijol (Genero *Phaseolus*). Tesis de pregrado. Cali- Colombia, Universidad del Valle, Facultad de Ciencias. 103p
- CASTAÑO, F & R. D. MORENO. 2004. Guadua para todos, cultivo y aprovechamiento. Bogotá, Panamericana Formas e Impresos S.A. 187p.
- CHASAN, R. 1991. Molecular biology and ecology: a marriage of more than convenience. *The Plant Cell*, 3 (11):1143-1145.
- CHAMBERS, G. K. & E.S. MACAVOY. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology* 126: 455-476.
- CRUZ, I. A. 1994. La Guadua: Nuestro Bambú. Armenia, Fudegraf. 293p
- CSAIKL, U.M., H.BASTIAN, R. BRETTSCHEIDER, S. GAUCH, A. MEIR, M.SCHAUERTE, F. SCHOLZ, C. SPERISEN, B. VORNAM & B. ZIEGENHAGEN. 1998. Comparison Analysis of different DNA extraction protocols: a fast, universal maxi- preparation of high quality plant DNA for genetic evaluation and phylogenetic studies. *Plant molecular biology reporter* 16: 69-86.
- DELLAPORTA, S., WOOD, L. J. & J. B. HICKS. 1983. A plant DNA minipreparation Version II. *Planta molecular Biology Reporter* (14): 19-21.
- HILLIS, D.M. , C. MORITZ & B. K.MABLE.1996. *Molecular systematic* 2ed. Sinauer, Canada. 655p
- INNIS, M.A & D.H. GELFAND. 1990. *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press.
- FRANKHAN, R., J.D. BALLOU & D.A. BRISCOE. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. United Kingdom, Cambridge University Press. 617p.
- GOLDSTEIN, D.B & C. SCHLÖTTERER. 1999. *Microsatellites: evolution and applications*. Oxford University Press, New York. 350p
- KLUG, W. S. & M. R. CUMMINGS. 1999. *Conceptos de genética* 5ed. Prentice Hall Iberia, Madrid. 840p
- LONDOÑO, X. 1990. Aspectos sobre la distribución y la ecología de los bambúes de Colombia (Poaceae: Bambusoideae). *Caldasia* 16 (77): 139-153
- MARULANDA, M.L., P. MÁRQUEZ, & X. LONDOÑO. 2002. AFLP analysis of *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae) in Colombia with emphasis on the Coffee Region. *The Journal of the American Bamboo Society* 16(1): 32-42.

Mathieu- Daude, F., J.Welsh, T. Vogt & M. McClelland. 1996. DNA rehybridization during PCR: the C_{ot} effect and its consequences. *Nucleic Acids Research*, 24 (11): 2080-2086.

OUBORG, N.J., Y. PIQUOT & J. M. VAN GROENENDAEL. 1999. Population Genetics, Molecular Markers and the Study of Dispersal in Plants. *The Journal of Ecology*, 87(4): 551-568.

PARKER, P.G., A.A. SNOW, M.D. SCHUG, G.C. BOOTON & P.A. FUERST. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*, 79 (2): 361-382.

POSTOSÍ, C. T., F. A. VALLEJO & J. D. PALACIO-MEJÍA. 2006. Estimación mediante RAPD's de la diversidad genética en guadua en el departamento del Cauca, Colombia. *Acta Agronómica* 55(2): 43-47.

RYCHLIK, W., W. J. SPENCER & R. E. RHOADS. 1990. Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. *Nucleic Acids Research* 8 (21): 6409- 6412.

WILSON, P.J & J.PROVAN. 2003. Effect of Habitat Fragmentation on Levels and Patterns of Genetic Diversity in Natural Populations of the Peat Moss *Polytrichum commune*. *Proceedings: Biological Sciences*, 270 (1517): 881-886

WU, D. Y., L. UGOZZOLI, B.K. PAL, J. QIAN & R. B. WALLACE. 1991. The effect of temperature and oligonucleotide primer length on the specificity and efficiency of amplification by the polymerase chain reaction. *DNA and Cell biology*, 10 (3): 233-238.

YOUNG, L.J. & E.A.D. HAMMOCK. 2007. On switches and knobs, microsatellites and monogamy. *Trends in Genetics*, 23(5): 209-212.

6.10 CAPACITACIÓN

Está orientada a los habitantes del corregimiento de La Marina en el municipio de Tuluá, lugar equidistante de las dos colecciones que se vienen trabajando y con una gran riqueza en guadua.

Se terminó la capacitación en artesanías con una intensidad de 50 horas y la participación de 23 alumnos. Esta capacitación fue orientada por el Instructor Humberto Mejía del Sena – Buga. El listado de alumnos participantes se relaciona en el anexo E.

El siguiente es el contenido del curso:

- Cosecha y poscosecha de guadua
- Elaboración de ensambles, uniones, cortes y perforaciones, pines de unión, tabla de guadua.
- Proceso de secado al aire y al fuego
- Sellado o cristalizado
- Inmunización de guadua y bambú
- Lijado y acabado final
- Servilletero, antorcha (portavelas a lámparas), pebetero, perchero sencillo, perchero ensamblado, pesebre, frutero, lapiceros, marcos para fotos, portalápiz, lámpara.

Figura 4. Alumno en practica



Figura 5. Grupo de alumnos de artesanías



Complementario a lo anterior se realizó el curso de bisutería con una intensidad de 30 horas, contando con el mismo número de alumnos. Esta capacitación dictada por la Instructora Beatriz Eugenia Tenorio Reyes artesana tuluëña de gran experiencia, la cual fue organizada por FUNCEVALLE y Cámara de comercio de Tuluá con el apoyo de la Secretaria de Agricultura Municipal SEDAMA.

Figura 6. Curso de bisutería



Actualmente, con una intensidad de 500 horas y orientada por el Sena, se viene realizando la capacitación sobre construcciones en guadua. Cuenta con la asistencia de 25 alumnos.

Igualmente se han dictado dos talleres, por parte del INCIVA, en silvicultura de guadua.

Se hizo una gira por los municipios de Salento y Cordoba en el departamento del Quindio, con el proposito de que los alumnos pudieran ver de primera mano las bondades de esta especie y la serie de trabajo que viene realizando los artesanos de esta región del país.

Figura 7. Visita de los alumnos a Salento- Calle artesanal



6.11. ORGANIZACIÓN EMPRESARIAL

Ha sido orientada por FUNCEVALLE. dirigida hacia el fortalecimiento asociativo que comprende aspectos relacionados con la formación empresarial, economía campesina, asociatividad y cooperativismo.

Con el apoyo de Cámara de Comercio de Tuluá y FUNCEVALLE, se viene trabajando en la organización como empresa y se está en el proceso de legalización.

Apoyo a las actividades administrativas desarrolladas en el Jardín botánico Juan María Céspedes.

En el mes de diciembre se logró la constitución legal de la Asociación de Futuros Artesanos de La Marina FUTUARTE, registrándose ante Cámara de Comercio de Tuluá, seguidamente se inicio el estudio del Reglamento Interno de la Asociación, con el propósito de reglamentar los diferentes aspectos internos y administrativos del grupo asociativo.

Igualmente con la Fundación de Comerciantes de la Marina, Cámara de Comercio de Tuluá y Funcevalle se viene trabajando en el desarrollo de la primera muestra empresarial y comercial rural de La Marina en la cual participaran 26 comerciantes, artesanos, prestadores de servicios turísticos de la zona de influencia. Entre este grupo de expositores se cuenta con la participación de FutuarTE. Dicho evento se realizará del 4 al 7 de enero de 2008, en el marco de las festividades que tradicionalmente realiza este importante corregimiento.

Para este evento se espera que FUTUARTE cuente ya con el portafolio de productos que puede ofrecer.

6.12.DIVULGACIÓN DEL PROYECTO

A través del periódico de la cámara contigo de Tuluá, se han realizados dos publicaciones: la primera en el mes de marzo donde se hace una presentación del proyecto y se hace énfasis en la colección de bambusoidea del

Jardín Botánico y la segunda publicación en el mes de julio relacionada con la capacitación relacionada con artesanías y que contó con el apoyo del SENA. El contenido de cada una de estas publicaciones se detalla en los anexos C y D., respectivamente.

Paralelo a lo anterior se viene realizando algunas actividades complementarias que contribuyen a la divulgación del proyecto, dentro de estas se menciona el apoyo al PRAES de la Institución Educativa La Marina, cuya muestra fue presentada en Expociencia Tuluá 2007 con muy buena acogida.

Así mismo se ha desarrollado una propuesta de revista impresa para publicar los resultados del avance del proyecto ejecutado hasta el momento. Dicho diseño en tamaño carta cerrado, con 28 paginas interiores en papel bond, 4 a color y 24 impresas a una tinta con terminado final cocidas con grapas. Dicha revista tendrá un tiraje de 1000 ejemplares.

7.EVALUACIÓN DE RESULTADOS DEL PROYECTO

PRODUCTOS ESPERADOS	PRODUCTOS OBTENIDOS	OBSERVACIONES
Fortalecimiento de la colección del Jardín Botánico "JMC"	Se amplió la colección del JBJMC en 42 individuos de 29 ecotipos	
Montaje de una nueva colección en la Granja El Vijal	Se sembraron 24 individuos de 20 ecotipos	
Caracterización morfométrica y molecular de 40 ecotipos de guadua.	Se realizó la caracterización morfométrica de 73 individuos de 5 biotipos de <i>G. angustifolia</i> y dos de especies diferentes como outgroup (<i>G. amplexifolia</i> y <i>G. glauca</i>) y se inicio la estandarización de protocolos de extracción de ADN y de PSR para definir marcadores moleculares de <i>G. amplexifolia</i> Se creó un banco de tejidos y un banco de ADN de 66 individuos correspondientes a 29 nuevos ecotipos de guadua y de 60 individuos provenientes del JBJMC	
Ensayos de adaptabilidad de 20 ecotipos de guadua	Si bien se ha tenido una sobrevivencia del 100% del material sembrado, no se tienen registros de crecimiento por la falta de aparición de nuevos culmos.	Los resultados no logrados se debe a que era posible realizarlo en el tiempo del proyecto original a cinco años, pero continuó de esa manera en la propuesta final de solo un año
Capacitación a tres grupos de guadua (guadueros, artesanos y constructores)	Se capacitó un grupo de artesanos de la Marina, un grupo de constructores de La Marina y un grupo de guadueros de Buga.	
Una empresa organizada y funcionando alrededor de la guadua	Se creó la Asociación de Futuros Artesanos de la Marina "Futuarte" con NIT 900188960-8 inscrita en la Cámara de Comercio de Tuluá	
2 publicaciones en revistas científicas	Se están elaborando tres artículos científicos	
Una cartilla de divulgación de resultados	Se tiene en edición una cartilla divulgativa	
Un grupo nuevo de investigadores jóvenes	Se apoyó un trabajo de grado de una estudiante tesista de Univalle y se financiaron trabajos independientes de dos estudiantes una de la USC y uno de UNIVALLE	