REVISTA DE AGRONOMÍA Año 2010 Vol. XXVII No. 1 (Pags. 27-39)

# CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA Y MOLECULAR DE 19 GENOTIPOS DE PAPA GUATA Y CHAUCHA (Solanum tuberosum L. y Solanum phureja Juz et Buk) CULTIVADOS EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO¹

## MORPHOAGRONOMIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF 19 GENOTYPES POTATO GUATA AND CHAUCHA (Solanum tuberosum L. and Solanum phureja Juz et Buk) GROWN IN THE DEPARTMENT OF NARIÑO¹

Fecha de Recepción: 13 de Noviembre de 2009 Fecha de Aceptación: 16 de Abril de 2010

Claudia Navarro<sup>2</sup>, Luis Carlos Bolaños<sup>2</sup>, Tulio César Lagos<sup>3</sup>.

#### RESUMEN

Se realizó la caracterización morfoagronómica y molecular de 19 poblaciones de papa *Solanum tuberosum* L. y *Solanum phureja* procedentes del Departamento de Nariño. Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para variables cuantitativas y un Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) para variables cualitativas. La caracterización molecular se realizó mediante la técnica RAMs. El análisis de agrupamiento para ACP y ACM se hizo mediante el criterio de agregación de Ward y mediante el coeficiente de Nei-Li para los datos moleculares. En el ACP, el primer eje explica el 75,79% de la variabilidad total y está formado por días a floración. En el ACM, sobresalieron los descriptores color de cáliz y color de ojos del tubérculo por su contribución a la variabilidad. En la caracterización molecular, el porcentaje de loci polimórficos para cinco cebadores RAMs fue del 55,6 al 100%. Los valores de distancia genética oscilaron entre 0,092 y 0,89. La heterocigosidad promedio encontrada (0,23) fue alta, indicando que existe una alta variabilidad genética dentro de la población estudiada. Según los análisis de clasificación morfológicos y moleculares, las poblaciones Ratona C y Ratona T son duplicados. Los dendrogramas del ACM y del análisis molecular, a diferencia del generado por el ACP, no mostraron tendencia al agrupamiento de las variedades de acuerdo a la especie.

Palabras clave: Papa, RAMs, ADN, ACP, ACM, diversidad genética.

<sup>(1)</sup> Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo FACIA.

<sup>(2)</sup> Egresados FACIA Universidad de Nariño.

<sup>(3)</sup> Profesor Asociado FACIA Universidad de Nariño.

#### **ABSTRACT**

Was realized a molecular and morphagronomic characterization of 19 populations of potato *Solanum tuberosum* L. and *Solanum phureja* from the Department of Nariño. We performed a Principal Component Analysis (PCA) for quantitative variables and a Multiple Correspondence Analysis (MCA) for qualitative variables. Molecular characterization was performed by the technique RAMs. The clustering for PCA and MCA was made by the criterion of Ward and aggregation by Nei-Li coefficient for molecular data. In the PCA, the first axis explains 75,79% of the total variability and is composed of days to blosoom. In the ACM, descriptors color of calyx and tuber bud color were important for their contribution to variability. In the molecular characterization, the percentage of polymorphic loci for five primers RAMs was of 55,6 to 100%. The genetic distance values ranged from 0,092 to 0,89. Found an average heterozygosity (0,23) was high, indicating that there is a high genetic variability within the population studied. According to the analysis of morphological and molecular classification, Ratona C and Ratona T populations are duplicates. The dendrograms of the MCA and molecular analysis, unlike generated by the PCA, showed no tendency to grouping of varieties according to the species.

**Key words:** Potato, RAMs, DNA, PCA, MCA, genetic diversity.

### INTRODUCCIÓN

La papa cultivada pertenece a un conjunto de especies diploides (*Solanum phureja* Juz. et Buk.), triploides (*S. chaucha* Juz. et Buk), tetraploides (*S. tuberosum* L. *ssp. andigena* Hawkes) y pentaploides (*S. curtilobum* Juz. et Buk); este es uno de los cultivos con mayor diversidad genética concentrada principalmente en la zona Andina de América del Sur (Bonierbale *et al.*, 2004).

En Colombia se siembra papa de las especies *Solanum tuberosum ssp. andigena* que corresponden a las conocidas como "guatas" y papas de la especie *Solanum phureja* conocidas como "chauchas o criollas" (Porras, 1999). En Nariño estos recursos han estado expuestos a la degradación genética por la introducción de variedades mejoradas. Sin embargo, algunos agricultores del departamento mantienen colecciones valiosas entre las cuales se encuentran variedades nativas que no han sido estudiadas. Por tal razón, es necesario realizar estudios tendientes a conocer los recursos fitogenéticos de dichas colecciones a través de caracterizaciones morfoagronómicas y moleculares.

Según Moreno y Valbuena (2006) para una eficiente utilización de los recursos genéticos de papa es necesario tener un conocimiento claro de su potencial en cuanto a variabilidad genética, lo cual se logra través de su caracterización.

La caracterización de los bancos de germoplasma se ha realizado tradicionalmente mediante el uso de descriptores morfológicos evaluados en relación con el comportamiento agronómico (Bonilla et al., 2008). La descripción morfológica de órganos vegetativos y reproductivos y rasgos agronómicos clásicos han sido de gran utilidad para la caracterización y evaluación de recursos genéticos (Demey et al., 2003). Hidalgo (2003) afirma que los descriptores morfoagronómicos corresponden a los caracteres morfológicos que son relevantes en la utilización de las especies cultivadas y que pueden ser de tipo cualitativo o cuantitativo como por ejemplo, forma de las hojas, pigmentación en raíz y flores, color y forma de la semilla, tamaño y forma de los frutos, arquitectura de la planta.

En Colombia se han venido realizando estudios de caracterización en papa de la Colección Central Colombiana de papa (CCC); para el año 2004 se caracterizaron morfológicamente 464 accesiones de la especie *S. tuberosum* spp *andigena* de la CCC, donde cinco caracteres cualitativos a nivel de tubérculo y flor discriminaron la colección (Moreno y Valbuena, 2006). Bernal *et al.* (2007) a partir de caracteres morfológicos, encontraron que las variables que mas discriminan la CCC (*S. tuberosum* ssp. *andigena*) son las concernientes a color primario de piel de tubérculo y su intensidad, color secundario de flor y su distribución, color secundario de piel de tubérculo y su distribución, color secundario de carne de tubérculo y su distribución, color primario de flor y color de pedicelo.

Phillips *et al.* (1995) afirman que el uso de marcadores morfológicos en plantas tiene muchas limitantes, pues su expresión está sujeta a las variaciones del medio ambiente e incluso, algunas de las características morfológicas tienen efectos indeseables. Morell *et al.* (1995) mencionan que la caracterización con marcadores de tipo morfoagronómico debe ser complementada con marcadores moleculares, que a diferencia de los primeros, no son influenciados por el ambiente. Según el IPGRI y la Universidad de Cornell (2004) el análisis combinado de estos puede ofrecer un escenario más integral para la interpretación, dando así una mayor profundidad a los estudios de diversidad genética.

Los marcadores moleculares han contribuido a un mayor conocimiento genético de muchas especies vegetales incluyendo la papa, la cual representa un modelo de gran interés para aplicaciones genómicas debido a su importancia económica y a sus características fisiológicas; en esta especie se han desarrollado y aplicado diferentes tipos de marcadores (Ritter *et al.*, 2004). Según Gebhardt *et al.* (1989) los primeros marcadores de ADN descritos en papa fueron los RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) y con la aparición de la PCR (Polymerase Chain Reaction), se desarrollaron y aplicaron otros tipos de marcadores como los RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA).

Ñustez et al. (2008) realizaron la caracterización

molecular de 133 accesiones con microsatelites SSRs (Simple Sequence Repeats) de la colección *Solanum tuberosum* grupo *phureja* de la Universidad Nacional de Colombia con el objetivo de evaluar la diversidad genética e identificar los duplicados existentes para su depuración, como resultado obtuvieron la conformación de tres grupos encontrando un total de 20 duplicados en la colección.

Zietkiewicz *et al.* (1994) mencionan que entre las técnicas moleculares disponibles para estudiar la diversidad genética vegetal se encuentra los marcadores moleculares RAMs (Microsatélites Amplificados al Azar), los cuales se basan en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP). Este método es altamente reproducible y permite la detección de polimorfismo en el ADN.

Con base en lo anterior, los objetivos del presente trabajo se enfocaron hacia la caracterización morfoagronómica y molecular basada en marcadores RAMs de 19 genotipos de papa de las especies *Solanum tuberosum* L. y *Solanum phureja* Juz et Buk cultivadas en el departamento de Nariño; así mismo, la determinación de la distancia entre estos teniendo en cuenta la caracterización morfológica y molecular.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El trabajo fue desarrollado en dos etapas, la primera comprendió la caracterización morfoagronómica, efectuada en la granja experimental de la Federación Colombiana de Productores de Papa (FEDEPAPA) localizada en Obonuco municipio de Pasto (Nariño) a 2710 msnm, con temperatura promedio anual de 13°C y precipitación de 840 mm/año (Moreno *et al.*, 2006).

La segunda correspondió a la caracterización molecular efectuada en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Los genotipos de papa caracterizados pertenecen a la colección de FEDEPAPA y a colectas hechas en diferentes municipios del Departamento de Nariño (Tabla 1).

La caracterización morfoagronómica se basó en los descriptores propuestos por el International Board for Plant Genetic Resources IPGRI (1985) y los propuestos por Ramírez y Cepeda (1998; Tabla 2).

En esta caracterización, se utilizaron aproximadamente 2,5 Kg de tubérculos de cada variedad, sembrados en un área de 21 m² en tres surcos de 5 m de largo a una distancia de 0,40 m entre plantas y 1,40 m entre surcos. Para caracterizar los tubérculos, se seleccionaron al azar 10 de cada variedad durante la cosecha. Para la caracterización molecular se utiliza-

ron yemas de tubérculos brotados de cada material, a las cuales se les realizó extracción de ADN utilizando el método de Dellaporta *et al*. (1983).

Cuantificación de ADN. Las concentraciones y la calidad del ADN extraído en cada muestra, fueron estimadas por comparación visual con patrones conocidos de ADN del bacteriófago de lambda de 10, 20, 30 y 40 ng/µl en gel de agarosa al 0,8%. El ADN cuantificado se diluyó en agua tipo miliQ hasta llevar todas las muestras a una concentración final de 10 ng/µl.

**Tabla 1.** Procedencia de los 19 genotipos de papa *S. tuberosum* y *S. phureja*, caracterizados morfológica y molecularmente.

No	D 11 1/	Б.	ъ .	D .	Altitud
	Población	Especie	Procedencia	Donante	(msnm)
1	Capira	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
2	Pestañuda	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
3	Colombina	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
4	Morasurco	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
5	Jurado S1	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
6	Piedra	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
7	Jurado S2	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
8	Ojona intada	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
9	Gualcala	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
10	Uvilla	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
11	Sabanera morada	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
12	Arbolona	S. tuberosum	V. Jurado (Pasto)	FEDEPAPA	2710
13	Borrega	S. phureja	V. Guan (Guachucal)	Colecta	3180
14	Yema de huevo	S. phureja	V. Socorro (Tuquerres)	Colecta	3104
15	Mambera	S. phureja	V. Guan (Guachucal)	Colecta	3180
16	Careta	S. phureja	V. Guan (Guachucal)	Colecta	3180
17	Ratona C	S. phureja	Cumbal	Colecta	3050
18	Botella	S. phureja	Cumbal	Colecta	3050
19	Ratona T	S. phureja	V. Socorro (Tuquerres)	Colecta	3104

V: Vereda

Amplificación del ADN mediante PCR. Los marcadores microsatélites RAMs (Random Amplified Microsatellites; Microsatélites Amplificados al Azar, en Español) utilizados fueron DDB(CCA)<sub>5</sub>, DBDA(CA)<sub>7</sub>, DYD(CT)<sub>7</sub>C, HVH(TG)<sub>7</sub>T, VHV(GT)<sub>5</sub>G. Estos fueron

sintetizados por Technologies Inc., y han sido reportados como polimórficos en evaluaciones de diversidad genética de las especies *Physalis peruviana*, *Rubus* spp y *Phaeoisariopsis griseola* agente causal de la mancha angular en fríjol.

**Tabla 2.** Descriptores cualitativos y cuantitativos utilizados en la caracterización morfoagronómica de 19 poblaciones de papa de las especies *S. tuberosum y S. phureja* 

Descriptores cualitativos					
Color de tallo (CT)	Forma general del tubérculo (FGT)				
Color de hoja (CH)	Formas raras del tubérculo (FRT)				
Color de cáliz (CCA)	Color predominante de piel CPP)				
Forma de la corola (FCO)	Intensidad color del tubérculo (ICT)				
Coloración primaria de corola (CPCO)	Color secundario de la piel (CSP)				
Intensidad del color de corola (ICCO)	Dis. del color secundario de piel (DCSP)				
Coloración secundaria de corola (CSCO)	Color de ojos (CO)				
Distribución color secundario de corola (DCSC)	Color de carne (CC)				
Pigmentación de antera (PA)	Color secundario de la carne (CSC)				
Coloración del pedicelo (CP)	Profundidad de ojos (PO)				
Pigmentación del pistilo (PP)	Foliolos laterales (FL)				
Grado de floración (GF)	Interojuelos entre foliolos (IEF)				
Hábito de crecimiento de la planta (HCP)	Fertilidad de polen (FP)				
Descriptores cu	antitativos				
Longitud de hoja (LH)	Días a floración (DF)				
Ancho de hoja (AH)	Longitud de la planta (LP)				
Relación longitud/ancho de la hoja (RLAH)	Diámetro de la planta (DP)				
Longitud de foliolo (LF) Ancho de foliolo (AF)	Relación longitud/diámetro de la planta (RLDP)				
Relación longitud/ancho del foliolo (RLAF)					

Para el coctel de amplificación se utilizó 1,25µl de Buffer Taq, 1,25µl de MgCl<sub>2</sub>, 2µl de DNTP`s, 1µl de Primer, 4,9 µl de H<sub>2</sub>O, 0,1µl de Taq polimerasa y 3μl de ADN. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador PTC-100 Programmable Termal Controller de MJ Research, Inc. La desnaturalización inicial fue de 95 °C durante cinco minutos; desnaturalización a 95 °C por 30 segundos. Hibridación a una temperatura de 50°C (primers CA y CCA), 55°C (primers TG, CT y GT) durante 45 segundos. Una extensión a 72 °C por dos minutos, 37 ciclos desde la desnaturalización hasta la extensión y una extensión final a 72 °C durante siete minutos. El producto amplificado se observó mediante electroforesis en geles poliacrilamida al 7% a 150 voltios por una hora, en una cámara electroforesis vertical marca Biometra.

#### Análisis Estadístico

Caracterización morfológica. La información obtenida de la caracterización morfológica tanto de variables cualitativas como de cuantitativas se sometió a los Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) y Componentes Principales (ACP), respectivamente. Las variables cuantitativas que se utilizaron para el ACP, fueron aquellas que presentaron un coeficiente de variación (CV) superior al 15%. Además, se hizo el Análisis de Correlación de Pearson, con el fin de descartar una variable de cada par, en el caso de encontrar correlaciones altas (>0,80) para finalmente realizar el ACP. El análisis de clasificación jerárquica para el ACM y el ACP, se basó en el criterio de clasificación de Ward. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el Software SPAD Versión 3.5.

Caracterización molecular: La información de las bandas suministradas por los marcadores RAMs fue organizada en una matriz binaria, donde la presencia de la banda es uno y la ausencia cero. Con base en esta matriz, se midieron los parámetros de diversidad de la población estudiada, como el número de alelos amplificados por cebador, número de alelos polimórficos, la heterocigosidad insesgada, el porcentaje de loci polimórficos al 95% y el rango de heterocigosidad mediante el programa TFPGA (Tools for population genetic analyses, Versión 1.3, 1997). La distancia genética se analizó mediante las distancias mínimas insesgadas de Nei-Li (1979) y el dendrograma se construyó con base en UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) del programa TFPGA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los descriptores cuantitativos caracterizados obtuvieron un CV que osciló entre 6,30 y 25,1%. Los tres descriptores que obtuvieron los CV más altos

correspondieron a AF, LF y DP, lo que concuerda con lo reportado por Ramírez y Cepeda (1998) en trabajos de caracterización morfológica de variedades nativas de papa (*Solanum tuberosum* spp. *andigena*) colectadas en la zona alto andina del departamento de Nariño, donde mencionan que entre las variables morfológicas cuantitativas mas discriminantes en la colección, se encuentran AF y LF.

Por otra parte, se encontraron valores de correlación positiva altamente significativos entre LF con AH (r=0,92\*\*), AH con AF (r=0,87\*\*), LF con AF (r=0,97\*\*), lo cual permite inferir que las variables mencionadas están estrechamente ligadas, indicando que la longitud de la hoja y la del foliolo guardan una relación directamente proporcional con el ancho de los mismos. Igualmente, se encontró una correlación negativa alta entre DP con RLDP (r= -0,83\*\*), infiriéndose así que la longitud de la planta es inversamente proporcional al diámetro de la misma (Tabla 3). Con base en los resultados anteriores, se descartó una variable de cada correlación altamente significativa, permitiendo seleccionar las variables LF, DP y DF para el ACP.

Tabla 3. Análisis de correlación de Pearson entre el ancho de hoja (AH), longitud de foliolo (LF),
ancho de foliolo (AF), diámetro de la planta (DP), Relación longitud/diámetro de la
planta (RLDP) y días a floración (DF)

Descriptor	AH	LF	AF	DP	RLDP	DF
AH	1					
LF	0,92**	1				
AF	0,87**	0,97**	1			
DP	0,46*	0,52*	0,48*	1		
RLDP	-0,32ns	-0,40ns	-0,47*	-0,83**	1	
DF	0,62*	0,72*	0,713*	0,61*	-0,559*	1

<sup>\* =</sup> Correlación significativa, \*\*Correlación altamente significativa, ns = correlaciones no significativas.

Análisis de Componentes Principales (ACP). El ACP permitió establecer que en tres componentes se explica el 100% de variación mostrada por la población estudiada. El primer componente expresa el 75,79% de la varianza total y el segundo contribuye con un 16,15% (Tabla 4). En la Tabla 5 se observa la correlación que existe entre las variables

LF, DP y DF con los respectivos factores o componentes principales.

La variable DF ( $r_{DF-CP}$  = -0,92) es la que mas aporta a la conformación del primer componente. El segundo componente principal lo define el DP ( $r_{DP-CP}$  = -0,54) y la variable que más aporta a la conformación del tercer componente es la LF ( $r_{LF-CP}$  = 0,26; Tabla 5).

**Tabla 4.** Valores propios y varianza explicada por los tres componentes principales del ACP de las variables cuantitativas de 19 poblaciones de *S. tuberosum y S. phureja* 

Nº	Valor propio	1/04104070 (0/.)	
1	2,27	75,79	75,79
2	0,48	16,15	91,94
3	0,24	8,06	100,00

**Tabla 5.** Correlación entre los factores o componentes principales y la longitud del foliolo (LF), el diámetro de la planta (DP) y los días a floración (DF)

Variable	Componentes principales				
	1	2	3		
LF	-0,86	0,44	0,26		
DP	-0,83	-0,54	0,16		
DF	-0,92	0,07	-0,39		

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Ramírez y Cepeda (1998), quienes mencionan que las variables relacionadas con longitud (entre ellas LF) y ancho de hoja y de foliolo son las que más aportan a la variación total dentro de la colección estudiada. Así mismo, Martínez y Ligarreto (2005) en estudios de evaluación de papa de la especie *Solanum tuberosum* spp. *andigena*, encontraron que días a floración, es uno de los descriptores que mas aporta a la conformación del primer componente y que es una de las variables más importantes, que permite determinar la precocidad de los clones.

El dendrograma con base en el ACP y a una distancia de 0,16, permitió agrupar las variedades en cuatro grupos (Figura 1). Los grupos uno, dos y tres corresponden a variedades de la especie *Solanum* 

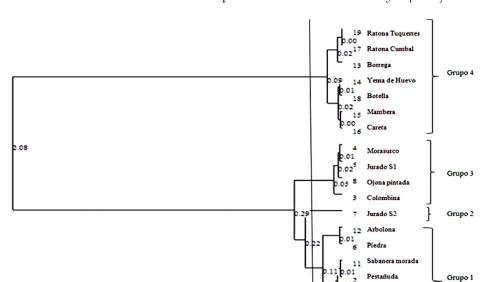
tuberosum y el grupo cuatro está conformado por variedades de la especie *Solanum phureja*, indicando que el ACP es una herramienta útil para discriminar genotipos de papa tetraploides y diploides.

El primer grupo se formó a una distancia de 0,11 y lo conformaron las accesiones Capiro, Uvilla, Gualcala, Pestañuda, Sabanera morada, Piedra y Arbolona y representan el 36,80% del total de los individuos estudiados y comparten las características de días a floración (mayor a 90 días). El segundo grupo lo conforma la variedad Jurado S2 que posee características particulares como AH ( $\mu$  = 31,6 cm), LF ( $\mu$ = 16,8 cm) y AF ( $\mu$ = 9 cm), registrando los valores máximos respecto a las demás accesiones. El tercer grupo se formó a una distancia de 0,05 y está conformado por las variedades Colombina, Ojona Pintada, Jurado S1 y Morasurco, las cuales representan el 21% de la población estudiada. Estas variedades obtuvieron los promedios ( $\mu$ ) más altos en el DP ( $\mu$  = 117 cm) respecto al promedio general ( $\mu = 87,92$  cm).

El cuarto grupo lo conforman variedades pertenecientes a la especie *S. phureja* y representan el 36,80% de los cultivares estudiados; este se agrupó a una distancia de 0,09. Estas variedades se destacaron por su precocidad respecto a los DF (< 80 días). También compartieron las características LF ( $\mu$  = 7,7 cm) y DP ( $\mu$  = 68,83 cm), medidas que fueron inferiores a los promedios generales LF ( $\mu$  = 9,7 cm) y DP ( $\mu$  = 87,9 cm).

#### Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM).

En el ACM al contrario del ACP, los tres primeros ejes aportan una pequeña parte de la varianza total siendo esta de 34,63% (Tabla 6). Estos porcentajes bajos se deben a la existencia de poca varianza como resultado de las asociaciones de muchas variables tales como CSCO y CSC, las cuales presentan pocas modalidades (Aramendiz *et al.*, 2006). Las variables cualitativas y sus respectivas modalidades se resumen en la Tabla 7.



**Figura 1.** Dendrograma con base en el Análisis de Componentes Principales (ACP) de variables cuantitativas evaluadas en 19 poblaciones de *S. tuberosum y S. phureja*.

**Tabla 6.** Valores propios y varianzas para los tres primeros ejes del Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) para las variables cualitativas evaluadas en 19 poblaciones *S. tuberosum y S. phureja*.

N°	Valor propio	Varianza (%)	Varianza acumulada (%)
1	0,40	12,67	12,67
2	0,37	11,69	24,36
3	0,33	10,27	34,63

El primer eje participa con una varianza total de 12,67%, y se encuentran descriptores como CCA y CO, con una contribución acumulada de 8,2 y 7,0%, respectivamente, a la construcción del eje. El segundo eje participa con una varianza total de 11,69%. Las variables que más aportan a la conformación de este eje son CP e ICCO con 8,8 y 8,7%, respectivamente. El aporte del tercer eje a la varianza total es del 10,27% y las variables que más se destacan son CO y FP con 10% cada uno.

Los resultados anteriores concuerdan con lo mencionado por Bernal *et al.* (2007) en estudios realizados en caracterización morfológica en papa, donde afirman que las variables relacionadas con color de flor, tubérculos y de pedicelo, son las más discriminantes a la hora de establecer grupos en cuanto a características morfológicas cualitativas.

La clasificación jerárquica de las 19 poblaciones de *S. tuberosum y S. phureja* con base en el ACM y a una distancia de 0,25, determinó la conformación de cinco grupos (Figura 2). El primer grupo a una distancia de 0,24, lo conformaron las accesiones Capiro, Uvilla, Gualcala, Jurado S1, Mambera, Morasurco, Ojona Pintada, Piedra, Arbolona, Careta, Botella y Yema de Huevo, las cuales representan el 46,15% del total de genotipos y comparten la característica de CO principalmente crema y morados.

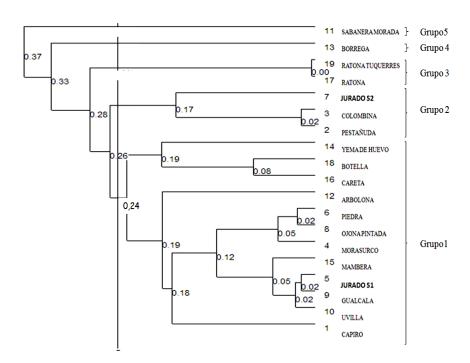
El segundo se agrupó a una distancia de 0,17 y fue conformado por el 11,5% de las accesiones, comprende las variedades Pestañuda, Colombina

**Tabla 7.** Contribución de cinco variables cualitativas y sus modalidades a la formación de los tres primeros ejes del ACM en 19 poblaciones de *S. tuberosum y S. phureja* 

37	M. 1.21. 1		Ejes			
Variable	Modalidad	Primero	Segundo	Tercero		
	1. Ausente	2,1	6,3	0,8		
	2. Verde	0,8	0,8	0,2		
0.1 1 /1:	3.V+pocas manchas	4,7	0,5	0,4		
Color de cáliz	4.V+muchas manchas	0,1	0,6	0,0		
(CCA)	5.Pigmentado+poco verde	0,1	0,1	0,8		
	6. Rojo	0,4	0,3	0,1		
	7. Morado	-	-	2,3		
	Total	8,2	8,6	2,3		
	1 Rojo	1,8	0,1	8,0		
61 1 1 11	2 morado y crema	0,0	0,2	0,2		
Color de ojos del	3 morados	3,0	0,0	0,5		
tubérculo (CO)	4 rojo morado	2,2	0,6	0,6		
	5 café	-	-	0,7		
	6 crema	0	0,2	-		
	Total	7,0	1,1	10,0		
	1. Ausente	2,1	6,3	0,8		
	2. Verde	3,0	0,9	0,9		
Coloración del	3. Solo articulación pigmentada	0,9	1,0	0,1		
pedicelo (CP)	4. Ligeramente pigmentado a lo largo	0,0	0,0	0,4		
	5. Pigmentado debajo de la articulación	0,1	0,1	0,4		
	6. Mayormente pigmentado + articulación verde	0,0	0,2	0,3		
	7. Completamente pigmentado	0,0	0,3	1,0		
	Total	6,1	8,8	3,9		
Intensidad del color	1. Ausente	2,1	6,3	0,8		
de la corola	2. pálido	1,8	0,7	1,0		
(ICCO)	3. Intermedio	0,1	0,3	0,2		
	4. Intenso	1,0	1,4	0,0		
	Total	5,0	8,7	2,0		
	1 Muy bajo o estéril (0-10%)	2,1	6,3	0,8		
Fertilidad de polen	2 Bajo (10- 30%)	0,9	0,5	0,6		
(FP)	3 Moderado (30-50%)	1,8	0,1	8,0		
	4 Alto (50-80%)	0,7	0,7	0,0		
	5 Muy alto (80-100%)	0,0	0,3	0,5		
	Total	5,5	7,9	10,0		

y Jurado S2, que poseen características particulares como el color rojo para CSP y el color blanco crema para CPP. Las características color de ojos y color de la piel en el tubérculo, se transmiten sucesivamente por propagación vegetativa convirtiéndose en una característica de alta heredabilidad, lo que se traduce en una alta homogeneidad genética cualitativa a través del tiempo (Ramírez y Cepeda, 1998).

El tercer grupo esta conformado por los genotipos Ratona Cumbal y Ratona Tuquerres, que según el ACM puede tratarse de la misma variedad, sólo difieren del lugar de procedencia. El cuarto y quinto grupo lo conforma los genotipos Borrega y Sabanera; estas accesiones no lograron agruparse con ninguna otra accesión debido a que durante la evaluación morfológica presentaron características particulares como el aborto



**Figura 2.** Dendrograma con base en el ACM de 19 poblaciones de papa pertenecientes a las especies *S. tuberosum y S. phureja*.

floral para Sabanera morada y la forma concertinada de los tubérculos de la población Borrega.

Caracterización molecular con marcadores moleculares RAMs. Los cebadores generaron 80 loci, de los cuales el 77,5% fueron polimórficos. Los loci polimórficos oscilaron entre 55,55 para CCA y 100% para CA. La heterocigosidad insesgada (HI) mínima fue de 0,13 para el cebador GT

y máxima de 0,31 para el cebador CA. La diversidad promedio fue de 0,23 (Tabla 8), valor que es bajo, sí se compara con la diversidad promedio de 0,81 encontrada por Pérez (2004) quien evaluó la diversidad genética de papas nativas *S. tuberosum ssp. andigena* en el sur de Chile. Sin embargo, estos resultados muestran una alta diversidad genética en las poblaciones estudiadas y aun cultivadas en el departamento de Nariño.

**Tabla 8.** Número de bandas (Bandas), heterocigosidad promedio (HP), heterocigosidad insesgada (HI), loci polimórficos al 95% (LP) y rango de la frecuencia de heterocigosis (RFH), resultantes de la caracterización molecular con marcadores RAMs, de 19 poblaciones de las especies de papa *S. tuberosum y S. phureja*.

Cebador o Primer	BANDAS	HP	HI	LP (%)	RFH
CA	11	0,30	0,31	100,00	0,10 - 0,47
CCA	18	0,20	0,21	55 <b>,</b> 55	0,05 - 0,47
CT	12	0,27	0,28	91,66	0,05 - 0,42
GT	22	0,13	0,14	68,18	0,05 - 0,26
TG	17	0,27	0,28	88,23	0,05-0,47
Todos los cebadores	80	0,22	0,23	<i>77,</i> 50	0,05 - 0,47

Por otra parte, el porcentaje de loci polimórficos obtenido se acerca a los reportados por Ispizúa *et al.* (2007) en el trabajo sobre diversidad genética de *S. tuberosum ssp. andigena* con microsatelites SSR, donde obtuvieron valores que oscilaron entre 80 y 92%. Igualmente, Ñustez *et al.* (2008) en la caracterización molecular de *S. tuberosum* con microsatélites SSR obtuvo total de 88 bandas y un porcentaje de polimorfismo de 57 a 89%, similar al obtenido durante este estudio.

**Distancia genética.** Los valores de distancia genética de Nei - Li respecto al análisis en combinación con todos los cebadores oscilaron entre 0,09 (Pestañuda y Arbolana) y 0,89 (Morasurco y Yema de huevo). Con en los resultados de las distancias genéticas, se realizó

una correlación entre los cebadores para observar su grado de asociación (Tabla 9). La correlación (r) entre éstos, en su mayoría fue significativa. Los valores más bajos se observaron entre CT y CA con un r de -0,12 y los más altos entre C.C - GT (r = 0,63). Se destacaron las correlaciones CCA-C.P (r= 0,59), GT-C.P (r= 0,63) y TG-C.C (r= 0,50). Estos resultados infieren que posiblemente los cebadores pertenecen al mismo grupo de ligamiento.

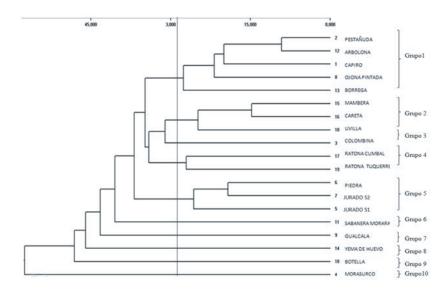
El dendrograma con base en el método de UPGMA, clasificó las 19 poblaciones de papa en diez grupos (Figura 3). El primer grupo lo conforman el 26,31% y se encuentran Pestañuda, Arbolona, Capira, Ojona Pintada y Borrega.

**Tabla 9.** Correlación de Pearson entre los marcadores RAMs utilizados en la caracterización molecular de 19 poblaciones de papa de las especies papa *S. tuberosum* y *S. phureja*.

Cebador	CA	CCA	CT	GT	TG	C.C
CA	1					
CCA	0,13*	1				
CT	-0,12*	-0,11	1			
GT	-0,08	0,22*	0,17*	1		
TG	0,03	-0,01	0,09	0,11	1	
C.C	0,31*	0,59*	0,31*	0,63*	0,50*	1

C.C: Combinación de cebadores, \*= Correlaciones significativas al 95%

**Figura 3.** Dendrograma de 19 poblaciones de papa de las especies *S. tuberosum* y *S. phuerja,* basado en el coeficiente de similaridad de Nei-Li y calculado de los datos combinados de los cinco cebadores microsatélites RAMS, con el método de clasificación UPGMA.



El segundo y tercer grupo formado por Mambera, Careta, Uvilla y Colombina representa el 15,78% y 5,26% de los cultivares estudiados. En el cuarto grupo estan Ratona T y Ratona C de la especie *S. phureja*, que representan el 10,52% de la población estudiada. Cabe anotar, que estas dos poblaciones estuvieron en los mismo grupos de las clasificaciones obtenidas por el ACP y El ACM. El quinto grupo conformado por las variedades Piedra, Jurado S2 y Jurado S1, representan el 15,78%. Las poblaciones Sabanera, Gualcala, Yema de Huevo, Botella y Morasurco no se agruparon con ninguno de los grupos y cada una representa el 5,26% de la poblacion evaluada.

Es importante destacar que la clasificación UPGMA basada en los cinco maracadores RAMs, no separo las especies *S. tuberosum* y *S. phureja*, ya que las poblaciones de la última se distribuyen entre los grupos de la primera; por ejemplo, Borrega de *S. phureja* se ubica en el grupo uno, donde el resto de los miembros pertenecen a *S. tuberosum*. Esto se debe a que las dos especies comparten muchos de estos marcadores, y quiza coinciden por sintenia o por ancestría.

#### CONCLUSIONES

Las características cuantitativas de mayor aporte a los componentes principales fueron longitud de foliolo, diámetro de la planta y días a floración. Las variables cualitativas de mayor aporte a la variabilidad de las especies *S. tuberosum* y *S. phureja* fueron color de cáliz, coloración del pedicelo, intensidad de la coloración de la corola y color de ojos del tubérculo.

La heterocigosidad promedio encontrada indica que existe una alta variabilidad genética dentro de la población estudiada. Los dendrogramas generados por el ACM y por los RAMs, a diferencia del generado por el ACP, no mostraron tendencia al agrupamiento de las variedades de acuerdo a la especie (*S. tuberosum* y *S. phureja*).

Según los análisis de clasificación de ACP, ACM y el dendrograma producido por la caracterización molecular con marcadores RAMs, Ratona C y Ratona T son duplicados.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

ARAMENDIZ, A., ROBLES, J., CARDONA, C., LLANO, J. y ARZUAGA, E. 2006. Caracterización morfológica de la berenjena (*Solanum melongena*. l.). Temas Agrarios 11(1): 5 – 14 pp.

BERNAL, A., ARIAS, J., MORENO, J., VALBUENA, I. y RODRÍGUEZ, L. 2007. Detección de posibles duplicados en la Colección Central Colombiana de papa *Solanum tuberosum* subespecie *andigena* a partir de caracteres morfológicos. Agronomía Colombiana 24(2): 226-237 pp.

BONIERBALE, M., AMOROS, W., ESPINOZA, J., MI-HOVILOVICH, E., ROCA, W. y GÓMEZ, R. 2004. Recursos genéticos de la papa: Don del pasado, legado para el futuro. Revista latinoamericana de la papa. 12p. http://www.uach.cl/alap2004/Charlas%2n Magistrales/9M0Bonierbale%20In%20Extenso%20Recursoso%20Geneticos%20de%20la%20Papa.pdf. Consulta: Agosto 2009.

BONILLA, M., ESPINOSA, K., POSSO, A., VÁSQUEZ, H. y MUÑOZ, J. 2008. Caracterización morfológica de 24 accesiones de uchuva del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Revista Acta Agronómica 57(2):101-108 pp.

DELLAPORTA S.L., WOOD, J. y J.B. HICKS. 1983. A plant DNA minipreparation: Versión II. Plant Mol Biol Rep 1 (14): 19-21.

DEMEY, J., ZAMBRANO, A., FUENMAYOR, F. y SEGOVIA, V. 2003. Relación entre caracterizaciones molecular y morfológica en una colección de yuca. Revista Interciencia. 28(12): 684-689. En: http://www.redyuca.inia.gov.ve/admin/mod01/doc\_principal/docs/45ed5b14920b9.pdf; Consulta: Septiembre 2009.

GEBHARDT, C., BLOMENDAHL, C., SCHACHTSCHABEL, U., DEBENER, T., SALAMINI, F. y RITTER, E. 1989. Identification of 2n breeding lines and 4n varieties of potato (Solanum tuberosum ssp. Tuberosum) with RFLP-fingerprint. Theor Appl Genet. 78: 16-22 pp. En: http://www.springerlink.com/content/xg658405840411h6/. Consulta: Octubre 2009.

HIDALGO, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. En: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogeneticos. Franco, T. Hidalgo, R. eds. Boletín técnico IPGRI Nº 8. Cali, Colombia. 2 – 26 pp.

IPGRI y Cornell University, 2004. Análisis de la diversidad genética utilizando datos de marcadores moleculares: Módulo de aprendizaje. 20p.

http://www.bioversityinternational.org/fileadmin/bioversity/documents/publications/Molecular\_Markers\_Volume\_2\_es/ I.Introducci\_n.pdf. Consulta: 18 de septiembre.

IPGRI. 1985. Minimum list of characteristics of potato varieties *Solanum tuberosum ssp tuberosum*. Roma, Italia. 26p. En: <a href="http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/HTML">http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/HTML</a> Publications/186/index.htm. Consulta: Agosto 2007.

ISPIZUA, V., GUMA, I., FEINGOLD, S. y CLAUSEN, A. 2007. Genetic diversity of potato landraces from northwestern Argentina assessed with simple sequence repeats (SSRs). Genet Resour Crop Evol. 54:1833–1848 pp. En: http://www.inta.gov.ar/balcarce/agrobiotecnolog% C3%ADa/Ispizua\_etal\_2007.pdf. Consulta: Octubre 2009.

MARTINEZ, N. y LIGARRETO, G. 2005. Evaluación de cinco genotipos promisorios de papa *Solanum tuberosum sp. andigena* según desempeño agronómico y calidad industrial. Agronomía Colombiana. 23(1): 17-27 pp.

MORELL, M., PEAKALL, R., APPELS, R., PRESTON, L. y LLOYD, H. 1995. DNA profiling techniques for plant variety identification. Australian journal of experimental agricultura. 35(6): 807-819 pp.

MORENO, J. y VALBUENA, I. 2006. Colección central colombiana de papa la mayor riqueza de variabilidad genética para el mejoramiento del cultivo. Centro de investigación Tibaitata. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Tibaitata, Colombia, 9 p

NEI, M. LI. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleasa. Proc Nati Acad Sci. USA. 79:5267-5273.

ÑÚSTEZ, C., TINJACÁ, S. y COTES, M. 2008. Caracterización Molecular con Microsatelites (SSRs) de la Colección de Solanum

tuberosum grupo phureja de la Universidad Nacional de Colombia. 261-262p. Memorias XXIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, Mar del Plata, Argentina.

PHILLIPS, W., RODRÍGUEZ, H. y FRITZ, P. 1995. Marcadores de AND: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo, con ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Costa Rica., 176 p.

PÉREZ, J. 2004. Evaluación de la diversidad genética de papas nativas (Solanum tuberosum L. ssp. tuberosum Hawkes) silvestres y cultivadas del sur de Chile, mediante el uso de marcadores microsatélites. Tesis de grado Lic. Agrónomo Valdivia. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. 97pp. En: http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fap438e/html/index-frames.html. Consulta: Septiembre 2009.

PORRAS, P. 1999. La papa en Colombia: Desarrollo de una cadena agroalimentaria estratégica. Revista FEDEPAPA. N° 20: 21p.

RAMÍREZ, M. y CEPEDA, F. 1998. Colección y caracterización de variedades nativas de papa guata *Solanum tuberosum* subespecie *andigena* del Departamento de Nariño. Tesis de grado. Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. Pasto.50 p.

RITTER, E., LUCCA, F., SÁNCHEZ, I., RUIZ, J., ARAGONÉS, A., CASTAÑÓN, S., BRYAN, G., ROBBIE WAUGH, R., LEFEBVRE, V., ROUSSELLE-BOURGOISE, F., GEBHARDT, C., VAN ECK, H., VAN OS, H., TACO, J. y BAKKER, J. 2004. Recursos genómicos en la papa y posibilidades de su explotación. Suplemento revista latinoamericana de la papa. 17p. Vitoria, España.

ZIETKIEWICZ, E., RAFALSKI, A. y LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinter by Simple Sequence Repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 20: 176-183 pp. En: http://www.lib.ctgu.edu.cn:8080/wxcd/qw/6.pdf. Consulta: Julio 2009.

ZIETKIEWICZ, E., RAFALSKI, A. y LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinter by Simple Sequence Repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 20: 176-183 pp. En: http://www.lib.ctgu.edu.cn:8080/wxcd/qw/6.pdf. Consulta: Julio 2009.