

TRABAJOS ORIGINALES

Diversidad genética de papas nativas (*Solanum* spp.) del distrito de Vilcashuamán, Ayacucho- Perú, mediante AFLP

Genetic diversity of native potatoes (*Solanum* spp.) from Vilcashuaman district, Ayacucho-Peru, using AFLP

Yessenia K. Remón Gamboa y Gilmar Peña Rojas*

Laboratorio de Biología Celular y Molecular – Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho – Perú.

*Autor para correspondencia

Email Gilmar Peña: gilmar_p@yahoo.com

Email Yessenia K. Remón: kyran920@gmail.com

Resumen

En este presente trabajo, la diversidad genética de 30 morfotipos de papas nativas de Vilcashuamán (Ayacucho) fue evaluada mediante la técnica de polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP). La extracción de ADN se realizó con el método de CTAB modificado, usando hojas frescas de plantas de cuatro semanas de cultivo en invernadero. Partiendo de 200 mg de tejido vegetal se logró obtener entre 300 a 500 ng/μL de ADN de buena calidad. La digestión enzimática del ADN se realizó utilizando EcoRI y MseI, y se emplearon 12 combinaciones de primers, de las cuales se eligieron las dos combinaciones más polimórficas (E13 – M49 y E38 – M49). El análisis estadístico se realizó con el programa NTSYs 2.10 usando el coeficiente de Simple Matching logrando obtener valores de PIC (índice de contenido polimórfico) de 0.45 y 0.40 para las combinaciones E38 – M49 y E13 – M49, respectivamente. En total se lograron identificar 68 bandas claramente diferenciables, de las cuales el 55.8% fueron bandas polimórficas. El análisis de agrupamiento según el algoritmo UPGMA originó un dendrograma con un índice de correlación cofenética de $r = 0.7$; a un coeficiente de similitud de 0.6; se establecieron ocho grupos genéticos y a un coeficiente de 1 no se encontraron morfotipos duplicados. Los resultados obtenidos demuestran el alto poder informativo del AFLP y la alta variabilidad de las papas nativas estudiadas.

Palabras claves: Vilcashuamán; papas nativas; AFLP; diversidad genética; *Solanum* spp.

Abstract

In this article, using the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) technique, we evaluated the genetic diversity of 30 native potatoes morphotypes from Vilcashuaman, Ayacucho. DNA extraction was done with the modified CTAB method, using fresh leaves of greenhouse plants of two weeks age. From 200 mg of plant tissue, it was possible to obtain between 300 and 500 ng/μL of good quality DNA. The enzymatic digestion of the DNA was carried out using EcoRI and MseI, and 12 combinations of primers were used, from which the two most polymorphic combinations were chosen (E13 – M49 and E38 – M49). The statistical analysis was done with the NTSYs 2.10 program using the Simple Matching coefficient, obtaining values of PIC (polymorphic content index) of 0.45 and 0.40 for the combinations E38 – M49 and E13 – M49, respectively. In total, 68 clearly differentiable bands were identified, of which 55.8% were polymorphic bands. The cluster analysis according to the UPGMA algorithm originated a dendrogram with a cofenetic correlation index of $r = 0.7$; at a coefficient of similarity of 0.6, eight genetic groups were established and at a coefficient of 1, no duplicate morphotypes were found. The results obtained show the high informative power of the AFLP and the high variability of the native potatoes studied.

Keywords: Vilcashuaman; native potatoes; AFLP; genetic diversity; *Solanum* spp.

Citación:

Remón Gamboa Y.K. & G. Peña Rojas. 2018. Diversidad genética de papas nativas (*Solanum* spp.) del distrito de Vilcashuamán, Ayacucho-Perú, mediante AFLP. Revista peruana de biología 25(3): 259 - 266 (Agosto 2018). doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v25i3.15209>

Fuentes de financiamiento: PROCYT N° 233-2008-CONCYTEC-OAJ.

Presentado: 09/08/2017
Aceptado: 22/07/2018
Publicado online: 25/09/2018

Información sobre los autores:

YKRG, Colección y análisis de la diversidad de papas nativas mediante AFLP
GPR análisis de la diversidad de las papas nativas mediante AFLP.
Ambos redactaron, revisaron y aprobaron el manuscrito.

Los autores no incurren en conflictos de intereses.

Journal home page: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/index>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Peruana de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citadas. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con editor.revperubiol@gmail.com.

Introducción

Las papas nativas y silvestres son los ancestros de todas las variedades modernas de papa que existen en el mundo (Ochoa 1999). Entre 6000 y 10000 años atrás en los Andes, las primeras papas cultivadas fueron seleccionadas (Spooner et al. 2005) por generaciones de agricultores que produjeron una gran cantidad de variantes cultivadas a partir de papas silvestres (Ochoa 1999, Huamán & Spooner 2002). En la actualidad, esas variedades se encuentran distribuidas en toda América, desde el sur de los Estados Unidos hasta la isla de Chile, siendo el Perú la que posee la mayor diversidad (Hijmans et al. 2002).

Spooner et al. (2005) establecieron como el centro de origen de la papa la región norte del lago Titicaca, al sur de Perú, donde su cultivo estuvo ligada al desarrollo de la cultura Tiahuanaco. Posteriormente, la segunda gran expansión del cultivo de la papa, se dio durante la formación del imperio Inca; aunque, el cultivo de la papa ya estaba arraigado en las regiones andinas (Hawkes 1990, Ochoa 1999). Por esta razón, la mayor diversidad genética conservada por los agricultores se encuentra en algunas regiones de la sierra como Ayacucho (Spooner et al. 2005, Hawkes 1990).

Algunos estudios señalan que la domesticación de la papa tuvo lugar en la sierra del Perú, probablemente en la región que incluye los actuales departamentos de Huánuco, Cerro de Pasco, Junín, Huancavelica, Apurímac, Ayacucho, Cusco y Puno (Hawkes 1990, Morales 2007), y donde los pobladores andinos, en la actualidad basan su seguridad alimentaria en la papa y junto a su conocimiento ancestral constituyen la razón de encontrar hasta la fecha las mismas formas y colores que conocieron los incas y sus predecesores, cumpliendo así un rol decisivo en la conservación de las variedades (Hawkes 1990, Ochoa 1999, Morales 2007, Salvatierra 2013). Sin embargo, la diversidad de las papas nativas se está perdiendo debido a la presencia de variedades mejoradas, el uso excesivo de agroquímicos y el cambio climático; motivo por el cual, el estudio y la caracterización genética de la diversidad de papas nativas es imprescindible para el establecimiento, mantenimiento y conservación en los bancos de germoplasma (Huamán 1986, Túpac 2001, Gutiérrez 2008, Salvatierra 2013).

La caracterización morfológica de los tubérculos puede considerarse como fuente de información para identificar genotipos en los bancos de germoplasma (Calliope et al. 2018). Madroñero et al. (2013) señalan que las mejores variables para la caracterización son aquellas relacionadas con el color de tallo, color de brote y color y forma de baya. No obstante, muchos de ellos pueden ser alterados por enfermedades, variar con las condiciones ambientales; más aún, estas evaluaciones son subjetivas y están condicionadas al criterio y experiencia de cada investigador (Leitch et al. 1998, Coulibaly et al. 2003); por tanto, la caracterización morfológica debe ser complementada con estudios de caracterización por marcadores moleculares.

Los marcadores moleculares permiten la detección de cambios moleculares en el genoma, generan datos altamente confiables y replicables (Albertini et al. 2003), obteniéndose un "perfil molecular" característico para cada variedad, independiente de las condiciones ambientales y del crecimiento de la planta (Morrell et al. 1995, Moscoe & Emshwiller 2015). Tanto los AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms, Vos et al., 1995) y los SSR (microsatélites, Chambers & MacAvoy, 2000)

tienen sus ventajas y desventajas y, su aplicación dependerá fundamentalmente del tipo de cultivo, disponibilidad de recursos y la capacitación del personal (Montalvo et al. 2012, Canales et al. 2003, Guichoux et al. 2011).

Los marcadores AFLP han sido ampliamente empleados porque permiten una exploración rápida de los polimorfismos del genoma, generan un gran número de bandas por experimento, son altamente reproducibles, no necesita información previa del genoma para su aplicación, tiene carácter codominante y permite el uso de pequeñas cantidades de ADN (Vos et al. 1995, Montalvo et al. 2012). El procedimiento AFLP consiste en la digestión del genoma con enzimas de restricción y amplificación selectiva de fragmentos resultantes. Estos fragmentos son posteriormente evaluados como presente o ausente en los resultados de electroforesis (Moscoe & Emshwiller 2015). Wang et al. (2017) afirman que el AFLP puede producir patrones más informativos y es ampliamente utilizado para evaluar la diversidad genética de germoplasmas de papa, y en definitiva Narváez et al. (2000) y Nunziata et al. (2010) sugieren su uso en la caracterización de la diversidad. Es así que, existen numerosos trabajos de investigación sobre la diversidad y caracterización genética de papas usando dicho marcador molecular (Solano et al. 2007, Esfahani et al. 2009, Yildirim et al. 2010, Wang et al. 2011, Gonzales & Peña 2014, Sánchez 2017, Wang et al. 2017). En el presente trabajo se utilizó el AFLP para caracterizar la diversidad genética de 30 morfotipos de papas nativas de Vilcashuamán que hasta la fecha no existe ningún antecedente sobre estudios de esta naturaleza.

Material y métodos

Colecta de las muestras.- Se colectaron 30 morfotipos de tubérculos (Tabla 3) de la provincia de Vilcashuamán ($13^{\circ}40'43.3''S-13^{\circ}40'41.72''S$ y $73^{\circ}52'40.92''W-73^{\circ}52'35.48''W$, entre 3731 a 3760 m de altitud). Los tubérculos fueron sembrados en el vivero de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a una temperatura promedio de $17^{\circ}C$, utilizando bolsas de polietileno 15×20 cm que contenía tierra, arena y musgo en una proporción 3:2:1 respectivamente. Las hojas jóvenes de cuatro semanas de cultivo, fueron colectadas en placas de petri y posteriormente se congelaron a $-20^{\circ}C$ por 24h para el proceso de extracción del ADN.

Extracción, determinación y concentración de ADN.- La extracción de ADN se realizó por duplicado con el método CTAB (CIP 1997) modificado, a partir de 200 mg de tejido fresco. Se agregó $1 \mu L$ de RNasa por cada $100 \mu L$ de muestra de ADN, posteriormente fueron diluidas en agua Milli Q libre de nucleasas a una concentración de $50 \text{ ng}/\mu L$. Se evaluó la calidad y concentración del ADN en gel de agarosa al 1%, para lo cual se tomaron $2 \mu L$ del ADN resuspendido y se diluyó en $10 \mu L$ de tampón de carga Runsafe® para su observación en el transluminador UV; los resultados se corroboraron con una lectura en el NanoDrop®2000.

Técnica de AFLP.- La técnica se realizó según el protocolo descrito por Vos et al. (1995), adaptado y modificado por el CIP (1998).

Digestión, se utilizó 500 ng de ADN genómico, agua libre de nucleasas, buffer de reacción 10X, albúmina de suero bovino y enzimas de restricción: 5 unidades (U) de MseI y 20U de

Tabla 3. Caracterización morfológica de los tubérculos de 30 morfotipos de papas nativas procedentes de la provincia de Vilcashuamán, Ayacucho - 2015

Nº	MORFOTIPO	Color predominante de la piel	Color secundario de la piel	Color predominante de la pulpa	Color secundario de la pulpa	Forma general del tubérculo	Profundidad de los ojos
1	Chaolina	Amarillo	Ausente	Amarillo	Ausente	Oblongo (reniforme)	Superficial
2	Rosa huayta	Rojo-morado	Ausente	Amarillo claro	Ausente	Redondo	Medio
3	Qeqorani	Amarillo	Ausente	Crema	Morado	Oblongo	Superficial
4	Renacimiento	Amarillo	Ausente	Crema	Ausente	Oblongo	Superficial
5	wana Wayro	Negruzco	Marrón	Blanco	Ausente	Oblongo-alargado (concertinado)	Profundo
6	Asnupa runtun	Negruzco	Marron	Blanco	Violeta	Oblongo	Superficial
7	Tambina	Rojo-morado	Ausente	Crema	Morado	Oblongo	Profundo
8	Duraznillo	Rojo-morado	Amarillo	Crema	Ausente	Redondo	Medio
9	Turupa yawarnin	Rojo-morado	Marron	Rojo	Blanco	Elíptico (fusiforme)	Superficial
10	Quello camotillo	Amarillo	Ausente	Crema	Ausente	Ovobado	Superficial
11	Quello Wenqos	Amarillo	Ausente	Amarillo	Ausente	Alargado (falcado)	Sobresaliente
12	Puka huayro	Rojo-morado	Ausente	Amarillo intenso	Ausente	Oblongo alargado (concertinado)	Profundo
13	Caspas	Negruzco	Rosado	Amarillo intenso	Ausente	Oblongo (tuberosado)	Muy profundo
14	Leona	Negruzco	Marron	Blanco	Violeta	Oblongo	Profundo
15	Yawar huayqo	Rojo-morado	Amarillo	Rojo-morado	Amarillo	Oblongo	Profundo
16	Peruanita	Rojo-morado	Amarillo	Amarillo	Ausente	Oblongo	Profundo
17	Allqa toyros	Amarillo	Rosado	Crema	Ausente	Oblongo alargado (omprimido)	Medio
18	Wachwapa qallon	Rosado	Blanco crema	Crema	Rosado	Oblongo	Superficial
19	Allqa yuraq sisa	Amarillo	Negruzco	Violeta	Amarillo	Comprimido	Superficial
20	Puka Llumchuy waqachi	Rojo-morado	Ausente	Blanco	rojo	Oblongo Tuberosado	Muy profundo
21	Llamapa ñawin	negruzco	Ausente	Amarillo	Ausente	Comprimido	Profundo
22	Yana camotillo	Negruzco	Rojo-morado	Crema	Ausente	Ovobado	Superficial
23	Allqa llumchuy huaqachi	Negruzco	Amarillo	Crema	Ausente	Oblongo Tuberosado	Muy profundo
24	Yuraq wenqos	Crema	Ausente	Crema	Ausente	Alargado (falcado)	Sobresaliente
25	Yuraq sisa	Rosado	Ausente	Blanco	Ausente	Comprimido	Profundo
26	Suytu camru	Amarillo	Rojo-morado	Blanco	Morado	Oblongo alargado	Medio
27	Chontamorón	Negruzco	Amarillo	Blanco	Ausente	Ovobado	Superficial
28	Roya puyru	Amarillo	Ausente	Crema	Ausente	Oblongo	Profundo
29	Yana wenqos	Negruzco	Amarillo	Crema	Morado	Alargado (falcado)	Superficial
30	Puka pumapa makin	Rojo-morado	Ausente	Amarillo	Rosado	Oblongo (digitado)	Medio

EcoRI. Posteriormente la reacción se incubó a 37°C toda la noche, luego a 65°C por 15 minutos. La obtención del ADN digerido fue verificado en gel de agarosa al 1%, observándose un barrido de ADN característico.

Ligación, se tomó 20 µL ADN digerido, 120U de T₄ ADN ligasa, 50 µM de adaptador MseI, 10 µM de adaptador EcoRI, buffer de reacción y agua destilada libre de nucleasas, posteriormente la solución se incubó a temperatura ambiente (20 °C) toda la noche y finalmente se realizó una dilución 1:5.

Reacción de pre-amplificación (00/00), se preparó el master mix conteniendo agua destilada libre de nucleasas, buffer 10X, dNTPs, MgCl₂ y primers: 10 µM de EcoRI y 10 µM de MseI sin nucleótidos adicionales (00/00); a la mezcla preparada se adicionó 5 µL de ADN ligado/diluido. La reacción de pre-amplificación de PCR se realizó en el termociclador Applied Biosystems®, el programa usado fue: 1 ciclo (72 °C/2 min), 24 ciclos (94 °C / 30 seg, 56 °C /60 seg) y finalmente de 72 °C / 5 min, concluyendo la reacción a una temperatura de 4 °C.

Amplificación selectiva (+3/+3), se determinó 12 combinaciones de iniciadores (+ 3 nucleótidos selectivos): E13 - M49; E41 - M48; E35 - M49; E38 - M50; E35 - M37; E39 - M48; E39 - M49; E38 - M49; E12 - M32; E13 - M37; E37 - M50; E38 - M61. Se usó 2 µL de ADN pre-amplificado/diluido (1:3), 5 mM de dNTPs, 0.75U de Taq polimerasa, 100 ng de MseI(+3) y 15 ng de EcoRI(+3). El programa usado en el termociclador fue: 1 ciclo inicial (94 °C / 20 seg, 65 °C / 30 seg y 72 °C / 2 min), seguido de 8 ciclos en el que la temperatura de hibridación se redujo en 1 °C; a continuación, la temperatura se mantuvo constante a 56 °C para los 20 ciclos restantes.

Electroforesis en geles de poliacrilamida y tinción.- Los productos de la amplificación selectiva se separaron en geles denaturantes de poliacrilamida al 6% y la visualización de dichos fragmentos se realizó con la tinción de nitrato de plata.

Escaneado y lectura de bandas amplificadas.- La lectura de las bandas se realizó utilizando los geles con mejor resolución y se enumeraron consecutivamente empezando desde el primer individuo del primer carril, su enumeración correspondió a 1 como presencia y 0 como ausencia para cada morfotipo respectivamente.

Análisis estadístico.- Los datos se procesaron en una matriz binaria Excel y la similitud genética se calculó utilizando el coeficiente de similitud Simple Matching, método del grupo par no ponderado con promedios aritméticos (UPGMA) usando el programa NTSYS 2.10

Resultados y discusión

Utilizando el método CTAB (CIP 1997) modificado se logró obtener ADN de buena calidad cuyas concentraciones oscilaron entre 300 a 500 ng/µL por 200 mg de tejido vegetal, los resultados obtenidos coinciden con los trabajos descritos por Gonzales & Peña (2014) en la caracterización de las papas nativas de Chungui y, Sánchez (2017) en el estudio de la variabilidad genética en accesiones de papa. En ambos casos, obtuvieron concentraciones similares en el estudio de la diversidad de la papa tanto en Perú como en Colombia. No obstante, Kim et al. (1998) reportó un mejor rendimiento y una excelente calidad del ADN utilizando el método descrito por Dellaporta et al. (1983). Iglesias et al. (2003) al comparar tres técnicas de extracción, incluyendo las dos técnicas mencionadas anteriormente, sugieren también el método CTAB. Fierro (2004) señala que el método CTAB es una buena técnica para la extracción de ADN de plantas que tienen un alto contenido de polisacáridos y metabolitos secundarios.

Análisis de la diversidad genética por AFLP.- como se muestra en la Tabla 1, en el presente trabajo se obtuvo un total de 68 bandas, de las cuales el 55.9% resultaron ser bandas polimórficas y un promedio de 34 bandas polimórficas por iniciador, los resultados obtenidos coinciden con Esfahani et

al. (2009) y Gonzales & Peña (2014). No obstante, el número de bandas obtenidas es menor respecto a los estudios de Solano et al. (2007). De otro lado, Wang et al. (2011) y Yildirim et al. (2010) obtuvieron bandas superiores a 43 por combinación de iniciadores. Según Vos et al. (1995) una de las ventajas del uso de AFLP es la generación de gran cantidad de polimorfismo, siendo entre 50 a 100 bandas o locus por iniciador. Al respecto Wang et al. (2011) mencionan que el análisis de polimorfismo no es muy fiable cuando el número de locus o bandas obtenidas es por debajo de 20 y la fiabilidad de la información es estable al superar 70 locus. En el presente trabajo se probaron 12 combinaciones de iniciadores que también fueron utilizados por Yildirim et al. (2010); Wang et al. (2011) y, Gonzales & Peña (2014). La combinación de iniciadores E39 – M49 usada por Wang et al. (2011) y la combinación E37 – M50 utilizado por González y Peña (2014) no resultaron ser polimórficas para el presente estudio. No obstante, la combinación E38 – M49 fueron menos polimórficas en relación a la combinación E13–M49 que presentó 22 bandas polimórficas, a diferencia de la combinación E38 – M49 que mostró sólo 16; por tanto, la combinación E13 – M49 resultó más polimórfica e informativa en el estudio de la diversidad de la papa de Vilcashuamán.

Asimismo, Moscoe et al. (2015) en el estudio de la diversidad de *Oxalis tuberosa* Molina, mencionan que los datos de AFLP revelaron 66 bandas con un promedio de 28.19 bandas presentes por muestra, valor superior que Wang et al. (2017), quienes usaron 10 combinaciones de iniciadores y obtuvieron 998 bandas en 288 colecciones de germoplasmas de papa, y de ellas 983 bandas fueron polimórficas con un promedio de 98.3 por combinación de iniciador. Wang et al. (2017) mencionan que la variación puede estar influenciada por el origen de las colecciones de papa, tipo de marcador y la metodología utilizada para el revelado de las bandas por electroforesis.

Contenido de Información polimórfica (PIC).- La combinación de iniciadores E13 – M49 mostraron 39 bandas, de las cuales el 58% fueron polimórficas y con un valor de PIC 0.45, mayor que la combinación E38 – M49 con un PIC de 0.40 (Tabla 2), los valores obtenidos determinan la variabilidad de papas nativas en Vilcashuamán. Gonzales y Peña (2014) reportaron un resultado similar (0.43) para la caracterización molecular de pa-

Tabla 2. Valores del Índice de Contenido Polimórfico (PIC) para las combinaciones de iniciadores más polimórficas.

Combinación de iniciadores	Índice de contenido polimórfico (PIC)
E13-M49	0.45
E38-M49	0.40

Tabla 1. Número y porcentaje de bandas polimórficas y monomórficas detectados en los patrones de AFLP.

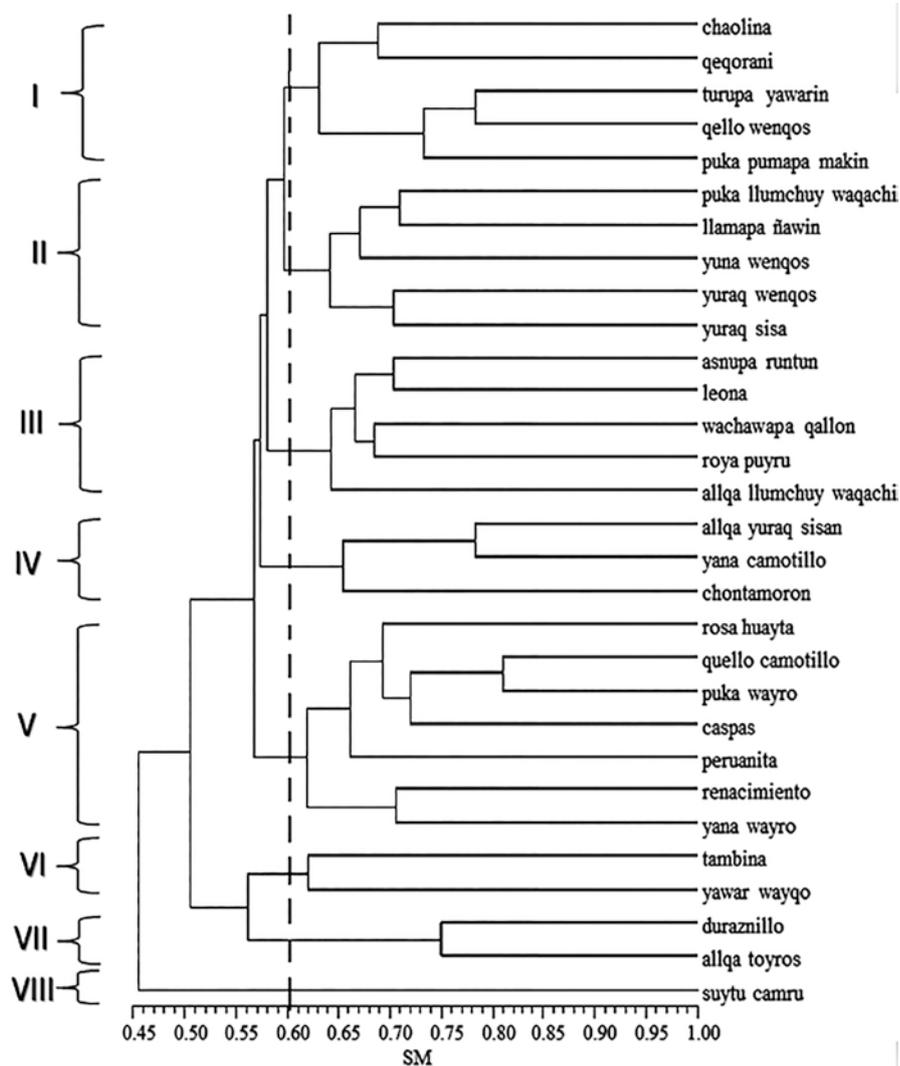
Combinación de iniciadores	Bandas monomórficas	%	Bandas polimórficas	%	Nº total de bandas
E38-M49	13	43	16	42	29
E13-M49	17	57	22	58	39
Total	30		38		68
Promedio	15	44	19	56	34

pas nativas de Chungui. De igual forma Sánchez (2017) reportó un PIC de 0.49 en el estudio de 30 morfotipos de papas nativas en Colombia. Sin embargo, Yildirim et al. (2010), Esfahani et al. (2009) y Wang et al. (2017) lograron obtener valores altos de PIC (0.56, 0.61 y 0.99) respectivamente.

Como menciona Semagn et al. (2006), el polimorfismo no sólo depende de la combinación de iniciadores selectivos; sino también de la elección de los morfotipos y sus orígenes, siendo más polimórficos en aquellos morfotipos con orígenes diversos, debido a que en aquéllos no se da el flujo genético. Wang et al. (2017) en un estudio de 288 accesiones de papa analizadas (140 accesiones del Centro Internacional de la Papa; 105 de diferentes provincias de China, 27 de otros países y 16 de fuente desconocida) reportaron un PIC de 0.99 que es muy superior a los resultados obtenidos en el presente estudio. No obstante, es necesario indicar que si bien los morfotipos muestran diversidad de formas y colores, todos los morfotipos estudiados proceden de la colección de un conservacionista de Vilcashuamán. De

igual forma las colecciones que fueron estudiadas por Sánchez (2017) y Gonzales y Peña (2014) proceden de un espacio geográfico muy pequeño.

Análisis de la similitud genética.- Como se puede apreciar en la Figura 1, el valor del coeficiente de correlación cofenética "r" fue de 0.7. A un coeficiente de similitud de 0.6, no se encontraron morfotipos duplicados y se determinaron 8 grupos, con similitudes genéticas que oscilaron de 0.45 a 0.81 y una media de 0.63; menor respecto a otros estudios, lo cual indica la alta variabilidad de los 30 morfotipos estudiados en Vilcashuamán. Sin embargo, es ligeramente inferior respecto al estudio de Sánchez (2017) quien utilizando un marcador SSR reportó una similitud media de 0.65 mostrando una mínima diferencia. Solano et al. (2007) al analizar la diversidad de papas chilenas obtuvieron una similitud media de 0.73 al igual que Wang et al. (2011) en Turquía. Del mismo modo, Esfahani et al. (2009) reportaron una similitud media para América del Norte de 0.79 y 0.77 para variedades europeas en Irán.



Coeficiente de correlación cofenética: $r = 0.7$

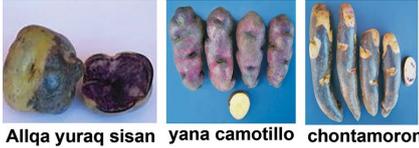
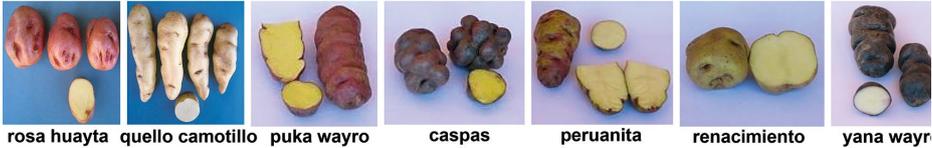
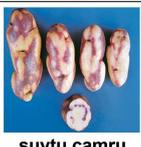
Figura 1. Dendrograma obtenido del análisis de agrupamiento con el método UPGMA de 30 morfotipos de papas nativas de la provincia de Vilcashuamán, Ayacucho, empleando el coeficiente de similitud de Simple Matching (SM).

Respecto a la gran diversidad de papas nativas en el Perú, estudios filogenéticos han determinado su centro de origen en el altiplano peruano-boliviano (Spooner et al. 2005); sin embargo, la domesticación y gran expansión del referido tubérculo se dio durante la formación del imperio Inca y tuvo lugar en la sierra del Perú, donde se observa la mayor diversidad genética (Hawkes 1990, Sukhotu & Hosaka 2006, Morales 2007). En efecto, Soto et al. (2013), en su estudio de diversidad genética usando microsatélites, determinaron que la región de Cusco presenta el mayor número de alelos (130 alelos), seguido de Puno (120), Ayacucho (115), Huancavelica (111) y Cajamarca (105). La poca variación probablemente se deba a que los agricultores tienden a conservar diversas variedades de papas nativas, pero entre todas

ellas comparten las mismas características de utilidad para el agricultor (sabor, tamaño, productividad, etc.) que hacen que prevalezca un *pool* de genes “estándar”.

Entre los estudios de diversidad genética realizados en el Perú, Gonzales & Peña (2014) al estudiar la diversidad de papas nativas de Chungui, ubicado también en el departamento de Ayacucho reportaron una similitud media de 0.75, mayor respecto al obtenido en la presente investigación (0.63). Lo cual indicaría que los agricultores conservacionistas en la provincia de Vilcashuamán, mantendrían una alta diversidad genética de papas nativas y evidentemente superior al distrito de Chungui en la provincia de La Mar. Dicho resultado podría atribuirse

Tabla 4. Distribución en ocho grupos de los 30 morfotipos de papas nativas de la provincia de Vilcashuamán, Ayacucho.

GRUPO	Nº de morfotipos	NOMBRE DE LOS MORFOTIPOS
I	5	 <p>chaolina qeqoraqni turupa yawarnin qello wenqos puka pumapa makin</p>
II	5	 <p>puka llumchuy waqachi llamapa ñawin yana wenqos yuraq wenqos yuraq sisa</p>
III	5	 <p>asnupa runtun leona wachwapa qallon roya puyru allqa llumchuy waqachi</p>
IV	3	 <p>Allqa yuraq sisan yana camotillo chontamorón</p>
V	7	 <p>rosa huayta quello camotillo puka wayro caspas peruanita renacimiento yana wayru</p>
VI	2	 <p>tambina yawar wayqo</p>
VII	2	 <p>duraznillo peruanita</p>
VIII	1	 <p>suytu camru</p>

a que, en la actualidad los pobladores de esta zona que están dedicados al cultivo de las papas nativas, basan su seguridad alimentaria en el referido tubérculo y junto a su conocimiento ancestral constituyen la razón del proceso dinámico de conservación, por lo que se generan “nuevos” genotipos constantemente (Zimmerer 1991).

La premisa anterior se sustenta que entre los lugares representativos de comercio y agricultura del antiguo Perú, la ciudad de Vilcashuamán, debido a su importancia e influencia con la cultura Inca y otras según evidencias históricas y arqueológicas, fue uno de los lugares donde se realizó intercambio de cultivos como la papa (Palomino 2014, Matsumoto & Cavero 2012, Cieza 1967), por tanto, los resultados obtenidos en presente trabajo, es la evidencia de que Vilcashuamán constituye un espacio de diversidad genética de las papas nativas, similar al Cusco como menciona Ortega (1997). No obstante, es necesario realizar otros estudios que permitan la conservación, mejoramiento genético para garantizar la seguridad alimentaria.

Análisis de agrupamiento de la diversidad genética.

Aunque la mayoría de las investigaciones reportan baja correlación entre marcadores morfológicos y moleculares (Gonzales & Peña 2014, Wang et al. 2011, Yildirim et al. 2010, Esfahani et al. 2009), en nuestro estudio, utilizando el AFLP, se obtuvo una buena correspondencia. De los ocho grupos identificados (Fig. 1 y Tabla 4), si bien todos tienen un origen común, cada grupo está determinado por morfotipos de papas nativas con caracteres similares (Tabla 3); es así, que el grupo VIII es la más distante comparado con los otros morfotipos, seguida de los grupos VII, VI, V, IV, III, II y I. Los grupos VI y VII cuyo origen es precedido por el morfotipo *suytu camru*, todos las muestras incluyendo el del grupo XIII, presentan una sola forma, oblonga y la piel de color rojo morado casi en su totalidad, con la presencia en algunas un color secundario de color amarillo, sobre todo alrededor de los ojos; en el grupo V el color de la piel empieza a tener variaciones, dos morfotipos: *caspa* y *yana huayro*, no corresponden al grupo debido a que presentan piel de color morado a *negruzco* y justamente ellas presentan una variación de la forma a *tuberosado*; pero, la pulpa en este grupo al igual que en los grupos VII y VI van de *crema* a *amarillo* en un 100% y aún persiste los ojos profundos. El grupo IV con solo tres morfotipos, presentan la forma *obovada*, a excepción del morfotipo *alqa yuraq sisa* que es *comprimido* y es la única que presenta la pulpa de color morado casi en su totalidad.

En el grupo III todos los morfotipos presentan forma oblonga, con pieles pigmentadas variadas de rojo, morado a *negruzco*, la pulpa es aún más amarilla, pero el morfotipo *asnupa runtun* posee en la pulpa un color secundario, formando anillos de color morado. En el grupo II, se encontró desde *redondas*, *oblongo alargadas* y *tuberosados*, con pieles *rojizas*, *moradas* a *amarillas*; pero la pulpa carece de pigmentación, todos presentan color *crema*. Por último, en el grupo I, dos de ellas presentan formas de *fusiforme* y *falcado*; al igual que la pulpa, de pigmentación rojo, morado, *crema* y *amarillo*; ambos grupos poseen ojos profundos, medios y sobresalientes. Los morfotipos más cercanos corresponden a *qello camotillo* y *puka wayro* del grupo V; ambas completamente diferentes; en contraste con la similitud genética de 0.81 no contrasta con la similitud fenotípica.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a los conservadores de la diversidad nativa de las papas nativas, en especial al señor Julio Ochoa Gamboa, conservador y productor de las papas nativas de Vilcashuamán. Al CONCYTEC - Perú por su financiamiento parcial a través de la subvención PROCYT N° 233-2008-CONCYTEC-OAJ. A los colaboradores anónimos que contribuyeron significativamente para la elaboración del presente trabajo de investigación.

Literatura Citada

- Albertini E., Porceddu A., Marconi G., Barcaccia G., Pallottini L. & Falcinelli M. (2003). Microsatellite-AFLP for genetic mapping of complex polyploids. *Genome*, 46(5), 824-832. DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/g03-058>
- Calliope S.R., Lobo M.O. & Sammán, N.C. (2018). Biodiversity of Andean potatoes: Morphological, nutritional and functional characterization. *Food chemistry*, 238, 42-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.074>
- Canales E., O. Coto, M.T. Cornide. 2003. Variación genética e identificación de cultivares cubanos de caña de azúcar mediante RFLP. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 34(3):129-136.
- Chambers G.K. & MacAvoy E.S. (2000). Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 126(4), 455-476. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(00\)00233-9](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(00)00233-9)
- Cieza P. 1967. El señorío de los Incas. Instituto de Estudios Peruanos. Lima. ISBN: 980-276-394-2
- CIP (Centro Internacional de la Papa). 1997. Protocolos de laboratorio de biología molecular-Tipificación genética. En: Ghislain, M., Zhang, D. & Herrera, M. R. (edit). Departamento de Recursos Genéticos. Manual de Capacitación CIP. Lima, Perú. pp. 30.
- Coulibaly I., B. Revol, M. Noirot, et al. 2003. AFLP and SSR polymorphism in a *Coffea* interspecific backcross progeny [(*C. heterocalyx* × *C. canephora*) × *C. canephora*]. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(6):1148-1155. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-003-1355-4>
- Dellaporta S.L., J Wood, J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant molecular biology reporter*, 1(4):19-21. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02712670>
- Esfahani S.T., B. Shiran, G. Balali. 2009. AFLP markers for the assessment of genetic diversity in European and North American potato varieties cultivated in Iran. *Crop Breed. Appl. Biotechnol*, 9:75-86.
- Fierro F. 2004. Electroforesis de ADN. En: Cornejo A., A. Serrato, B. Rendon, M. Rocha (eds). *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. 1ª ed. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC-SEMARNAT) (México). ISBN: 9786078246724
- Gonzales J. & G. Peña. 2014. Caracterización molecular de papas nativas (*Solanum* spp.) del distrito de Chungui, Ayacucho, mediante AFLP. *Revista peruana de Biología*, 21(3):277-282. [con acceso el 05/09/2014]. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v21i3.10903>
- Guichoux E., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Léger P., Lepais O. & Petit R.J. (2011). Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular ecology resources*, 11(4), 591-611. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x>
- Gutiérrez R. 2008. Papas nativas desafiando el cambio climático: Propuesta de adaptación tecnológica del cultivo de papas frente al cambio climático en Cusco y Ancash. ©Soluciones Prácticas-ITDG. (Lima), p.11-30.
- Hawkes J.G. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press, London. ISBN: 1852930454
- Hijmans R.J., D.M. Spooner, A.R. Salas, et al. 2002. Atlas of Wild Potatoes. Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), 143p. ISBN-10: 92-9043-518-6
- Huamán Z. & D.M. Spooner. 2002. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). *American Journal of Botany*, 89(6):947-965. ISSN 0256 - 8667

- Huamán Z. 1986. Botánica sistemática y morfología de la papa. 2ª ed. Centro Internacional de la Papa (CIP, Lima:), 22p. (Boletín de información técnica 6).
- Iglesias L.G., M. Luna, R. López. 2003. Determinación del método de extracción de ADN óptimo para el desarrollo de la técnica RAPD en megagametofitos de *Pinus hartwegii* Lindl. Foresta Veracruzana (México), 5(1):43-48. ISSN 1405 – 7247
- Kim J.H., H. Joung, H.Y. Kim, et al. 1998. Estimation of Genetic Variation and relationship in Potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars using AFLP markers. American Journal of Potato Research, 75(2):107-112. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02883885>
- Leitch L.J., M.W. Chase, M.D. Bennett. 1998. Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. Annals of Botany, (82):85-94. <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1998.0783>
- Madroño I.C., Rosero J.E., Rodríguez L.E., Navia J.F. & Benavides C.A. (2013). Morpho-agronomic characterization of promising native creole potato genotypes (*Solanum tuberosum* L. Andigenum group) in Nariño. Revista Temas Agrarios, 18(2), 50–66. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia.
- Matsumoto Y. & Y. Cavero. 2012. Una aproximación cronológica del centro ceremonial de Campanayuc Rumi, Ayacucho. Boletín de Arqueología PUCP, (13):323-346. ISSN 1029-2004
- Montalvo Fernández G., Quiroz Moreno A., Rojas Jiménez L., Quiala Mendoza E., Mederos Oroza R., Morfi Mestre H. & Sánchez-Teyer, L. F. (2012). First report of the employment of AFLP markers in Asteraceae in Cuba. Revista Colombiana de Biotecnología, 14(2), 28-37.
- Morales F.J. 2007. Sociedades precolombinas asociadas a la domesticación y cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en Sudamérica. Revista Latinoamericana de Papa, 14(1):1-9. ISSN: 1019-6609.
- Morell M.K., R. Peakall, R. Appels, et al. 1995. DNA profiling techniques for plant variety identification. Animal Production Science, 35(6), 807-819.
- Moscoe L.J. & Emswiller E. (2015). Diversity of *Oxalis tuberosa* Molina: a comparison between AFLP and microsatellite markers. Genetic resources and crop evolution, 62(3), 335-347. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-014-0154-x>
- Narváez R., B. Valenzuela, R. Hinrichsen. 2000. Comparación de RAPD y AFLP como métodos de identificación genética de vid basados en el estudio de fragmentos genómicos anónimos. Agricultura Técnica, 60(4):320-340. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072000000400002>
- Nunziata A., V. Ruggieri, N. Greco, et al. 2010. Genetic diversity within wild potato species (*Solanum* spp.) revealed by AFLP and SCAR markers. American Journal of Plant Sciences, 1(02):95. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2010.12012>
- Ochoa C. 1999. El germoplasma de papa en Sud América: prospects for the potato in the developing world. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 1036p. ISBN 9-2906-0197-3
- Ortega R. 1997. Peruvian in situ conservation of Andean crops. In: N. Maxted B. J. Ford-Lloyd. Hawkes, Chapman & Hall (eds). Plant Genetic Conservation. (England). 307p. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1437-7_19
- Palomino Y.I.C. 2014. Evidencias arqueológicas en la avenida Calle Real, Vilcashuamán-Ayacucho. Arqueología y Sociedad, 28:43-59. ISSN: 0254 – 8062
- Salvatierra H. 2013. Productos nativos desafían al cambio climático. Latinoamérica en el Centro Chirapaq.
- Sánchez M.A. (2017). Estudio de la variabilidad genética en accesiones de papa (*Solanum tuberosum* L.) mediante marcadores SSRs. Revista Ciencia y Agricultura, 14(2), 67-76.
- Semagn K., Å. Bjørnstad, M.N. Ndjondjop. 2006. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. African Journal of Biotechnology, 5(25):2569-2587.
- Solano J., D. Morales, L. Anabalón. 2007. Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers. Electronic Journal of Biotechnology, 10(3):436-443. <http://dx.doi.org/10.2225/vol10-issue3-fulltext-14>
- Soto J., T. Medina, Y. Aquino, et al. 2013. Diversidad genética de papas nativas (*Solanum* spp.) conservadas en cultivares nativos del Perú. Revista Peruana de Biología, 20(3): 215-222. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v20i3.5216>
- Spooner D.M., K. McLean, G. Ramsay, et al. 2005. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(41):14694-14699. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0507400102>
- Sukhotu T. & K. Hosaka. 2006. Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. Genome, 49:636-647. <http://dx.doi.org/10.1139/G06-014>
- Túpac A. 2001. Postcosecha y comercialización de tubérculos andinos con énfasis en papas nativas y ulluco. En: Morales, M. & Z. Bermúdez (eds). Perspectivas tecnológicas en el uso del germoplasma de papas nativas. Ministerio de Agricultura del Perú, Instituto Nacional de Investigación Agraria, INIA, Centro Internacional de la Papa, p.29-34. ISBN 92-90602198
- Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, et al. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic acids research (England), 23(21):4407-4414. ISSN: 4407-4414
- Wang F., F. Li, J. Wang, et al. 2011. Genetic diversity of the selected 64 potato germplasms revealed by AFLP markers. Molecular Plant Breeding, 2(4):22-29. <http://dx.doi.org/10.5376/mpb.2011.02.0004>
- Wang J., Lu H.O.U., Wang R.Y., He, M.M. & Liu Q.C. (2017). Genetic diversity and population structure of 288 potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasms revealed by SSR and AFLP markers. Journal of Integrative Agriculture, 16(11), 2434-2443. [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61619-2](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61619-2)
- Yildirim C.A.Z., M.B. Yildirim, C. Kaya, et al. 2010. Assessing genetic diversity of some potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes grown in Turkey using the AFLP marker technique. Turkish Journal of Field Crops, 15(1): 73-78.
- Zimmerer K.S. 1991. Labor shortages and crop diversity in the southern Peruvian sierra. Geographical Review, 414-432. <http://dx.doi.org/10.2307/215608>