

CONSERVACIÓN

Código de barras de ADN de *Cattleya quadricolor*, una orquídea endémica de Colombia y amenazada de extinción

DNA barcode of *Cattleya quadricolor*, an orchid endemic to Colombia and threatened with extinction

Nhora Helena Ospina-Calderón ^{1*}, Gabriela Torres Torres ², Anne Ñuscua Otero ³, Andres Navia-Samboni ⁴, Nicola S. Flanagan ^{5,6}

- Recibido: 09/09/2024
- Aceptado: 29/05/2026
- Publicado: 24/08/2026

Citación: Ospina-Calderón, N. H., Torres Torres, G., Ñuscua, A., Navia-Samboni, A., Flanagan, N. S. (2026). Código de barras de ADN de *Cattleya quadricolor*, una orquídea endémica de Colombia y amenazada de extinción. *Caldasia*, 48, 116544, <https://doi.org/10.15446/caldasia.v48.116544>

RESUMEN

Colombia es el país con mayor riqueza de orquídeas en el mundo, se registran más de 4600 especies, las cuales enfrentan graves impactos antropogénicos, entre los cuales están: transformación del hábitat, cambio climático y la continua extracción ilegal de plantas de su hábitat natural. Los códigos de barras de ADN permiten la identificación de especies a partir de datos de secuencias de ADN, con aplicación en estudios ecológicos, florísticos y forenses. Este estudio tuvo el objetivo de desarrollar el código de barras de ADN para *Cattleya quadricolor*, una especie endémica del bosque seco tropical de la cuenca alta del valle del río Cauca y categorizada en Peligro de Extinción (EN), para permitir su identificación molecular. Se registraron en la base de datos en línea, BOLD Systems, las secuencias de tres *loci* del genoma del cloroplasto e imágenes en la forma de láminas fotográficas compuestas de tres especímenes muestreados de poblaciones nativas distintas. Se analizó la diferenciación genética intra- e interespecífica, comparando esta especie con otras especies del género *Cattleya*. El Código de Barras de ADN de *Cattleya quadricolor* no muestra variación intraespecífica y proporciona una herramienta para la identificación de esta especie en estudios florísticos y ecológicos. Por los bajos niveles de variación genética interespecífica encontrados entre *Cattleya quadricolor* y otras especies congénicas nativas de Colombia, se recomienda evaluar la diversidad a través del plastoma para esclarecer las identidades genéticas interespecíficas de las especies de *Cattleya* nativas a Colombia.

Palabras claves: Andes tropicales, BOLD Systems, Bosque Seco Tropical, Identificación molecular, Orchidaceae

¹ Grupo de investigación en Ecología y Diversidad Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, Colombia. nhora.ospina@correounivalle.edu.co

² Departamento Administrativo de Gestión del Medio Ambiente, Cali, Colombia. gabriela.torres.torres@correounivalle.edu.co

³ Pontificia Universidad Javeriana, Seccional Cali, Calle 18 No. 118-250, Cali, Colombia. anneotero@javerianacali.edu.co

⁴ Departamento de Botánica y Zoología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan 45200, Jalisco, México. naviadelosandes@gmail.com

⁵ Grupo de Investigación en Biodiversidad y Bioeconomía, Villavicencio, Colombia

⁶ Orchid Specialist Group, IUCN Species Survival Commission, flanagan.ns@gmail.com

* Autor de correspondencia



ABSTRACT

Colombia has the greatest orchid richness, with more than 4 600 species. Orchids face grave threats from habitat transformation, climate change and ongoing illegal extraction of plants from their natural habitat. DNA Barcode offers a means to identify species from DNA sequences, with application in ecological, floristic and forensic studies. In this study we aimed to develop the DNA Barcode for *Cattleya quadricolor* an endemic, Endangered (EN) species, to the tropical dry forest of the upper valley of the Cauca River, to facilitate molecular identification. DNA sequence data for three loci from the chloroplast genome and images in the form of composite photographic plates for three specimens collected from different populations were registered in the BOLD Systems platform. Intra- and inter-specific levels of genetic differentiation were evaluated, with comparison to other species in the genus *Cattleya*. The DNA barcode for this species shows no genetic intraspecific variation and provides a tool for species identification in floristic and ecological studies in its threatened native ecosystem. Due to low levels of interspecific variation found between *Cattleya quadricolor* and congeneric species native to Colombia, we recommend an evaluation using plastome-wide genetic markers to elucidate interspecific genetic relationships between the species of *Cattleya* native to Colombia.

Keywords: BOLD Systems, Molecular identification, Orchidaceae, Tropical Andes, Tropical Dry Forest

INTRODUCCIÓN

La familia Orchidaceae comprende aproximadamente 28 000 especies (Plants of the World Online (POWO), 2026), distribuidas en una gran diversidad de ecosistemas a nivel global. La complejidad en las historias de vida de las orquídeas las hace sensibles a cambios ambientales directos e indirectos, a través de sus interacciones bióticas. La transformación y fragmentación del hábitat y el cambio climático son las principales amenazas para las poblaciones silvestres (Fay, 2018). Sumado a estas amenazas, la naturaleza carismática de las orquídeas, con una diversidad extraordinaria de formas de flores, las hacen muy codiciadas en el comercio de plantas ornamentales. La gran mayoría del comercio de orquídeas a nivel global se desarrolla a partir de plantas cultivadas, sin embargo, en paralelo existe un comercio ilegal de plantas silvestres extraídas de su hábitat natural (Hinsley et al., 2018).

A nivel mundial todas las especies de orquídeas están registradas en la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2024), Apéndices I y II, las orquídeas representan más de 70 % de las especies incluidas en la lista CITES (Fay, 2018). Este tratado busca asegurar que el comercio internacional de especímenes de la flora y fauna silvestre no constituya una amenaza para la supervivencia de las

especies. Sin embargo, CITES no tiene injerencia sobre el comercio a nivel nacional. Las plantas silvestres de orquídeas son extraídas de su hábitat natural y comercializadas en mercados locales para diversos fines, como alimento, productos medicinales, y uso ornamental (p.ej., Flores-Palacios y Valencia-Díaz, 2007; Cruz-García et al., 2015). Frecuentemente, esta extracción va en contra de la normativa nacional, y se encuentra asociada a prácticas no sostenibles que resultan en el declive y posible extinción de poblaciones silvestres lo que amenaza la supervivencia de estas especies (Ticktin et al., 2023).

Colombia es el país con mayor riqueza de orquídeas del mundo, con más de 4 600 especies registradas (ColPlanta, 2026), de las cuales aproximadamente el 37 % son endémicas (MADS y UNAL, 2015). A pesar de que la normativa vigente prohíbe el uso, transporte y comercialización de las orquídeas epífitas (Inderena, 1977), la gran diversidad de este grupo taxonómico se encuentra en riesgo de extinción debido principalmente a la pérdida y transformación del hábitat (Parra-Sánchez et al., 2016, 2024), al impacto del cambio climático (Reina-Rodríguez et al., 2017) y a la extracción ilegal de plantas del medio silvestre, especialmente de las especies más carismáticas, para su comercialización (p. ej., MADS, 2012; CVC, 2015; Policía Nacional de Colombia, 2016; Fig. 1). Estos factores han generado tendencias demográficas negativas en varias poblaciones

(Ospina-Calderón et al., 2023; Torres-Torres et al. 2026). A la fecha, muchas especies carecen de una evaluación de su estado de conservación y tan solo el 10 % (441 spp.) de las orquídeas del país han sido evaluadas (Ospina-Calderón et al. 2021). De éstas, el 54 % se encuentran clasificadas en alguna categoría de amenaza (En Peligro Crítico (CR), En Peligro (EN) o Vulnerable (VU)) e incluidas en la Resolución 0126 de 2024 (MADS, 2024).

El género *Cattleya* Lindl. (subfamilia Epidendroideae, subtribu Laeliinae) es un grupo de gran importancia económica en la horticultura (Chadwick y Chadwick, 2020). Actualmente cuenta con 237 especies distribuidas desde Costa Rica hasta el norte de Argentina (POWO, 2026); ocho de las cuales son nativas de Colombia. *Cattleya dowiana* Bateman & Rchb.f. se distribuye desde Costa Rica hasta el noroccidente de Colombia. *Cattleya percivaliana* (Rchb.f.) O'Brien se registra en la región de los llanos de Venezuela y Colombia, y *C. violacea* (Kunth) Lindl. tiene amplia distribución en las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco. Las demás especies, *Cattleya mendelii* Dombroin, *C. quadricolor* B.S.Williams, *C. schroederae* (Rchb.f.) Sander, *C. trianae* Linder & Rchb.f. y *C. warscewiczii* Rchb.f. son endémicas de la región andina de Colombia (MADS y UNAL, 2015; POWO, 2024).

Con excepción de *C. violacea* (subgénero *Intermediae*), las especies nativas de *Cattleya* de Colombia pertenecen al subgénero *Cattleya* sección *Cattleya* (van den Berg, 2014). Esta sección presenta especies generalmente distribuidas en los Andes tropicales y en el este de Brasil (van den Berg, 2014), y se caracterizan por ser plantas epífitas o litófitas, unifoliadas, con pseudobulbos clavados o fusiformes, el ápice de la columna con antera sin proyecciones unciformes y con 4 polinios (van den Berg, 2014). En el comercio de las orquídeas ornamentales, estas son las especies de *Cattleya* de mayor valor, consideradas como las “especies de flores grandes” (Chadwick y Chadwick, 2020). Hasta la fecha, seis especies de *Cattleya* nativas de Colombia han sido evaluadas para su estado de conservación: *Cattleya mendelii*, *C. quadricolor*, *C. schroederae* y *C. trianae* están categorizadas en peligro de extinción; otras dos especies, *C. dowiana* y *C. warscewiczii*, están categorizadas en Vulnerable (Calderón-Sáenz, 2007; Aguirre et al., 2022; MADS, 2024).

Cattleya quadricolor B.S.Williams 1862 es el nombre aceptado de la especie la cual tiene algunos sinónimos

como *Cattleya candida* (Kunth) F.Lehm., *C. caucaensis* Ballif, *C. chocoensis* Linden, *C. ruckeri* Linden y *Cymbidium candidum* Kunth (POWO, 2026). Ésta especie tiene una distribución geográfica limitada, crece en el bosque seco tropical (BST) entre los 900 y 1500 m.s.n.m., en la cuenca alta del río Cauca, en los departamentos del Valle del Cauca, Quindío y Risaralda (CVC y FUNAGUA, 2011; Torres-Torres et al., 2021). En Colombia, el BST es uno de los ecosistemas más amenazados, con menos del 10 % de la cobertura original restante a nivel nacional (Pizano y García, 2014). En la cuenca alta del valle del río Cauca esta cifra es más crítica, con sólo 4 % de la cobertura original restante, limitada a fragmentos pequeños con tamaño promedio de 6 ha (Arcila-Cardona et al., 2012). Debido a la pérdida histórica de su hábitat y la continua extracción de plantas de las poblaciones naturales remanentes (Fig. 1), *Cattleya quadricolor* se considera En Peligro (EN) (Calderón-Sáenz, 2007) y se incluye en el listado de las especies silvestres amenazadas de la diversidad biológica colombiana (MADS, 2024). Esta especie ha sido priorizada para acciones de manejo para la conservación de las poblaciones restantes en el departamento del Valle del Cauca y Quindío (CVC y FUNAGUA, 2011; Ospina-Calderón et al., 2021; Flanagan et al., 2022; Torres-Torres et al., 2026).

Cattleya quadricolor tiene distribución parapátrica en el occidente del país con *C. dowiana* y *C. warscewiczii* con distribución en los departamentos de Risaralda, Caldas, Antioquia, Chocó y Córdoba. *Cattleya mendelii*, *C. schroederae* y *C. trianae* tienen distribuciones naturales entre el valle del río Magdalena y la cordillera oriental de los Andes Colombianos (MADS y UNAL, 2015; Bernal et al., 2015).

Al nivel morfológico, *C. quadricolor* comparte mayor semejanza con *C. trianae*, la cual se distribuye entre 1000 y 1800 m.s.n.m. en la cuenca alta del río Magdalena en los departamentos de Cundinamarca, Tolima y Huila. Se ha sugerido que estas dos especies podrían ser conespecíficas (Calderón-Sáenz, 2007), ya que sus diferencias son muy discretas. Además de sus distribuciones alopátricas, *C. quadricolor* se distingue de *C. trianae* en la forma de campana de la flor, labelo parcialmente cerrado sobre la columna y un aroma más pronunciado (Chadwick y Chadwick, 2020).

Con la disminución del hábitat natural, y con ello, el tamaño de las poblaciones naturales, la extracción ilegal de plantas de *C. quadricolor* tiene cada vez mayor impacto

sobre la viabilidad de las poblaciones naturales (Torres-Torres, 2018; Torres-Torres et al., 2021; Torres-Torres et al., 2026). Aunque los decomisos de tráfico ilegal de orquídeas a nivel nacional vienen en aumento, es común que las plantas decomisadas sean mantenidas en colecciones

fuera de su hábitat natural en vez de ser reintroducidas a sus poblaciones de origen (p.ej., DAGMA, 2021). A pesar de que se ha demostrado que la restauración de orquídeas epífitas tiene buen pronóstico de sobrevivencia al ser reintroducidas en su hábitat natural (Benavides et al., 2023).

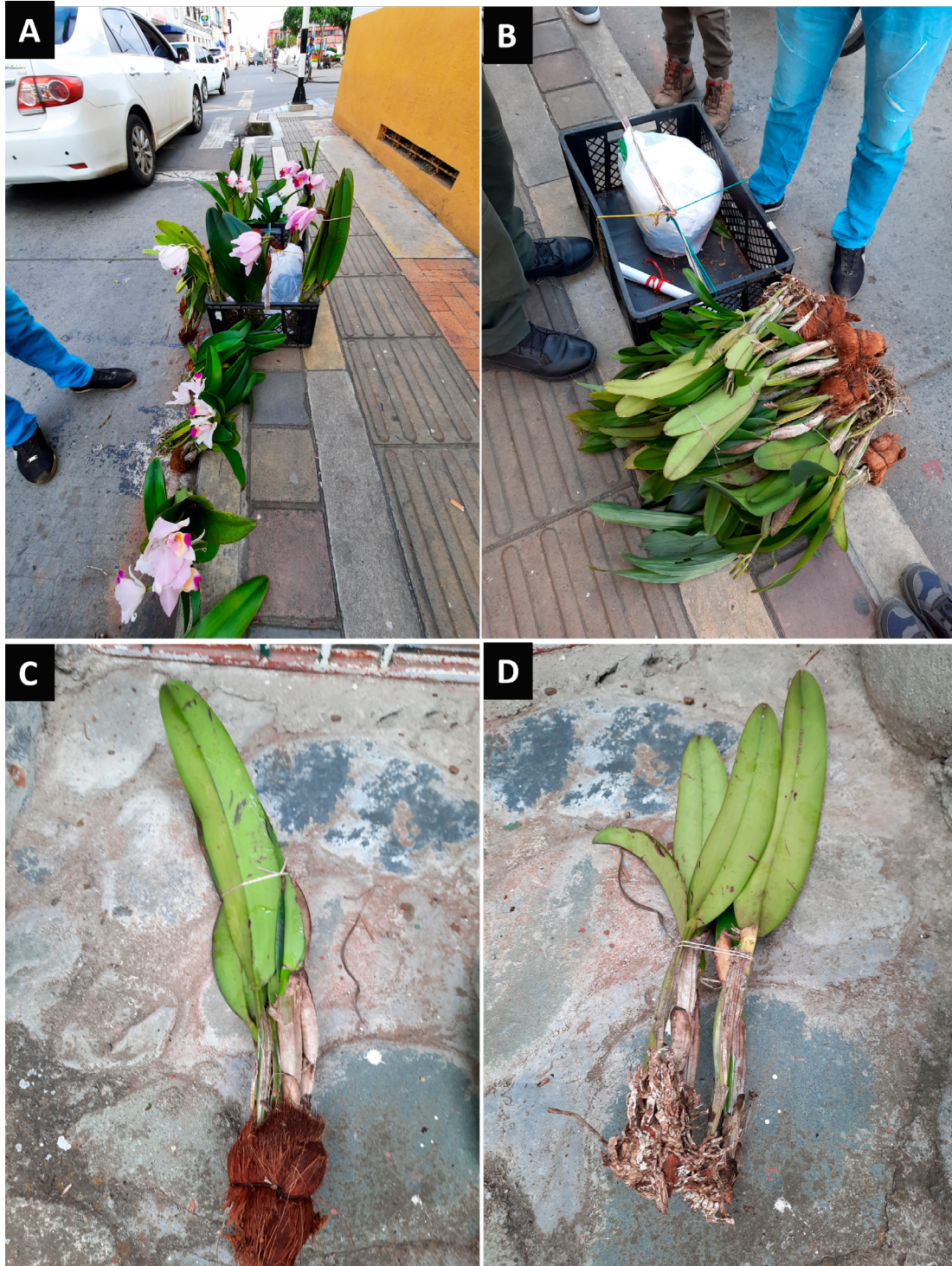


Figura 1. Comercio ilegal de orquídeas extraídas de su hábitat natural en el Valle del Cauca. **A. y B.** Muestran cuatro especies de orquídeas, principalmente *Cattleya quadricolor*, comercializadas de forma irregular. **C.** La unidad de venta, con las raíces envueltas en estopa de coco. **D.** Las raíces de la planta evidenciando claramente que ha sido desprendida recientemente de su árbol hospedero. Fotografías por: Nicola S. Flanagan.

Las autoridades ambientales podrían considerar como una prioridad la reintroducción de plantas de orquídeas decomisadas en áreas protegidas dentro de su distribución natural como acción importante para la conservación *in situ* de estas especies. Aunque las plantas del género *Cattleya* se encuentran entre las especies de flora silvestre mayormente decomisadas, su reintroducción a las regiones de origen puede ser compleja debido a que, las plantas sin flores, son muy difíciles identificar dentro de la sección *Cattleya*, a qué especie pertenece cada planta, y, por ende, no se puede identificar la región geográfica del país en que se puede hacer la reintroducción.

Los códigos de barras de ADN (DNA barcodes en inglés; denominado CB-ADN de aquí en adelante) han sido propuestos como una herramienta rápida, confiable y económica para la identificación de especies a partir de secuencias de ADN de regiones estandarizadas del genoma. Son generadas utilizando *primers* universales mediante amplificación por PCR y secuenciación Sanger (Paz et al., 2011). Sus aplicaciones potenciales incluyen la identificación específica de individuos juveniles o infértiles en estudios ecológicos o forenses, incluyendo porciones de individuos (por ejemplo, las polinias de orquídeas), y además en inventarios rápidos de la biodiversidad a partir de eADN y estudios de interacciones ecológicas (Kress et al., 2015; Fahner et al., 2016; Banerjee et al., 2022).

Para la aplicación de los CB-ADN es necesario desarrollar la base de datos de referencia para la diversidad de especies en consideración. La plataforma virtual, Barcode of Life Data Systems (BOLD Systems), proporciona la interfaz para el ensamblaje de los registros de CB (Ratnasingham y Hebert, 2007, Ratnasingham et al. 2024). Las secuencias de ADN de referencia depositadas en BOLD Systems son respaldadas por una imagen del espécimen cuya identificación taxonómica es confiable, y que se encuentra depositado en una colección biológica registrada. Hasta la fecha, esta base de datos no cuenta con código de barras para especies del género *Cattleya* de Colombia desarrollados a partir de las poblaciones naturales.

Este es un paso esencial para luego hacer consultas que permitan identificar a cuál especie pertenece un espécimen desconocido (Centre for Biodiversity Genomics, 2021). Para plantas se han recomendado dos combinaciones de dos loci del genoma del cloroplasto para el CB en plantas: 1) el locus codificante *rbcL* con el locus no-codificante del

espaciador *trnH-psbA* (Kress & Erickson, 2008), y 2) el locus *rbcL* con otro gen codificante del genoma cloroplasto, *matK* (CBOL Plant Working Group, 2009).

Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Generar las secuencias para *C. quadricolor* de los loci de CB-ADN; y 2) Evaluar la efectividad de estos loci para distinguir *C. quadricolor* de sus parientes cercanos en el género *Cattleya* y en particular la sección *Cattleya*. Con el desarrollo del registro de referencia de CB-ADN en BOLD Systems para *C. quadricolor*, se espera fomentar su futura aplicación en estudios ecológicos, además de la identificación y reintroducción de plantas decomisadas de esta especie de orquídea endémica y en peligro de extinción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectó material fértil de *Cattleya quadricolor* de tres poblaciones en remanentes del BST en los municipios de Bolívar, Caicedonia y Zarzal en el departamento del Valle del Cauca (Fig. 2). Para minimizar el impacto sobre la población se muestrearon plantas con el mayor número de pseudobulbos posible, recolectando solo uno o dos pseudobulbos que presentaran flores.

Para cada colecta se tomó una serie de fotografías de la planta y de disecciones de la flor. Se elaboraron las láminas fotográficas compuestas utilizando GIMP (2026). Los exsiccados junto con una copia de la lámina fotográfica compuesta se depositaron en el Herbario Universidad del Valle Cali (CUVC).

Para el trabajo molecular se cortó del mismo individuo registrado como exsicata, un fragmento de tejido vegetal de 1 cm² de una hoja joven. Estos fragmentos se recortaron en tiras de aprox. 2 mm de ancho y se guardaron en sobres de papel con sílica gel para el secado del tejido y así evitar la degradación del ADN.

Para la extracción de ADN se utilizaron altas concentraciones de sales con dos lavados previos con Beta-mercaptoetanol (Masoomi-Aladizgeh et al., 2023). La calidad y cuantificación del ADN genómico extraído fueron evaluados realizando una electroforesis en un gel de agarosa de 1 % utilizando el tinte EZ Vision One (Avantor, Radnor, PA) y 2 µl de Lambda DNA/HindIII marker (dilución 1/10) (Bio-tools B&M Labs. S.A.) como marcador de peso molecular.

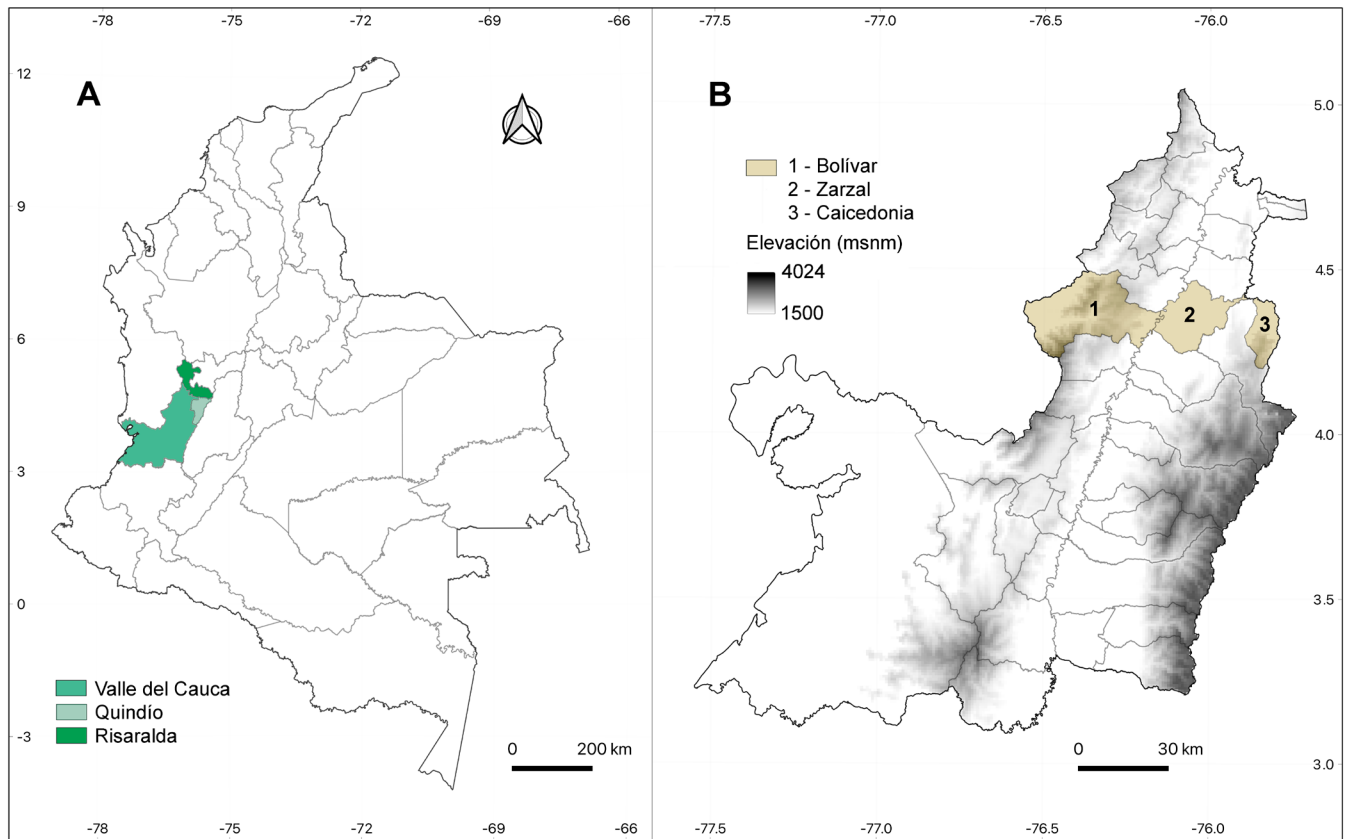


Figura 2. Mapa de distribución de *Cattleya quadricolor* en Colombia mostrando **A.** los departamentos del Valle del Cauca, Quindío y Risaralda donde se distribuye y **B.** los municipios de Bolívar, Caicedonia y Zarzal en el Valle del Cauca donde se muestrearon para el presente estudio. No se presentan las localidades exactas para proteger las poblaciones de actividades de extracción ilegal. La región sombreada en gris indica áreas con altitud mayor a 1500 m.s.n.m. Realizado en el software QGIS versión 3.32.3-Lima. Desarrollado por Andres Navia-Samboni.

A través de una evaluación amplia se seleccionaron los primers para cada locus que mejor funcionaron para orquídeas (Navia-Samboni, 2021). Además, fueron optimizadas las condiciones para la PCR para cada locus en *C. quadricolor* con respecto a la temperatura de anillamiento de los primers y a la concentración de Magnesio [Mg] (Tabla 1).

Las reacciones de PCR se desarrollaron con concentración de 1X del Buffer de PCR, 0,2 mM de dNTPs, 2 μ M de cada uno de los primers, 0,75 U del enzima *Taq* DNA Polimerase (Fermentas), con 5 μ L de la extracción de ADN y H_2O para complementar el volumen final de 50 μ L. En cada grupo de reacciones de PCR como control positivo se incluyó el ADN de la orquídea *Kefersteinia tolimensis* Schltr., debido a su buen desempeño en el proceso de amplificación, también se incluyó un control negativo. Las condiciones de la PCR comprendían un paso inicial de desnaturalización a 94°C por 5 minutos, seguidos por 35 ciclos de 30 s a

94 °C, 40 s a la temperatura de anillamiento, T_{an} , indicado en Tabla 2 y 40 s a 72 °C. Se concluyó con 5 minutos a 72 °C.

Los productos PCR fueron purificados en precipitación con isopropanol y resuspendidos en 20 μ L de agua libre de nucleasas (Navia-Samboni, 2021). Se generaron las secuencias de ADN en ambas direcciones sobre la cadena molde de ADN, utilizando los mismos primers con los que fueron amplificados los fragmentos en la PCR.

La calidad de las secuencias se revisó con el software Geneious, v.9.1.8 (Kearse et al., 2012). Para la secuencia de consenso se eliminaron los extremos, incluidas las secuencias de los primers. Las secuencias de los dos loci codificantes (*rbcL* y *matK*) fueron traducidas a secuencias proteicas en la plataforma en línea ‘Sequence Manipulation Suite’ (<http://bioinformatics.org>). para verificar la ausencia de codones de terminación y de eventos INDEL (inserción o delección), los cuales podrían indicar errores en la secuenciación o la amplificación de pseudogenes nucleares.

Tabla 1. Primers usados para amplificar cada locus y la concentración de Magnesio [Mg] y temperatura T_{an} (°C) de anillamiento empleados para amplificar el ADN de optimizados *Cattleya quadricolor*. ¹- Lledo et al. (1998); ²- Cuénoud et al. (2002); ³- Shaw et al. (2005).

Locus	Primer	Secuencia Primer (5' – 3')	[Mg] Recomendada	[Mg] Optimizada	Tan (°C) Recomendada	Tan (°C) Optimizada
<i>rbcL</i>	<i>rbcL</i> -1F ¹	ATGTCACCACAAACAGAAAC	1,5 mM	3,5 mM	46 a 52 °C	52 °C
	<i>rbcL</i> -724 ¹	TCGCATGTACCTGCAGTAGC				
<i>matK</i>	390F ²	CGATCTATTCAATCAATTTTC	3,0 mM	3,5 mM	48 °C	45 °C
	1326R ²	TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT				
<i>trnH</i> <i>-psbA</i>	psbA3_f ³	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	1,5 mM	2 mM	54 °C	54 °C
	trnHf ³	CGCGCATGGTGGATTACACAATCC				

Tabla 2. Accesiones de las especies de *Cattleya* disponibles en BOLD System (*rbcL* y *matK*) y en NCBI-GenBank (*trnH-psbA*) utilizadas para construir los alineamientos. N.D. – No disponible. Los nombres científicos han sido corregidos según POWO (2024).

Especie	Taxonomía infra-genérica (según van den Berg, 2014)	# Voucher en BOLD	# accesión en NCBI-GenBank		
			<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	<i>trnH- psbA</i>
<i>Cattleya dowiana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00716	MT519033	MT518340	
<i>Cattleya gaskelliana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00704	MT519034	MT518341	
<i>Cattleya labiata</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00702	MT519038	MT518345	
<i>Cattleya mendelii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00084	MT519040	MT518347	
<i>Cattleya mendelii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00712	MT519041	MT518348	
<i>Cattleya mossiae</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00708	MT519042	MT518349	
<i>Cattleya percivaliana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00715	MT519043	MT518350	
<i>Cattleya trianae</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00703	MT519044	MT518352	
<i>Cattleya warneri</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00705	MT519045	MT518353	
<i>Cattleya warscewiczii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00086	MT519046	MT518354	
<i>Cattleya warscewiczii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	ORDNA00707	MT519047	N.D.	
<i>Cattleya tigrina</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>	ORDNA00710	N.D.	MT518351	
<i>Cattleya amethystoglossa</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>	ORDNA00706	MT519030	MT518337	
<i>Cattleya dormaniana</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>	ORDNA00711	MT519032	MT518339	
<i>Cattleya harrisoniana</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>	ORDNA00158	MT519036	MT518343	
<i>Cattleya intermedia</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>	ORDNA00713	MT519037	MT518344	
<i>Cattleya loddigesii</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>	ORDNA00714	MT519039	MT518346	
<i>Cattleya grandis</i>	<i>Cattleya</i> series <i>Cattleyodes</i>	ORDNA00889	MT519035	MT518342	
<i>Cattleya crispata</i>	<i>Cattleya</i> series <i>Parviflorae</i>		NC026568	NC026568	NC026568
<i>Cattleya liliputana</i>	<i>Cattleya</i> series <i>Parviflorae</i>		NC032083	NC032083	NC032083
<i>Cattleya dowiana</i> ¹	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140025
<i>Cattleya quadricolor</i> ²	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140028
<i>Cattleya iricolor</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140037
<i>Cattleya jenmanii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140038
<i>Cattleya labiata</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140040
<i>Cattleya labiata</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140041
<i>Cattleya luteola</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140045
<i>Cattleya mendelii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140046

(Continúa)

Especie	Taxonomía infra-genérica (según van den Berg, 2014)	# Voucher en BOLD	# accesión en NCBI-GenBank		
			<i>rbcl</i>	<i>matK</i>	<i>trnH-psbA</i>
<i>Cattleya percivaliana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140048
<i>Cattleya rex</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140050
<i>Cattleya × schroederiana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140052
<i>Cattleya trianae</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140055
<i>Cattleya warneri</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140061
<i>Cattleya warscewiczii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>				EU140060
<i>Cattleya lawrenceana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Lawrenceanae</i>				EU140043
<i>Cattleya lueddemanniana</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Lawrenceanae</i>				EU140044
<i>Cattleya wallisii</i>	<i>Cattleya</i> sección <i>Lawrenceanae</i>				EU140059
<i>Cattleya coccinea</i>	<i>Cattleya</i> series <i>Sophranitis</i>				MN331615
<i>Cattleya nobilior</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>				EU140047
<i>Cattleya violacea</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>				EU140057
<i>Cattleya walkeriana</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>				KR908826
<i>Cattleya walkeriana</i>	<i>Cattleya</i> subgen. <i>Intermediae</i>				EU140058

Existen diferentes metodologías para lograr la identificación de la especie a la que pertenece la secuencia de CB, incluyendo métodos basados en: 1) semejanzas entre las secuencias; 2) distancias genéticas, con o sin la construcción de cladogramas; y 3) caracteres diagnósticos para cada especie en la secuencia de ADN (van Velzen et al., 2012). Para explorar la efectividad de la identificación basada en el grado de semejanza entre especies se desarrolló una consulta de la base de datos de NCBI-GenBank (NCBI, 2004), utilizando el algoritmo MegaBLAST (Morgulis et al., 2008). GenBank incluye las secuencias depositadas en BOLD Systems. BLAST compara la secuencia en cuestión con la base de datos, sin alineamientos, y da como resultado hasta 100 secuencias más similares con al menos 80 % de identidad. Se considera que las especies asociadas con la mayor identidad representan la identificación de la muestra de consulta. Sin embargo, la identificación puede ser cuestionable si la base de datos es incompleta, falta un registro de la especie correcta o si más de una especie presenta los mismos valores de identidad.

Para la identificación utilizando distancias genéticas y caracteres diagnósticos, se generaron alineamientos para cada locus con las secuencias disponibles en NCBI-GenBank para especies de *Cattleya*, representando su diversidad a través de la clasificación infra genérica (Tabla 2)

utilizando el software MEGA11 (Tamura et al., 2021). Se eliminaron los extremos incompletos de los alineamientos, consecuencia de secuencias con diferente longitud. Se calcularon las distancias genéticas intra- e interespecífica por pares para cada alineamiento utilizando el método Kimura 2-parameter (K2P) (Kimura, 1980). Se desarrolló el análisis de ‘Neighbor-joining’ (NJ) sin raíz para evaluar el agrupamiento de secuencias en un cladograma y el potencial diagnóstico de cada locus con MEGA11 (Tamura et al., 2021). Además, en los alineamientos se evaluaron los caracteres polimórficos potencialmente diagnósticos para diferentes especies.

La información de colector, localidad y depósito de los especímenes, las láminas fotográficas compuestas, y los electroforogramas de las secuencias generadas para los tres loci fueron incluidas en la plataforma BOLD Systems. Las secuencias se compartieron con GenBank desde BOLD Systems.

RESULTADOS

Las plantas recolectadas llevaban entre una y tres flores, con pseudobulbos y pedúnculos delgados, y flores péndulas, campanuladas. Se evidenciaron variaciones en la coloración del labelo entre las plantas (Figs. 3-5).

Se generaron secuencias de alta calidad para las tres muestras de *Cattleya quadricolor* para los loci *rbcL* (702 pares de bases), *matK* (897 pb), y *psbA-trnH* (871 pb) (Tabla 3). Entre los tres ejemplares de *C. quadricolor* analizados no se encontró variación intraespecífica (100 % de identidad) en ninguno de los tres loci del genoma cloroplasto.

El uso de BLAST para identificar las secuencias más similares en NCBI-GenBank demostró diferentes grados de éxito en los tres loci. Para *rbcL*, de los 100 registros más similares todos tuvieron una identidad por encima del 99 %, e incluían registros de diferentes géneros de orquídeas de la subtribu de Laeliinae, entre otros. Del género *Cattleya* sólo se encontraron los registros de dos genomas del cloroplasto (NCo26568 y NCo32083) (Tabla 2). Para *matK*, los 100 registros tuvieron una identidad mínima de 98.77 % e incluían varias accesiones del género *Cattleya*, con tres de identidad de 100 %: *C. labiata* (MT518345), *C. gaskelliana* (MT518341) y *C. mendelii* (MT518438). Para el locus *trnH-psbA*, los primeros 10 registros correspondían a especies de *Cattleya* con identidad mínima de 98,34 %. *Cattleya lueddemanniana* Rchb.f. (EU140044) mostró el mayor grado de identidad con 100 %. Un registro para *C. quadricolor* (con nombre sinónimo de *C. candida*: EU140028) tuvo un porcentaje de identidad de 99,88 %. Entre las secuencias de especies de *Cattleya* para los tres loci se evidenciaron distancias genéticas K2P interespecíficas muy bajas, menos del 1 % y con casos de se-

cuencias idénticas entre especies en todos los tres loci (Tabla 4). En el locus *rbcL* se encontraron distancias genéticas nulas (0,00) entre las secuencias de *Cattleya quadricolor* y otras 11 especies; es decir, las secuencias de ADN fueron idénticas. Considerando sólo las especies colombianas nativas de *Cattleya* subgen. *Cattleya* sección *Cattleya*, se evidenció solo una posición variable, la cual agrupó a *Cattleya dowiana*, *C. warscewiczii* y una de las dos accesiones de *C. mendelii*, y como distintos con respecto a los demás registros. *C. quadricolor* no se diferenció en este locus de *C. trianae*, ni de *C. percivaliana* (Fig. 6a).

Las secuencias de *matK* permitieron diferenciar los miembros de *Cattleya* subgen. *Cattleya* sección *Cattleya* como grupo monofilético distinto del resto del género. Sin embargo, solo *C. dowiana* entre las diez especies de la sección representadas presentó diferencias (en una posición de nucleótido) con respecto a las demás especies de la sección (Fig. 6b).

El locus *trnH-psbA* evidenció un leve aumento en polimorfismo comparado con los dos loci codificantes (Tabla 4) incluyendo la presencia de inserciones /deleciones (INDELs). Sin embargo, entre las especies de *Cattleya* subgen. *Cattleya* sección *Cattleya* nativas de Colombia, los polimorfismos sólo permitieron diferenciar *C. dowiana*, *C. mendelii* y *C. warscewiczii* de las demás especies. *C. quadricolor* no se diferenció en este locus de *C. trianae*, ni de *C. percivaliana* (Fig. 6c).

Tabla 3. Colectas de *Cattleya quadricolor* en tres poblaciones naturales de tres localidades diferentes a través de su distribución natural, y los números de acceso en NCBI-GenBank.

Field ID (No. Colecta)	Código de catálogo CUVC	Municipio del Valle del Cauca, Colombia	# Voucher en BOLD	# acceso en Genbank para secuencias de cada locus		
				<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnH-psbA</i>
NHOC1442	91374	Bolívar	COORQ001-24	PQ100152	PQ100155	PQ100158
NHOC1443	91375	Caicedonia	COORQ002-24	PQ100153	PQ100156	PQ100159
NHOC1451	91372/3	Zarzal	COORQ003-24	PQ100154	PQ100157	PQ100160

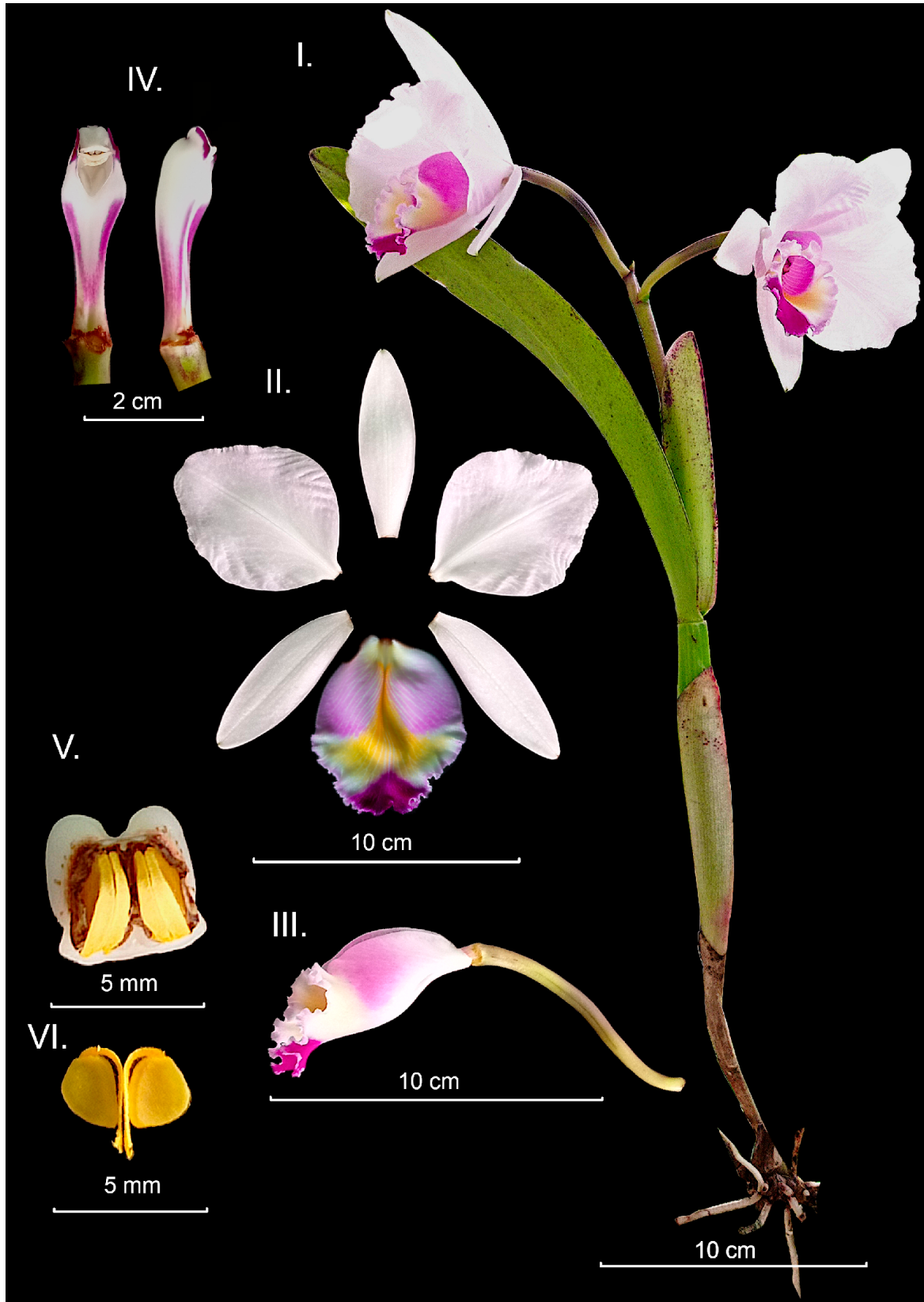


Figura 3. Lamina fotográfica compuesta de individuos silvestres de *Cattleya quadricolor* del municipio de Bolívar (NHOC1442) en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. **I.** Habito. **II.** Perianto. **III.** Labelo y ovario pedicelado, vista lateral. **IV.** Columna, vista ventral y lateral. **V.** Antera. **VI.** Polinios. Fotografía y edición por: Cristian Delgado Mazuera.

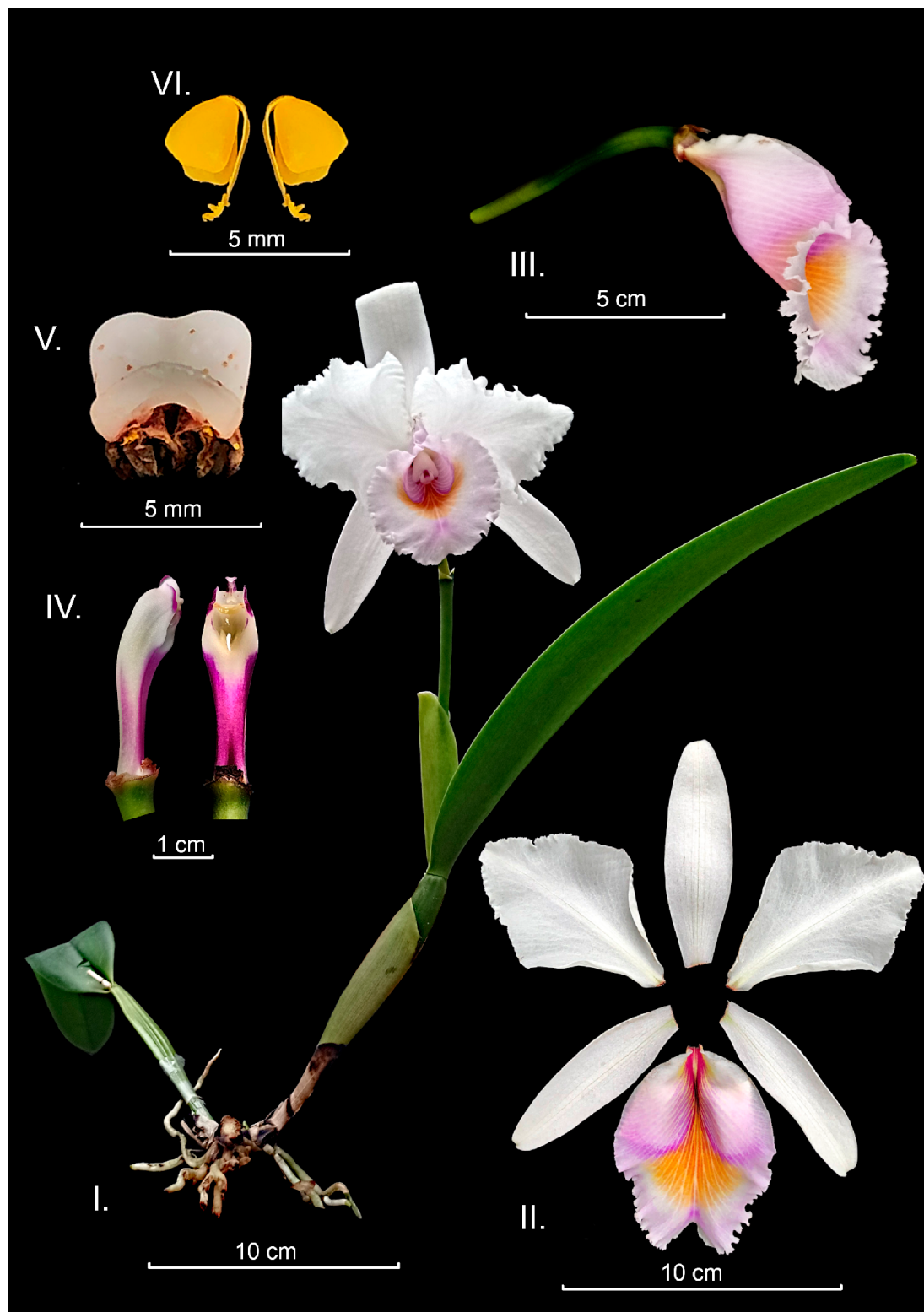


Figura 4. Lamina fotográfica compuesta de individuos silvestres de *Cattleya quadricolor* del municipio de Caicedonia (NHOC1443) en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. **I.** Habito. **II.** Perianto. **III.** Labelo y ovario pedicelado, vista lateral. **IV.** Columna, vista ventral y lateral. **V.** Antera. **VI.** Polinios. Fotografía y edición por: Cristian Delgado Mazuera.

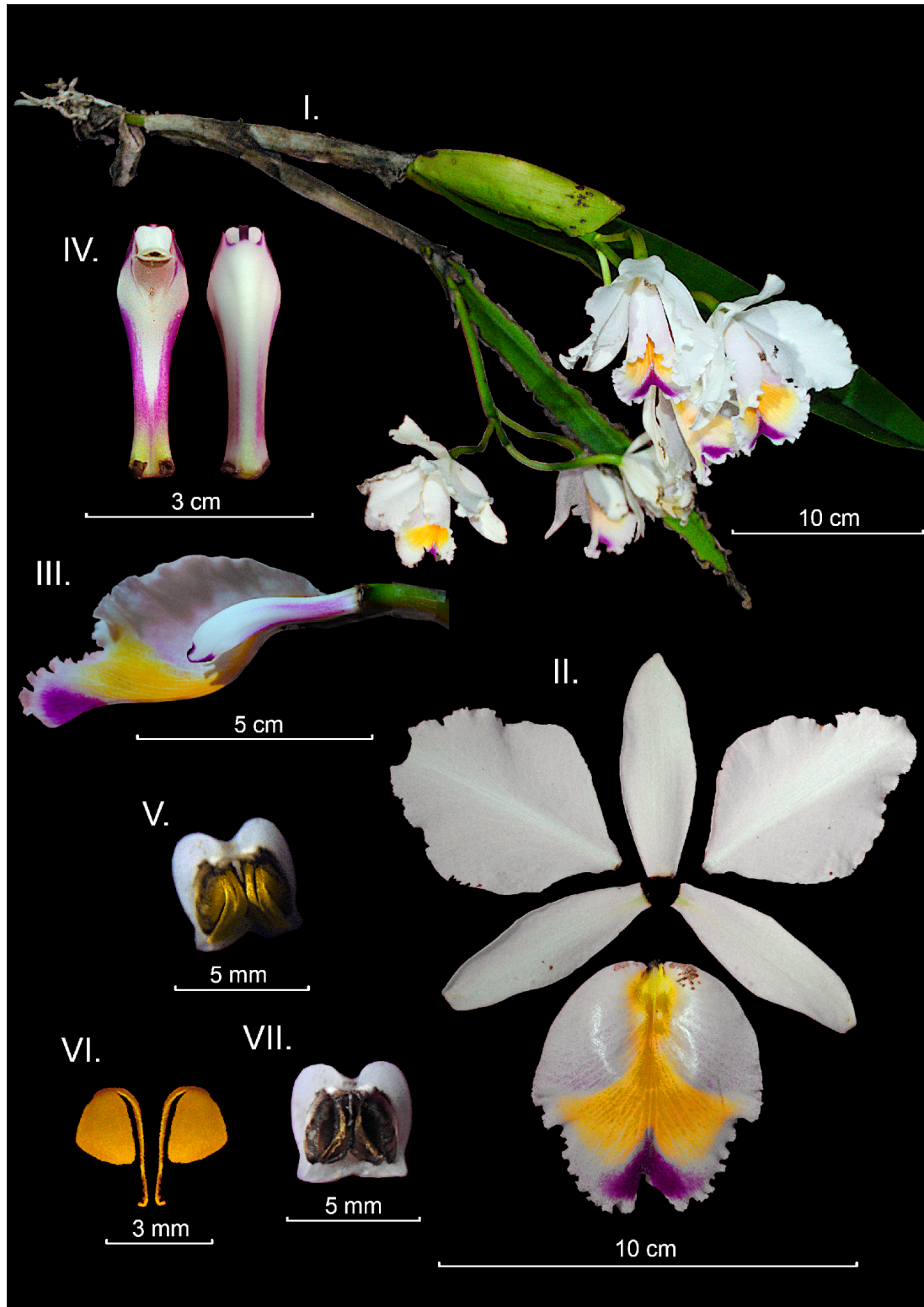


Figura 5. Lamina fotográfica compuesta de individuos silvestres de *Cattleya quadricolor* del municipio de Zarzal (NHOC1451) en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. **I.** Habito. **II.** Perianto. **III.** Labelo y ovario pedicelado, vista lateral. **IV.** Columna, vista ventral y lateral. **V y VII.** Antera. **VI.** Polinios. Fotografía y edición por: Cristian Delgado Mazuera.

Tabla 4. Características de los alineamientos de las secuencias de ADN de *Cattleya quadricolor* (este estudio) y especies del género *Cattleya* disponibles en BOLD System y NCBI-GenBank para los loci *rbcL*, *matK* y *trnH-psbA*.

	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>	<i>trnH-psbA</i>
No. secuencias	23	22	27
No. especies	18	19	22
Longitud del alineamiento (pb)	516	794	845
No. sitios variables	4	16	15 (más 7 INDELS)
No. sitios variables en <i>Cattleya</i> subgénero <i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	1	1	5 (más 4 INDELS)
No. sitios informativos con parsimonia (I.P.)	2	10	13
No. sitios I.P. en <i>Cattleya</i> subgénero <i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	1	0	3
Promedio de distancia interespecífica K2P, % (rango)	0,00 (0,00 – 0,19)	0,00 (0,00 – 0,89)	0,00 (0,00 – 0,93)
Promedio de distancia interespecífica K2P, % (rango) en <i>Cattleya</i> subgénero <i>Cattleya</i> sección <i>Cattleya</i>	0,00 (0,00 – 0,19)	0,00 (0,00 – 0,13)	0,00 (0,00 – 0,76)

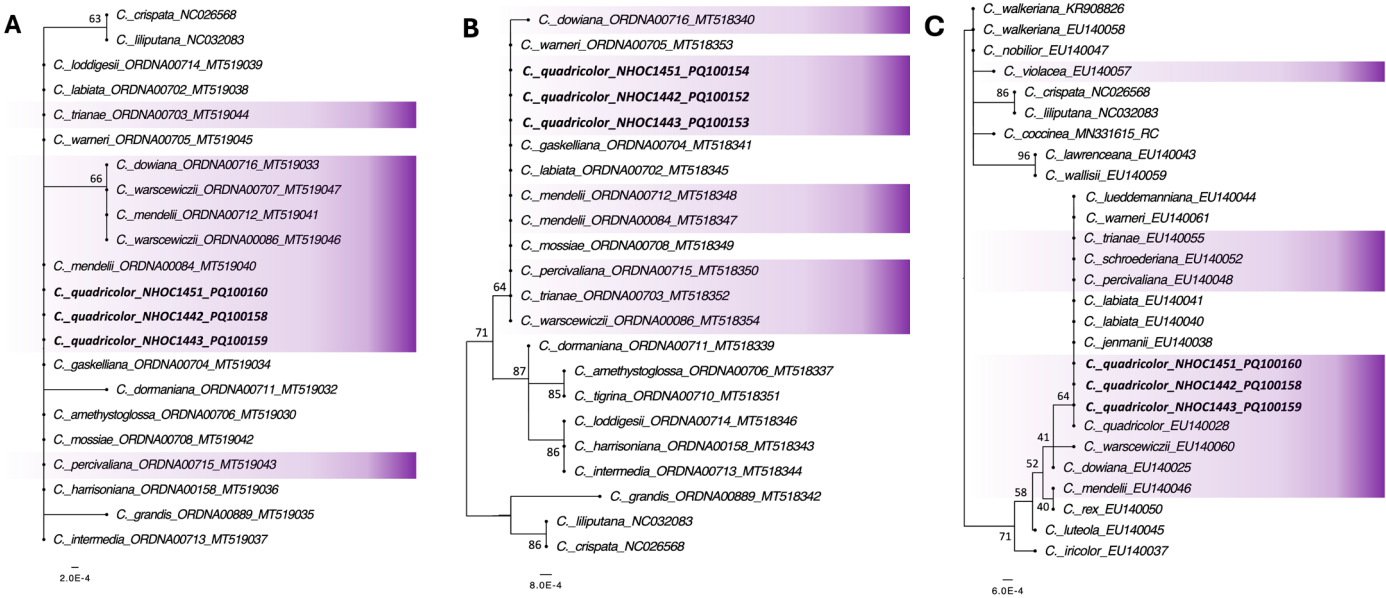


Figura 6. Árboles mostrando el agrupamiento de secuencias para los loci: **A.** *rbcL*; **B.** *matK*; **C.** *trnH-psbA*. Los números sobre las ramas indican valores de Bootstrap (1000 iteraciones). Las especies de *Cattleya* nativas de Colombia están resaltadas en violeta. Imágenes desarrolladas por Andres Navia-Samboni.

DISCUSIÓN

El CB-ADN proporciona una herramienta molecular para la identificación de forma rápida y precisa al nivel de especie (CBOL Plant Working Group, 2009), con utilidad demostrada en estudios ecológicos, inventarios florísticos (Kress et al., 2015; Fahner et al., 2016; Banerjee et al., 2022) y en aplicaciones forenses para el monitoreo y control de tráfico ilegal de especies de plantas protegidas, in-

cluyendo orquídeas (p. ej., Veldman et al., 2014; Tsaballa et al., 2023). El desarrollo de los CB-ADN para las especies de *Cattleya* en Colombia representa un apoyo a las estrategias de conservación de estas especies prioritarias.

En este estudio se desarrolló el primer CB-ADN para la especie amenazada y endémica de Colombia, *C. quadricolor*, generando las secuencias de ADN para tres loci del genoma del cloroplasto – *rbcL*, *matK* y *trnH-psbA* – para tres

individuos de diferentes poblaciones naturales a lo largo de su distribución natural. Esto complementa los registros disponibles en BOLD Systems para el género, incluyendo otras cinco especies nativas de Colombia - *C. dowiana*, *C. mendelii*, *C. percivaliana*, *C. trianae* y *C. warscewiczii*, y que permite la identificación de la especie en estudios florísticos en sus hábitats nativos.

Es importante mencionar que los CB-ADN generados hasta la fecha para las especies de *Cattleya* nativas de Colombia han sido desarrollados a partir de plantas en colecciones de conservación *ex situ* (Atlanta Botanical Gardens y Columbus State University, USA) y provenientes de viveros comerciales (Freudenstein & Chase 2001; Eserman et al. 2020). En la horticultura de orquídeas, las actividades de hibridación interespecífica son comunes con potencial impacto sobre la naturaleza genética de los individuos (Chadwick & Chadwick 2020). Es por esto por lo que, para continuar consolidando la posibilidad de identificación molecular de las especies de *Cattleya* nativas de Colombia, se recomienda el desarrollo de CB-ADN a partir de muestreos de poblaciones naturales *in situ*. Resaltando la necesidad de generar varios registros de cada especie para evaluar la diversidad genética presente dentro de las poblaciones naturales.

Los loci *rbcL*, *matK* y el espaciador *trnH-psbA* fueron propuestos como CB-ADN por su amplia aplicabilidad a través de plantas terrestres (Kress & Erickson 2008; CBOL Plant Working Group 2009). Sin embargo, su poder de identificar especies dentro de ciertos grupos taxonómicos puede ser bajo (Fazekas et al., 2008), particularmente entre especies cercanamente emparentadas (van Velzen et al., 2012).

Los bajos niveles de variación interespecífica entre las especies de *Cattleya* subgen. *Cattleya* sección *Cattleya* (Tabla 4), impiden su identificación taxonómica a partir de los datos moleculares evaluados. Aunque, *trnH-psbA* mostró niveles mayores de diversidad interespecífica, logrando identificar algunas especies de la sección *Cattleya*, no distingue a *Cattleya quadricolor* de *C. schroederae*, *C. trianae*, *C. percivaliana*. *Cattleya mendelii* y *C. dowiana* se pueden diferenciar de las demás especies con base en *trnH-psbA*, aunque entre sí mismas presentan secuencias idénticas. *Cattleya warscewiczii* es la única especie que se distingue molecularmente de todas las demás. La baja resolución entre especies de *Cattleya* en los loci *rbcL* y *matK* hallado en este estudio coincide con lo encontrado en un

estudio anterior sobre plantas cultivadas y de viveros en Cundinamarca (Pinedo-Castro et al., 2018).

Se han observado bajos niveles de diversidad genética en otros géneros de orquídeas, donde el poder del locus *matK* para la identificación específica está entre el 66 % para especies de *Holcoglossum* (Xiang et al., 2011) y 80,6 % en *Dendrobium* (Singh et al., 2012).

En la subtribu Laeliinae, en general, se han encontrado bajos niveles de variación genética en loci del genoma del cloroplasto (van den Berg, 2009). En el género *Encyclia* Hook., se ha visto que los rasgos florales, frecuentemente determinantes de especies, presentan baja correlación con patrones filogenéticos (Lipińska et al., 2023), lo cual sugiere que ha ocurrido el proceso de especiación sin diferenciación ni coalescencia en los loci del genoma cloroplasto (Lipińska et al., 2023). Este escenario podría explicar la baja diversidad genética encontrada en este estudio en el género *Cattleya*, aunque no se puede rechazar la posibilidad de la falta de barreras específicas reproductivas entre los taxones estudiados. Se ha sugerido que las dos especies, *Cattleya quadricolor* y *C. trianae*, podrían ser conespecíficas (Calderón-Sáenz, 2007), ya que, a pesar de tener distribuciones alopátricas, las diferencias morfológicas que muestran son muy discretas.

A pesar de los bajos niveles de diversidad genética interespecífica, el CB-ADN generado para *Cattleya quadricolor* en este estudio tiene aplicación en estudios ecológicos e inventarios florísticos en su hábitat natural del bosque seco tropical del valle del río Cauca, donde no ocurre en simpatria con especies congénicas. En estas aplicaciones es importante el uso de primers universales como los utilizados en este estudio, los cuales tienen aplicabilidad a través de la diversidad de plantas.

Para lograr la diferenciación genética entre las especies de *Cattleya* subgen. *Cattleya* sección *Cattleya*, nativas de Colombia y entender las relaciones evolutivas entre las especies, se sugiere estudiar los patrones de diversidad a través del genoma nuclear o del plastoma que permita esclarecer mejor las relaciones interespecíficas (p.ej., Pérez-Escobar et al., 2020). Para desarrollar un sistema fácil para la discriminación entre especies de *Cattleya* nativas a Colombia en aplicaciones forenses, será necesario explorar la utilidad de otros loci únicos, potencialmente más variables, incluyendo el locus *ycf1* del genoma cloroplasto (Dong et al., 2015) y el ITS-rRNA del genoma nuclear (Cheng et al., 2015).

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

N.H.O.C.: redacción del borrador original, revisión y edición, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, validación, visualización; G.T.T.: redacción, revisión y edición, investigación, visualización; A.N.: redacción, revisión y edición, investigación; A.N.S.: redacción, revisión y edición, análisis formal, investigación; N.S.F.: conceptualización, redacción del borrador original, revisión y edición, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, recursos, administración del proyecto, validación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el apoyo del Convenio No. 129–2021 entre la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC) y la Pontificia Universidad Javeriana Cali (PUJ). También agradecemos a los colaboradores en las regiones: Juan Manuel Quintero, Efrén Murillo y Édinson Moreno.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, G., Castro, C., Morales-M., P. A., Moreno, S., Ospina, N., & Ávila-R., L. (2022). *Cattleya schroederiae*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2022, e.T22486099A195524697. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T22486099A195524697.es>
- Arcila-Cardona, M., Valderrama, C., & Chacón de Ulloa, P. (2012). Estado de fragmentación del bosque seco de la cuenca alta del río Cauca, Colombia. *Biota Colombiana*, 13(2), 86–101.
- Banerjee, P., Stewart, K. A., Antognazza, C. M., Bunholi, I. V., Deiner, K., Barnes, M. A., Saha, S., Verdier, H., Doi, H., Maity, J. P., & Chen, C. Y. (2022). Plant–animal interactions in the era of environmental DNA (eDNA): A review. *Environmental DNA*, 4(5), 987–999. <https://doi.org/10.1002/edn3.308>
- Benavides, A. M., Calderón-Caro, J., & Canal, D. (2023). Surviving in a new host: Eight years of monitoring translocated aroids, bromeliads, and orchids in the Andean forests in Colombia. *Frontiers in Forests and Global Change*, 6, 834669. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2023.834669>
- Bernal, R., Gradstein, S. R., & Celis, M. (Eds.). (2015). *Catálogo de plantas y líquenes de Colombia*. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. <http://catalogoplantas-decolombia.unal.edu.co>
- Bioinformatics.org. (s. f.). *Sequence Manipulation Suite* [Software]. <https://www.bioinformatics.org/sms2/>
- Calderón-Sáenz, E. (Ed.). (2007). *Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 6. Orquídeas*. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- CBOL Plant Working Group. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 12794–12797. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905845106>
- Centre for Biodiversity Genomics, University of Guelph. (2021). *The Global Taxonomy Initiative 2020: A step-by-step guide for DNA barcoding* (Technical Series No. 94). Secretariat of the Convention on Biological Diversity.
- Chadwick, A. A., & Chadwick, A. E. (2020). *The classic Cattleyas* (2nd ed.). University Press of Florida.
- Cheng, T., Xu, C., Lei, L., Li, C., Zhang, Y., & Zhou, S. (2015). Barcoding the kingdom Plantae: New PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 138–149. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12438>
- ColPlanta. (2026). *Useful Plants of Colombia*. Royal Botanic Gardens, Kew. <https://colplanta.org/>
- Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES). (2024). *Apéndices I, II y III*. <https://cites.org/esp/app/appendices.php>
- Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC), & Fundación Agua Viva (FUNAGUA) (Eds.). (2011). *Planes de manejo para la conservación de 22 especies focales de plantas en el departamento del Valle del Cauca*.
- Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC). (2015). *134 plantas de orquídeas incautadas en Bolívar*. <https://www.cvc.gov.co/carousel/1993-orquideas-incautadas>
- Cruz-García, G., Lagunez-Rivera, L., Chávez-Ángeles, M. G., & Solano-Gómez, R. (2015). The wild orchid trade in a Mexican local market: Diversity and economics. *Economic Botany*, 69, 291–305. <https://doi.org/10.1007/s12231-015-9321-z>
- Cuénoud, P., Savolainen, V., Chatrou, L. W., Powell, M., Grayer, R. J., & Chase, M. W. (2002). Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. *American Journal of Botany*, 89(1), 132–144. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.1.132>
- DAGMA. (2021). *Orquídeas y bromelias decomisadas por Dagma serán exhibidas en el Zoológico y en el próximo Jardín Botánico de Cali*. <https://www.cali.gov.co/dagma/publicaciones/159180/orquideas-y-bromelias-decomisadas-por-dagma-seran-exhibidas-en-el-zoologico-y-en-el-proximo-jardin-botanico-de-cali/>
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., & Zhou, S. (2015). *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific Reports*, 5, 8348. <https://doi.org/10.1038/srep08348>

- Eserman, L., Coffey, E., Whitehurst, L., & Burgess, K. (2020). *DNA barcoding the Atlanta Botanical Garden orchid collection*. [Secuencia de nucleótidos, GenBank]. National Center for Biotechnology Information (US). <https://www.nih.gov/>
- Fahner, N. A., Shokralla, S., Baird, D. J., & Hajibabaei, M. (2016). Large-scale monitoring of plants through environmental DNA metabarcoding of soil: Recovery, resolution, and annotation of four DNA markers. *PLoS ONE*, 11(6), e0157505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157505>
- Fay, M. F. (2018). Orchid conservation: How can we meet the challenges in the twenty-first century? *Botanical Studies*, 59, 16. <https://doi.org/10.1186/s40529-018-0232-z>
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., Percy, D. M., Hajibabaei, M., & Barrett, S. C. H. (2008). Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PLoS ONE*, 3(7), e2802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002802>
- Flanagan, N. S., Mosquera-Espinosa, A. T., Ospina-Calderón, N. H., Torres-Torres, G., Ramírez-Bejarano, E., Nuscua, A., Navia-Samboní, Y. A., Hernández, G., Pérez, L. F., Oviedo-Espinosa, J., & Castillo, L. S. (2022). *Acciones para la conservación de Cattleya quadricolor y Magnolia hernandezii en el Valle del Cauca. Informe técnico final*. Convenio de Asociación No. 129 de 2021 entre la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC) y la Pontificia Universidad Javeriana Cali.
- Flores-Palacios, A., & Valencia-Díaz, S. (2007). Local illegal trade reveals unknown diversity and involves a high species richness of wild vascular epiphytes. *Biological Conservation*, 136(3), 372–387. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.12.017>
- Freudenstein, J. V., & Chase, M. W. (2001). Analysis of mitochondrial nad1b-c intron sequences in Orchidaceae: utility and coding of length-change characters [Secuencia de nucleótidos, GenBank]. National Center for Biotechnology Information (US). <https://www.nih.gov/>
- The GIMP Development Team. (2026). *GNU Image Manipulation Program (GIMP), Version 3.2.4*. [Software]. <https://gimp.org/>
- Hinsley, A., de Boer, H. J., Fay, M. F., Gale, S. W., Gardiner, L. M., Gunasekara, R. S., Kumar, P., Masters, S., Metusala, D., Roberts, D. L., & Veldman, S. (2018). A review of the trade in orchids and its implications for conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 186(4), 435–455. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box083>
- Instituto Nacional de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente (Inderena). (1977, febrero). *Resolución número 0213, por la cual se establece veda para algunas especies y productos de la flora silvestre*.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., & Drummond, A. (2012). *Geneious* (Version 9.1.8) [Computer software]. <https://www.geneious.com>
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111–120.
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2008). DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(8), 2761–2762. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800476105>
- Kress, W. J., García-Robledo, C., Uriarte, M., & Erickson, D. L. (2015). DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(1), 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.008>
- Lipińska, M. M., Olędryńska, N., Dudek, M., Naczek, A. M., Łuszczek, D., Szabó, P., Speckmaier, M., & Szlachetko, D. L. (2023). Character evolution of *Encyclia* (Laeliinae–Orchidaceae) reveals a complex pattern not phylogenetically determined: Insights from macro- and micromorphology. *BMC Plant Biology*, 23(1), 661. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04664-3>
- Masoomi-Aladizgeh, F., Jabbari, L., Khayam Nekouei, R., Aalami, A., Atwell, B. J., Haynes, P. A., & Anwar, M. (2023). A universal protocol for high-quality DNA and RNA isolation from diverse plant species. *PLoS ONE*, 18(12), e0295852. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0295852>
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2012). *Estrategia nacional para la prevención y control al tráfico ilegal de especies silvestres: Diagnóstico y plan de acción ajustado*. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS) & Universidad Nacional de Colombia (UNAL). (2015). *Plan para el estudio y la conservación de las orquídeas en Colombia*.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS). (2024, 13 de febrero). *Resolución 0126, por la cual se establece el listado oficial de las especies silvestres amenazadas de la diversidad biológica colombiana continental y marino-costera, se actualiza el Comité de Categorización de las Especies Silvestres Amenazadas en el territorio nacional y se dictan otras disposiciones*.
- Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T. L., Agarwala, R., & Schaffer, A. A. (2008). Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24, 1757–1764. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
- Navia-Samboní, A. (2021). *Optimización de primers de PCR para el diagnóstico de especies de orquídeas en Colombia mediante Código de Barras de la Vida*. [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana, Sede Cali]. <https://vitela.javerianacali.edu.co/home>
- National Center for Biotechnology Information. (2004). NCBI Databases. *U.S. National Library of Medicine*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Ospina-Calderón, N. H., Torres-Torres, G., & Flanagan, N. S. (2021). Advances in orchid species conservation management in Colombia. *Orchid Conservation News*, 3, 5–8.

- Ospina-Calderón, N. H., Tremblay, R. L., Torres, A. M., & Flanagan, N. S. (2023). The effect of habitat transformation on a twig epiphytic orchid: Evidence from population dynamics. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 11, 1135316. <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1135316>
- Parra-Sánchez, E., Armenteras, D., & Retana, J. (2016). Edge influence on diversity of orchids in Andean cloud forests. *Forests*, 7(3), 63. <https://doi.org/10.3390/f7030063>
- Parra-Sánchez, E., Freckleton, R. P., Hethcoat, M. G., Ochoa-Quintero, J. M., & Edwards, D. P. (2024). Transformation of natural habitat disrupts biogeographical patterns of orchid diversity. *Biological Conservation*, 292, 110538. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2024.110538>
- Paz, A., González, M., & Crawford, A. J. (2011). DNA Barcode of Life: An introduction and perspective. *Acta Biológica Colombiana*, 16(3), 161–176.
- Pérez-Escobar, O. A., Bogarín, D., Schley, R., Bateman, R. M., Gerlach, G., Harpke, D., Brassac, J., Fernández-Mazuecos, M., Dodsworth, S., Hágsater, E., Blanco, M. A., Gottschling, M., & Blattner, F. R. (2020). Resolving relationships in an exceedingly young Neotropical orchid lineage using genotyping-by-sequencing data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 144, 106672. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106672>
- Pinedo-Castro, M., Benavides-Barrero, L., González-Román, R., Sánchez, J. S., & Ruiz-García, M. (2018). Corroboración molecular para la identificación morfológica de especies de orquídeas. En C. Castellanos-Castro & G. Torres-Morales (Eds.), *Orquídeas de Cundinamarca: Conservación y aprovechamiento sostenible* (pp. 192–213). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Pontificia Universidad Javeriana, Jardín Botánico de Bogotá “José Celestino Mutis”, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) y Gobernación de Cundinamarca.
- Pizano, C., & García, H. (Eds.). (2014). *El bosque seco tropical en Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. N. (2007). BOLD System: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*, 7, 355–364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>
- Ratnasingham, S., Wei, C., Chan, D., Agda, J., Ballesteros-Mejía, L., Boutou, H. A., El Bastami, Z. M., Ma, E., Manjunath, R., Rea, D., Ho, C., Telfer, A., McKeowan, J., Rahulan, M., Steinke, C., Dorsheimer, J., Milton, M., & Hebert, P. D. N. (2024). BOLD v4: A centralized bioinformatics platform for DNA-based biodiversity data. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2744, pp. 403–441). Humana. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3581-0_26
- Plants of the World Online. (2026). <http://www.plantsoftheworldonline.org/>
- Policía Nacional de Colombia. (2016). 720 plantas de diferentes variedades de orquídeas se incautó la Policía Nacional. <https://www.policia.gov.co/noticia/720-plantas-de-diferentes-variedades-de-orqu%C3%ADdeas-se-incaut%C3%B3-las-polic%C3%ADa-nacional>
- Reina-Rodríguez, G. A., Mejía, J. E. R., Llanos, F. A. C., & Soriano, I. (2017). Orchid distribution and bioclimatic niches as a strategy to climate change in areas of tropical dry forest in Colombia. *Lankesteriana*, 17(1), 17–47. <https://doi.org/10.15517/lank.v17i1.27999>
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K. C., Winder, C. T., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2005). The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, 92(1), 142–166. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
- Singh, H. K., Parveen, I., Raghuvanshi, S., & Babbar, S. B. (2012). The loci recommended as universal barcodes for plants on the basis of floristic studies may not work with congeneric species as exemplified by DNA barcoding of *Dendrobium* species. *BMC Research Notes*, 5, 42. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-42>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38, 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Ticktin, T., Charitonidou, M., Douglas, J., Halley, J. M., Hernández-Apolinar, M., Liu, H., Mondragón, D., Pérez-García, E. A., Tremblay, R. L., & Phelps, J. (2023). Wild orchids: A framework for identifying and improving sustainable harvest. *Biological Conservation*, 277, 109816. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109816>
- Torres-Torres, G. (2018). *Demografía de Cattleya quadricolor* Lindl. en la zona de amortiguación del Jardín Botánico Juan María Céspedes: Línea base para el monitoreo poblacional para conservación *in situ* [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana, Sede Cali]. <https://vitela.javerianacali.edu.co/home>
- Torres-Torres, G., Ospina-Calderón, N. H., Hernández-Delgadillo, G. A., Mosquera-Espinosa, A. T., & Flanagan, N. S. (2021). An integrated conservation strategy for *Cattleya quadricolor* Lindl., an endemic species in Colombia. En Y.-T. W. Yin-Tung, A. C. Yao-Chien, I. L. Yung-I, C. Fure-Chyi, & T. Wen-Chieh (Eds.), *Proceedings of the 2021 Virtual 23rd World Orchid Conference* (pp. 460–465). Taiwan Orchid Growers Association (TOGA).
- Torres Torres, G. T., Torres González, A. M., Flanagan, N. S., & Ospina-Calderón, N. H. (2026). Demographic insights guide conservation priorities for the threatened orchid *Cattleya quadricolor* in tropical dry forest. *Oryx*, 1–12. <https://doi.org/10.1017/S0030605325102512>
- Tsaballa, A., Kelesidis, G., Krigas, N., Sarropoulou, V., Bagatzounis, P., & Grigoriadou, K. (2023). Taxonomic identification and molecular DNA barcoding of collected wild-growing orchids used traditionally for salep production. *Plants*, 12(17), 3038. <https://doi.org/10.3390/plants12173038>
- van den Berg, C. (2014). Reaching a compromise between conflicting nuclear and plastid phylogenetic trees: A new classification for the genus *Cattleya* (Epidendreae, Epidendroideae, Orchidaceae). *Phytotaxa*, 186(2), 75–86. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.186.2.2>

- van den Berg, C., Higgins, W. E., Dressler, R. L., Whitten, W. M., Soto-Arenas, M. A., & Chase, M. W. (2009). A phylogenetic study of Laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastid DNA sequences. *Annals of Botany*, 104(3), 417–430. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp101>
- van Velzen, R., Weitschek, E., Felici, G., & Bakker, F. T. (2012). DNA barcoding of recently diverged species: Relative performance of matching methods. *PLoS ONE*, 7(1), e30490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030490>
- Veldman, S., Otieno, J., Gravendeel, B., van Andel, T., & de Boer, H. J. (2014). Conservation of endangered wild harvested medicinal plants: Use of DNA barcoding. En A. Gurib-Fakim (Ed.), *Novel plant bioresources: Applications in food, medicine and cosmetics* (pp. 81–88). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118460566.ch6>
- Xiang, X.-G., Hu, H., Wang, W., & Jin, X.-H. (2011). DNA barcoding of the recently evolved genus *Holcoglossum* (Orchidaceae: Aeridinae): A test of DNA barcode candidates. *Molecular Ecology Resources*, 11(6), 1012–1021. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03044.x>