

**CARACTERIZACION MORFOLOGICA Y MOLECULAR DE 18
INTRODUCCIONES DE UCHUVA *Physalis peruviana* L. DE LA COLECCIÓN DE
LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF 18
INTRODUCTIONS OF CAPE GOOSEBERRY *Physalis peruviana* OF THE
NARIÑO'S UNIVERSITY COLLECTION**

Anjuly Morillo P¹, Diana Villota C², Tulio César Lagos B³ y Héctor Ramiro Ordoñez J⁴.

RESUMEN

Diez y ocho introducciones de Uchuva de la colección de la Universidad de Nariño fueron caracterizadas morfológica y molecularmente con marcadores RAMs. Para la caracterización morfológica se sembraron 10 plantas de cada introducción en la Granja Botana de la Universidad de Nariño, localizada en el Altiplano de Pasto a 2820 msnm. A través del Análisis de Componentes Principales (ACP) se determinó que el 81,75% de la variabilidad total de la población estudiada, respecto a las variables cuantitativas, está representada por tres componentes principales, definidos por características relacionadas con el fruto y la semilla. En cuanto a las cualitativas, el Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) indica que el 61,51% de la variabilidad total, está explicada por cinco factores, definidos principalmente por variables relacionadas con la flor y el cáliz. El Análisis de Clasificación con base en la caracterización morfológica, agrupó las introducciones por grados Brix y longitud del cáliz. En la caracterización molecular se encontraron 66 loci polimórficos con bandas de 500 a 3000 pb. El valor de heterocigosidad para las 18 introducciones fue de 0,44. Con base en el criterio de distancia genética de Nei-

Artículo para optar el título de Ingeniero Agroforestal

¹ Ingeniera Agroforestal. Universidad de Nariño. anjulymorillo@gmail.com

² Ingeniera Agroforestal. Universidad de Nariño. dianitavillota@hotmail.com

³ I. A. PhD. Profesor Asociado Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. tclagosb@udenar.edu.co

⁴ I. F. MSc. Profesor Asistente Facultad Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. hectoramiro@hotmail.com

Li, se encontró la menor distancia genética (0,095) entre UN-34 y Sylvania, la mayor distancia genética (1,42) se dio entre el Ecotipo Colombia y Perú. Los agrupamientos de la caracterización morfológica y molecular no son coincidentes, probablemente debido a que los caracteres fenotípicos y genotípicos estudiados en este trabajo son gobernados por diferentes factores.

Palabras clave: Variabilidad, ACP, ACM, Análisis de Clasificación, distancia genética.

ABSTRACT

Eighteen Gooseberry introductions from the collection of Nariño's University were characterized morphological and molecular RAMs markers. For the morphological characterization were planted 10 plants of each entry in the Farm Botana, Nariño's University, located in the highlands of Pasto to 2820 masl. Through the Principal Component Analysis (PCA) was found that 81,75 % of the total variability of the study population, regarding quantitative variables, is represented by three main components, defined by characteristics related to fruit and seed. In terms of qualitative Multiple Correspondence Analysis (MCA) indicates that 61,51% of the total variability is explained by five factors, defined mainly by traits related to the flower and calyx. The classification analysis based on morphological, grouped by Brix introductions and length of calyx. Molecular typing 66 polymorphic loci were found with bands of 500 to 3000 bp. The value of heterozygosity for the 18 introductions was 0.44. Based on the genetic distance criterion Nei-Li, was found less genetic distance (0.095) between A-34 and Sylvania, the largest genetic distance (1.42) occurred between Ecotype Colombia and Peru. Clusters of morphological and molecular characterization are mismatched, probably because phenotypic and genotypic characteristics studied in this work are governed by different factors.

Keywords: Variability, PCA, MCA, Classification analysis, genetic distance.

INTRODUCCION

En años recientes, el consumo de la Uchuva *Physalis peruviana* L., se ha incrementado paulatinamente, al igual que la posibilidad de ampliar sus exportaciones como fruta exótica, lo cual ha incentivado su desarrollo como cultivo comercial (Ligarreto *et al.*, 2005), de ahí que se reconoce entre los frutales andinos de mayor potencialidad y grado de desarrollo junto con el lulo (*Solanum quitoense*), el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y la mora (*Rubus glaucus*) (Lobo, 2006).

Con base en la metodología de evaluación de tierras de la FAO, se puede establecer que en el departamento de Nariño, existen zonas potenciales para el cultivo de uchuva. Junto con los departamentos de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Cauca, Huila, Magdalena y Tolima, Nariño cuenta con una ubicación estratégica en relación con los mercados (Fischer *et al.*, 2000 y Miranda, 2005).

El crecimiento de *P. peruviana* como cultivo enfocado principalmente a la exportación, hace necesario utilizar la variabilidad genética existente en Colombia, principalmente en actividades de selección de mejores materiales o de premejoramiento. Lobo (2006) señala que la utilización plena del potencial genético de cualquier cultivo, incluidos los frutales, depende de la disponibilidad de una base genética amplia para poder aplicar procesos de selección. Así mismo, se relaciona con la existencia de colecciones representativas de la diversidad, así como de un buen conocimiento de los atributos presentes en estas, de lo cual se deriva la importancia de conocer, conservar y manejar los recursos genéticos de especies de gran potencial como *P. peruviana*, sobre todo en regiones como Nariño.

Por su parte la Universidad de Nariño cuenta con una colección de 60 introducciones, la mayoría de los cuales fueron colectados en Nariño y caracterizados morfológicamente por Lagos *et al.* (2003). Otras introducciones fueron donadas por la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, que posee la mayor colección de Colombia con más de 220 accesiones (Bonilla *et al.*, 2008a). Dicha colección puede ser de gran utilidad en programas

de mejoramiento genético y para el desarrollo de estrategias de conservación de la variabilidad genética existente en *P. peruviana*. Por lo tanto, es necesario conocer su estructura genética y el nivel de variabilidad genética existente entre las distintas introducciones, con el objeto de trazar estrategias de conservación y mejoramiento.

En Colombia, las primeras referencias de trabajos de evaluación y caracterización morfológica de *P. peruviana* y especies relacionadas corresponden, a los realizados por Pulgarín (1989), donde se realizó una caracterización fenotípica preliminar de 13 materiales de uchuva (*Physalis peruviana* L.) procedentes de Ecuador y Colombia. Este autor encontró la mayor variabilidad en la forma y tamaño del cáliz, forma y peso del fruto. Sin embargo, para los 36 descriptores utilizados, 16 no presentaron ninguna variación para el grupo de materiales evaluados, bajo las condiciones en que esta se realizó.

Arbeláez *et al.* (1990) en Corpoica la Selva llevaron a cabo una caracterización y evaluación fenotípica de 68 materiales del género *Physalis*, de los 36 descriptores empleados por estos autores, seis no presentaron variabilidad alguna en las colecciones de las dos especies. Estos descriptores corresponden a características cualitativas poco influenciadas por el ambiente, como antocianina en las venas foliares, pubescencia en el estilo, color de la corola, color de las manchas de la corola, color del fruto inmaduro y forma del cáliz.

En la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira existe el estudio llevado a cabo por Bonilla *et al.* (2008c) donde se caracterizaron morfológicamente 24 genotipos, los cuales no presentaron un agrupamiento acorde a su lugar de origen. Molecularmente en la caracterización molecular se evaluaron 43 genotipos encontraron un total de 44 loci polimórficos y una heterosigocidad de 0,22.

En el departamento de Nariño se cuenta con los trabajos realizados por Lagos *et al* (2003), donde se caracterizaron morfológicamente 50 genotipos, y se encontró que el mayor aporte a la variabilidad de la especie se da por las variables relacionadas principalmente con el

fruto, de igual manera se cuenta con el trabajo de Lagos (2001), que caracterizó molecularmente 19 introducciones de uchuva, y encontró una heterosis de 0.30, y un total de 66 loci polimórficos.

Es necesario continuar con los estudios básicos para establecer la estructura genética de estas poblaciones y conocer el grado de divergencia entre ellas que permita el desarrollo de nuevas investigaciones sobre esta especie.

Acorde con lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron caracterizar morfológica y molecularmente 18 introducciones de Uchuva de la colección de la Universidad de Nariño, evaluar la diversidad genética de la población estudiada a través de la técnica RAMs y determinar la distancia genética entre las diferentes introducciones.

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se desarrolló en dos fases. La primera corresponde a la caracterización morfológica que se realizó en la Granja Experimental Botana localizada en el Altiplano de Pasto (Nariño) a 2820 msnm, en las coordenadas 01°09'12" LN y 77°18'31" LO), con temperatura promedio de 13 °C y 970 horas sol/año, precipitación pluvial promedio de 803 mm/año y humedad relativa del 82% (Lagos *et al.*, 2001). La segunda fase se llevó a cabo en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

En la Tabla 1 se describen las características más importantes de las 18 introducciones de uchuva, de la colección de la Universidad de Nariño. El 55 % de las introducciones provienen del departamento de Nariño, el 16% de Cundinamarca, el 11% de Caldas, el 11% de Cauca y el 5% de Perú. Las introducciones codificadas con UNPU y Perú son donaciones de la UNAL sede Palmira por el grupo de investigación de Diversidad Biológica, las introducciones restantes fueron caracterizadas por Lagos *et al.* (2003).

Tabla 1. Origen y características principales de 18 introducciones de *P. peruviana* L. pertenecientes a la colección de la Universidad de Nariño.

No.	Introducción	Origen	GB	PBM	PSS	TTB	TLB
1	UN19	Catambuco	15,92	4,43	224,8	1,9	1,9
2	UN30	La Laguna	15,6	4,3	252,8	1,94	1,9
3	UN34	El Encano	15,54	4,55	209,4	1,96	2
4	UN36	Morasurco	16,52	3,87	103,8	1,87	1,86
5	UN40	Potosí	14,36	4,77	287,8	2,05	2,03
6	UN43	Aldana	15,74	5,41	160,2	2,12	2,07
7	UN45	Tuquerres	15,92	5,48	111,4	2,14	2,03
8	UN48	Tangua	15,64	3,4	204,4	1,8	1,79
9	UN49	Yacuanquer	15,08	4,47	151,2	1,98	1,9
10	UN52	Nariño	17,12	4,39	200	1,94	1,96
11	Ecotipo Colombia	Silvania (Cundinamarca)	16,64	4,72	201	2,01	1,97
12	Kenya	Cundinamarca	14,46	8,07	183,6	2,48	2,29
13	UNPU222	Manizales	16,8	4,44	180	1,97	1,92
14	UNPU079	Morales (Cauca)	17,36	4,9	228,6	2,03	2,02
15	UNPU106	Neira (Caldas)	18,96	4,86	204,8	1,98	2,04
16	Perú	Perú	15,2	5,56	190	2,15	2,04
17	UNPU110	Puracé (Cauca)	16,7	4,42	178	1,98	1,96
18	UNPU006	Silvania (Cundinamarca)	18,6	6,01	191	2,26	2

Para la caracterización morfológica se sembraron en la granja Experimental Botana 10 plantas de cada introducción, con distancia entre plantas de 2 m y 2,50 m entre surcos. De las variables evaluadas y propuestas por Lagos *et al.* (2003) y Bonilla *et al.* (2008b), se tomaron para este estudio 11 cuantitativas y 8 cualitativas.

Las variables cuantitativas corresponden a grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$), número de semillas por baya (NSB), ancho de hoja (AH), longitud de hoja (LH), diámetro de flor (DIAF), longitud de cáliz acrescente (LCA), ancho de cáliz acrescente (ACA), peso de baya madura (PBM), eje

polar de la baya (EPB), diámetro ecuatorial de la baya (DEB) y peso de semilla seca (PSS). Las variables cualitativas corresponden a color de semilla seca (CSS), prolongación de la mácula (PM), pegajosidad (PG), pubescencia (PB), forma de cáliz (FC), forma de fruto (FF), color de fruto maduro (CFM) y hábito de crecimiento (HC).

En cuanto a la caracterización molecular, esta tiene tres etapas, que comprenden la extracción de ADN, establecer los perfiles térmicos para los marcadores RAMs y correr los amplificadores a través de la electroforesis vertical.

Para la extracción de ADN se trabajó con base en la metodología de Dellaporta *et al.* (1983). Se maceraron 30 mg de tejido vegetal proveniente de cogollos de 10 plantas en tampón de extracción compuesto por EDTA 1M, Tris HCl 0,5M, NaCl 5M, PVP y Betamercaptoetanol. Esta mezcla se llevó a tubos eppendorf de 1,25 ml y se adicionó 110 µl de SDS 10%. Luego se incubó en baño María a 65°C durante 20 minutos, agitando frecuentemente.

A cada muestra se agregó 300 µl de acetato de potasio 5M frío y se dejó a temperatura ambiente por 10 minutos. Se centrifugó a 12000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se llevó a un nuevo tubo donde se agregaron 600 µl de isopropanol y se llevó a -20 °C por 12 h para precipitar el ADN. Después de la incubación, las muestras se centrifugaron a 14000 rpm durante 10 minutos para recuperar los ácidos nucleicos y eliminar el isopropanol. Luego se dejó secar por una hora sobre toalla bajo cámara extractora de gases. Se resuspendió en 80 µl de Tampón 1X TE. El ADN se conservó a 4°C hasta su utilización. Las concentraciones de ADN se estimaron por comparación con patrones conocidos de ADN del bacteriófago lambda en gel de agarosa del 0,8%.

Para la amplificación de los microsatélites RAMs vía PCR se utilizaron seis primers RAMs (Random Amplified Microsatellites) (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Tabla 2) escogidos por manifestar polimorfismo y repetibilidad en especies como *Rubus spp.* (Morillo *et al.*, 2005), *Pisidium guajava* (Sanabria *et al.*, 2006), y *Heliconia spp.* (Arcos *et al.*, 2004) y en

Physalis peruviana (Lagos, 2001 y Bonilla *et al.*, 2008c). Se determinaron las condiciones óptimas de cloruro de magnesio, cebador y buffer Taq polimerasa. Se utilizaron 200µM de DNTP y 1U de Taq polimerasa ((Promega®), en un volumen total de reacción de 12,5 µL. La amplificación se realizó en un termociclador PTC-100 Programmable Thermal Controller de MJ Research. Inc®. La desnaturalización inicial fue de 95 °C durante 5 minutos, 37 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos. La temperatura de hibridación para los diferentes cebadores fue entre 50 y 58°C por 45 segundos (Tabla 2), una extensión a 72°C por dos minutos y finalmente 72 °C durante siete minutos.

Tabla 2. Cebadores utilizados en la técnica Microsatélites RAMs para el estudio de la diversidad genética de 18 introducciones de *P. peruviana* L.

PRIMERS	SECUENCIA	Temperatura de hibridación
GT	VHVGTTGTGTGTGTA	58°C
CT	DYDCTCTCTCTCTCTC	55°C
CGA	DHBCGACGACGACGACGA	58°C
AG	HBHAGAGAGAGAGAGAGA	50°C
TG	HVHTGTGTGTGTGTGTGT	55°C
CCA	DDBCCACCACCACCA	55°C

Los amplificadores se separaron por electroforesis (1 hora en Tampón TBE 0,5X a 160 V) en geles de poliacrilamida al 8%, usando sales de plata para la tinción. La visualización de los geles se hizo directamente sobre ellos, utilizando un fondo de luz blanca. El peso de los amplificadores, se estimó por comparación con el marcador Lambda de 100pb (Promega®).

La información de las variables cuantitativas se sometió a un Análisis de Componentes Principales (ACP) y las cualitativas a un Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM). Con base en estos dos análisis, se realizó el Análisis de Clasificación Jerárquica teniendo en cuenta los criterios de Ward (Morineau, 1984).

La información proveniente de la caracterización molecular, se organizó en una matriz binaria, donde la presencia de la banda fue uno y la ausencia cero. Con el uso del software

para el análisis de datos moleculares TFPGA (Tools For Population Genetic Analysis) (Miller, 1997), se obtuvieron las estadísticas descriptivas de frecuencias alélicas y de heterocigotos, las heterocigosidades observada y esperada, el porcentaje de loci polimórficos. Las distancias genéticas se calcularon mediante las distancias mínimas insesgadas de Nei-Li (1978) y se construyó un dendrograma con base en el método de agrupamiento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), el cual utiliza el promedio aritmético no ponderado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ACP indica que los tres primeros componentes principales (CP) expresan el 81,75% de la variabilidad total, donde el primer CP explica el 42,24%, el segundo el 23,64% y el tercero el 15,87% de la variación encontrada en la población estudiada (Tabla 3).

El primer CP está determinado por las variables relacionadas con el fruto como el ancho de cáliz acrescente (ACA), peso de baya madura (PBM), diámetro ecuatorial de la baya (DEB) y eje polar de la baya (EPB), con correlaciones variable factor que van entre 0,79 y 0,87. El segundo CP está determinado por el número de semillas por baya (NSB) y peso de semilla seca (PSS) con valores r_{v-f} de 0,76 y 0,72, respectivamente, y el tercer CP está definido por los grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$), con un aporte al factor del 0,88 (Tabla 4). Estas variables son de gran importancia en estudios de caracterización de Uchuva, debido a la variabilidad que se ha encontrado en este trabajo como en investigaciones similares realizadas por Bonilla *et al.* (2008b), Lagos *et al.* (2003) y Pulgarin (1989).

El dendrograma del Análisis de Clasificación generado a partir del ACP (Figura 1A) de las 18 introducciones de Uchuva, muestra cinco grupos a una distancia de 7. En el primer clúster se encuentran agrupadas las introducciones UN-40 y UN-30, que representan el 11,11% del total de las introducciones.

Tabla 3. Análisis de componentes principales (ACP) y de correspondencias múltiples (ACM) para variables cuantitativas y cualitativas para 18 introducciones de *P. peruviana* L.

ACP				ACM			
No.	V.P	P	PA	No	V.P	P	P.A
1	4,6462	40,24	42,24	1	0,4072	19,16	19,16
2	2,6000	23,64	65,87	2	0,2563	12,06	31,22
3	1,7459	15,87	81,75	3	0,2380	11,20	42,42
4	0,8410	7,65	89,39	4	0,2188	10,30	52,72
5	0,4221	3,84	93,23	5	0,1867	8,79	61,51

No.: Numero; V.P: Valor propio; P: Porcentaje de varianza en cada valor propio; P.A: Porcentaje de varianza acumulado.

Tabla 4. Aporte a la construcción de los tres primeros CP en el ACP de las variables cuantitativas evaluadas en 18 introducciones de *P. peruviana* L.

Variable	Correlación variable factor (r_{v-f})		
	1	2	3
Ancho de la hoja (AH)	-0,59	0,47	-0,09
Longitud de hoja (LH)	-0,58	0,49	-0,11
Diámetro de flor (DIAF)	-0,54	0,40	0,46
Longitud de cáliz acrescente (LCA)	-0,74	-0,03	0,44
Ancho de cáliz acrescente (ACA)	-0,87	-0,23	0,30
Grados Brix ($^{\circ}$ Bx)	-0,19	0,19	0,88
Peso de baya madura (PBM)	-0,78	-0,56	-0,24
Eje polar de la baya (EPB)	-0,79	-0,43	-0,28
Diámetro ecuatorial de la baya (DEB)	-0,79	-0,55	-0,22
Número de semillas por baya (NSB)	-0,30	0,76	-0,36
Peso de semilla seca (PSS).	-0,50	0,72	-0,38

Este grupo presenta características de fruto como TLB (1,97 cm), TTB (2 cm), ACA (2,74 cm), PBM (4,54 g), LCA (3,68 cm) y grados brix (14,98 $^{\circ}$ Bx) menor respecto al promedio

general (1,99 cm, 2,04 cm, 2,82 cm, 4,90 g, 3,93 cm y 16,23°Bx en su orden), a excepción de NSB (270) por encima del promedio general (192). Las introducciones que forman este grupo, fueron colectadas en el departamento de Nariño en el municipio de Potosí (2669 msnm) y en el municipio de Pasto, vereda La Laguna (2795 msnm).

El segundo grupo está conformado por nueve introducciones (UN-49, UN-19, UN-34, Manizales, Perú, UN-52, Puracé, UN-43 y UN-45) que representan el 50% de la población estudiada. En este clúster, los valores de los descriptores evaluados como grados brix (17,89 °Bx), DIAF (2,08 cm), LCA (4,35 cm), ACA (3,10 cm), PSS (0,22 g), PBM (5,13 gr), TTB (2,08 cm) y TLB (2,01 cm) presentaron valores superiores al promedio general (16,23°Bx, 1,95 cm, 3,96 cm, 2,82 cm, 0,20, 4,90 g, 2,04 cm y 1,99 cm, en su orden). La mayoría de las introducciones dentro del grupo fueron colectadas en el departamento de Nariño entre los 1900 y 3100 msnm.

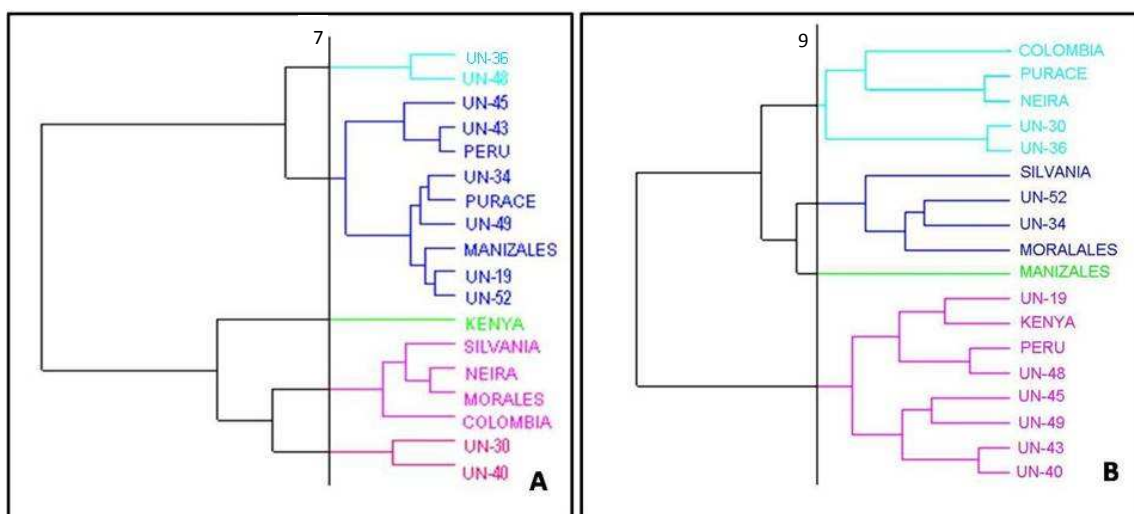


Figura 1. Dendrogramas del Análisis de Clasificación jerárquica de 18 introducciones de *P. peruviana* L. con base en el ACP (A) y en el ACM (B).

A la distancia de siete, Kenya no se agrupó con ninguna introducción; sin embargo, se encuentra cercana al cuarto y quinto clúster, agrupándose con estos a una distancia de 26,46. Esta introducción presenta un PBM de 8,07 g superior al promedio general (4,90 g)

y con un menor valor para grados brix ($14,46^{\circ}\text{Bx}$) respecto al promedio general ($16,23^{\circ}\text{Bx}$). Esta población se introdujo a Colombia desde África en 1988 por Fisher *et al.* (2005) y proviene del departamento de Cundinamarca.

El cuarto clúster está formado por cuatro introducciones (Morales, Neira, Caldas y Sylvania) que representan el 22% de las introducciones caracterizadas, las cuales presentan características por encima del promedio general. Las variables que agruparon estas introducciones fueron los grados brix, los DIAF y la LCA, siendo los grados Brix ($17,89^{\circ}\text{Bx}$) superiores al promedio general ($16,23^{\circ}\text{Bx}$), dentro de este grupo se encuentran introducciones cultivadas en los departamentos de Caldas, Cauca y Cundinamarca.

El quinto clúster está formado por las introducciones UN-48 y UN-36, las cuales se agruparon principalmente por su LH ($7,21\text{cm}$) menor al del promedio general ($8,54\text{ cm}$), grados brix ($16,08^{\circ}\text{Bx}$) menor al promedio general ($16,23^{\circ}\text{Bx}$), NSB (154) menor al promedio general (192), PBM ($3,64\text{ g}$) menor al promedio general ($4,90\text{ g}$), LCA ($3,46\text{ cm}$) menor que el promedio general ($3,96\text{ cm}$) y ACA ($2,45\text{ cm}$) menor que el promedio general ($2,82\text{ cm}$). Estas introducciones fueron colectadas en el departamento de Nariño, en los municipios de Tangua (2400 msnm) y Morasurco (msnm).

En el ACM los cinco primeros ejes explican el 61,51%, de la variabilidad total. A esta, los tres primeros valores propios le aportan el 19,16, el 12,02 y el 11,2%, en su orden (Tabla 3). El primer eje está definido por la PM y la FC con un aporte (A_{v-f}) a la construcción del eje del 18,0 y 16,6%, respectivamente. La modalidad de mayor importancia para PM fue la presencia ($A_{v-f} = 12\%$) y para FC, el ligulado ($A_{v-f} = 8,2\%$).

El segundo eje está definido por la PG ($A_{v-f} = 23,6\%$) y el CSS ($A_{v-f} = 29,9\%$). La modalidad de mayor importancia para la PG fue intermedia ($A_{v-f} = 15,7\%$) y para CSS fue ocre oscuro ($A_{v-f} = 9,7\%$). El tercer eje está conformado por el CSS ($A_{v-f} = 36,2\%$) y CFM ($A_{v-f} = 21,4\%$). Para estas variables las modalidades de mayor aporte fueron CSS ocre claro y CFM naranja oscuro, con aportes del 17,6 y 10,1%, respectivamente.

En el análisis de clasificación con base en el ACM de las 18 introducciones de Uchuva se encontraron cuatro clúster formados a una distancia de 9, siendo los más importantes el primer y cuarto que agrupan al 44 y 28% de la población, en su orden. El primer clúster lo conforman las introducciones UN-48, UN-40, UN-19, UN-43, Perú, UN-45, UN-49 y Kenya. Las variables que agruparon estas introducciones fueron FC urceolado y PB abundante (Figura 2).

El segundo clúster está formado por la introducción Manizales, a la distancia de 9 no se agrupó con ninguna introducción; sin embargo se encuentra cercano al primer y tercer clúster, agrupándose a una distancia de 10,07. Esta introducción se caracteriza por presentar color de semilla crema oscuro.

El tercer clúster lo componen las introducciones UN-34, Sylvania, Morales y UN-52, que corresponde al %, agrupadas por la PG abundante, la FC ligulado. Finalmente el cuarto clúster lo forman las introducciones Neira, UN-36, UN-30, Colombia y Purace, agrupadas principalmente por la FF ovoide.

Respecto a la caracterización molecular, los cebadores RAMs utilizados en la caracterización molecular generaron un total de 1188 registros de presencia y ausencia de bandas, de los cuales el 71,29% corresponden a presencia y el 28,70% a ausencia. Se identificaron 66 loci con bandas que van desde 500 a 3000 pb. Al respecto, Bonilla *et al.* (2008c) en un estudio similar, encontraron 42 loci polimórficos en 43 genotipos evaluados y Lagos (2001) encontró un total de 66 loci polimórficos en 19 accesiones evaluadas.

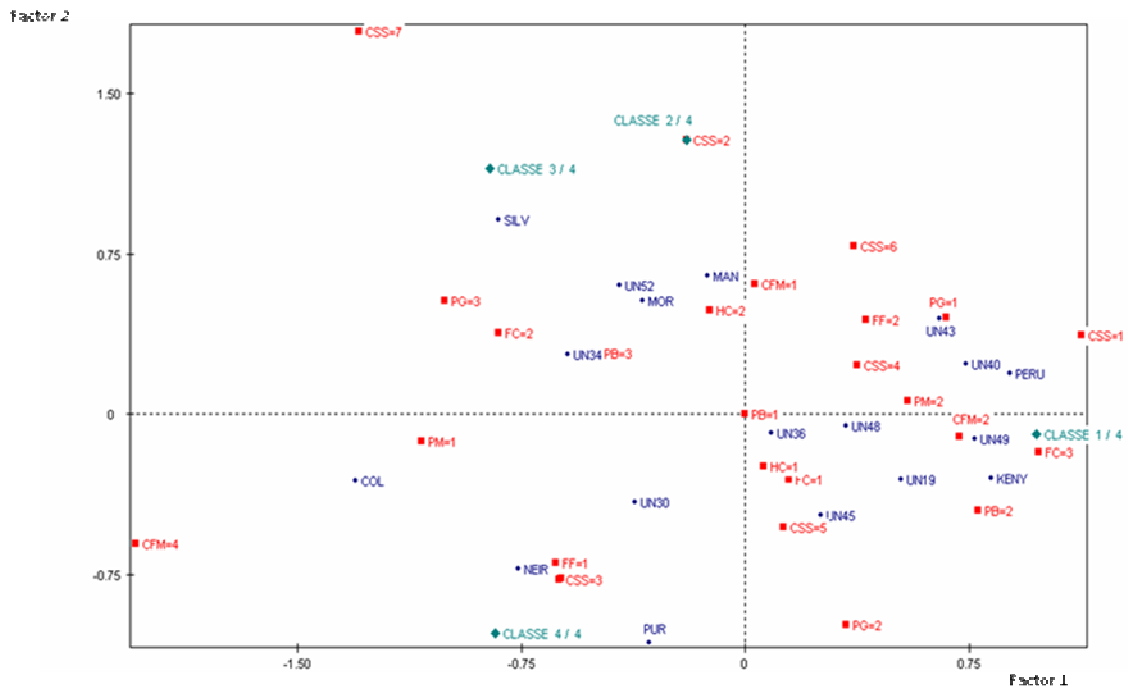


Figura 2. Representación gráfica en un plano factorial del aporte de las variables cualitativas (color rojo) a los factores 1 y 2 en el ACM de 18 introducciones (color azul) de *P. peruviana* L.

Los marcadores RAMs utilizados en este trabajo, fueron polimórficos en un 98,48% ($P < 0,01$). AG, CCA, GT, TG y CT (Figura 3) presentaron el 100% de loci polimórficos. De igual manera, se presentaron altos valores de heterocigosidad insesgada (H_e), con un valor mínimo de 0,36 para el primer CGA y un valor máximo de 0,47 y 0,46 para los cebadores GT y AG, respectivamente. Estos dos últimos cebadores pueden ser útiles para obtener una mayor discriminación entre genotipos de Uchuva, por presentar mayores valores de H_e .

La H_e para las 18 introducciones fue de 0.44, siendo mayor a la reportada por Lagos (2001) y Bonilla *et al.* (2008c) que fueron de 0,3 y 0,2, en su orden. Esto se debe a que en las introducciones evaluadas existe mayor variabilidad en las procedencias, y las pertenecientes al departamento de Nariño son poblaciones con una menor presión de selección por encontrarse en estado semidomesticado.

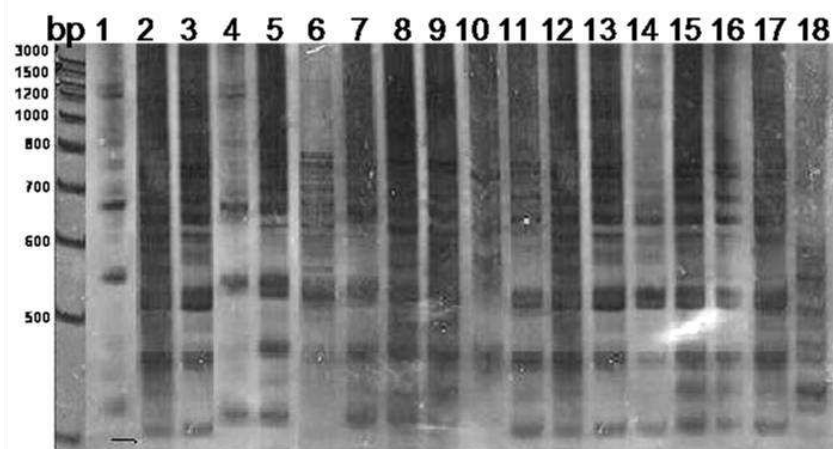


Figura 3. Marcadores RAMs obtenidos con el cebador CCA en las introducciones evaluadas, en gel de poliacrilamida.

Berg y Hamrick (1997) indican que las frecuencias alélicas son el parámetro genético básico de una población, puesto que introducciones con diferentes frecuencias genotípicas pueden tener frecuencias alélicas idénticas; además, la evolución se ha definido como un cambio en las frecuencias alélicas a través del tiempo, lo cual conlleva a una mayor o menor distancia genética entre dos poblaciones.

La menor distancia genética de Nei Li (1978) se encontró entre las introducciones UN-34 (Encano, Nariño) y Sylvania (Cundinamarca), con un valor de 0,095. La similitud genética entre dos introducciones se debe al movimiento de germoplasma dado entre las diferentes regiones por acciones antrópicas.

La mayor distancia genética (1,42) se dio entre el Ecotipo Colombia y Perú. Esta separación genética se explica por el amplio distanciamiento geográfico entre los sitios de origen de las dos introducciones, lo cual limita considerablemente el flujo de genes. Este distanciamiento genético puede ser útil en trabajos de mejoramiento, debido a que pueden generar una amplia variabilidad genética. El agrupamiento de las 18 introducciones de *P. peruviana* de manera general se muestra en el dendograma generado por el método UPGMA (Figura 4).

En dendrograma (Figura 4) se identifican cuatro grupos (A, B, C y D) a un nivel de similaridad superior al 50%; las introducciones evaluadas no se agruparon de acuerdo al origen geográfico, a excepción de los materiales colectados en los departamentos de Caldas y Cauca.

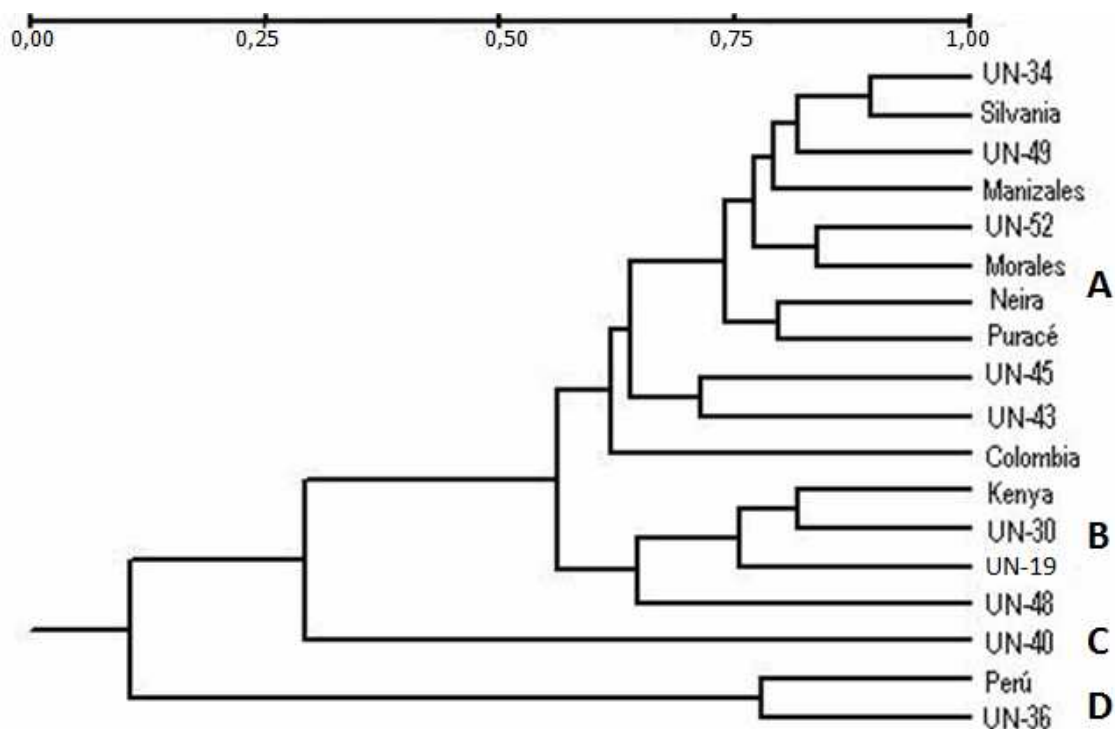


Figura 4. Dendrograma de la estructura genética de 18 introducciones de *P. peruviana* L. basado en el coeficiente de similaridad de Nei-Li y calculado de los datos combinados de los 6 cebadores microsátelites RAMs con el método de clasificación UPGMA.

En las cuatro agrupaciones del dendrograma están presentes introducciones provenientes de Nariño, demostrando que la mayor parte de la variabilidad se encuentra presente en este departamento; además, el nivel de alogamia de la especie y el uso que el agricultor le da como especie semidosmesticada, son fenómenos que aportan a la variación.

El grupo B se encuentra conformado por introducciones provenientes de Nariño (UN-30, UN-19 y UN-48) y la introducción Kenya, aunque se presentaron diferencias a nivel morfológico, estos materiales se agruparon de acuerdo a características genotípicas, debido a que los marcadores moleculares, en general, son neutros con relación a los efectos fenotípicos y contienen mayor información genética por locus que los marcadores morfológicos. (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

El grupo D está formado por la introducción proveniente del departamento de Nariño UN-36 y la introducción Perú, las cuales muestran un grado de similitud mayor del 75%. Este valor fue el menor distanciamiento encontrado entre los cuatro grupos. Esto se debe al flujo de genes que existe, desde los andes peruanos extendiéndose por toda la cadena montañosa sudamericana que atraviesa Colombia hasta Venezuela

Los agrupamientos de la caracterización morfológica y molecular no son coincidentes, dado que los caracteres fenotípicos están influenciados por el ambiente y algunos de ellos no son heredables y los caracteres genotípicos pueden no encontrarse expresados en el fenotipo (Lobo, 2006).

Las introducciones UN-34 y UN-52 provenientes de Nariño, se encuentran altamente relacionadas dentro de la colección debido a que se agruparon en el ACP, ACM y el dendrograma de estructura genética. Por otra parte, la introducción Kenya se encuentra agrupada en el ACM y en clasificación generada por los marcadores RAMs con las poblaciones UN-19 y UN-48, provenientes de Catambuco y Tangua; sin embargo, se encuentran en grupos distantes en el ACP.

Lo anterior, refleja la estrecha relación existente en las características morfológicas cualitativas y las moleculares, ya que las variables cualitativas son las de mayor heredabilidad (Lobo, 2006). El agrupamiento dado por el ACM y el dendrograma de estructura genética, también es coincidente para las introducciones Sylvania, Morales y UN-34, provenientes de Cundinamarca, Cauca y Nariño. Ferreira y Grattapaglia (1998) afirman

que como resultado complementario a la caracterización morfológica, existen estudios de valor agregado que permiten perfeccionar el conocimiento de los recursos genéticos y promueven su utilización, como los marcadores moleculares.

CONCLUSIONES

Los caracteres de mayor aporte a la variabilidad de *P. peruviana* son los relacionados con el fruto (forma del cáliz, peso de baya madura, ancho de cáliz acrescente), siendo útiles en estudios de variabilidad de la especie.

Los valores de polimorfismo y heterocigosidad insesgada, en las 18 introducciones de *P. peruviana* de la colección de la Universidad de Nariño fueron altos, especialmente los mostrados por los marcadores moleculares GT y AG.

La mayor distancia genética se presentó entre el Ecotipo Colombia y Perú, siendo estas introducciones útiles para programas de premejoramiento, debido a su amplia variabilidad genética.

Los análisis de clasificación de la caracterización molecular y morfológica no permitieron establecer grupos por origen geográfico, evidenciándose un flujo genético entre las introducciones evaluadas.

BIBLIOGRAFIAS

Arbeláez, C. y Mora, M. 1990. Caracterización fenotípica de uchuva (*Physalis sp.*). Trabajo de grado Ingeniería Agronómica, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Palmira. 69 p.

Arcos, A.; Mondragón, A.; Muñoz, J.; Botero, S. 2004. Colecta y caracterización molecular con marcadores tipo RAM (Microsatélites aleatorios) de heliconias y especies relacionadas.

p 346 – 347. En: Congreso Colombiano de Botánica: Botánica Diversidad y Cultura, 2, Popayán, Noviembre. Memorias

Berg, E.; Hamrick, J. 1997. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Canad. J. Forest Res.* 27:415-424.

Bonilla, M.; Espinosa, K.; Posso, A.; Vásquez, H.; Muñoz, J. 2008a. Establecimiento de una colección de trabajo de uchuva del suroccidente colombiano. *Acta Agronómica (Palmira)*. 57(2): 95-99.

Bonilla, M.; Espinosa, K.; Posso, A.; Vásquez, H.; Muñoz, J. 2008b. Caracterización morfológica de 24 accesiones de uchuva del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. *Acta Agronómica (Palmira)*. 57(2): 101-108

Bonilla, M.; Espinosa, K.; Posso, A.; Vásquez, H.; Muñoz, J. 2008c. Caracterización molecular de 43 accesiones de seis departamentos de Colombia. *Acta Agronómica (Palmira)*. 57(2): 109-115.

Dellaporta S., Wood, J., Hicks, J. 1983. A plant DNA miniprep: Versión II. *Plant Molecular Biologic Report* 14:19 – 21.

Ferreira, M. y Grattapaglia, D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. EMBRAPA- Cenargem. Brasilia D.F. 221 p.

Fischer, G., Florez, R., Angel, D. y Sora, R. 2000. Producción, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* L., Bogotá, Universidad Nacional de Colombia sede Santa Fé de Bogotá, Facultad de Agronomía. 175pp.

Fisher, G.; Miranda, D.; Piedrahita, W.; Romero, J. 2005. Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* L. en Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. 221pp.

Lagos, T., Criollo, H. y Mosquera, C. 2001. Evaluación preliminar de cultivares de uvilla o uchuva (*Physalis peruviana* L.) para escoger materiales con base en la calidad del fruto. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 18(2): 82-94.

Lagos, T. 2001. Diversidad genética de 19 accesiones de *Physalis peruviana* L., de la colección de la Universidad de Nariño. Trabajo de ascenso asociado. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño. 45p.

Lagos, T.; Criollo, H.; Ibarra, A.; Hejeile, H. 2003. Caracterización morfológica de la colección Nariño de uvilla o uchuva *Physalis peruviana* L. *Fitotecnia Colombiana*. 3(2):1-9

Ligarreto, G., Lobo M. y Correa A. 2005. Recursos genéticos de la uchuva en Colombia. pp. 9 - 26. En: Fischer. G.. Miranda. D.. Piedrahita W. y Romero J. Avances en el cultivo, poscosecha y exportación de uchuva *P. peruviana* L. en Colombia. Unibiblos. Bogotá. 221p.

Lobo, M. 2006. Recursos genéticos y mejoramiento de frutales andinos: una visión conceptual. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 7(2). 40-54

Miller, M. 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Distributed by author (Download en <http://herb.bio.nau.edu/-miller>).

Morillo, A.; Morillo, Y.; Zamorano, A.; Vásquez, H.; Muñoz, J. 2005. Caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAMs de la colección de mora *Rubus* spp, de la

Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Acta Agronómica (Palmira) 54(2): 15-24.

Morineau. A. (1984) Note sur la caractérisation statistique d' une classe et les valeurs-test. Bull. Tech. Centre Stat. Inf. Appl. 2: 20-27.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89: 583-590.

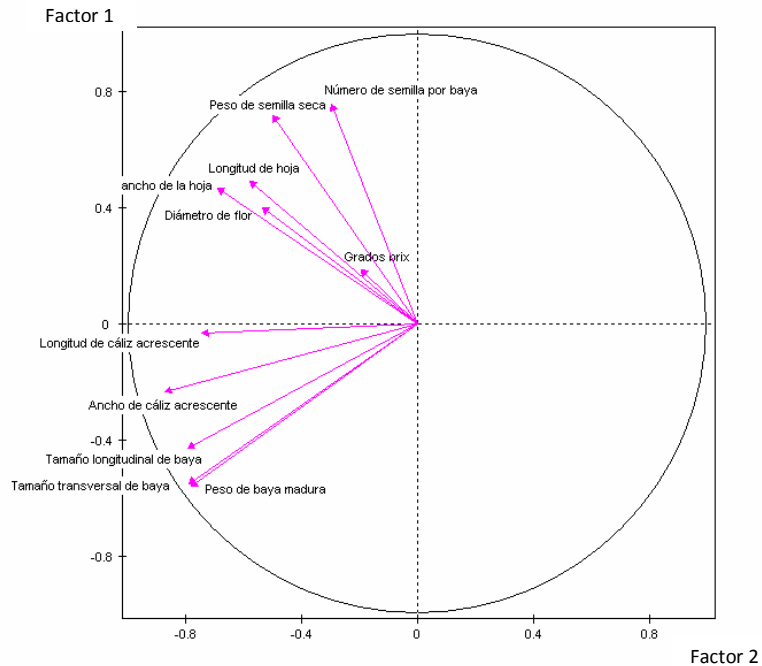
Pulgarín, O. 1989. Caracterización fenotípica preliminar de 13 colecciones de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Trabajo de pregrado de Biología, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín. 136p.

Sanabria, O., H.L.; García, M.; Díaz, H.; Muñoz, J. 2006. Caracterización molecular con marcadores RAM de árboles nativos de *Psidium guajava* (guayaba) en el Valle del Cauca. Acta Agron (Palmira) 55 (1): 23-30.

Zietkiewicz, E., Rafalski, A. y Labuda, D. 1994. Genome Fingerprinting By Simple Sequence Repeat (SSR) - Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. Genomics. 20 :176-183.

ANEXOS

Anexo A. Representación gráfica en un espacio bidimensional (hiperesfera de R1) para las variables cuantitativas evaluadas en el ACP de 18 introducciones de *P. peruviana* utilizando el programa SPAD 3.5.



Anexo B. Variables cualitativas y modalidades evaluadas en la caracterización morfológica y aporte de las mismas a los tres primeros factores del ACP en 18 introducciones de *P. peruviana*.

VARIABLES		CORRELACION Variable-factor (r_{v-f})		
IDEN	MODALIDAD	1	2	3
1. Pegajosidad PG	1= Escasa	4.6	3.3	5.7
	2= Intermedia	1.1	15.7	2.9
	3= Abundante	10.4	4.5	0.5
Contribución acumulada		16.1	23.6	9.1
2. Pubescencia PB	1.=Abundante	7.2	3.8	4
	2 =Intermedia	4.6	2.4	2.6
	Contribución acumulada	11.9	6.2	6.6
3. Prolongación de la mácula PM	1= Presente	12	0.3	4.9
	2= Ausente	6	0.1	2.4
	Contribución acumulada	18	0.4	7.3
4. Forma de cáliz FC	1= Semicampanulado	0.2	1.5	7.4
	2= Ligulado	8.2	2.8	1.4
	3= Urceolado	8	0.4	2.4

		Contribución acumulada	16.6	4.7	11.2
5.	Forma de fruto	1= Ovoide	4.8	9.1	4.1
	FF	2= Circular	3.1	5.8	2.6
		Contribución acumulada	7.9	15	6.7
6.	Color de fruto maduro	1= 2l1 - 8 (l16)	0.1	7.1	1.5
	CFM	2= 2h3 - 8 (h16)	5.2	0.2	10.1
		3= 1h3 - 8 (h8)	2.6	6.3	8.3
		4= 2h3 - 6 (h14)	7.1	1	1.5
		Contribución acumulada	15	14.6	21.4
7.	Hábito de crecimiento	1= Rastrero	0.1	1.9	0.5
	HC	2= Erguido	0.1	3.8	0.9
		Contribución acumulada	0.2	5.7	1.4
8.	Color de semilla	1= 3l1-6(l22)	6.5	1.1	0.6
	CSS	2= 3H1-6(H22)	0.1	4.5	5
		3=3H3-6(H22)	4	9.7	5.1
		4= 4H1-6(H30)	0.5	0.3	6.6
		5= 4H2-6(H30)	0.1	2.3	17.6
		6= 4H3-6(H30)	0.5	3.4	0.2
		7= 3H3-8(H24)	2.8	8.7	1.2
		Contribución acumulada	14.4	29.9	36.2

Anexo C. Variables cuantitativas y promedios generales evaluados en la caracterización de 18 introducciones de *P. peruviana* L. de la colección de la Universidad de Nariño.

IDEN	VARIABLES	PG	V	D.E	C.V%
HANC	Ancho de la hoja (cm)	6.53	0.50	0.71	11
HLON	Longitud de hoja (cm)	8.54	0.70	0.84	10
DIAF	Diámetro de flor (cm)	1.95	0.01	0.11	5
LNCA	Longitud de cáliz acrescente (cm)	3.96	0.13	0.37	10
ACA	Ancho de cáliz acrescente (cm)	2.82	0.10	0.27	10
GB	grados brix	16.23	1.56	1.25	7
PBM	peso de baya madura (g)	4.9	1.01	1	20
TLB	Tamaño longitudinal de baya (cm)	1.99	0.01	0.10	5
TTB	Tamaño transversal de baya (cm)	2.04	0.02	0.15	7
NSB	Número de semilla por baya	192.39	1965.8	44.33	23
PSS	Peso de semilla seca (g)	0.2	0.001	0.03	0.01

PG = promedio general. V = varianza. D.E = desviación estándar. C.V = coeficiente de variación