

**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
POTATO GENOTYPES GUATA AND CHAUCHA (*Solanum tuberosum* L. and
Solanum phureja Juz et Buk) GROWN IN THE DEPARTMENT OF NARIÑO¹**

Claudia Liliana Navarro C²; Luis Carlos Bolaños P³; Tulio Cesar Lagos B⁴

RESUMEN

Se realizó la caracterización morfoagronómica y molecular de 19 genotipos de papa *Solanum tuberosum* L. y *Solanum phureja* Juz et Buk, procedentes de los municipios de Pasto, Tuquerres, Guachucal y Cumbal del Departamento de Nariño. Para la caracterización morfoagronómica se utilizaron 10 descriptores cuantitativos y 26 cualitativos; los resultados obtenidos se sometieron al análisis de componentes principales (ACP) para variables cuantitativas y análisis de correspondencias múltiples (ACM) para cualitativas. La caracterización molecular se realizó mediante la técnica RAMs (Microsatélites Amplificados al Azar) y la extracción de ADN se obtuvo de yemas de tubérculos brotados. 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, los tres primeros ejes explican el 91,94% de la variación, el primer eje con 75,79% fue conformado por la variable Días a floración; la clasificación jerárquica de acuerdo al ACP permitió determinar cuatro grupos. En el ACM, tres ejes explicaron el 34,63% de la variabilidad y sobresalieron los descriptores color de cáliz y color de ojos del tubérculo; los grupos de acuerdo a la clasificación jerárquica basada en el ACM, fueron cinco. En la caracterización

¹ Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agrónomo

² Candidata a Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. iacln09@gmail.com

³ Candidato a Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. inagro100@gmail.com

⁴ Profesor Asociado. I.A., Esp., MSc., Ph.D. Universidad de Nariño. Email: tclagosb@udenar.edu.co

molecular, el porcentaje de loci polimórficos para los cinco cebadores fue del 55.55 al 100% y la diversidad genética fue de 0.23. Los valores de distancia genética oscilaron entre 0,0916 (Pestañuda y Arbolona) y 0,8855 (Morasurco y Yema de huevo). El análisis de clasificación distinguió cuatro grupos.

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

ABSTRACT

Was performed morphoagronomic and molecular characterization of 19 genotypes of potato *Solanum tuberosum* L. and *Solanum phureja* Juz et Buk, from the municipalities of Pasto, Túquerres, Guachucal and Cumbal, Department of Nariño. For the morphological characterization was used 10 quantitative and 26 qualitative descriptors. The results were submitted to principal component analysis (PCA) for quantitative variables and multiple correspondence analysis (MCA) for qualitative. Molecular characterization was performed using the technique RAMs (Random Amplified Microsatellites) and DNA extraction was obtained from buds of tubers sprouted. Cluster analysis for PCA and MCA was made by the criterion of aggregation of Ward and by the coefficient of Nei-Li for the molecular data. In the PCA, the first three axes explain the 91.94% of the variation, the first axis with 75.79% is comprised of the variable days to flowering. Hierarchical classification according to PCA allowed identified four groups. In the MCA, three axes accounted for 34.63% of the variability and highlighted the descriptors Calyx color and eye color of the tuber; the groups according to the hierarchical classification based on the MCA, were five. In the molecular characterization, the percentage of polymorphic loci for all five primers was 55,55 to 100% and genetic diversity was 0.23. The genetic distance values ranged from 0,0916 (Pestañuda y Arbolona) and 0,8855 (Morasurco y Yema de huevo). The classification analysis identified four groups.

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

INTRODUCCION

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. *andígena* 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. *andígena* que corresponden a las conocidas como “guatas” y papas de la especie *Solanum phureja* conocidas como "chauchas o criollas" (Porrás, 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 encontró 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) afirma que el uso de marcadores morfológicos en plantas tiene muchas limitantes, pues su expresión esta sujeta a las variaciones del medio ambiente e incluso, algunas de las características morfológicas tienen efectos indeseables. Morell *et al.* (1995) menciona 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 y con la aparición de la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), se desarrollaron y aplicaron otros tipos de marcadores como los RAPD.

Ñustez *et al.* 2008 realizó la caracterización molecular de 133 accesiones con microsatelites SSRs 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) menciona 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 (PCR); 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, determinar la distancia entre estos teniendo en cuenta la caracterización morfológica y molecular.

MATERIALES Y METODOS

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). Los datos de pasaporte para los genotipos que fueron colectados se presentan en el anexo 1.

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

| Accesión | Especie | Procedencia | Donante | Altitud (msnm) |
|-----------------|---------------------|------------------------|----------|----------------|
| Capira | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Pestañuda | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Colombina | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Morasurco | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Jurado S1 | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Piedra | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Jurado S2 | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Ojona pintada | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Gualcala | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Uvilla | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Sabanera morada | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Arbolona | <i>S. tuberosum</i> | V. Jurado (Pasto) | FEDEPAPA | 2710 |
| Borrega | <i>S. phureja</i> | V. Guan (Guachucal) | Colecta | 3180 |
| Yema de huevo | <i>S. phureja</i> | V. Socorro (Tuquerres) | Colecta | 3104 |
| Mambra | <i>S. phureja</i> | V. Guan (Guachucal) | Colecta | 3180 |
| Careta | <i>S. phureja</i> | V. Guan (Guachucal) | Colecta | 3180 |
| Ratona | <i>S. phureja</i> | Cumbal | Colecta | 3050 |
| Botella | <i>S. phureja</i> | Cumbal | Colecta | 3050 |
| Ratona | <i>S. phureja</i> | V. Socorro (Tuquerres) | Colecta | 3104 |

V: Vereda

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 3 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 utilizaron yemas de tubérculos brotados de cada material, a las cuales se les realizó extracción de ADN utilizando el método de Dellaporta modificado para Robles Colombianos (Anexo 2).

Tabla 2. Listado de descriptores morfológicos cualitativos y cuantitativos utilizados en la caracterización morfoagronómica de los 19 genotipos de papa.

| 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) |
| Dis. de color secundario de la corola (DCSCO) | 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) | Interjuegos entre foliolos (IEF) |
| Habito de crecimiento de la planta (HCP) | Fertilidad de polen (FP) |
| Descriptores cuantitativos | |
| Longitud hoja (LH) | Relación longitud/ancho del foliolo (RLAF) |
| Ancho hoja (AH) | Longitud de la planta (LP) |
| Relación longitud/ancho de la hoja (RLAH) | Diámetro de la planta (DP) |
| Longitud foliolo (LF) | Relación longitud/diámetro de la planta (RLDP) |
| Ancho de foliolo (AF) | Días a floración (DF) |

Dis: Distribución

Cuantificación de ADN

Las concentraciones y la calidad del ADN extraído a 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.

Amplificación del ADN mediante PCR

Los marcadores utilizados correspondieron a los siguientes DDB(CCA)₅, DBDA(CA)₇, DYD(CT)₇C, HVH(TG)₇T, VHV(GT)₅G microsatelites RAMs (Microsatélites Amplificados al Azar) sintetizados por Technologies Inc. Estos han sido reportados como

polimórficos en evaluaciones de diversidad genética para especies del género *Physalis*, *Rubus* spp y *Phaeoisariopsis griseola* agente causal de la mancha angular en fríjol.

Para el coctel de amplificación se utilizó 1,25µl de Buffer Taq, 1,25µl de MgCL₂, 2µl de DNTP`s, 1µl de Primer, 4.9µl de H₂O, 0,1µl de Taq polimerasa y 3µl de ADN. La amplificación se llevo a cabo en un termociclador PTC-100 Programmable Thermal Controller de MJ Research, Inc. La desnaturalización inicial fue de 95 °C durante 5 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 1 hora, en una cámara electroforesis vertical marca Biometra.

Análisis Estadístico

Caracterización morfológica: La información obtenida de la caracterización morfológica se almacenó en una base de datos de acuerdo a variables cualitativas o cuantitativas. Los datos se procesaron en el Software SPAD Versión 3.5. Se realizó el Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) para variables cualitativas y Análisis de Componentes Principales (ACP) y coeficiente de variación para cuantitativas. Las variables cuantitativas que presentaron un coeficiente de variación superior al 15%, se sometieron a un Análisis de Correlación de Pearson con el fin de descartar una variable de cada par en el caso de correlación alta (>0,80) para finalmente el realizar el ACP. El análisis de clasificación jerárquica para el ACM y el ACP, se baso en el criterio de agregación de Ward.

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 polimórfico 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 (1978) y el dendrograma se construyó con base en UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) del programa TFPGA.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los descriptores caracterizados obtuvieron coeficientes de variación que oscilaron entre 6,30% y 25,1% (Tabla 3). Los tres descriptores que obtuvieron los coeficientes de variación más altos corresponden a AF, LF y DP; lo anterior 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 el 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 ($r=0,872$), LF con AF ($r=0,965$), lo cual infiere que las variables mencionadas están estrechamente ligadas, indicando que la longitud de la hoja y del foliolo guarda una relación directamente proporcional al ancho de los mismos. Igualmente se encontró una correlación negativa alta entre DP con RLDP ($r= -0,830$), infiriendo así que la longitud de la planta es inversamente proporcional al diámetro de la misma (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de correlación de Pearson entre variables cuantitativas cuyo CV es mayor a 15%.

| Descriptor | AH | LF | AF | DP | RLDP | DF |
|------------|---------|---------|---------|----------|---------|----|
| AH | 1 | | | | | |
| LF | 0.923** | 1 | | | | |
| AF | 0.872** | 0.965** | 1 | | | |
| DP | 0.459* | 0.520* | 0.481* | 1 | | |
| RLDP | -0.319 | -0.397 | -0.469* | -0.830** | 1 | |
| DF | 0.619* | 0.723* | 0.713* | 0.661* | -0.559* | 1 |

Correlaciones significativas al 95% *Correlación significativa **Correlación altamente significativa

Con base en los resultados anteriores, se descarto una variable de cada correlación altamente significativa permitiendo seleccionar las variables LF, DP y DF para el ACP.

Análisis de componentes principales (ACP)

El ACP permitió establecer que los dos primeros componentes explican el 91,9% de la variación total. El primero expresa el 75,79% de la varianza total y el segundo contribuye con un 16,15% (Tabla 4).

Tabla 4. Valores propios y porcentajes de varianza acumulada para los tres primeros ejes del ACP.

| Nº | Valor propio | % | % acumulado |
|-----------|---------------------|----------|--------------------|
| 1 | 2,2736 | 75,79 | 75,79 |
| 2 | 0,4844 | 16,15 | 91,94 |
| 3 | 0,2419 | 8,06 | 100 |

La variable DF ($r_{DF-CP} = -0,92$) es la que mas aporta a la conformación del primer eje; el segundo eje está conformado por la variable DP ($r_{DP-CP} = -0,54$) y la variable que mas aporta a la conformación del tercer eje fue LF ($r_{LF-CP} = 0,26$) (Tabla 5).

Tabla 5. Correlación variable - factor de los tres descriptores seleccionados para el ACP.

| Variable | 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), ya que mencionan que las variable relacionadas con longitud (entre ellas LF) y ancho de hoja y foliolo son las que más aporta 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 la variable Días a floración, es uno de

los descriptores que mas aporta a la conformación del primer componente y mencionan que es una de las variables mas importantes ya que esta característica 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 4 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 a la hora de 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 36,8% del total de los individuos estudiados y comparten en común 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 ($\mu=31,6$), LF ($\mu=16,8$) y AF ($\mu= 9\text{cm}$), registrando los valores máximos respecto a las demás accesiones. El tercer grupo se formó a una distancia de 0.05 y esta conformado por las variedades Colombina, Ojona Pintada, Jurado

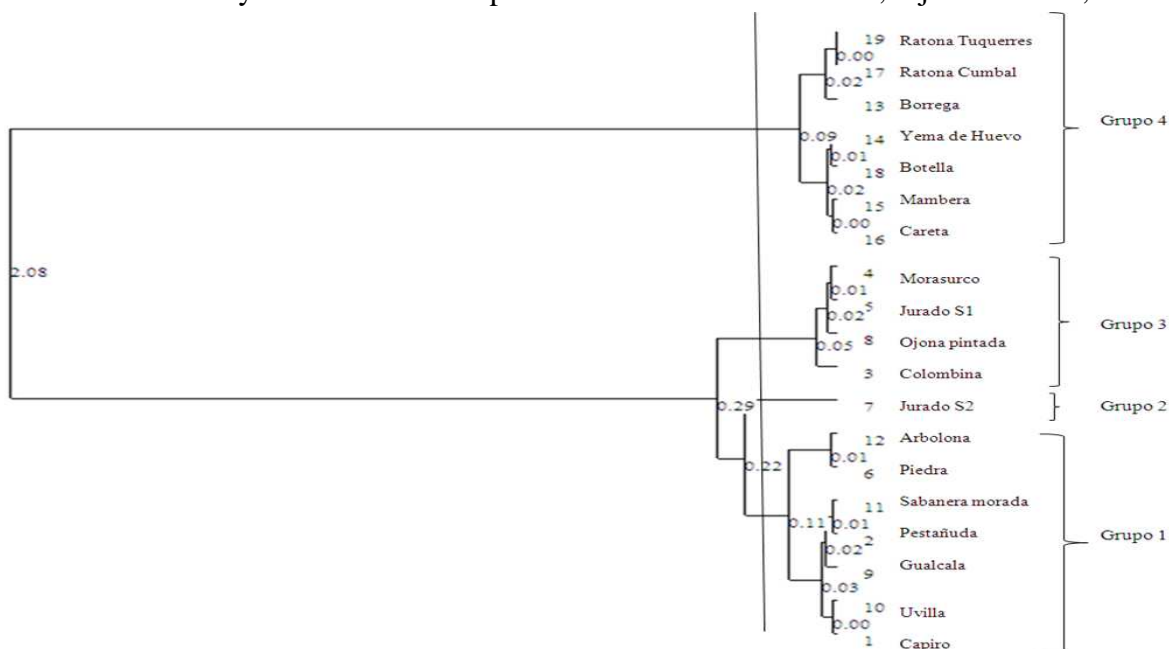


Figura 1. Dendrograma con base en el ACP de las 19 accesiones de papa (*S. tuberosum* y *S. phureja*) según las variables cuantitativas estudiadas.

S1 y Morasurco, las cuales representan el 21% de la población estudiada. Estas variedades obtuvieron los promedios (μ) más altos en el DP ($\mu = 117\text{cm}$) respecto al promedio general ($\mu = 87,92\text{cm}$).

El cuarto grupo lo conforman variedades pertenecientes a la especie *S. phureja* y representan el 36,8% 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 ($\mu=7,7\text{cm}$) y DP ($\mu=68,83\text{cm}$), medidas que fueron inferiores a los promedios generales LF ($\mu=9,7\text{cm}$) y DP ($\mu=87,9\text{cm}$)

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 el 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.

Tabla 6. Valores propios y porcentajes de varianza acumulada para los tres primeros ejes del ACM.

| Nº | Valor propio | % | % acumulado |
|-----------|---------------------|----------|--------------------|
| 1 | 0,4044 | 12,67 | 12,67 |
| 2 | 0,3733 | 11,69 | 24,36 |
| 3 | 0,3278 | 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%, 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.* (2006) en estudios realizados en caracterización morfológica en papa, donde afirman que las variables relacionadas con color de flor, tubérculo y de pedicelo, son las más discriminantes a la hora de establecer grupos en cuanto a características morfológicas cualitativas.

Tabla 7. Contribución de seis variables morfológicas cualitativas y sus modalidades a la formación de los tres primeros ejes del ACM.

| Variable | Modalidad | Ejes | | |
|--|---|------------|------------|------------|
| | | Primero | Segundo | Tercero |
| Color de cáliz (CCA) | 1. Ausente | 2.1 | 6.3 | 0.8 |
| | 2. Verde | 0.8 | 0.8 | 0.2 |
| | 3.V+pocas manchas | 4.7 | 0.5 | 0.4 |
| | 4.V+muchas manchas | 0.1 | 0.6 | 0 |
| | 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 |
| Color ojos del tubérculo (CO) | 1 Rojo | 1.8 | 0.1 | 8 |
| | 2 morado y crema | 0 | 0.2 | 0.2 |
| | 3 morados | 3 | 0 | 0.5 |
| | 4 rojo morado | 2.2 | 0.6 | 0.6 |
| | 5 café | - | - | 0.7 |
| | 6 crema | 0 | 0.2 | - |
| | Total | 7 | 1.1 | 10 |
| Coloración del pedicelo (CP) | 1. Ausente | 2.1 | 6.3 | 0.8 |
| | 2. Verde | 3 | 0.9 | 0.9 |
| | 3. Solo articulación pigmentada | 0.9 | 1 | 0.1 |
| | 4. Ligeramente pigmentado a lo largo | 0 | 0 | 0.4 |
| | 5. Pigmentado debajo de la articulación | 0.1 | 0.1 | 0.4 |
| | 6. Mayormente pigmentado + articulación verde | 0 | 0.2 | 0.3 |
| | 7. Completamente pigmentado | 0 | 0.3 | 1 |
| | Total | 6.1 | 8.8 | 3.9 |
| Intensidad del color de la corola (ICCO) | 1. Ausente | 2.1 | 6.3 | 0.8 |
| | 2. pálido | 1.8 | 0.7 | 1 |
| | 3. Intermedio | 0.1 | 0.3 | 0.2 |
| | 4. Intenso | 1 | 1.4 | 0 |
| | Total | 5 | 8.7 | 2 |
| Fertilidad de polen (FP) | 1 Muy bajo o estéril (0-10%) | 2.1 | 6.3 | 0.8 |
| | 2 Bajo (10- 30%) | 0.9 | 0.5 | 0.6 |
| | 3 Moderado (30-50%) | 1.8 | 0.1 | 8 |
| | 4 Alto (50-80%) | 0.7 | 0.7 | 0 |
| | 5 Muy alto (80-100%) | 0 | 0.3 | 0.5 |
| | Total | 5.5 | 7.9 | 10 |

La clasificación jerárquica de las 19 accesiones de *S. tuberosum* y *S. phureja* con base en el ACM y a una distancia de 0.25, determino la conformación de cinco grupos (Figura 2). El

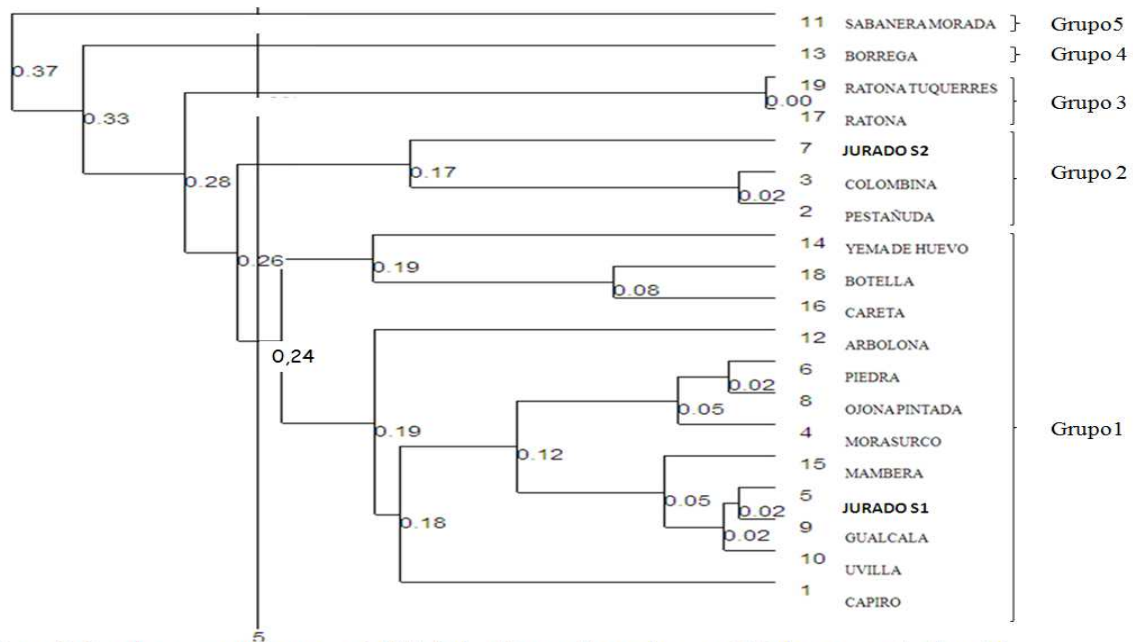


Figura 2. Dendrograma con base en el ACM de las 19 accesiones de papa (*S. tuberosum* y *S. phureja*) estudiadas.

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 agrupo a una distancia de 0.17 y fue conformado por el 11.5% de las accesiones, comprende las variedades Pestañuda, Colombina, 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, 2009).

El tercer grupo esta conformados por los genotipos Ratona Cumbal y Ratona Tuquerres, que según el ACM puede tratarse de la misma variedad, solo 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 floral para Sabanera morada y la forma concertinada de los tubérculos de la accesión Borrega.

Caracterización molecular con marcadores moleculares RAMs

Los primers generaron 80 loci, de los cuales el 77,5% fueron polimórficos. Los loci polimórficos oscilaron entre 55.55 al 100%, la heterocigosidad insesgada (HI) mínima fue de 0,13 para el primer GT y máxima de 0,31 para el primer CA (Figura 3). La diversidad promedio fue 0,23 (Tabla 6), este resultado es bajo comparado con la diversidad promedio

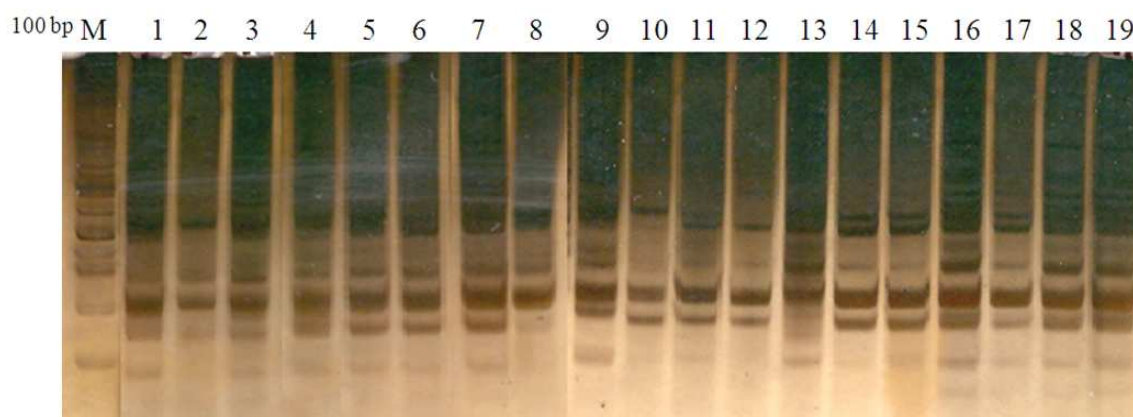


Figura 3. Patrones de bandas generados por el Primer CA en los 19 individuos

de 0,81 encontrada por Pérez *et al.* (2004) en trabajos sobre evaluación de diversidad genética de papas nativas *S. tuberosum ssp. andigena* en el sur de Chile. Estos resultados concluyen que existe una baja diversidad genética en las accesiones estudiadas y aun cultivadas en el departamento de Nariño.

Tabla 6. Análisis de variabilidad de los 19 genotipos de papa *S. tuberosum* y *S. phureja*.

| Primer | Nº BAND | HP | HI | % LP | RFH |
|------------------|---------|--------|--------|-------|-----------------|
| CA | 11 | 0.30 | 0.31 | 100 | 0.10 – 0.47 |
| CCA | 18 | 0.2042 | 0.2097 | 55.55 | 0.0526 – 0.4737 |
| CT | 12 | 0.2707 | 0.278 | 91.66 | 0.0526 – 0.4211 |
| GT | 22 | 0.1326 | 0.1362 | 68.18 | 0.0526 – 0.2632 |
| TG | 17 | 0.2721 | 0.2795 | 88.23 | 0.0526 – 0.4737 |
| Todos los primer | 80 | 0.22 | 0.23 | 77.5 | 0.05 – 0.47 |

RFH: Rango de la frecuencia de heterocigosis HP: Heterocigosidad promedio; HI: Heterocigosidad insesgada; LP: Porcentaje de loci polimórfico (0.95);

Por otra parte, el porcentaje de loci polimórfico 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 *Solanum tuberosum* con Microsatelites SSR obtuvo total de 88 bandas y un porcentaje de polimorfismo de 57 a 89%, similar al obtenido durante el estudio.

Distancia genética

Los valores de distancia genética de Nei - Li respecto al análisis en combinación con todos los primers oscilaron entre 0,0916 (Pestañuda y Arbolana) y 0,8855 (Morasurco y Yema de huevo). (Tabla 7).

Tabla 7. Matriz de distancias genéticas de Nei – Li generada por la combinación de todos los primers en las 19 accesiones de papa (*S. tuberosum* y *S. phureja*)

| acc | Capiro | Pestañ | Colomb | Morasu | Jura S1 | Piedra | Jura S2 | Ojona | Gualcala | Uvilla | Saban | Arbolona | Borrega | Y.huevo | Mambra | Careta | Ratona | Botella | Ratona T |
|------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|----------|--------|--------|----------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|----------|
| Cap | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pes | 0,2076 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Col | 0,2877 | 0,3390 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mor | 0,5108 | 0,2712 | 0,6444 | ***** | | | | | | | | | | | | | | | |
| J S1 | 0,2389 | 0,3216 | 0,3747 | 0,5754 | ***** | | | | | | | | | | | | | | |
| Pie | 0,2712 | 0,3216 | 0,2712 | 0,5319 | 0,1924 | ***** | | | | | | | | | | | | | |
| J S2 | 0,4117 | 0,3930 | 0,3390 | 0,6208 | 0,3216 | 0,1924 | ***** | | | | | | | | | | | | |
| Ojo | 0,2549 | 0,1773 | 0,3567 | 0,3930 | 0,3747 | 0,2076 | 0,2389 | ***** | | | | | | | | | | | |
| Gua | 0,5108 | 0,4117 | 0,3216 | 0,5978 | 0,4902 | 0,4117 | 0,2712 | 0,4308 | ***** | | | | | | | | | | |
| Uvi | 0,3045 | 0,2549 | 0,2712 | 0,5319 | 0,3567 | 0,4308 | 0,4700 | 0,4117 | 0,4902 | ***** | | | | | | | | | |
| Sab | 0,3567 | 0,3747 | 0,3930 | 0,6931 | 0,4502 | 0,4502 | 0,5754 | 0,5108 | 0,5534 | 0,3390 | ***** | | | | | | | | |
| Arb | 0,1924 | 0,0916 | 0,4308 | 0,3567 | 0,3390 | 0,3747 | 0,4502 | 0,2231 | 0,5108 | 0,3045 | 0,2877 | ***** | | | | | | | |
| Bor | 0,3216 | 0,2076 | 0,3567 | 0,4308 | 0,4117 | 0,4502 | 0,4502 | 0,3216 | 0,4308 | 0,3045 | 0,4308 | 0,2549 | ***** | | | | | | |
| Y. H | 0,4902 | 0,5108 | 0,4502 | 0,8855 | 0,5108 | 0,4700 | 0,5978 | 0,5319 | 0,4502 | 0,4700 | 0,5319 | 0,5319 | 0,4902 | ***** | | | | | |
| Mam | 0,3567 | 0,3390 | 0,3567 | 0,6931 | 0,3390 | 0,3045 | 0,4502 | 0,4308 | 0,4700 | 0,3045 | 0,3567 | 0,3567 | 0,2549 | 0,2712 | ***** | | | | |
| Car | 0,3390 | 0,3216 | 0,3045 | 0,6685 | 0,3567 | 0,3216 | 0,3567 | 0,4117 | 0,3747 | 0,1924 | 0,3747 | 0,4117 | 0,2712 | 0,3567 | 0,1479 | ***** | | | |
| Rat | 0,4902 | 0,3216 | 0,4117 | 0,5754 | 0,4308 | 0,3930 | 0,5534 | 0,3747 | 0,4902 | 0,4700 | 0,4117 | 0,4117 | 0,3390 | 0,3930 | 0,3045 | 0,3930 | ***** | | |
| Bot | 0,4502 | 0,4700 | 0,6208 | 0,7711 | 0,4700 | 0,6444 | 0,6444 | 0,5754 | 0,6685 | 0,3930 | 0,4502 | 0,3747 | 0,3747 | 0,4700 | 0,3747 | 0,3567 | 0,4700 | ***** | |
| Ra T | 0,2877 | 0,3045 | 0,2877 | 0,5978 | 0,3747 | 0,3390 | 0,4502 | 0,3930 | 0,3216 | 0,3045 | 0,3567 | 0,3216 | 0,3567 | 0,3045 | 0,2877 | 0,2712 | 0,2712 | 0,3747 | ***** |

Con los datos obtenidos en las distancias genéticas, se realizó una tabla de correlación con todos y cada uno de los marcadores para observar el grado de asociación entre los Primers

(Tabla 8). La correlación entre las variables en su mayoría fue significativa, con valores que van desde ($r = -0,1224$) para CT - CA hasta ($r = 0,634$) para C.P – GT. Se destacaron las correlaciones CCA – C.P ($r = 0,593$), GT – C.P ($r = 0,634$) y TG – C.P ($r = 0,501$). Estos resultados infieren que posiblemente los cebadores cortan el mismo segmento de ADN o amplifican la misma secuencia.

Tabla 8. Correlación de Pearson entre los Primers RAMs utilizados en la caracterización molecular.

| | CA | CCA | CT | GT | TG | C.P |
|-----|---------|--------|--------|--------|--------|-----|
| CA | 1 | | | | | |
| CCA | 0,125* | 1 | | | | |
| CT | -0,122* | -0,112 | 1 | | | |
| GT | -0,076 | 0,216* | 0,165* | 1 | | |
| TG | 0,030 | -0,011 | 0,094 | 0,114 | 1 | |
| C.P | 0,311* | 0,593* | 0,305* | 0,634* | 0,501* | 1 |

CP: Combinación de Primers *= Correlaciones significativas al 95%

El dendrograma con base en el método de UPGMA, clasificó 19 cultivares en diez grupos con base en las distancias de Nei-Li (Figura 4). El primero lo conforman el 26,31% de las

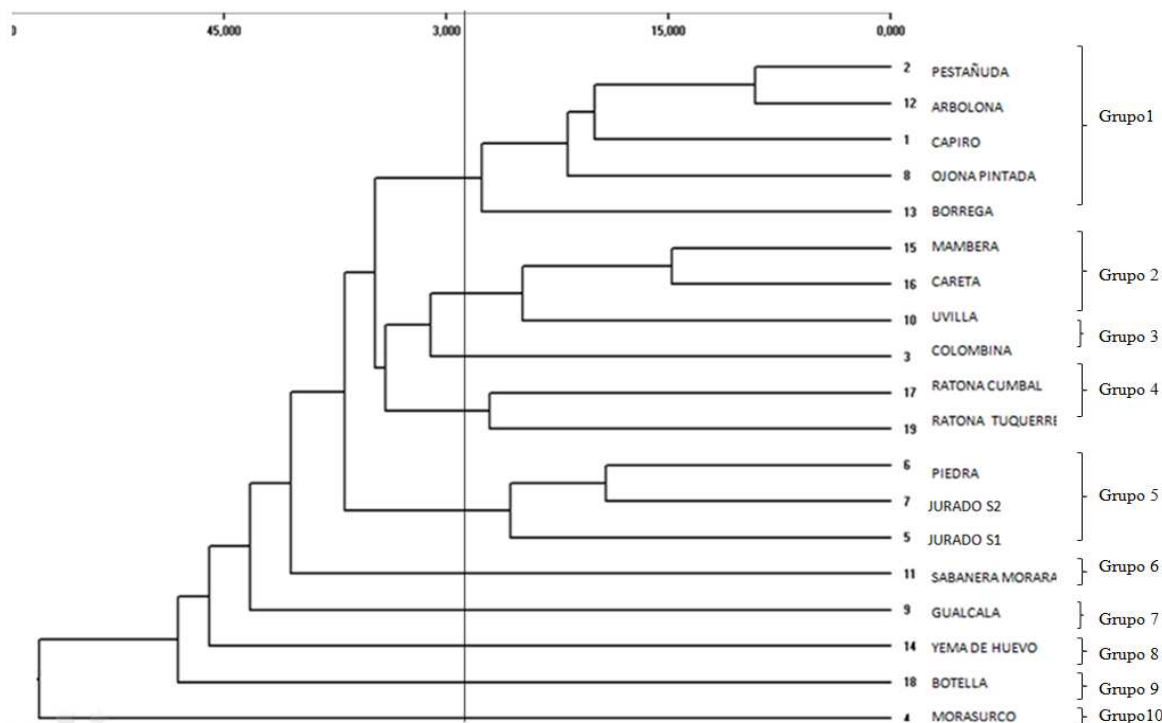


Figura 4 Dendrograma de la estructura genética de 19 individuos de *S. tuberosum* y *S. phureja* basado en el Coeficiente de Similaridad de Nei-Li y combinación de los cinco primers RAMs

variedades dentro de las que se encuentran Pestañuda, Arbolona, Capira, Ojona Pintada y Borrega. El segundo y tercer grupo conformado por las accesiones Mamabera, Careta, Uvilla y Colombina representa el 15,78% y 5,26% de los cultivares estudiados. La variedades Ratona Tuquerres y Ratona Cumbal pertenecientes a la especie *S. phureja*, conforman el 10,52% del total de accesiones. El quinto grupo conformado por las variedades Piedra, Jurado S2 y Jurado S1 representan el 15,78%. Las accesiones Sabanera, Gualcala, Yema de Huevo, Botella y Morasurco conforman el 5,26% cada una, de los total de individuos.

CONCLUSIONES

La variabilidad en los genotipos según el ACP fue explicada en tres ejes. 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 los ejes vectoriales del ACM fueron color de cáliz, coloración del pedicelo, intensidad de la coloración de la corola, color de ojos del tubérculo y fertilidad de polen.

La heterocigosidad promedio encontrada (0,23) fue baja, indicando que existe una reducida variabilidad genética dentro de los materiales estudiados.

Según los análisis de clasificación de ACP, ACM y el dendrograma de la estructura genética de Nei-Li, las accesiones Ratona Cumbal y Ratona Tuquerres pueden ser duplicados, simplemente difieren del lugar de procedencia. Así mismo, los marcadores RAMs establecieron distancias y posibles relaciones entre variedades, útiles a la hora de incluir o fijar una característica de interés como la forma del tubérculo.

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 su constitución genética (diploides y tetraploides).

AGRADECIMIENTOS

Universidad de Nariño, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Federación Colombiana de Productores de Papa (FEDEPAPA). Jaime Eduardo Muñoz profesor asociado Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira, Sonia Navia Presidente FEDEPAPA, Silvio Bastidas Investigador Msc. Principal E. E. Corpoica El Mira.

BIBLIOGRAFIA

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.; Mihovilovich, E.; Roca, W. and Gómez, R. 2004. Recursos genéticos de la papa: Don del pasado, legado para el futuro. *Revista latinoamericana de la papa*. 12p. En: <http://www.uach.cl/alap2004/Charlas%20Magistrales/09M0Bonierbale%20In%20Extenso%20Recursos%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.

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. and 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 fitogenéticos*. Franco, T. Hidalgo, R. eds. Boletín técnico IPGRI N° 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. En: 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: <http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/HTMLPublications/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; 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. and 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

Moreno, J; Cerón, M. y Zapata, J. 2006. Corpoica-Mary: variedad de papa mejorada de alto rendimiento para consumo en fresco y procesamiento en hojuelas. *Revista Corpoica* 4(4):26-35 pp.

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.50p.

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; 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; 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.