

**MAPEO ASOCIATIVO Y ANÁLISIS DE DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO PARA LA
IDENTIFICACIÓN DE GENES DE TOLERANCIA A ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPA
TETRAPLOIDE**

TAGLIOTTI MARTIN ENRIQUE

**Trabajo de tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al Título de
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**

**Lugar de realización: Unidad Integrada Balcarce: Facultad de Ciencias Agrarias-
UNMdP – Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce**

Mar del Plata, Argentina

2019

INDICE

Resumen	11
Abstract	12
Antecedentes Generales	14
Hipótesis y Objetivos	17

Capítulo 1:

Uso de rasgos fenotípicos fáciles de medir como un enfoque complementario para evaluar la estructura y diversidad poblacional en un panel altamente heterocigota de papa tetraploide

Resumen	18
Introducción	20
Materiales y Métodos	23

1. Material vegetal
2. Métodos
 - 2.1. Datos Fenotípicos
 - 2.2. Extracción de ADN
 - 2.3. Genotipado SNP
 - 2.4. Análisis multivariado de rasgos fenotípicos
 - 2.5. Heterocigosidad de la población y diversidad molecular
 - 2.6. Filogenia y Estructura de la población

Resultados	28
-------------------------	-----------

1. Agrupación de genotipos según rasgos cuantitativos
2. Agrupación de genotipos según rasgos cualitativos
3. Evaluación de la diversidad genética mediante marcadores tipo SNPs
4. Filogenia poblacional obtenida a partir de datos moleculares
5. Enfoque bayesiano de la estructura poblacional
6. Análisis conjunto: Agrupamiento por rasgos moleculares y fenotípicos

Discusión.....	37
1. Diversidad molecular	
2. Filogenia y estructura de la población	
3. Caracterización conjunta por análisis multivariado y molecular	
Conclusión.....	42
Material Suplementario	43

Capítulo 2:

Diversidad en la respuesta de rasgos fenotípicos en un panel de papa sometido a regímenes hídricos contrastantes

Resumen	57
Introducción.....	58
Materiales y Métodos.....	60
1. Material vegetal	
2. Métodos	
2.1. Ensayos a campo	
2.2. Ensayos en invernáculo	
2.3. Muestreo y Medición	
2.3.1. Variables a campo	
2.3.2. Variables en invernáculo	
2.4. Análisis estadístico	
Resultados.....	64
1. Ensayo a campo	
1.1 Rendimiento	
1.2 Masa seca del tubérculo	
1.3 Aptitud para freír	
2. Bajo condiciones de invernáculo	
2.1 Consumo de agua	
2.2 Concentración de Prolina	

2.3	Contenido relativo de agua	
3.	Análisis conjunto	
4.	Genotipos clasificados por BLUPs	
Discusión	75
Conclusiones	78
Material Suplementaria	79

Capítulo 3:

Análisis de desequilibrio de ligamiento y mapeo asociativo para caracteres ligados al estrés hídrico por sequía

Resumen	84
Introducción	85
Materiales y Métodos	87
1.	Material	
2.	Métodos	
2.1.	Cálculo de desequilibrio de ligamiento y haplotipos	
2.2.	Análisis de asociación	
Resultados	89
1.	Cálculo de desequilibrio de ligamiento y haplotipos	
2.	Análisis de asociación	
Discusión	96
1.	Análisis de desequilibrio de ligamiento	
2.	Análisis de asociación	
Conclusiones generales	99
Bibliografía	104

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo 1:

Uso de rasgos fenotípicos fáciles de medir como un enfoque complementario para evaluar la estructura y diversidad poblacional en un panel altamente heterocigota de papa tetraploide

Tabla 1. Resumen de la diversidad genética de los genotipos de papa con orígenes, especies y niveles de ploidía diversos	31
---	----

Tabla Suplementaria 1: Resumen de genotipos de papa evaluados por diferentes enfoques	43
--	----

Tabla Suplementaria 2: Resumen de puntajes para rasgos fenotípicos en 144 genotipos de papa	48
--	----

Capítulo 2:

Diversidad en la respuesta de rasgos fenotípicos en un panel de papa sometido a regímenes hídricos contrastantes

Tabla 2: Variación media de la concentración de prolina bajo déficit hídrico	70
---	----

Tabla 3: Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre el consumo de agua, la concentración de prolina, el contenido de materia seca, la capacidad de fritura, el contenido relativo de agua y el rendimiento	72
--	----

Tabla 4: Genotipos clasificados por BLUP de Materia Seca, Aptitud para Freír, Contenido de agua, Rendimiento y Contenido relativo de agua	74
--	----

Capítulo 3:

Análisis de desequilibrio de ligamiento y mapeo asociativo para caracteres ligados al estrés hídrico por sequía

Tabla 5: Medidas de resumen y dispersión de los valores BLUPs	90
--	----

Tabla 6: Asociaciones significativas entre marcadores moleculares y rasgos fenotípicos	96
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1:

Uso de rasgos fenotípicos fáciles de medir como un enfoque complementario para evaluar la estructura y diversidad poblacional en un panel altamente heterocigota de papa tetraploide

Figura 1: Análisis de componentes principales (PCA) para rasgos cuantitativos en 144 individuos de papa.....	29
Figura 2: Análisis de coordenadas principales (PcoA) para rasgos cualitativos.....	30
Figura 3: Filogenia inferida de la población.....	33
Figura 4: Estructura poblacional via STRUCTURE.....	34
Figura 5: Análisis conjunto de 144 genotipos de papas entre Procrustes generalizados (GPA) y STRUCTURE.....	36
Figura Suplementaria 1: Delta K vs. K plot.....	54
Figura Suplementaria 2: Análisis de componentes principales a partir de marcadores de SNP.....	55
Capítulo 2:	
Diversidad en la respuesta de rasgos fenotípicos en un panel de papa sometido a regímenes hídricos contrastantes	
.	
Figura 6: Rendimiento en cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes.....	65
Figura 7: Variación del contenido de materia seca (%) bajo dos regímenes hídricos contrastantes	77
Figura 8: Variación de la aptitud para freír en cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes.....	67
Figura 9: Consumo de agua de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes	68
Figura 10: Concentración de prolina de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes	69
Figura 11: Contenido relativo de agua de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes	71
Figura 12: PCA Biplot para cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes.....	72
Figura Suplementaria 3: HR (%) y precipitación (mm) para los campos experimentales de INTA.....	79
Figura Suplementaria 4: Variación temporal del consumo de agua de los grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes	80

Figura Suplementaria 5: Variación temporal de la concentración de prolina de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes	81
---	----

Figura Suplementaria 6: Variación temporal del contenido de agua relativa de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes	82
---	----

Capítulo 3:

Análisis de desequilibrio de ligamiento y mapeo asociativo para caracteres ligados al estrés hídrico por sequía

Figura 13: Haplotipos detectados en cada cromosoma mediante marcadores SNPs	90
--	----

Figura 14: Frecuencia relativas de los valores BLUPs	91
---	----

Figura 15: Comparación de los gráficos tipo Manhattan para la totalidad de los rasgos medidos	95
--	----

Figura 16: Bloques de LD para las regiones cromosómicas adyacentes a los QTLs detectados	98
---	----

Figura Suplementaria 7: Gráfico cuantil-cuantil (QQ plot) para cada rasgo fenotípico	111
---	-----

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*, $2n = 4x = 48$) es el cuarto cultivo alimenticio más importante del mundo. A nivel mundial, el cultivo es sembrado en 19 millones de hectáreas y su producción anual es de alrededor de 325×10^6 toneladas. En la Argentina, se siembran aproximadamente 75.500 mil hectáreas anuales, de las cuales 32 mil hectáreas se encuentran en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires. La papa es un cultivo descrito como susceptible a la sequía, limitando las áreas de producción a zonas húmedas o bien irrigadas. Entre las especies presentes en el cultivo de papa existe gran variabilidad genotípica respecto a la tolerancia al estrés hídrico. El mapeo asociativo aprovecha la diversidad existente en el germoplasma estudiado para identificar alelos y loci vinculados a un rasgo de interés como la tolerancia a estrés hídrico por sequía sin la necesidad de construir poblaciones de mapeo. En este trabajo se evaluó la estructura poblacional y la diversidad genética en un panel de mapeo asociativo vinculado al germoplasma del Programa de Mejoramiento Genético de Papa de la EEA INTA-Balcarce que incluyó genotipos pertenecientes a *Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*, *S. tuberosum* spp. *andígena*, *S. tarijense* y *S. chacoense* mediante dos aproximaciones: utilizando marcadores

moleculares (SNPs) y por medio de marcadores fenotípicos de fácil medición. En complementación, se calcularon predictores lineales insesgados (BLUPs) para rasgos fenotípicos asociados a la tolerancia al estrés por sequía en ambientes con regímenes hídricos contrastantes. Finalmente, a partir de los valores BLUPs se realizó un análisis por mapeo asociativo para evaluar la asociación de éstos con la variación genotípica evidenciada por el genotipado de la población mediante marcadores tipo SNPs.

Se utilizó como cofactores fijos la estructura poblacional y la matriz de parentesco. La estructura de la población estudiada mediante el uso por marcadores tipo SNPs se asoció con el origen del germoplasma evaluado. Los rasgos fenotípicos de fácil medición mostraron capacidad preliminar para agrupar poblaciones de papa de diverso origen, grupo taxonómico y nivel de ploidía. En general las variables fenotípicas evaluadas en ambientes con regímenes hídricos contrastantes mostraron respuesta diferencial frente al estrés. Los BLUPs permitieron generar un ordenamiento de genotipos con buena respuesta frente al estrés hídrico por sequía. Mediante el análisis molecular se observó desequilibrio de ligamiento en cada uno de los cromosomas de la papa. Posteriormente, se encontraron asociaciones significativas entre los marcadores moleculares y los fenotípicos asociados al rendimiento, concentración de prolina y consumo de agua. Los marcadores asociados a la concentración de prolina y consumo de agua se vincularon con genes candidatos de respuesta a estrés. Los análisis conducidos en la presente tesis permitieron (i) evidenciar la variabilidad genética en la población de papa utilizada, (ii) validar la capacidad selectiva de los predictores insesgados tipo BLUPs de los rasgos fenotípicos evaluados para la tolerancia a estrés hídrico por sequía y por último (iii) proponer posibles QTLs asociados a la tolerancia a estrés por sequía.

ABSTRACT

The potato (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*, $2n = 4x = 48$) is the fourth most important food crop in the World. Worldwide, the crop is planted on 19 million hectares and its annual production is around 325 million tons. In Argentina, 77500 thousand hectares are planted annually, of which 32 thousand hectares are grown in the Southeast of Buenos Aires. The potato is a crop described as susceptible to drought, limiting its production areas to humid or irrigated areas. Among the potato species there is great variability in the response to abiotic stresses, such as water stress.

Associative mapping uses the existing diversity in the germplasm studied to identify alleles and loci linked to a trait of interest such as tolerance to water stress due to drought without the need to build mapping populations. The population structure and genetic diversity were evaluated in an associative mapping panel linked to the germplasm of the Potato Genetic Breeding Program of the EEA INTA Balcarce using two approaches: using molecular markers (SNPs) and easy-to-measure phenotypic markers. Complementarily, unbiased BLUPs predictors was calculated for phenotypic traits associated with tolerance to drought stress in environments with contrasting water regimes. Finally, from the previous experimental data, an associative mapping analysis was performed using the BLUPs-type unbiased predictors to evaluate the association with the genotypic variation evidenced by the genotyping of the population using SNP-type markers. The population structure and the kinship matrix were used as fixed cofactors. The structure of the population generated by SNP type markers was associated with the origin of the evaluated germplasm. Easy-to-measure phenotypic traits showed preliminary ability to group diverse potato populations. In general, the phenotypic variables evaluated in environments with contrasting water regimes showed a differential response to stress. The BLUPs generated an order of genotypes with good response to water stress due to drought. Through the molecular analysis haploid blocks were found in all the chromosomes evaluated, with different degrees of linkages among them. Subsequently, significant associations were found between molecular markers and phenotypic markers associated with yield, proline concentration and water consumption. The markers associated with proline concentration and water consumption were linked to candidate genes for stress response. The analyzes conducted in the present thesis allowed to (i) show the genetic variability in the potato population used, (ii) validate the selective capacity of the BLUPs type unbiased predictors of the phenotypes evaluated for water stress tolerance by drought and, finally, (iii) propose possible QTLs associated with tolerance to drought stress.

Antecedentes Generales

La papa (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*) es uno de los cultivos más importantes en el mundo tanto en superficie anual cultivada como componente de la dieta humana. En la Argentina en la campaña 2016 registró una producción de 2.4×10^6 toneladas de papa con una superficie de 75.500 hectáreas plantadas (https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/areas/hortalizas/archivos/000030_Informes/000995_Mercado%20Externo%20de%20la%20Papa%20-%202017.pdf, 10-9-2018). El mejoramiento genético de papa en Argentina ha sido una actividad de larga data y con reconocido prestigio internacional, tanto por los valiosos materiales obtenidos como por los aportes al conocimiento. La incorporación de resistencias a factores bióticos y abióticos adversos, el desarrollo de mejores cualidades para el procesamiento y su combinación con alto rendimiento y calidad comercial requiere de herramientas que hagan más rápido el avance hacia la excelencia varietal. Los marcadores moleculares han tenido una limitada aplicación en el mejoramiento de papa dirigido a la obtención de variedades mejoradas (Li et al. 2008). La principal razón para esto reside en la complejidad de la herencia tetrasómica de este autotetraploide con baja tolerancia a la endocria (Li et al. 2008). Técnicas como la obtención de isóneas no han podido ser aplicadas en papa; sólo algunos trabajos con monoploides y diploides han facilitado el conocimiento de la herencia de algunos caracteres y la aplicación de marcadores específicos para algunas poblaciones diploides, de limitada utilidad (Hijmans et al. 2002). Debido a que un gran porcentaje de los análisis de ligamiento de caracteres agronómicos y fisiológicos ha sido desarrollado en poblaciones diploides de mapeo, su utilización es difícilmente extrapolable en programas de mejoramiento genético tetraploide. Como los costos del “genotipado” continúan decreciendo, el mapeo asociativo surge como una herramienta simple y poderosa para identificar alelos y loci responsables de la variación observada (Myles et al. 2009). En contraste con el análisis clásico de mapeo de ligamiento, que requiere el desarrollo de progenies para la identificación de loci de caracteres cuantitativos (QTL), el análisis mediante el mapeo asociativo (GWAS) explota la diversidad existente en el germoplasma estudiado sin la necesidad de construir poblaciones de mapeo. Sin esta necesidad el mapeo asociativo puede convertirse en una posible solución a los problemas encontrados hasta el momento, con la aplicación del mejoramiento molecular en papa a nivel tetraploide, derivando

en conocimientos sobre las bases moleculares de los rasgos de interés agronómico (D'hoop et al. 2008; Li et al. 2008). Resultados recientes parecen indicar el potencial de esta metodología en los programas de mejoramiento de papa ayudando a identificar marcadores asociados con caracteres de herencia compleja en poblaciones tetraploides de papa (Gebhardt et al. 2004; Simko et al. 2004; Malosetti et al. 2007; D'hoop et al. 2008; Li et al. 2008; Myles et al. 2009; Rosyara et al. 2016). Asimismo, el mapeo asociativo y el análisis de desequilibrio de ligamiento (LD) han sido propuestos para otros cultivos de interés económico y de herencia compleja (Simko et al. 2006; Li et al. 2008). El LD nos permite determinar en qué grado dos loci están asociados de forma no azarosa, y por ende a que distancia cromosómica se pueden basar los análisis de GWAS.

La metodología de mapeo asociativo, aunque de gran potencial científico-tecnológico, posee dos puntos críticos en los cuáles se deben estudiar previo a su utilización para evitar resultados erróneos. Uno de ellos es la estructura de la población presente en los grupos de germoplasma. La estructura poblacional en papa es generalmente debida a múltiples factores entre los cuales se puede mencionar: aislamiento reproductivo, selección natural y/o artificial y barreras reproductivas internas. El éxito del mapeo asociativo dependerá de las posibilidades de distinguir la asociación entre marcadores y QTL debido al ligamiento físico de la debida a la estructura poblacional. Los diversos fondos genéticos generan estructuras poblacionales que pueden crear LD a través de todo el genoma entre loci no ligados físicamente, y de esta forma aumentar la tasa de falsos positivos o error en la detección de QTLs (Myles et al. 2009). En adición, si la frecuencia de los alelos que puedan conferir variabilidad en el rasgo fenotípico es baja en la población de estudio, el mapeo asociativo perderá capacidad de detección de las asociaciones QTLs- marcador molecular (Bernardo 2018). En la actualidad se presentan trabajos, con numerosas citas, donde se proponen diferentes enfoques estadísticos para poder acceder y utilizar a la estructura poblacional como co-factor en futuros análisis de mapeo asociativo (Pritchard et al. 2000; Patterson et al. 2006; Jombart et al. 2010).

Otro punto crítico para la aplicación de mapeo asociativo para caracteres cuantitativos en tetraploides es la elección de un germoplasma que contenga diversidad genética significativa como el de las variables utilizadas para describir los mecanismos de tolerancia frente al estrés. Las variables a utilizar para realizar el análisis de asociación

deben mostrar capacidad de discriminar entre genotipos susceptibles y tolerantes frente por ejemplo a la sequía. El cultivo de papa es conocido por su susceptibilidad a la escasez de agua y se han observado diferencias genotípicas para esta variable (Tourneux et al. 2003). El rendimiento de este cultivo depende de la duración y de la intensidad del estrés hídrico, del clima y de las condiciones del suelo (Calispa 2000). Trabajos previos han descrito que variables fenotípicas como la concentración de prolina, la materia seca del tubérculo, contenido relativo de agua en hoja tendrían la capacidad de discriminar genotipos susceptibles de genotipos tolerantes a sequía en una población de papa (Knipp y Honermeier 2006; Schafleitner et al. 2007; Evers et al. 2010; Cabello et al. 2012). La selección de genotipos en mejoramiento genético actualmente se basa mayoritariamente en estimadores como los predictores lineales insesgados o BLUPs para cada rasgo o variable fenotípica (Kelly et al. 2007; Ticona-Benavente y da Silva Filho 2015). Además, el germoplasma debe ser lo suficientemente diverso genéticamente como para explotar los eventos de recombinación y cubrir el intervalo más completo de la variación fenotípica derivada de forma tal que pueda tener robustez estadística para encontrar asociaciones (Myles et al. 2009).

Estudios que permitan dilucidar las características tanto genético-moleculares como los rasgos fenotípicos asociados a la tolerancia al estrés hídrico por sequía en poblaciones de papa aportarán al conocimiento científico, permitiendo desarrollar nuevas herramientas orientadas al desarrollo y selección de nuevas variedades de interés. En la actualidad, tanto el sector agrícola público como el privado tienen como premisa fundamental el desarrollo de variedades con tolerancia a factores de estrés que puedan ampliar la frontera agrícola maximizando los rendimientos y reduciendo costos mediante un manejo sustentable del cultivo de papa.

HIPOTESIS GENERALES

1. La variabilidad genética presente en la población de papa perteneciente al programa de mejoramiento genético de INTA-Balcarce utilizada en este estudio permite la identificación de factores genéticos asociados a la tolerancia a estrés por sequía, mediante el uso de técnicas de mapeo asociativo.
2. El uso del mapeo asociativo mediante predictores lineales insesgados (BLUPs) de rasgos fenotipos asociados a la tolerancia a sequía como rendimiento, consumo de agua, contenido relativo de agua en hoja, contenido de prolina, materia seca en tubérculo y aptitud para freír permiten la identificación de marcadores asociados a genes para tolerancia a estrés por sequía en la población de papa perteneciente al programa de mejoramiento genético de INTA-Balcarce.

OBJETIVO GENERAL

Identificar marcadores moleculares asociados a la tolerancia a estrés por sequía en germoplasma tetraploide de papa.

OBJETIVOS PARTICULARES

Capítulo 1

1. Determinar la diversidad molecular, la heterocigosidad y la estructura poblacional del germoplasma tetraploide de papa utilizado como progenitor en el Plan de Mejoramiento de papa de la EEA INTA Balcarce.
2. Contrastar la estructura de la población y la diversidad genética del germoplasma tetraploide a través de dos aproximaciones: marcadores moleculares y marcadores fenotípicos de fácil y bajo costo de medición.

Capítulo 2

1. Evaluar los genotipos presentes en una población del germoplasma tetraploide de papa utilizado como progenitor en el Plan de Mejoramiento de papa EEA INTA Balcarce, por su comportamiento frente a estrés hídrico por sequía.
2. Evaluar la capacidad de predicción de rasgos agronómicos y fisiológicos para la tolerancia a estrés hídrico por sequía en la población de papa bajo estudio.

Capítulo 3

1. Determinar el desequilibrio de ligamiento (LD) en el germoplasma utilizado como progenitor en el Plan de Mejoramiento de papa EEA INTA Balcarce como requisito necesario para detectar asociaciones entre QTLs vinculados con la tolerancia a estrés hídrico y marcadores moleculares tipo SNPs.
2. Identificar asociaciones entre marcadores moleculares tipo SNPs y caracteres fenotípicos relacionados con el estrés hídrico por sequía en un marco de cambio climático.

CAPÍTULO 1

Uso de rasgos fenotípicos fáciles de medir como un enfoque complementario para evaluar la estructura y diversidad poblacional en un panel altamente heterocigota de papa tetraploide

Tagliotti Martin

Tagliotti, M. E., Deperi, S. I., Bedogni, M. C., Zhang, R., Carpintero, N. C. M., Coombs, J., ... & Huarte, M. A. (2018). Use of easy measurable phenotypic traits as a complementary approach to evaluate the population structure and diversity in a high heterozygous panel of tetraploid clones and cultivars. *BMC Genetics* 19, (1), 2-12. DOI 10.1186/s12863-017-0556-9

Deperi, S. I., Tagliotti, M. E., Bedogni, M. C., Manrique-Carpintero, N. C., Coombs, J., Zhang, R., ... & Huarte, M. A. (2018). Discriminant analysis of principal components and pedigree assessment of genetic diversity and population structure in a tetraploid potato panel using SNPs. *PloS one* 13, (3), 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194398>

Resumen

La diversidad de cultivos es fundamental para los esfuerzos que implican el fitomejoramiento. Una evaluación precisa de la diversidad genética utilizando marcadores moleculares, como el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), puede revelar la estructura de la población en estudio. Una caracterización de la estructura de la población utilizando rasgos fenotípicos fáciles de medir podría ser un enfoque preliminar y de bajo costo para dilucidar la estructura genética de una población. En esta tesis se evaluó una población de papas de 183 genotipos del germoplasma tetraploide de papa utilizado como progenitor en el Plan de Mejoramiento de papa de la EEA INTA Balcarce utilizando 4,859 SNPs de alta calidad y 19 rasgos fenotípicos comúnmente registrados en los programas de mejoramiento genético de papas. Para evaluar la estructura de la población se utilizó un enfoque bayesiano, un árbol de expansión mínimo (MST) y un estimador de diversidad, así como un análisis multivariado basado en rasgos fenotípicos.

El análisis basado en marcadores moleculares mostró grupos vinculados a la relación filogenética entre el germoplasma evaluado, así como el vínculo con el programa de mejoramiento que proporcionó el material. Los estimadores de diversidad consistentemente estructuraron la población de acuerdo con la estimación de los grupos *a priori*. Los rasgos fenotípicos solo discriminaron a los grupos principales con características contrastantes, como diferentes subespecies, nivel de ploidía o la pertenencia al programa de mejoramiento genético de INTA Balcarce o el Centro Internacional de la Papa (CIP), pero no discriminaron los genotipos dentro de cada grupo. Un análisis conjunto de caracterización molecular y fenotípica discriminó los grupos según la clasificación fenotípica, la categoría taxonómica, la fuente de procedencia de los genotipos y los antecedentes genéticos.

Este capítulo muestra el nivel significativo de diversidad existente en la población parental de papa, así como las supuestas relaciones filogenéticas entre los genotipos. El uso de rasgos fenotípicos fácilmente medibles entre genotipos altamente contrastantes podría ser un enfoque razonable para estimar la estructura de la población en las fases iniciales de un programa de mejoramiento genético de papa.

Introducción

La presión de selección ejercida para lograr el mejoramiento genético amenaza la diversidad alélica en los genomas de los cultivos. La progenie de los genotipos de papa que se utilizan comercialmente en la actualidad se deriva principalmente de las variedades de élite, generando una base genética estrecha (Bramardi et al. 2005; Bedogni et al. 2009). El análisis de diversidad genética revela los distintos fondos genéticos y las relaciones filogenéticas en el germoplasma utilizado, y proporciona estrategias para establecer, utilizar y administrar las colecciones núcleos de cultivos (Roussel et al. 2004). En la misma línea, comprender la taxonomía, las relaciones filogenéticas y la variabilidad genética en las variedades de cultivares es fundamental para determinar las relaciones genéticas, caracterizar el germoplasma, controlar la erosión genética, diseñar estrategias de muestreo o colecciones de núcleos, establecer programas de mejoramiento y registrar nuevas variedades. La diversidad de cultivos se puede evaluar a través de rasgos fenotípicos y bioquímicos, análisis de parentesco o mediante marcadores moleculares (Singh et al. 1991; Hamrick et al. 1997; Glaszmann et al. 2010), esperando que se encuentre algún grado de correlación entre ellos. El enfoque molecular es el más imparcial. Entre estos enfoques, los rasgos fenotípicos, como por ejemplo, el tamaño del tubérculo o el color de la piel, son intuitivos y prácticos para evaluar en el proceso de selección, aunque están sujetos a efectos ambientales y presión de selección durante la domesticación y el mejoramiento genético. La caracterización correcta de la estructura poblacional dentro de las colecciones de germoplasma es fundamental para identificar e interpretar correctamente las asociaciones entre la diversidad funcional y molecular (Pritchard y Rosenberg 1999; Buckler y Thornsberry 2002). Los estimadores tradicionales de la estructura poblacional reducirán la información genética del germoplasma si las poblaciones predefinidas no coinciden con la realidad biológica (Pearse et al. 2004). Este es un problema para la evaluación correcta de la estructura genética y la diversidad, especialmente en un cultivo plantado en una gran área geográfica (Li et al. 2008). El software STRUCTURE se desarrolló para detectar la relación genética en una colección de genotipos con información de marcadores moleculares multilocus (por ejemplo, los marcadores SNP) (Pritchard et al. 2000). Simko et al. (2006), D'hoop

et al. (2008) y Hirsch et al. (2013) han examinado la estructura de la población en papa dentro de un contexto de mapeo por asociación.

A pesar de tener muchas especies y subespecies taxonómicas emparentadas y de estar distribuidas en entornos diferentes, la naturaleza genética compleja de la papa ha obstaculizado el progreso de los esfuerzos tradicionales de mejoramiento genético (Camadro et al. 1988; Li et al. 2008). Se han descrito diferentes enfoques en el mejoramiento genético de las papas, como el mapeo biparental y por asociación que utiliza selección genómica o genes candidatos, describiendo varios loci de rasgos cuantitativos (QTL) importantes para la regulación de los rasgos agronómicos (Simko et al. 2004; Bradshaw et al. 2008; Li et al. 2008; D'hoop et al. 2010; Hackett et al. 2013). Sin embargo, los estudios de asociación necesitan de la evaluación de la variabilidad fenotípica y genotípica (Simko et al. 2004). Recientemente, se han descrito rasgos fenotípicos con una alta heredabilidad en sentido amplio y sus QTLs asociados en un panel de papas (Rosyara et al. 2016). Por lo general, numerosos genotipos de papa con datos insuficientes se incorporan periódicamente en los centros de mejoramiento genético, ya sea por viajes de recolección de germoplasma o mediante la inclusión de genotipos con rasgos de interés específicos. Al comienzo del proceso de mejoramiento genético, el mejorador tiene varios genotipos que se incluyen en un panel de cruzamiento de papas con la expectativa de tener una alta diversidad genética. Este propósito puede verse obstaculizado por el etiquetado incorrecto, las duplicaciones, el parentesco genético y la co-variación ambiental, entre otros factores. Por lo tanto, un enfoque preliminar con rasgos fenotípicos fáciles de medir podría ser una herramienta razonable para seleccionar genotipos con rasgos de interés contrastantes en el momento del inicio de la formación de un panel de papa. Esto es particularmente importante en los países en desarrollo donde los recursos y los instrumentos de análisis molecular no son fácilmente accesibles para la selección genética completa.

Materiales y Métodos

Material vegetal

La población evaluada estuvo compuesta por 183 genotipos de papa de diversas fuentes, como América del Norte y del Sur, Europa y Asia, variedades y clones del Centro Internacional de la Papa (CIP) y del Programa de Mejoramiento Genético del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA). El germoplasma estudiado incluyó papas cultivadas (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*, *Solanum tuberosum* spp. *andígena* y *S. stenotomun*), especies silvestres (*S. chacoense*, *S. tarijense*) e híbridos interespecíficos (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* var. Calén INTA x *S. gourlayi*). De acuerdo con la taxonomía, el nivel de ploidía, el programa de mejoramiento y la procedencia geográfica, se asignó cada genotipo particular a un grupo *a priori* (A-H). La lista con el germoplasma utilizado en este estudio, la etiqueta del grupo *a priori*, la fuente de germoplasma, el nivel de ploidía, las especies y el tipo de rasgos analizados se presentan en la tabla suplementaria 1.

Los ensayos a campo se sembraron en la Estación Experimental de INTA en Balcarce, Argentina (37° 45' 32''S, 58° 17''O), durante dos temporadas de crecimiento (2011-2012 y 2012-2013), siguiendo el manejo tradicional fitosanitario, de fertilización y de riego. El diseño experimental utilizado fue de bloque aumentado con ocho bloques y ocho variedades estándares (Asterix, Bintje, Frital INTA, Innovator, Kennebec, Newen INTA, Pampeana INTA y Spunta) para ambas temporadas (Federer et al. 1961; Cotes y Núñez et al. 2001). Todo el material vegetal se plantó en el campo con tubérculos sanos libres de virus. Se utilizaron cinco trozos o “semillas” de tubérculos por clon y por bloque.

Datos fenotípicos

Después de la cosecha en otoño (mes de abril), se evaluó un subconjunto de genotipos del panel de papa para obtener 18 características fenotípicas ampliamente registradas en los programas de mejoramiento de papa en América del Sur (CIP),

Europa (Centro de Recursos Genéticos de los Países Bajos) y América del Norte (Asociación de la papa de los Estados Unidos). Los rasgos promediados a lo largo de ambas temporadas fueron: porcentaje de materia seca (MS, evaluada por el método del gravímetro según Cacace et al. (1994)), aptitud para freír (AF, puntuación visual según Li et al. (2008)), rendimiento del tubérculo (R, $T_n \times ha^{-1}$), número de tubérculos comerciales (CT), aspecto del tubérculo (AS, evaluado o con una escala visual de 1 a 9), infección por *Fusarium solani* (FR), infección por *Streptomyces scabies* (SR), necrosis interna (NI, presencia / ausencia), corazón hueco (CH, presencia/ausencia), aparición de grietas en los tubérculos (TC, presencia/ausencia), nivel de daño por insectos (DI), tipo de piel (TP), color de piel y carne (CP y CC, respectivamente), forma del tubérculo (FT), profundidad de ojo en tubérculo (PO), tamaño del tubérculo (TT) y el grupo *a priori* (AG). Los descriptores y puntajes utilizados corresponden principalmente a las pautas en las bases de datos internacionales de papas y autores previos (www.europotato.org; <http://www.cipotato.org/catalogue>; <http://potatoassociation.org/>, 11-9-2018; Rosyara et al. (2016)). FR, SR e ID se midieron como ligeramente afectados (menos del 10% del peso del tubérculo en menos del 10% de los tubérculos); intermedio (> 11% y < 20% en peso del tubérculo y entre el 11% y el 20% de los tubérculos); y gravemente afectados (> 20% en peso en más del 20% de los tubérculos). El TT se midió como pequeño (< a 50 mm); mediano (entre 51 mm y 150 mm) y grande (> a 150 mm); y PO como superficial (< a 1 mm de profundidad), intermedio (> a 1 mm y < a 2 mm) y profundo (> a 2 mm). TP, CP, CC y FT se evaluaron de acuerdo con el CIP (<http://www.cipotato.org/catalogue>, 11-9-2018). El AS está determinado por la observación visual del mejorador local de acuerdo con las preferencias comerciales en el mercado argentino; al igual que la profundidad de ojos, tipo de piel y tamaño. Las enfermedades bacterianas y fúngicas en el campo experimental durante ambas estaciones de crecimiento redujeron el número de genotipos que se evaluaron fenotípicamente a un subconjunto de 144 de un conjunto inicial de 183 genotipos. El resumen de las puntuaciones para cada rasgo fenotípico en 144 genotipos de papa se presenta en la tabla suplementaria 2.

Extracción de ADN

El ADN se obtuvo a partir de 0,1 g de tejido de hojas sanas y jóvenes. El ADN genómico total se extrajo utilizando un mini kit de planta DNeasy (QIAGEN, Hilden, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. La concentración del ADN genómico purificado se ajustó a $50 \text{ ng} \times \mu\text{L}^{-1}$ utilizando la cuantificación de PicoGreen (Eugene, Oregon).

Genotipificación mediante SNP

El total del panel de papa (183 genotipos) se genotipificó utilizando el arreglo para el cultivo de papa Illumina Infinium 12K V2 (Hamilton et al. 2011; Felcher et al. 2012). La matriz V2 contiene 12,808 SNPs, esto corresponde al conjunto de marcadores del arreglo previo Infinium 8303 Potato con 4417 SNPs adicionales seleccionados para la cobertura del genoma y genes candidatos en regiones vinculadas a tolerancia a estreses. Las matrices se leyeron utilizando el lector Illumina iScan con Infinium® HD Assay Ultra (Illumina Inc., San Diego, CA). Se utilizó el software Genome Studio 2011.1 (Illumina, San Diego, CA) para evaluar la calidad de la muestra inicial, descartando marcadores con baja calidad (baja intensidad o sesgos de la metodología). Se realizó un genotipado tetraploide (*5-cluster*) basado en los umbrales de valor theta, utilizando un *script* personalizado del Proyecto de Agricultura Coordinada Solanaceae-SolCAP (Hirsch et al. 2013). Los valores theta son los valores crudos del secuenciador y establecen los límites de las posiciones de agrupamiento para cada clase de marcador y mediante el uso de un *script* personalizado se convirtió la matriz de valores theta exportados desde GenomeStudio a los genotipos reales de cada marcador (Hirsch et al. 2013). Se removieron los SNPs considerados como pseudogenes al compararlos con la secuencia de pseudogenes publicada para papa DM v4.03 (Sharma et al. 2013) como también aquellos marcadores que no presentaban resultado alguno para cada genotipo de papa evaluado. Luego de la verificación via *5-cluster* (donde se evalúa los resultados de los SNPs dentro de los cinco posibles genotipos tetraploides AAAA, AAAB, AABB, AB BB y BBBB), se identificó 4,859 marcadores de alta calidad. Estos sub-grupos de marcadores se usaron para los análisis de asociación posteriores.

Análisis multivariado de rasgos fenotípicos

La asociación entre los rasgos fenotípicos se midió utilizando el coeficiente de correlación de Pearson para determinar las variables que se utilizaron en el análisis multivariado. Posteriormente, la agrupación de los 144 genotipos se realizó mediante tres enfoques: a) Análisis de componentes principales (PCA), realizado con las variables cuantitativas estandarizadas y significativamente correlacionadas (PO, AS, TT, MS, CT, R y AF); b) Análisis de coordenadas principales (PcoA) mediante el coeficiente DICE de similitud entre genotipos estimando el coeficiente DICE como $d_{ij} = (1 - S_{ij})^{1/2}$ donde d_{ij} es la distancia entre el elemento i y j , y S_{ij} es el coeficiente de similitud de DICE (Dice 1945) utilizando variables cualitativas y binarias significativamente correlacionadas (AG, NI, CH, DI, CP y CC). Se representó gráficamente un diagrama de dispersión; y c) Análisis de Procrustes generalizado (GPA) basado en ambos tipos de rasgos fenotípicos correlacionados (Gower 1975). Se complementó el análisis con un árbol de recorrido mínimo (MST) asociado a la matriz de distancia correspondiente al PCA y PcoA. Los genotipos fueron simbolizados por puntos de diferentes colores, tanto en gráficos de PCA como de PcoA, de acuerdo con los grupos asignados *a priori*. La distancia euclidiana entre genotipos en el espacio de consenso se calculó para ilustrar la configuración de consenso generada por GPA utilizando un método apareado no ponderado basado en el algoritmo aritmético promedio (UPGMA). La correlación cofenética se calculó para examinar el ajuste del agrupamiento (Saraçlı et al. 2013). El análisis de correlación y el gráfico se realizaron con el programa estadístico de Genstat (18ª edición VSN International Ltd., Oxford, Reino Unido). Los análisis de PCA, PcoA y GPA se realizaron con el programa InfoGen / P (Balzarini y Di Rienzo 2013).

Heterocigosidad de la población y diversidad molecular.

La población se dividió en grupos *a priori* de acuerdo con las características descritas anteriormente (Tabla suplementaria 1). La plataforma de genotipificación bialélica utilizada en esta tesis (Illumina Infinium) permite obtener hasta cinco tipos de genotipos incluyendo el efecto de dosis alélica del SNP (AAAA, AAAB, AABB, ABBB, BBBB). Estos corresponden a la configuración de genotipo esperada para una especie

auto-tetraploide, en comparación con los tres tipos de genotipo encontrados para una especie diploide (AA, AB, BB). La heterocigosidad observada (H_o) se calculó como $H_o = (AAAB + AABB + ABBB) / (AAAA + AAAB + AABB + ABBB + BBBB)$. Los estimadores específicos para el número medio de alelos por locus (A / L), el número medio de alelos efectivos (A_E) y la heterocigosidad insesgada de Nei (H_e) (Nei 1975) se evaluaron mediante un procedimiento de arranque con 1000 permutaciones, utilizando el programa InfoGen / P (Balzarini y Di Rienzo 2013).

Filogenia y estructura de la población

La filogenia y la estructura de la población de papa se calcularon utilizando la información de los marcadores moleculares (SNPs). Para todos los genotipos, la filogenia se determinó mediante el MST utilizando el algoritmo de Prim (Prim 1957). Diferentes puntos de colores simbolizaron los genotipos de acuerdo a los grupos asignados *a priori*. Las subestructuras de población entre los 183 genotipos se determinaron utilizando el software STRUCTURE 2.3 (Prichard et al. 2010), adoptando el modelo de mezcla con la frecuencia alélica correlacionada. El programa se ejecutó para subgrupos hipotéticos que iban de uno a diez (valores K). Las corridas se llevaron a cabo preestableciendo 10^6 iteraciones, de las cuales no se registraron las primeras 10^5 (período de quemado). Cada ejecución se repitió tres veces, y la estructura de la población fue el resultado de un consenso. Luego, se utilizó el método de transformación Evanno para inferir el número más probable de poblaciones (K) (Evanno et al. 2005). El programa STRUCTURE PLOT (Ramasamy et al. 2014) se utilizó para mostrar los gráficos de la estructura de la población. Además, se realizó un análisis de PCA en la puntuación de genotipos de los datos de SNP como se describe en Uitdewilligen et al. (2013). La configuración de consenso generada por el dendrograma UPGMA se contrastó con la agrupación por antecedentes genéticos (gráfico de STRUCTURE) y con la agrupación *a priori* de los mismos genotipos para verificar la concordancia entre los datos genotípicos y fenotípicos.

Resultados

Agrupación de genotipos según rasgos cuantitativos

El análisis de PCA se realizó mediante la transformación logarítmica estandarizada de los valores de cada uno de los rasgos fenotípicos cuantitativos significativamente correlacionados (p valor: 0,001) (R, TC, AS, MS, AF, PO y TT) para 144 genotipos de papa (Figura 1). La reducción de genotipos en la población de mapeo estudiada se debió a la presencia de enfermedades fúngicas en suelo. Los primeros tres auto-valores en la matriz de similitud euclidiana explicaron 44,6, 19,9 y 11,89% de la variación total, respectivamente. Según la ubicación en el gráfico, los genotipos tendieron a formar cuatro grupos. El ordenamiento se determinó principalmente por los rasgos relacionados con el rendimiento en el componente principal uno (auto-valor de R: 0,51, auto-valor de TC: 0,5 y auto-valor de TT: -0,48) y, en menor medida, por rasgos relacionados con la calidad industrial en el componente principal dos (MS y AF). El grupo más grande (grupo III) incluyó genotipos de grupos designados *a priori* como genotipos INTA-Balcarce (puntos negros), un número menor de genotipos provenientes del CIP (puntos grises) y genotipos comerciales de Europa-Asia, América del Sur y América del Norte (puntos violetas, turquesa y rosados, respectivamente). Grupos más pequeños implicaron genotipos de *S. tuberosum* spp. *andígena* (puntos rojos) y genotipos provenientes del CIP (grupo II), genotipos diploides (puntos amarillos) (grupo I) y un complejo conjunto de genotipos comerciales europeo-asiáticos, genotipos INTA-Balcarce y genotipos provenientes del CIP (grupo IV). Los dos genotipos híbridos derivados de un cruce entre *S. tuberosum* spp. *tuberosum* var. Calén INTA y *S. gourlayi* (genotipos con nombre A) se ubicaron en diferentes grupos (A1 en el grupo III y A2 en el grupo II). Los clones B19 y B11 del CIP se consideraron parte del grupo III debido a que tenían la menor distancia con los miembros de ese grupo en el árbol MST correspondiente.

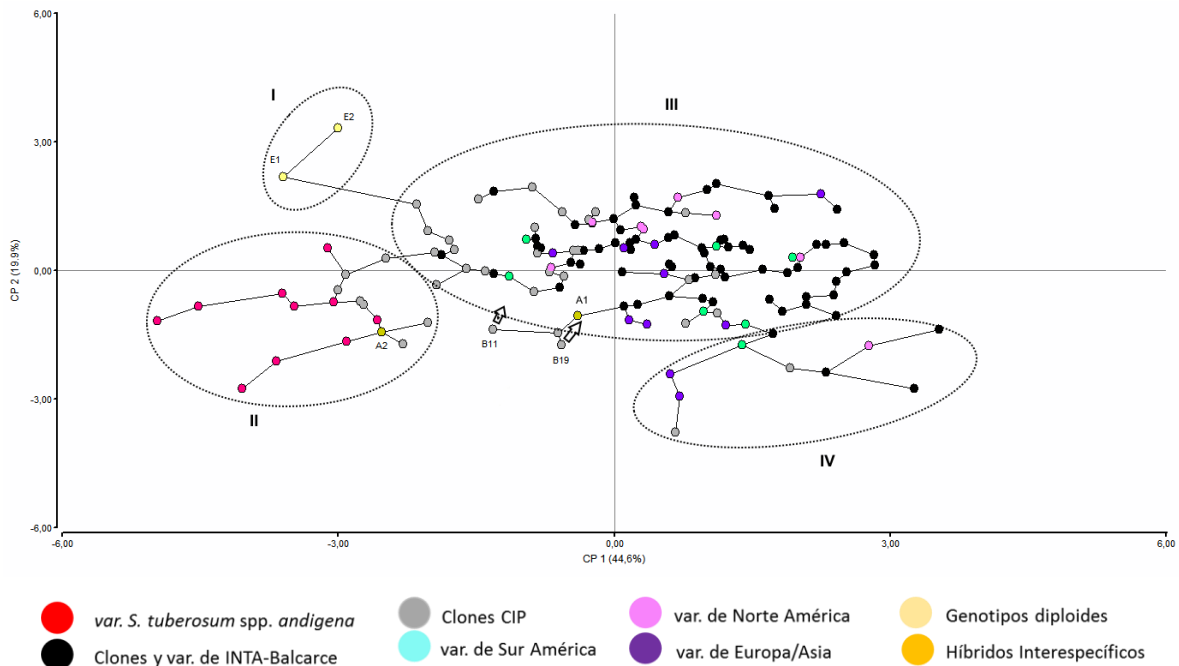


Figura 1: Análisis de componentes principales (PCA) para rasgos cuantitativos en 144 genotipos de papa. El eje 1 (48, 4%) y el eje 2 (16, 9%) explicaron el 65% de la variación total. Se agregó el árbol de recorrido mínimo correspondiente a la matriz de distancia. Cada punto simboliza un genotipo único y la letra inicial el nombre de afiliación grupal *a priori*. Los colores de puntos correspondieron a una clasificación de grupos *a priori* fueron de la siguiente manera: verde (híbridos interespecíficos), gris (clones CIP), rosa (variedades de América del Norte), negro (clones y variedades INTA), amarillo (genotipos diploides), rojo (*S. tuberosum* spp. *andigena*), violeta (variedades Europa-Asia), turquesa (variedades de América del Sur).

Agrupación de genotipos según rasgos cualitativos

La Figura 2 muestra el análisis de PcoA de los 144 genotipos para seis rasgos fenotípicos cualitativos significativamente correlacionados (p valor: 0,001) (AG, NI, CH, DI, CP y CC). Las tres primeras coordenadas, explicaron el 35,8, 26,2 y 18,1% de la variación total, respectivamente. Los genotipos tendieron a ordenarse principalmente en la primera coordenada, generando dos grupos, predominantemente relacionados con los grupos *a priori* y el color de la piel como las variables más discriminantes para este análisis. El grupo en el lado izquierdo estuvo representado principalmente por clones de INTA-Balcarce (etiquetas negras) y el grupo en el lado derecho por clones CIP (etiquetas de color gris). Los grupos *a priori* menores (F, C y H) se ubicaron entre los dos grupos principales, excepto las variedades de origen europeo-asiático (etiquetas violetas) y los genotipos diploides (etiquetas amarillas) que se ubicaron junto con los clones INTA-Balcarce. Por otro lado, los genotipos interespecíficos (genotipos con nombre A, etiquetas verdes) se asignaron al grupo de clones CIP.

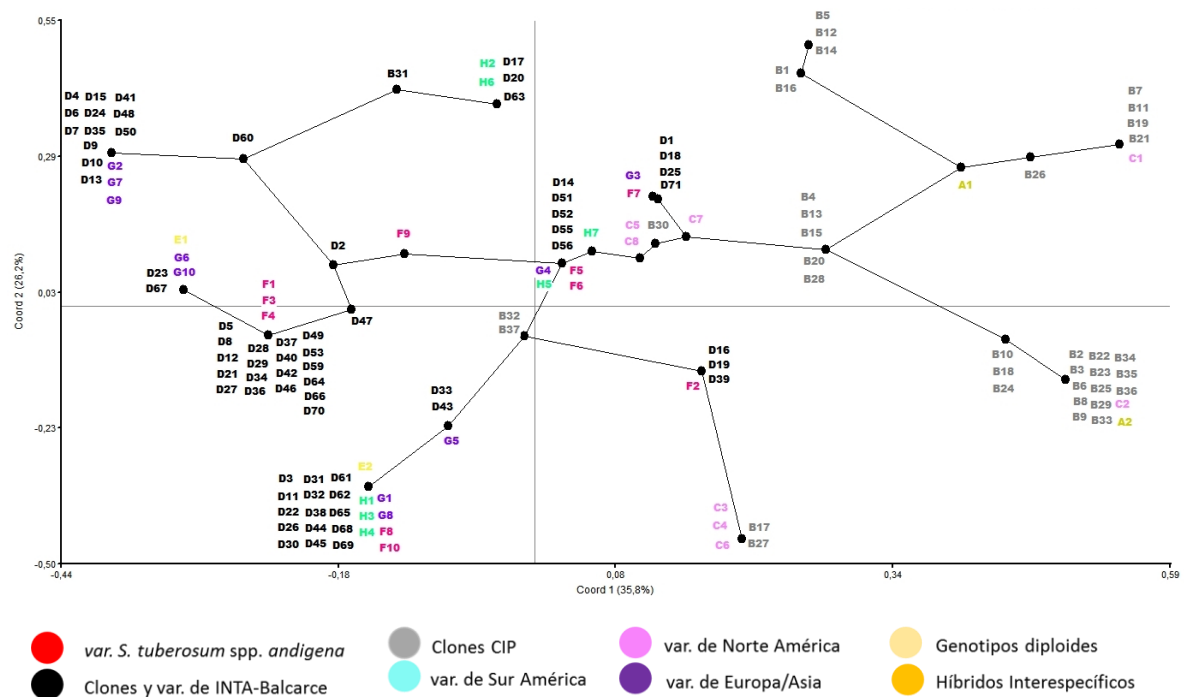


Figura 2: Análisis de coordenadas principales (PcoA) para rasgos cualitativos. La clasificación espacial de 144 genotipos de papa se representó en las dos primeras coordenadas. Se añadió el árbol de expansión mínimo de acuerdo con la matriz de distancia. Las letras mayúsculas de colores indican grupos *a priori* de la siguiente manera: verde (híbridos interespecíficos), gris (clones CIP), rosa (variedades de América del Norte), negro (clones y variedades INTA), amarillo (genotipos diploides), rojo (*S. tuberosum* spp. *andígena*), violeta (variedades Europa-Asia), turquesa (variedades de América del Sur). Los números indican genotipos. Cada punto indica varios genotipos co-ubicados

Evaluación de la diversidad genética mediante marcadores tipo SNPs

La heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) de la población de 183 genotipos se muestra en la Tabla 1. La H_o media de la población fue de $0,51 \pm 0,062$, y la H_e media fue $0,52 \pm 0,01$. En general, la H_o fue mayor a la H_e en los diferentes grupos *a priori*. Los grupos *a priori* que incluyeron genotipos de *S. tuberosum* spp. *tuberosum* mostraron valores de H_o aproximadamente de 0,6 y en todos los casos superiores a la heterocigosidad esperada. Sin embargo, los valores de heterocigosidad observados para los 11 genotipos de *S. tuberosum* spp. *andígena* (F) presentaron una estimación más baja ($H_o = 0,43 \pm 0,033$) en comparación con *S. tuberosum* spp. *tuberosum* ($H_o = 0,61 \pm 0,02$) (grupos *a priori* B, C, D y G; Tabla 1). Los dos genotipos híbridos interespecíficos presentaron valores promedio de H_o ($0,537 \pm 0,07$) entre los de *S. tuberosum* spp. *tuberosum* y *andígena* y una menor H_e ($0,327 \pm 0,02$). Los dos genotipos diploides (E) dieron como resultado valores de heterocigosidad calculada muy similares ($H_e = 0,046 \pm 0,01$ y $H_o = 0,04 \pm 0,01$).

Tabla 1: Resumen de la diversidad genética de los genotipos de papa de orígenes, clasificación taxonómica y niveles de ploidía diversos.

Grupo <i>a priori</i>	Origen	Especie	N° gen	A/L	AE	He	Ho
A	INTA ¹ , NWA ²	Híbrido Interespecífico ²	2	1.56±0.03	1.34±0.02	0.327±0.02	0.537±0.07
B	CIP ³	<i>S. tuberosum</i> spp. <i>tuberosum</i>	49	2±0.01	1.71±0.02	0.47±0.01	0.592±0.056
C	NA ⁶	<i>S. tuberosum</i> spp. <i>tuberosum</i>	9	1.99±0.01	1.71±0.02	0.48±0.01	0.654±0.041
D	INTA ¹	<i>S. tuberosum</i> spp. <i>tuberosum</i>	83	2±0.02	1.77±0.01	0.49±0.01	0.618±0.04
E	NWA ²	<i>S. chacoense</i> <i>S. tarijense</i>	2	1.04±0.01	1.04±0.01	0.04±0.01	0.046±0.001
F	SA ⁴	<i>S. tuberosum</i> spp. <i>andígena</i>	11	1.68±0.03	1.37±0.02	0.42±0.02	0.429±0.033
G	EA ⁵	<i>S. tuberosum</i> spp. <i>tuberosum</i>	19	1.98±0.01	1.61±0.02	0.43±0.01	0.604±0.031
H	SA ⁴	<i>S. tuberosum</i> spp. <i>tuberosum</i>	8	1.94±0.01	1.57±0.02	0.42±0.01	0.601±0.017
Total genotipos			183	2±0.01	1.85±0.01	0.517±0.01	0.51±0.062

¹INTA Balcarce; ² Provincias noroccidentales argentinas; ² *S. tuberosum* spp. *tuberosum* var. Calén INTA x *S. gourlayi*; ³ Centro Internacional de la Papa; ⁴ Países Sudamericanos; ⁵ Países de Europa-Asia; ⁶ Países de Norteamérica; N° gen.: número de genotipos analizados; A/L: número medio de alelos por locus; AE: número efectivo medio de alelos; He: heterocigosidad insesgada de Nei esperada; Ho: heterocigosidad observada. Los genotipos de papa se agruparon en grupos *a priori* según la taxonomía, el nivel de ploidía, el programa de mejoramiento genético y la procedencia geográfica.

Filogenia poblacional obtenida a partir de datos moleculares

El MST obtenido utilizando el algoritmo de Prim (Fig. 3) evidenció la presencia de una población con relaciones filogenéticas. El cultivar Huinkul-MAG se estableció como el genotipo raíz porque es un padre relacionado con la mayoría del grupo *a priori* INTA-Balcarce (el grupo más grande). Las variedades del grupo Andígena y los genotipos diploides silvestres se destacaron en un grupo separado (I). De la misma manera, los clones norteamericanos tomaron una rama separada (II). Los clones INTA-Balcarce y las variedades INTA estuvieron más cerca del genotipo Huinkul-MAG. Los clones de CIP e INTA-Balcarce en su mayoría compartían ramas filogenéticas, mostrando el vínculo entre ambos programas de mejoramiento de papa. Las variedades de América del Sur y Europa-Asia compartieron ramas (III y IV) que muestran los vínculos entre ellas, a diferencia de lo que se observó con los grupos

Andígena y América del Norte. Los clones CIP e INTA-Balcarce se distribuyeron entre todas las ramas del árbol en diferentes grados, principalmente en una posición no terminal. Los clones de INTA-Balcarce integraron principalmente la rama (V).

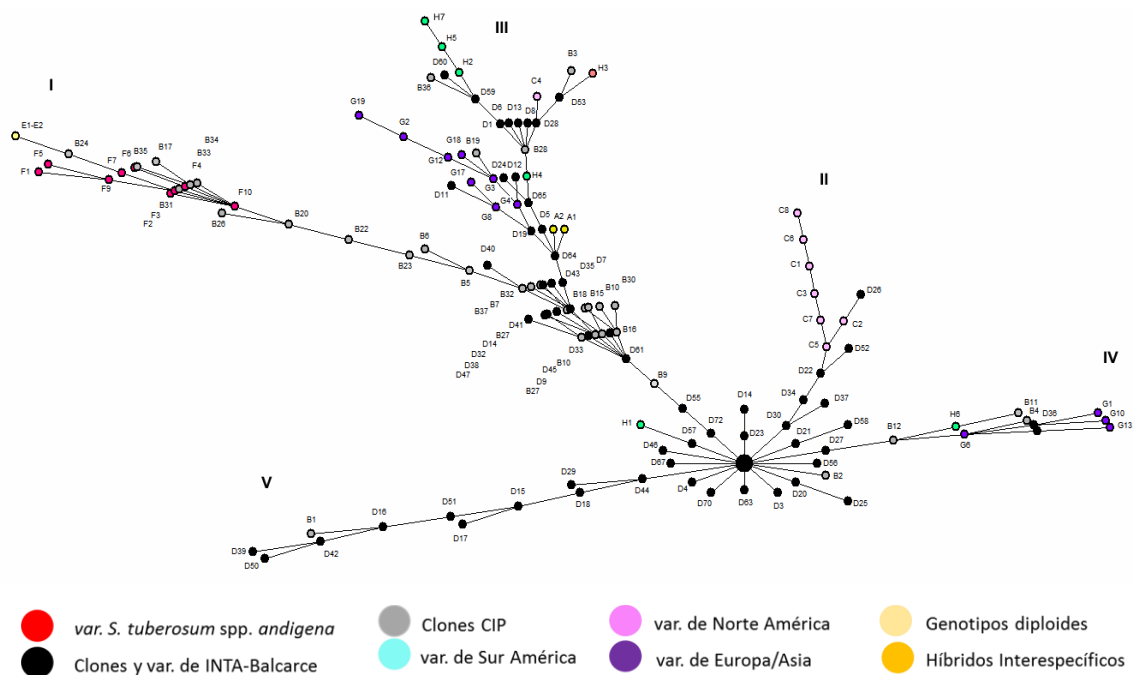


Figura 3: Filogenia inferida de la población. Árbol de recorrido mínimo (MST) basado en 4859 SNPs de alta calidad utilizando el algoritmo de Prim. Huinkul-MAG se estableció como raíz genotipo. Cada punto simboliza un genotipo diferente y su color su grupo *a priori* de la siguiente manera: verde (híbridos interespecíficos), gris (clones CIP), rosa (variedades de América del Norte), negro (clones y variedades INTA), amarillo (genotipos diploides), rojo (*S. tuberosum* spp. *andígena*), violeta (variedades Europa-Asia), turquesa (variedades de América del Sur).

Enfoque bayesiano de la estructura poblacional

Mediante la metodología de Evanno et al. (2005), la gráfica delta K vs. K mostró cinco grupos como una solución adecuada (K = 5) (Figura suplementaria 1). En la Figura 4, el gráfico de barras de la estructura de subpoblación para las 183 columnas (cada columna representó un genotipo) mostró que más del 95% de las columnas se asignaron en gran medida a un único fondo genético ancestral, cada una de ellas con un color diferente. Cuando se compararon los grupos *a priori* con el grupo STRUCTURE (K) (Figura 4), se observó que el grupo Andígena (F) estaba vinculado a un único fondo genético (color rojo). Los clones CIP (B) e INTA-Balcarce (D) compartieron tres fondos genéticos (colores azul, naranja y verde); los dos últimos fueron los más numerosos. Estas observaciones coincidieron con las representadas

en la Figura 3, en las que ambos grupos *a priori* presentaron proximidad genética. Las variedades norteamericanas, europeas-asiáticas y sudamericanas (grupos C, G, H *a priori*, respectivamente) expresaron fondos genéticos muy similares (antecedentes genéticos principalmente de color naranja). Los individuos diploides poseían un fondo genético único (color amarillo pálido). Los genotipos del grupo híbridos interespecíficos (A) presentaron un fondo genético (color verde) también encontrado en otros grupos *a priori*, principalmente los grupos CIP (B) e INTA-Balcarce (D) *a priori*.

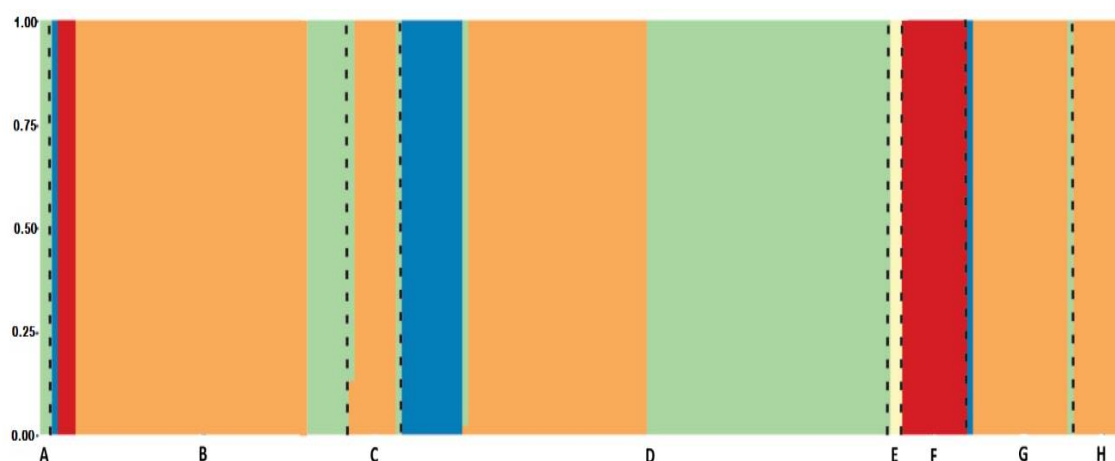


Figura 4: Estructura poblacional via STRUCTURE. Gráfico de barras basado en 4859 marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNP) generados por STRUCTURE 2.3 utilizando el modelo de mixtura. Cada color representa un grupo (K = 5). Cada columna (183 columnas en total) representa un genotipo de papa, particionado en segmentos. Cada segmento representa la contribución estimada en los fondos genéticos participantes (grupo). Los grupos *a priori* se indican con letras mayúsculas (A-H) como se describe en la Tabla 1

Análisis conjunto: Agrupamiento por rasgos moleculares y fenotípicos

La Figura 5 muestra la gráfica de STRUCTURE combinada con el dendrograma UPGMA derivado de GPA. La gráfica de STRUCTURE se dividió en cinco segmentos de color diferenciado a lo largo de los ejes Y (Fig. 5, sección a). Cada genotipo fue representado por una sola barra horizontal en la gráfica. Sobre la base de un consenso estandarizado de rasgos fenotípicos, el dendrograma mostró seis grupos (i-vi) con una distancia de cofenética de 0,85 (Fig. 5, sección c). Los genotipos atípicos se observaron en el grupo indicado con asteriscos. Al comparar estos grupos con la agrupación *a priori* (Fig. 5, sección b), en la mayoría de los casos se observó un vínculo entre la clasificación fenotípica, los grupos *a priori* y los fondos genéticos. De hecho, los genotipos diploides y *S. tuberosum* spp. *andígena* se agruparon de manera conjunta en el grupo i (colores amarillo pálido y rojo, respectivamente). Las variedades

europeso-asiáticas y sudamericanas se ubicaron principalmente en el grupo ii y se relacionaron solo con las variedades de papa comerciales de difusión mundial (color naranja) (Fig. 5). Los clones del programa de mejoramiento se colocaron principalmente en un grupo diferente. El grupo más numeroso (grupo iii) representado en la Figura 5 estuvo formado por los clones de INTA-Balcarce seguidos por algunos genotipos pertenecientes al CIP y variedades comerciales a nivel mundial, que comparten fondos genéticos asociados con variedades comerciales mundiales y genotipos híbridos interespecíficos (colores naranja y verde, respectivamente). Por otro lado, la mayoría de los clones de CIP se encontraban principalmente en el grupo v, en conjunto con unos pocos genotipos de *S. tuberosum* spp. *andígena* relacionados con variedades comerciales mundialmente distribuidas e híbridos interespecíficos (colores rojo, naranja y verde, respectivamente). Un grupo menor del dendrograma formado por caracteres fenotípicos (grupo-iv) contenía clones de ambos programas de mejoramiento genéticos junto con algunos genotipos pertenecientes a *S. tuberosum* spp. *andígena* y variedades comerciales. El fondo genético asociado con las variedades comerciales a nivel mundial (colores naranja y azul) y los genotipos *S. tuberosum* spp. *andígena* (color rojo) compartieron un grupo fenotípico. Finalmente, el grupo-vi reunió solo cuatro genotipos vinculados con variedades comerciales distribuidas en todo el mundo (color naranja).

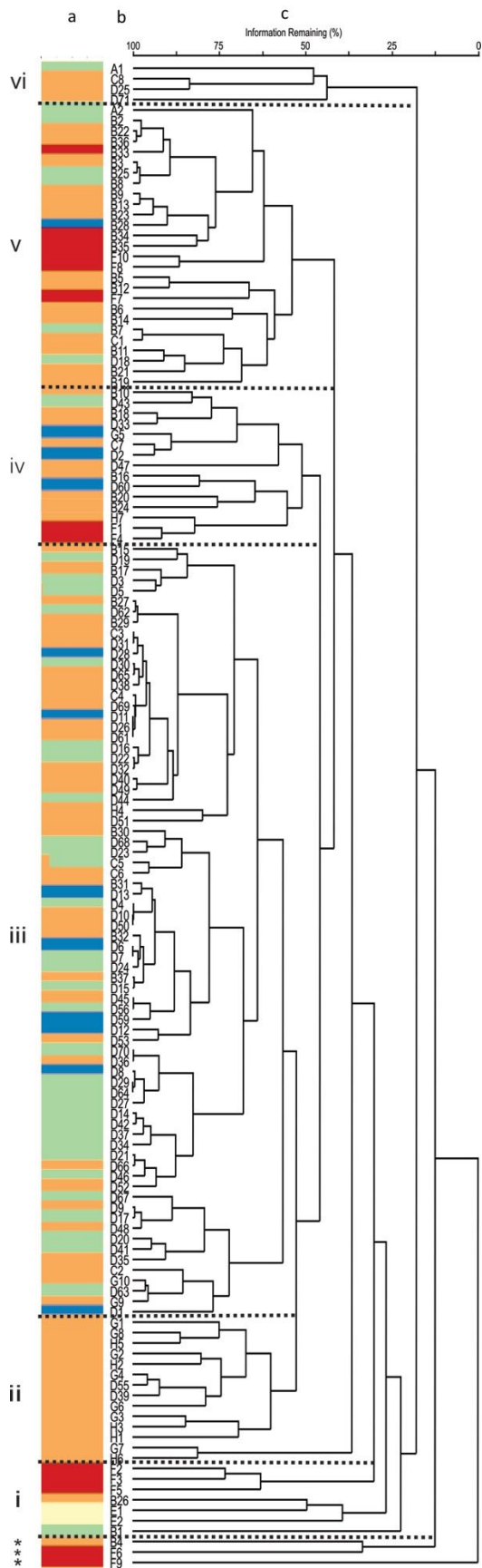


Figura 5: Análisis conjunto de 144 genotipos de papas entre Procrustes generalizados (GPA) y STRUCTURE. a. Diagrama de barras de la estructura poblacional generada por STRUCTURE; cada genotipo está representado por una barra horizontal y cada segmento de la barra horizontal representa la contribución estimada de los antecedentes genéticos participantes (clusters) (i-vi). b. Etiquetas que representan genotipos y grupos *a priori*. c. Dendrograma utilizando la configuración consenso obtenida por la distancia euclidiana para el análisis generalizado de Procrustes (GPA) con rasgos cuantitativos-cualitativos y el método de apareamiento no ponderado mediante la agrupación de promedios aritméticos (UPGMA).

Discusión

La clasificación espacial de los grupos generados *a priori* utilizando rasgos fenotípicos ratificó que la agrupación dependía de los caracteres considerados para el análisis. El PCA con rasgos cuantitativos pudo distinguir fácilmente entre genotipos diploides y aquellos que pertenecen a *S. tuberosum* spp. *andígena* (Fig. 1). Los genotipos diploides (silvestres) se describen como defectuosos en rasgos relacionados con el rendimiento y con interés industrial, pero se incluyen principalmente en los programas de mejoramiento como fuente de genes de tolerancia al estrés biótico/abiótico (Simko et al. 2006, Srivastava et al. 2016). Por lo tanto, se consideraron como genotipos atípicos y como una medida de la calidad de la metodología de formación de conglomerados. Al mismo tiempo, autores anteriores (Quiros et al. 1992) describieron a las variedades *S. tuberosum* spp. *andígena* como un grupo de genotipos adaptados de día corto, sujeto al mejoramiento de agricultores locales. En general, el PCA no pudo separar las variedades comerciales de los genotipos pertenecientes a los programas de mejoramiento genético del INTA Balcarce y del CIP, independientemente del origen del germoplasma. Los genotipos adaptados a día largo se ubicaron principalmente en las regiones del gráfico vinculadas con alto rendimiento y aptitud industrial moderada. D'hoop et al. (2010) describieron que una presión de selección fuerte asociada con rasgos vinculados al rendimiento en conjunto con rasgos de calidad industrial (materia seca y aptitud para freír) desempeñó un papel importante en el diseño del germoplasma de papa comercial actual. De hecho, las variedades de élite en Europa y Asia son el resultado de décadas de mejoramiento para características de mercado como las utilizadas en este trabajo (McGregor y Vreugdenhil 2007; Guenthner 2010) y, por lo tanto, son de gran interés como progenitores en los programas de mejoramiento genético en papa. Sin embargo, las variedades *S. tuberosum* spp. *andígena* y sudamericanas son papas de elite locales y, por lo tanto, están adaptadas a su entorno local. El programa de mejoramiento de INTA-Balcarce seleccionó los genotipos para uso industrial, rendimiento y aspecto de tubérculo (alto rendimiento, colores claros de piel y pulpa, forma ovalada, etc.) bajo condiciones de días largos, mientras que los programas del CIP incluyeron tolerancia a estrés biótico y abiótico expandiendo la gama de colores y formas de papas, adaptadas a días cortos.

Cuando los rasgos fenotípicos cualitativos de fácil medición mediaron en el agrupamiento, el factor principal del agrupamiento fue el programa de mejoramiento del cual provenían (Fig. 2). Los programas de mejoramiento de INTA Balcarce y CIP son reconocidos por tener un germoplasma de papa muy diverso (Quiros et al. 1992). Sin embargo, el germoplasma CIP está constituido por una mayor proporción de germoplasma *S. tuberosum* spp. *andígena* que el programa de mejoramiento genético de INTA-Balcarce. Por lo tanto, rasgos como ojos profundos, pieles y carne coloreada distinguen y separan los materiales originados a partir del CIP. El programa de mejoramiento de INTA-Balcarce ha priorizado los rasgos de calidad de cocción en el proceso de selección según lo exige la creciente industria de procesamiento local; proceso de mejoramiento similar ocurre en los programas europeos (Cacace et al. 1994).

Diversidad molecular

La He para todos los genotipos incluidos en los grupos *a priori* mostró valores moderados altos, tanto en la heterocigosidad observada como en la calculada por medio del índice de Nei (en promedio mayor o igual a 0,5) (Tabla 1). Estos resultados coinciden con autores anteriores que describen al programa de mejoramiento de INTA-Balcarce y al banco de germoplasma de papa del INTA Balcarce y del CIP como un recurso de alta variabilidad genética (Huarte et al. 1994; Srivastava et al. 2016). Los grupos *a priori* mostraron diferentes niveles de heterocigosidad (Tabla 1). Si bien varios autores describen que la diversidad genética en las variedades de papa cultivadas es reducida (Mendoza y Haynes 1974; Pavek y Corsini 2001), los niveles de heterocigosidad de los genotipos pertenecientes a *S. tuberosum* spp. *tuberosum* fue mucho más alto que el resto de los genotipos *S. tuberosum* spp. *andígena* y genotipos diploides, en concordancia con lo descrito por Hirsch et al. (2013). Deperi et al. (2014) describen el origen altamente diverso de los clones de *S. tuberosum* spp. *tuberosum* en el germoplasma del programa de mejoramiento genético de papa de INTA Balcarce, con pocos ancestros comunes. Los valores de heterocigosidad en los genotipos *S. tuberosum* spp. *andígena* también fueron inesperados porque se ha descrito como un grupo con alta diversidad genética (Hijmans et al. 2002).

Recientemente, Hirsch et al. (2013) encontraron observaciones similares de baja heterocigosidad en dicho grupo. Las muestras estudiadas aquí corresponden a una pequeña sub-muestra *S. tuberosum* spp. *andígena* y genotipos diploides, mostrando asimetría en el número de genotipos respecto a *S. tuberosum* spp. *tuberosum* y por lo tanto se debe tener recaudos en extrapolar estas observaciones al total de *S. tuberosum* spp. *andígena*, *S. chacoense* y *S. tarijense*. Además, la plataforma Infinium SNPs se creó incluyendo SNPs sin polimorfismos dentro de un rango de 100 pb y se basaron en genotipos adaptados para día largo. Adicionalmente, es descripto que la mayor cantidad de combinaciones alélicas y la dosificación alélica en el nivel de ploidía tetraploide permite lograr una mayor variabilidad en comparación con las especies diploides (Love et al. 1999; Quiros et al. 1992; Camadro y Mendiburu 1988).

Filogenia y estructura de la población

Ambos programas de mejoramiento genético en papa (CIP e INTA-Balcarce) se ubicaron en ramas separadas (Fig. 3). El germoplasma CIP se asoció con una mayor proporción de variedades de *S. tuberosum* spp. *andígena* y genotipos diploides, mientras que el germoplasma de INTA-Balcarce mostró una proporción inversa de estos individuos. Esta observación confirma los diversos orígenes genéticos de ambos germoplasmas.

La cercanía entre las variedades de América del Sur y Europa-Asia en la Figura 3 se relaciona con el hecho de que los genotipos de papa europeos más antiguos fueron seleccionados como parentales de las variedades sudamericanas más jóvenes (Hawkes 1992; www.europotato.org; www.inia.cl; www.inta.gob.ar/variedades 5-10-2018).

Las papas cultivadas en América del Norte están asociadas con una diversidad genética estrecha debido a la utilización del cultivar Katahdin como progenitor. Casi una cuarta parte del germoplasma que originó los cultivares de élite en América del Norte tiene a Katahdin en sus antecedentes genéticos (Mendoza y Haynes 1974; Love 1999). Por lo tanto, la rama separada de América del Norte revela un parentesco más cercano entre las variedades de papa de este origen.

Cuando se evaluó el análisis de agrupamiento genético por marcadores tipo SNP a través del enfoque bayesiano (Pritchard et al. 2000), el germoplasma evaluado mostró

una estructura de población sólida, con cinco antecedentes genéticos diferentes (Fig. 4). Sorprendentemente las variedades de papa incluidas dentro de un grupo *a priori* (A a H) tuvieron antecedentes genéticos bastante homogéneos. Cada grupo *a priori* representa genotipos de papa de una fuente de reproducción, nivel de ploidía o una clasificación taxonómica común, por lo tanto, compartió una selección de rasgos fenotípicos similares en los programas de mejoramiento genético. Los grupos *a priori* asociados con las variedades de América del Norte, América del Sur y Europa-Asia (C, H y G, respectivamente) revelaron prácticamente el mismo fondo genético según el análisis de STRUCTURE (color naranja) (Fig. 4), observación consistente con los resultados del análisis de filogenia por el algoritmo de Prim (Fig. 3). Estos resultados concuerdan con la historia ya descrita de la migración de genes impulsada por el hombre en el cultivo de papa (Hawkes 1992). En la misma línea, el fondo genético representado en el gráfico con el color azul podría vincularse con variedades europeo-asiáticas cuyo fondo genético se incluyó como líneas parentales en el germoplasma CIP y INTA-Balcarce. El fondo genético inter-específico (*S. tuberosum* spp. *tuberosum* var. *Calén* x *S. gourlayi*) (color verde) encontrado principalmente dentro de los genotipos pertenecientes al germoplasma del programa de mejoramiento del INTA-Balcarce evidenció el origen por cruzamiento de ciertos genotipos pertenecientes a este germoplasma. Se realizó un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC) basado en la ausencia del equilibrio Hardy-Weinberg con los mismos datos de SNPs (Deperi et al. 2018). Mediante ESTRUCTURE y DAPC se observaron estructuras poblacionales similares. También se realizó un PCA con SNP y se observaron agrupaciones similares al PCA con los rasgos fenotípicos (Figura Suplementaria 2). La convergencia en estos análisis independientes ratifica la estructura poblacional presente en el germoplasma de mejoramiento genético de papa (INTA Balcarce) propuesta en esta tesis.

Las diferencias entre el árbol de filogenia y el análisis de STRUCTURE pueden deberse al requisito de establecer un genotipo de raíz en el primero, lo que podría generar un sesgo que no está presente en el grupo bayesiano. El método de agrupamiento bayesiano pudo demostrar la estructura genética ancestral inherente al germoplasma en estudio. Si bien los diferentes fondos genéticos están representados en diferentes proporciones (reflejados por cada color), ambos grupos de germoplasma

tuvieron una alta diversidad alélica, como se describió anteriormente (<http://cipotato.org/es/>; <http://inta.gob.ar/> Balcarce 10-9-2018).

El germoplasma perteneciente al CIP, al INTA y a variedades de América del Norte y del Sur mostraron una presencia significativa de alelos que fueron seleccionados en hábitats europeos y/o asiáticos. Está bien documentado que las variedades europeas de élite adaptadas a día largo fueron ampliamente difundidas en América por los agricultores locales, en parte debido a sus altos rendimientos y su apariencia externa atractiva (Srivastava et al. 2016). Las variedades europeas de élite han sido recurrentemente seleccionadas como parentales en innumerables programas de mejoramiento, transmitiendo genes de interés agronómico a las nuevas variedades comerciales (Hirsch et al. 2013; Srivastava et al. 2016). La inclusión de los genotipos diploides en el panel de papa en estudio fue con el objetivo de contrastar con el resto de los genotipos tetraploides, y por lo tanto el comportamiento disímil observado de su fondo genético respecto al resto de la población se podría deber a la falta de interacciones genéticas originadas por la selección natural y con muchas características comerciales indeseables. Sin embargo, al igual que con las observaciones en *S. tuberosum* spp. *andígena* debe tenerse cautela con la generalización de estas conclusiones dado la asimetría poblacional entre los genotipos comparados en el panel de papa en estudio.

Caracterización conjunta por análisis multivariado y molecular

Autores anteriores demostraron que las grandes diferencias fenotípicas a menudo podrían ocurrir con cambios genotípicos menores (Williams y St Clair.1993). Los marcadores moleculares, como los SNP, evalúan cambios mínimos en los genomas de los cultivos, lo que permite la asociación entre rasgos fenotípicos y genotípicos en la papa (Simko 2004; Simko et al. 2006; D'hoop et al. 2010).

La caracterización simultánea del agrupamiento entre ambos tipos de rasgos fenotípicos realizada por GPA y luego alineada con la figura de STRUCTURE (Fig. 5) agregó un valor significativo a este análisis. Bramardi et al. (2005) describió que la naturaleza disímil de las variables debe considerarse para evaluar una configuración de consenso precisa. Por lo tanto, el análisis de GPA surge como una herramienta capaz de caracterizar genotipos medidos por rasgos cuantitativos y cualitativos. La

configuración del consenso mejoró los análisis de PCA y PcoA. La agrupación de consenso pudo distinguir los genotipos y los grupos que en la clasificación *a priori* se consideraron diferentes (por ejemplo, *S. tuberosum* spp. *andígena* a las variedades comerciales, o genotipos de cada programa de mejoramiento) (Fig. 5, c).

Los genotipos pertenecientes a *S. tuberosum* spp. *andígena* que se encontraban aislados en el PCA también se encontraban en una rama separada en el dendrograma, por ejemplo: genotipos Morada Morada (F6) y Tuni Blanca (F9). Los clones de *S. tuberosum* spp. *andígena* fueron seleccionados en hábitats de alta montaña de día corto en contraste con clones de *S. tuberosum* spp. *tuberosum*, mostrando un fondo genético distinto (Quiros et al. 1992), y por lo tanto con una respuesta sub-óptima para el rendimiento y rasgos industriales en los ensayos INTA Balcarce de día largo. Este comportamiento repetido fortalece el valor de los esfuerzos de mejoramiento local realizados por los agricultores de América del Sur (Quiros et al. 1992; Srivastava et al. 2016). Cuando se comparan con el análisis de PCA y PcoA por separado, se pudo observar que solo la configuración de GPA podría recopilar variedades europeas, asiáticas y sudamericanas con un fondo genético homogéneo.

Por otro lado, como se muestra con el PcoA (Fig. 2), el dendrograma fenotípico dado por el análisis de GPA mostró las relaciones entre los programas de mejoramiento CIP e INTA. La mayor parte de los genotipos de INTA-Balcarce/América del Norte y CIP/*S. tuberosum* spp. *andígena* se colocaron principalmente en dos grupos separados en el dendrograma (Fig. 5). Al relacionar estos grupos con el fondo genético, los vínculos genéticos entre ellos son evidentes. Por lo tanto, solo se compartió una cierta parte del fondo genético entre estos dos programas de mejoramiento, y la selección fenotípica diferencial en cada programa de mejoramiento definió las diferencias principales entre estos clones.

Conclusiones

La evaluación fenotípica con rasgos fácilmente medibles podría ser una estrategia efectiva y de bajo costo para agrupar preliminarmente poblaciones de mejoramiento genético si se utilizan variables con una capacidad discriminante aceptable. Las variables discriminantes más efectivas utilizadas en este estudio fueron el

rendimiento, el número de tubérculos comerciales, el tamaño del tubérculo, la materia seca, la aptitud de fritado, el grupo *a priori* y el color de la piel.

El PCA basado en rasgos cuantitativos permitió la discriminación entre genotipos diploides, grupo *S. tuberosum* spp. *andígena* y los perteneciente al grupo *S. tuberosum* spp. *tuberosum*. Además, el enfoque de PcoA solo fue capaz de discriminar entre los programas de mejoramiento locales y los del CIP. Sin embargo, un dendrograma fenotípico derivado del análisis consenso via GPA pudo realizar una mejor discriminación. Según lo respaldado por el análisis de SNP presentado en este trabajo, una agrupación *a priori* de genotipos basados en el origen del germoplasma, el nivel de ploidía y la categoría taxonómica fue una estrategia precisa para el agrupamiento ancestral preliminar de material de reproducción genéticamente similar.

Los SNPs confirmaron la presencia de grupos (estructura poblacional) dentro de la población de papa en estudio. El análisis de filogenia y agrupación realizado utilizando STRUCTURE demostró la introgresión del germoplasma de variedades elite europeas en numerosos grupos *a priori* del panel utilizado. La diversidad genética identificada en este capítulo mostró el potencial de incorporar estos genotipos en futuros estudios de mapeo por asociación.

En los casos en que haya poca información disponible sobre el material parental, un análisis basado en múltiples caracteres como rendimiento, el número de tubérculos comerciales, el tamaño del tubérculo, la materia seca, la capacidad para freír y el color de la piel serán útiles para ensamblar cuadros de cruzamiento con alta heterocigosidad preliminar.

Teniendo en cuenta las observaciones anteriores relacionadas con el historial de cruzamientos en las variedades de papa en los últimos siglos, los genotipos en este panel de papa proporcionan una buena evidencia de los vínculos entre las diferentes fuentes de germoplasma de papa para el mejoramiento genético, evidenciando un significativo flujo génico asociado al mejoramiento del cultivo.

Material Suplementario

Nombre	Grupo a priori	Etiqueta	Fuente del germoplasma	Ploidía	Especie	Análisis Fenotípico	Análisis genotípico
21	A	A1	INTA BALCARCE- Argentina y NWA ¹	2n=4x=48	1	x	x
29	A	A2	INTA BALCARCE- Argentina y NWA ¹	2n=4x=48	2	x	x
304013.11	B	B1	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304013.18	B	B2	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304056.4	B	B3	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304072.6LB	B	B4	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304079.9	B	B5	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304081.2	B	B6	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304085.1	B	B7	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304092.1	B	B8	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304141.4	B	B9	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304146.1	B	B10	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304149.15	B	B11	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304150.11	B	B12	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304150.2	B	B13	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304150.8	B	B14	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304152.10	B	B15	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304152.5	B	B16	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
391533.1	B	B17	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
392141.5	B	B18	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
392785.24	B	B19	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393072.22	B	B20	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393073.18	B	B21	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393073.26	B	B22	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393073.8	B	B23	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393075.15	B	B24	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393371.35	B	B25	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393371.37	B	B26	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
393536.13	B	B27	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
396004225-	B	B28	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
396026101-	B	B29	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
396031108	B	B30	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
396037215	B	B31	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
397077.16	B	B32	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
399001.16	B	B33	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
399049.14	B	B34	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
399053.15	B	B35	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
399079.28	B	B36	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
Granola	B	B37	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3	x	x
304152.9	B	B38	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
388615.22	B	B39	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x

388790.24	B	B40	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
Tacna	B	B41	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
392.785.31	B	B42	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
393.371.57	B	B43	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
393.371.66	B	B44	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
393.371.7	B	B45	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
398017.54	B	B46	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
398.098.119	B	B47	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
399083.4	B	B48	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
987174	B	B49	Centro Internacional de la Papa (CIP)	2n=4x=48	3		x
Bannock russet	C	C1	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Chieftain	C	C2	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
FL 1879	C	C3	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Gem Russet	C	C4	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Kennebec	C	C5	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Ranger Russet	C	C6	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Snowden	C	C7	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Umatilla	C	C8	Estados Unidos	2n=4x=48	3	x	x
Russet Burbank	C	C9	Estados Unidos	2n=4x=48	3		x
B00.607.1	D	D1	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B01.504.2	D	D2	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B01.559.2	D	D3	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B02.556.2	D	D4	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.04.505.1	D	D5	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.04.573.1	D	D6	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.540.2	D	D7	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.559.1	D	D8	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.559.2	D	D9	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.565.7	D	D10	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.573.1	D	D11	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.574.1	D	D12	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.574.2	D	D13	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.578.1	D	D14	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B03.636.30TT	D	D15	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B05.513.2	D	D16	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.07.640.1	D	D17	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.07.640.2	D	D18	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.07.804.2	D	D19	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.07.817.1	D	D20	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.660.1	D	D21	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.665.1	D	D22	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.714.3	D	D23	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B06.785.2	D	D24	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.515.3	D	D25	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.516.1	D	D26	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x

B07.537.4	D	D27	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.577.3	D	D28	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.591.2	D	D29	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.606.4	D	D30	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.616.2	D	D31	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.660.1	D	D32	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B07.660.2	D	D33	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B78.502.5	D	D34	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B79.571.1	D	D35	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B85.616.3	D	D36	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B86.511.2LR	D	D37	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B86.525,1	D	D38	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B86.604.2LR	D	D39	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B87.605.2	D	D40	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B87.621.7	D	D41	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B87.823.1	D	D42	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B88.959.4	D	D43	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B90.557.2	D	D44	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B90.619.3	D	D45	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B90.827.1	D	D46	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B91.1042.2	D	D47	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B91.899.6	D	D48	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B92.10.1	D	D49	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B92.660.5	D	D50	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B92.868.1	D	D51	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B93.1104.4LR	D	D52	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B93.1116.3	D	D53	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B94.96.510.5	D	D54	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B97.523.4	D	D55	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B98.99.508.1	D	D56	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
B98.99.627.2	D	D57	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B99.558.1	D	D58	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
PO97.11.10	D	D59	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
PO97.11.9	D	D60	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Frital	D	D61	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Pampeana	D	D62	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
BT85.520.117	D	D63	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Calén	D	D64	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Newen	D	D65	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
RZ90.44.3	D	D66	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Araucana	D	D67	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Huinkul-MAG	D	D68	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Kelune	D	D69	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Primicia	D	D70	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Achirana	D	D71	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3	x	x
Chacay-Inta	D	D72	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x

B90.519.2	D	D73	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B90.557.2	D	D74	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B90.592.1	D	D75	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B91.717.4	D	D76	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B91.880.3	D	D77	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B92.647.2	D	D78	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B92.659.2	D	D79	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B92.903.4	D	D80	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
B97.617.4	D	D81	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
BT84.529.5	D	D82	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
E86.011	D	D83	INTA BALCARCE- Argentina	2n=4x=48	3		x
BGRC-41479/1(P1)	E	E1	NWA ¹	2n=2x=24	4	x	x
OCL7383.7	E	E2	NWA ¹	2n=2x=24	5	x	x
Blanca dulce	F	F1	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Balinca	F	F2	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Collareja(CCS1327)	F	F3	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Collareja de Jujuy Cuarentona (CLE1570)	F	F4	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Morada Morada	F	F5	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Moradita(CCS1307)	F	F7	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Sani(CCS1284)	F	F8	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Tuni blanca105	F	F9	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Overa213	F	F10	NWA ¹	2n=4x=48	6	x	x
Pera	F	F11	NWA ¹	2n=4x=48	6		x
Agata	G	G1	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
Alpha	G	G2	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
ANA	G	G3	Irlanda	2n=4x=48	3	x	x
Asterix	G	G4	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
Innovator	G	G5	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
Monalisa	G	G6	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
Nicola	G	G7	Alemania	2n=4x=48	3	x	x
Ramos	G	G8	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
Spunta	G	G9	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
La Florida	G	G10	Holanda	2n=4x=48	3	x	x
Daekwar.48	G	G11	Korea	2n=4x=48	3		x
Astarte	G	G12	Holanda	2n=4x=48	3		x
Feiwu-1	G	G13	China	2n=4x=48	3		x
Fenchuixue1	G	G14	China	2n=4x=48	3		x
Fontane	G	G15	Holanda	2n=4x=48	3		x
Kantara	G	G16	Holanda	2n=4x=48	3		x
Kardal	G	G17	Holanda	2n=4x=48	3		x
Kexin1-1	G	G18	China	2n=4x=48	3		x
Pentland Crown	G	G19	Gran Bretaña	2n=4x=48	3		x
Ipora	H	H1	Uruguay	2n=4x=48	3	x	x
Pukara	H	H2	Chile	2n=4x=48	3	x	x

Puren	H	H3	Chile	2n=4x=48	3	x	x
Unknown	H	H4	Desconocido	2n=4x=48	3	x	x
Yagana	H	H5	Chile	2n=4x=48	3	x	x
Pehuenche	H	H6	Chile	2n=4x=48	3	x	x
Karu	H	H7	Chile	2n=4x=48	3	x	x
ONA	H	H8	Chile	2n=4x=48	3		x

Tabla Suplementaria 1: Resumen de genotipos de papa evaluados por diferentes enfoques. Para cada genotipo evaluado, se detallan el nombre, el grupo *a priori* al que está vinculado, la fuente de germoplasma, el nivel de ploidía y el tipo de análisis realizado. NW¹ Provincias noroccidentales del argentino. 1: *Solanum tuberosum* spp *tuberosum* var. Calén INTA x *S. gourlayi*; 2 *Solanum tuberosum* spp *tuberosum* var. Calén INTA x *S. gourlayi*, 3 *Solanum tuberosum* spp *tuberosum*; 4 *S. chacoense*; 5 *S. tarijense*; 6 *S. tuberosum* spp. *andígena*.

Etiqueta	AG	R	TC	AS	FR	SR	NI	CH	DI	TC	TP	CP	CC	FT	PO	TT	AF	MS
A1	1	49.00	2.45	5.75	2	1	1	1	1	1	2	10	1	8	3	3	4	19.5
A2	1	43.29	1.60	4.00	2	2	0	0	2	0	2	10	1	4	5	5	3	20.5
B1	2	69.35	1.80	5.75	2	2	1	0	1	0	5	10	4	4	9	1	6	19.0
B2	2	25.47	1.70	5.75	2	2	0	0	2	0	2	10	1	2	5	5	7	18.0
B3	2	26.88	1.25	5.75	2	2	0	0	2	0	1	5	1	2	5	5	7.5	19.7
B4	2	77.65	5.30	6.25	1	1	0	0	2	1	1	10	4	4	3	3	3	13.3
B5	2	35.00	1.90	4.75	2	1	0	0	1	0	5	11	4	5	9	3	6.5	17.0
B6	2	141.35	6.60	6.00	2	1	0	0	2	0	2	10	1	6	3	3	3	18.8
B7	2	49.94	3.70	6.00	2	1	0	0	1	0	2	10	1	4	3	4	7	22.9
B8	2	34.76	3.05	6.00	2	2	0	0	2	0	5	11	1	2	3	5	9	21.6
B9	2	35.94	2.45	6.00	2	2	0	0	2	0	4	11	2	4	3	3	6	21.3
B10	2	78.29	6.00	6.50	2	2	1	0	2	1	1	6	2	4	5	3	5	22.5
B11	2	26.44	2.05	5.50	2	1	0	0	1	0	3	6	2	3	5	3	5	17.9
B12	2	27.94	1.75	4.75	1	2	0	0	1	0	3	11	4	2	9	4	5.5	20.9
B13	2	27.24	2.10	6.25	2	1	0	0	2	0	3	10	4	5	3	4	5	22.1
B14	2	19.53	1.30	5.25	1	1	0	0	1	1	3	10	4	5	3	5	4.5	17.7
B15	2	46.24	4.20	5.50	2	2	0	0	2	0	1	11	4	5	3	4	7	20.3
B16	2	78.47	4.90	7.00	2	2	1	0	1	0	1	10	4	8	3	3	5.5	18.2
B17	2	23.53	1.20	5.50	2	2	0	0	2	0	1	1	2	2	3	7	6	20.0
B18	2	74.00	5.45	5.00	2	1	1	0	2	0	3	10	1	4	3	2	9	21.1
B19	2	54.18	3.70	5.50	2	2	0	0	1	0	2	10	2	2	5	3	3	20.1
B20	2	35.65	2.45	5.75	1	2	0	0	2	1	2	5	4	2	9	3	8	20.3
B21	2	46.65	3.10	4.75	1	1	0	0	1	0	3	11	1	2	7	3	8	19.5
B22	2	44.35	2.75	5.75	2	2	0	0	2	0	3	11	1	4	5	3	7.5	18.9
B23	2	18.47	1.15	5.75	2	2	0	0	2	0	3	11	2	4	3	5	6	20.8
B24	2	49.19	2.25	5.50	2	2	1	0	2	0	3	11	2	2	5	3	7	18.2
B25	2	29.24	1.90	6.25	2	2	0	0	2	0	2	10	1	2	5	5	9	21.5
B26	2	33.24	2.45	4.75	2	0	1	0	1	0	3	10	1	2	7	4	7	23.3
B27	2	66.35	5.00	5.50	2	2	0	0	2	0	3	2	2	6	5	4	7	23.8

B28	2	6.53	0.05	6.50	2	2	0	0	2	0	1	6	4	2	3	5	6.5	20.3
B29	2	56.71	5.40	5.00	2	2	0	0	2	0	2	5	2	6	5	4	8	23.0
B30	2	31.53	2.00	6.00	1	1	0	0	1	1	1	1	2	6	3	4	8	20.0
B31	2	67.29	3.40	5.00	2	2	0	0	1	1	3	1	4	5	3	4	6	20.0
B32	2	68.71	4.60	6.50	2	2	0	0	2	0	2	1	3	7	3	2	5	21.7
B33	2	6.82	0.00	6.50	2	2	0	0	2	0	3	6	2	2	7	6	6	20.4
B34	2	25.41	1.00	4.50	1	2	0	0	2	0	3	8	2	6	3	5	6	24.2
B35	2	6.82	0.00	4.00	2	1	0	0	2	0	2	5	2	6	3	5	5	19.1
B36	2	21.88	1.40	5.00	2	2	0	0	2	0	2	6	2	2	7	5	5	20.6
B37	2	85.41	5.00	6.00	2	2	0	0	2	0	3	2	3	4	5	2	5	19.5
C1	3	43.71	2.25	6.00	1	2	0	0	1	0	4	10	1	4	3	4	6	20.0
C2	3	108.71	7.45	7.00	1	2	0	0	2	1	2	6	1	5	3	1	4	18.9
C3	3	58.65	4.60	5.75	2	2	0	0	2	1	2	2	2	2	3	3	8	20.8
C4	3	35.53	3.00	6.00	2	2	0	0	2	0	4	2	1	6	3	3	7	22.0
C5	3	65.83	3.61	5.89	2	2	0	0	1	1	2	2	1	4	5	2	8.5	21.3
C6	3	111.29	5.25	6.75	2	2	0	0	2	0	4	2	2	8	5	1	7	21.9
C7	3	68.76	5.95	5.50	1	1	1	0	1	0	3	2	1	2	3	3	9	22.0
C8	3	78.53	5.65	5.50	2	2	0	1	1	1	4	2	1	8	3	2	8	22.3
D1	4	145.29	9.65	6.00	1	2	0	0	1	0	2	5	1	4	3	1	3	18.1
D2	4	70.29	3.75	5.25	2	2	1	0	1	1	2	2	1	5	5	3	9	20.9
D3	4	27.76	2.15	6.25	2	2	0	0	2	1	3	4	2	2	3	3	9	18.9
D4	4	90.06	5.45	6.25	1	2	0	0	1	0	1	2	4	4	3	3	8	20.5
D5	4	36.29	1.00	6.25	2	2	0	0	2	0	1	2	3	6	3	5	6	19.2
D6	4	50.76	2.95	6.00	2	1	0	0	1	0	1	2	4	7	3	3	8	21.1
D7	4	60.18	3.05	5.75	2	1	0	0	1	0	3	2	3	6	3	3	7	20.9
D8	4	127.65	5.10	6.00	2	2	0	0	2	0	1	2	4	8	3	2	6	18.6
D9	4	91.41	4.65	7.25	2	2	0	0	1	0	2	2	4	7	3	1	7.5	20.8
D10	4	82.65	4.55	6.50	2	2	0	0	1	0	2	2	4	7	3	3	8	19.2
D11	4	43.65	2.75	6.75	2	2	0	0	2	0	3	2	2	6	3	3	8	22.4
D12	4	92.47	3.60	6.00	2	2	0	0	2	1	1	4	4	4	5	1	7	20.9
D13	4	60.00	2.95	5.50	2	2	0	0	1	0	3	2	5	6	3	2	7	21.3
D14	4	90.35	5.85	5.75	2	2	0	0	2	0	2	8	4	2	3	2	7	21.6
D15	4	35.59	1.85	6.00	2	2	0	0	1	0	2	2	4	6	3	4	8	19.3
D16	4	75.82	4.85	6.50	2	1	0	0	2	1	3	7	2	5	3	3	6.5	21.6
D17	4	110.53	5.70	6.50	2	2	0	0	1	0	3	5	4	5	3	1	9	21.8
D18	4	71.88	3.70	5.50	1	1	0	0	1	1	2	10	1	4	5	2	7	17.8
D19	4	52.71	3.40	6.25	2	2	0	0	2	0	4	10	1	4	3	3	7	20.3
D20	4	134.18	5.95	6.00	2	1	0	0	1	1	3	10	4	5	3	1	6	21.8
D21	4	38.71	3.00	5.75	2	2	0	0	2	0	1	2	4	5	3	3	8	17.8
D22	4	35.29	2.80	6.50	2	2	0	0	2	1	3	2	1	6	3	4	6	20.3
D23	4	68.24	4.40	6.25	2	2	0	0	1	0	2	2	1	8	3	3	7	19.6
D24	4	42.00	2.85	6.25	1	1	0	0	1	0	3	2	3	6	3	5	7	20.0
D25	4	60.06	4.00	6.00	2	2	0	1	1	1	3	10	2	2	3	1	9	22.8
D26	4	53.41	2.70	6.50	2	1	0	0	2	0	2	2	1	8	3	3	7	20.7
D27	4	97.24	6.50	6.25	2	1	0	0	2	0	3	4	5	5	3	2	5	18.1

D28	4	50.24	2.35	6.50	2	2	0	0	2	1	3	2	3	8	3	3	8	20.2
D29	4	77.12	7.05	6.50	2	2	0	0	2	0	1	1	5	5	3	2	6	19.0
D30	4	78.82	5.00	5.50	2	2	0	0	2	1	1	2	2	6	3	3	7	21.8
D31	4	52.29	3.70	6.00	2	2	0	0	2	1	2	2	1	7	3	3	7	18.8
D32	4	46.94	3.05	6.25	2	2	0	0	2	0	2	2	2	5	3	4	6	21.4
D33	4	39.59	1.75	6.75	2	2	1	0	2	0	2	2	1	6	3	5	7	19.9
D34	4	80.76	6.45	5.75	2	2	0	0	2	0	2	4	5	2	5	3	7.5	20.2
D35	4	106.47	5.85	5.75	2	2	0	0	1	0	2	2	4	4	3	2	5	22.8
D36	4	119.06	8.70	6.00	1	2	0	0	2	0	2	2	4	5	3	3	6	19.3
D37	4	83.29	5.70	5.25	1	2	0	0	2	0	2	2	3	5	3	3	6	19.2
D38	4	77.88	4.40	6.50	2	2	0	0	2	0	2	1	1	6	3	2	8	19.7
D39	4	102.00	8.30	6.00	2	1	0	0	2	0	3	7	2	5	5	3	8	21.3
D40	4	76.53	4.35	5.75	2	2	0	0	2	0	3	3	4	8	3	4	7	23.9
D41	4	91.53	2.85	5.75	2	2	0	0	1	0	2	2	4	5	3	1	4	21.3
D42	4	68.00	4.70	5.50	2	2	0	0	2	1	2	2	3	5	5	2	6	19.3
D43	4	81.53	5.60	6.50	2	2	1	0	2	1	2	2	2	8	3	3	5	22.2
D44	4	92.18	6.05	6.25	2	2	0	0	2	1	1	2	1	4	3	2	8	22.9
D45	4	95.12	5.80	6.00	2	2	0	0	2	1	3	2	2	2	3	1	6	21.2
D46	4	82.00	4.30	6.75	2	2	0	0	2	1	2	2	4	8	3	3	7	17.3
D47	4	130.35	8.20	5.75	2	1	1	0	2	0	3	2	4	5	5	1	8	22.4
D48	4	117.00	8.05	6.25	2	1	0	0	1	0	2	2	4	6	3	1	7.5	21.0
D49	4	66.41	5.80	6.25	2	2	0	0	2	0	1	2	4	5	3	4	8	22.1
D50	4	74.65	5.40	6.25	2	2	0	0	1	0	2	2	4	4	3	3	7	18.9
D51	4	41.86	1.40	4.00	2	2	0	0	2	0	2	6	4	6	3	3	7.5	23.7
D52	4	96.71	5.75	7.00	2	2	0	0	2	0	3	10	4	8	3	2	8	18.6
D53	4	122.71	7.00	6.50	2	2	0	0	2	1	2	2	3	6	5	1	7.75	18.6
D55	4	132.41	10.50	6.25	2	2	0	0	2	0	2	6	4	8	5	2	7	22.3
D56	4	107.24	6.70	6.00	2	2	0	0	2	1	1	5	3	2	3	1	7.5	21.4
D59	4	84.47	5.65	6.50	2	2	0	0	2	0	3	2	4	6	3	2	9	22.3
D60	4	25.39	1.10	5.25	2	2	1	0	1	0	3	2	5	5	3	5	7	19.2
D61	4	63.56	4.01	6.59	2	2	0	0	2	0	1	2	1	6	3	3	7.5	20.9
D62	4	59.51	4.09	5.73	2	2	0	0	2	0	3	2	1	2	5	3	6.5	22.3
D63	4	118.82	9.20	5.75	2	2	0	0	1	1	2	6	4	4	3	3	6	20.0
D64	4	119.29	7.55	6.50	2	2	0	0	2	0	2	2	4	5	3	2	6	18.5
D65	4	84.40	4.50	6.02	2	2	0	0	2	1	1	3	2	6	3	2	7	21.7
D66	4	50.82	1.70	5.50	2	2	0	0	2	0	1	2	4	6	3	3	6.5	18.1
D67	4	136.94	8.95	7.00	1	0	0	0	1	0	3	2	1	5	3	1	5	19.3
D68	4	62.35	2.80	7.00	2	2	0	0	2	1	3	4	1	2	3	1	6	19.9
D69	4	58.82	3.70	6.75	2	1	0	0	2	1	1	4	1	7	3	2	9	22.1
D70	4	106.12	10.00	6.50	1	1	0	0	2	0	2	2	4	2	3	3	6.5	20.3
D71	4	105.88	6.15	6.75	2	2	0	1	1	1	2	10	2	2	3	1	3	18.2
E1	5	8.35	0.00	3.00	2	2	0	0	0	0	3	4	1	4	5	5	6.5	26.4
E2	5	18.82	0.00	3.00	2	2	0	0	2	0	1	2	1	8	3	5	8	27.0
F1	6	76.24	0.00	4.25	2	2	0	0	2	0	2	4	4	8	7	5	6.5	17.9
F2	6	15.29	0.00	3.50	2	2	0	0	2	0	2	10	1	2	5	5	6.5	17.2

F3	6	9.29	0.05	4.25	2	2	0	0	2	0	1	2	3	2	7	5	6	14.7
F4	6	35.06	0.60	3.00	2	1	0	0	2	0	1	2	4	8	7	5	7	18.8
F5	6	9.76	0.00	2.00	2	1	0	0	2	0	1	7	4	2	7	6	6.5	17.1
F6	6	32.82	0.00	3.50	2	2	0	0	2	0	2	8	8	4	7	6	1	19.7
F7	6	32.06	1.90	4.25	2	1	0	0	1	0	2	8	2	2	7	5	5.5	17.4
F8	6	10.88	0.20	4.50	2	2	0	0	2	0	1	4	2	2	5	5	5	19.3
F9	6	14.35	0.00	2.00	2	2	2	1	1	1	3	2	1	4	7	5	5	20.3
F10	6	11.18	0.00	4.25	2	2	0	0	2	0	2	1	1	2	5	5	6.5	21.1
G1	7	75.65	6.60	6.50	2	2	0	0	2	0	1	2	2	4	5	3	4	15.6
G2	7	48.71	4.05	5.00	1	2	0	0	1	0	3	2	4	5	3	4	5	22.8
G3	7	111.06	6.40	6.50	2	2	0	0	1	1	1	6	1	6	3	2	7.5	24.8
G4	7	77.51	5.12	5.97	2	2	0	0	2	0	2	6	4	8	5	3	7	22.3
G5	7	66.44	3.09	5.76	2	2	1	0	2	1	3	2	1	4	5	2	7	21.8
G6	7	44.00	5.70	6.50	1	1	0	0	1	0	1	2	1	4	5	3	5	19.1
G7	7	87.59	4.35	6.00	2	2	0	0	1	1	2	2	3	4	3	3	2	18.8
G8	7	76.47	8.70	5.50	2	2	0	0	2	1	2	2	2	5	5	4	8	19.2
G9	7	55.87	2.85	6.27	2	2	0	0	1	0	1	2	3	8	3	2	5.75	16.8
G10	7	80.24	5.80	6.00	2	1	0	0	1	0	2	2	2	5	3	2	5.5	17.8
H1	8	69.88	9.40	6.00	2	2	0	0	2	0	2	1	1	4	7	1	5	21.0
H2	8	54.94	2.65	5.25	2	2	0	0	1	0	1	6	4	6	5	4	6	20.7
H3	8	111.29	6.45	6.00	2	2	0	0	2	0	2	3	1	3	3	2	5.5	23.1
H4	8	80.82	0.70	5.50	2	2	0	0	2	1	2	2	2	8	3	5	7	20.9
H5	8	104.12	5.70	5.50	2	2	0	0	2	1	2	5	4	6	3	3	8	20.3
H6	8	104.12	8.35	5.25	2	2	0	0	1	0	2	6	4	4	3	3	4	19.0
H7	8	72.24	5.10	6.00	2	1	1	0	2	0	1	6	3	6	3	2	6	17.9

Tabla Suplementaria 2: Resumen de puntajes para rasgos fenotípicos en 144 genotipos de papa.

Las puntuaciones para los rasgos fenotípicos: AG (grupo *a priori*), R (rendimiento del tubérculo), TC (número de tubérculos comerciales), AS (aspecto del tubérculo), FR (infección por *Fusarium solani*), SR (infección por *Streptomyces*), NI (necrosis interna), CH (corazón hueco), DI (nivel de daño por insecto), TC (aparición de grieta en tubérculo), TP (tipo de piel), CP (color de la piel), CC (color de la carne), FT (forma del tubérculo), PO (profundidad del ojo), TT (tamaño del tubérculo), AF (calidad para freír) y MS (materia seca) se presentan para 144 genotipos de papa ordenados por su índice de etiqueta.

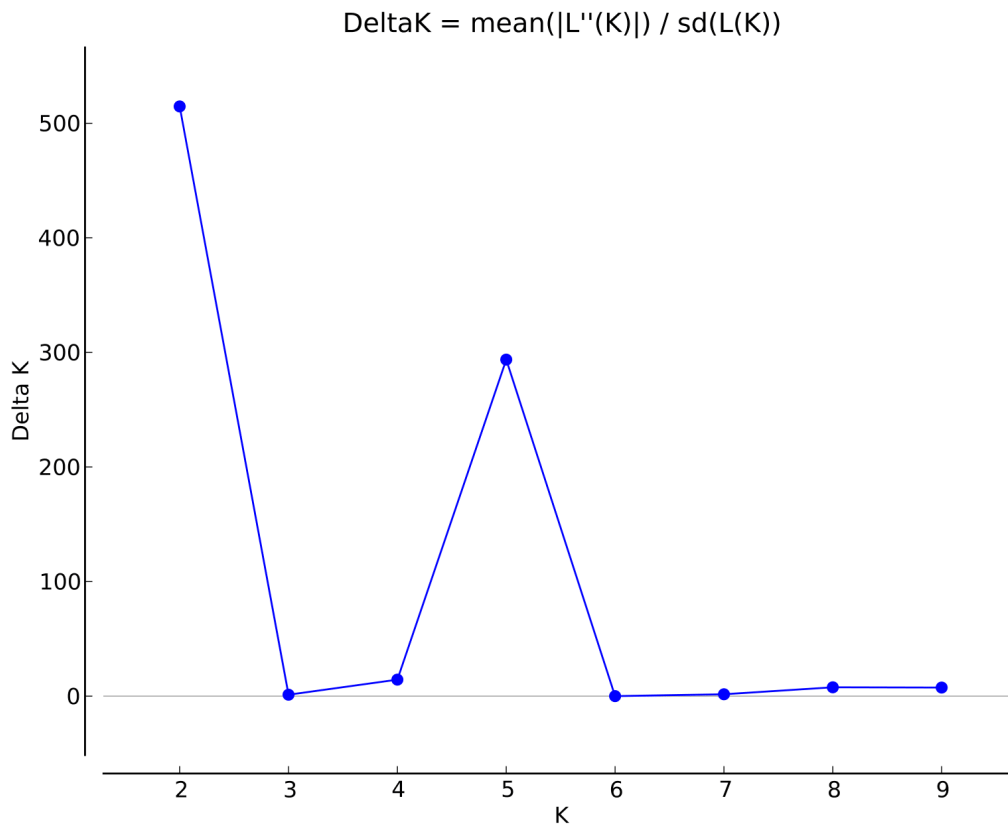


Figura Suplementaria 1: Delta K vs. K plot. De acuerdo con el método de transformación de Evanno, se infirió el número más probable de poblaciones (K) (Evanno et al. 2005)

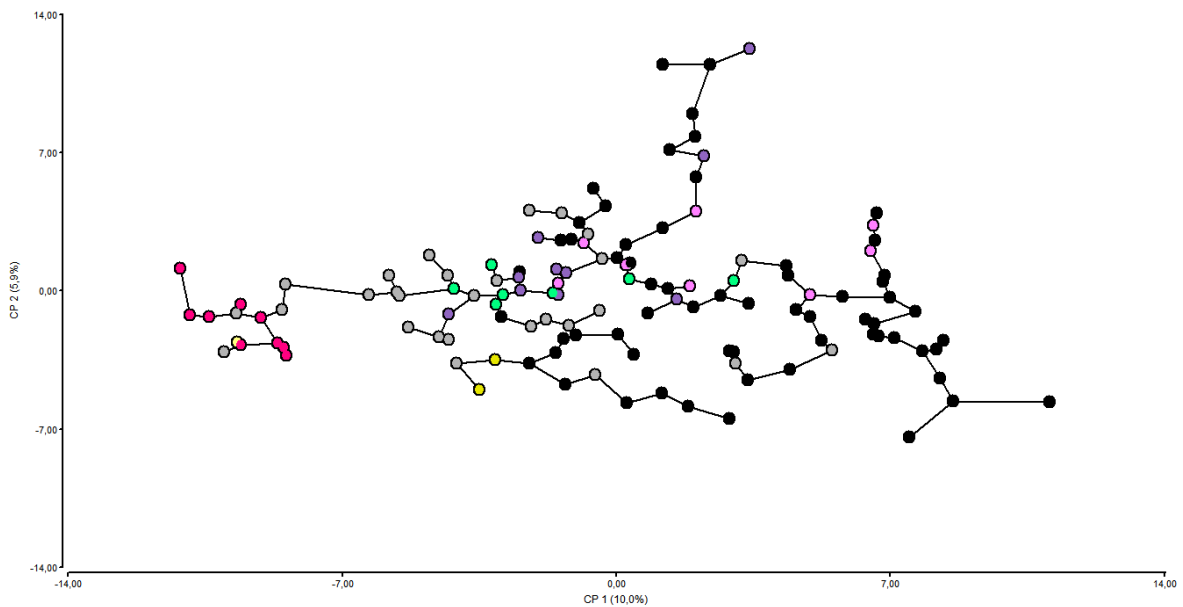


Figura Suplementaria 2: Análisis de componentes principales a partir de marcadores de SNP. El eje 1 (10%) y el eje 2 (5, 9%) explicaron el 16% de la variación total. Se agregó el árbol de recorrido mínimo correspondiente a la matriz de distancia. Cada punto simboliza un genotipo único. Los colores de puntos simbolizan la agrupación *a priori* de la siguiente manera: verde (híbridos interespecíficos), gris (clones CIP), rosa (variedades de América del Norte), negro (clones y variedades INTA), amarillo (genotipos diploides), rojo (*S. tuberosum* spp. *andígena*), violeta (variedades Europa-Asia), turquesa (variedades de América del Sur).

CAPÍTULO 2

Diversidad en la respuesta de rasgos fenotípicos en un panel de papa sometido a regímenes hídricos contrastantes

Tagliotti ME, Bedogni MC, Cendoya MG, Ortego J y Huarte M. 2019. Multi-trait differential response in a diverse potato panel under contrasting water regimes. Crop Science (enviado)

Resumen

El estrés ambiental por déficit hídrico es el más importante en la agricultura a nivel mundial. La papa es un cultivo susceptible a la sequía. La tolerancia al estrés hídrico es un rasgo complejo de creciente importancia en la papa. El objetivo de este capítulo fue evaluar las estrategias de respuesta diferencial asociadas a la tolerancia al estrés hídrico en un panel de papa altamente diverso. Se evaluaron dos ensayos de múltiples ambientes (MET), tanto en campo como en invernáculo con regímenes hídricos contrastantes. Las variables rendimiento (R), materia seca (MS) y aptitud para freír (AF) se midieron en los ensayos de campo, mientras que la concentración de prolina (P), el contenido relativo de agua (CRA) y el consumo de agua (CA) se evaluaron en los ensayos de invernadero. Para el análisis estadístico de las variables, se empleó un modelo lineal mixto y se realizó un análisis de la varianza (ANOVA). La estimación del valor genético de cada genotipo se calculó mediante el mejor predictor lineal insesgado (*Best Linear Unbiased Predictor*, BLUP) para cada variable evaluada. El coeficiente de correlación de Pearson (r) y el análisis de (PCA) evaluaron la asociación entre los rasgos. Los genotipos fueron clasificados por sus valores de BLUP. El panel de papa mostró variabilidad en la respuesta al estrés hídrico. En general, los genotipos pertenecientes al grupo *S. tuberosum* spp. *andígena* se asociaron con la menor concentración de prolina y el mayor rendimiento, consumo de agua y contenido relativo de agua. Mediante el uso de BLUPs, se determinó un panel de genotipos con buen comportamiento bajo déficit hídrico. Este capítulo intenta proporcionar conocimientos útiles para diseñar estrategias de mejoramiento para tolerancia frente al estrés hídrico como también nuevas líneas de investigación fisiológica. La utilización como progenitores de los genotipos de elite identificados en este estudio constituye un punto de partida para los programas de mejoramiento orientados a desarrollar variedades tolerantes al estrés hídrico.

Introducción

En un contexto de cambio climático con un aumento de las temperaturas medias y de los períodos de escasez de precipitaciones, el déficit de agua en los cultivos será un fenómeno cada vez más frecuente (Petit 1999). La escasez de agua conduce a una reducción significativa en los rendimientos y áreas de cultivo (Passiura 2002). Las plantas han evolucionado de diferentes maneras para responder al estrés por sequía, ya sea evitándolo o mediante el desarrollo de mecanismos de adaptación. Comprender estos mecanismos de adaptación es vital para identificar rasgos fenotípicos que desarrollan mecanismos de tolerancia frente al estrés hídrico. Las plantas descritas como tolerantes al estrés hídrico tienden a reducir la deshidratación del tejido, manteniendo o disminuyendo el potencial hídrico (Schafleitner et al. 2007; Evers et al. 2010).

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es un cultivo alimentario mundial con una producción de más de 375×10^6 de toneladas cosechadas y 19×10^6 de hectáreas plantadas por año (FAO / FAOSTAT 2016), aunque se describe como un cultivo sensible al estrés hídrico (Weisz et al. 1994). Se espera que las pérdidas en la producción de papa en el mundo debido al cambio climático oscilen entre 18% y 32% durante las primeras tres décadas de este siglo (Hijmans 2003). La sensibilidad a la sequía de la papa se observa en todas las etapas del cultivo, desde la emergencia de la planta hasta la iniciación y aumento de volumen de los tubérculos (Thornton 2002; Shock 2007). Sin embargo, Dalla Costa et al. (1997) describen que las reducciones en la fotosíntesis, la biomasa total y el rendimiento fueron máximas cuando se aplicó el déficit de agua durante la iniciación del tubérculo. Se han descrito diferentes estrategias en los mecanismos de tolerancia al estrés hídrico en las papas (Schafleitner et al. 2007; Evers et al. 2010). A nivel fisiológico, el contenido relativo de agua (CRA) de la hoja se utiliza para estimar el contenido de agua en los tejidos (Irigoyen et al. 1992; Knipp y Honermeier 2006; Liu et al. 2006; Shi et al. 2015). Según Van Loon (1981), el CRA para las papas irrigadas es de 80-100%, mientras que para las no irrigadas es del 76-87%. Se encontró que los valores de CRA inferiores a 55%

producen senescencia en hojas de papa (Van Loon 1981). La capacidad de mantener los niveles de CRA en condiciones de sequía podría considerarse como un mecanismo de adaptación (Bürling et al. 2013).

A nivel de metabolitos, la acumulación de osmolitos en la célula disminuye el potencial osmótico que, a su vez, atrae el agua hacia la célula y ayuda a mantener la turgencia. Los compuestos osmóticos sintetizados en papas incluyen prolina y compuestos de amonio cuaternario (Knipp y Honermeier 2006; Evers et al, 2010). La prolina libre parece tener diversos roles en condiciones de estrés osmótico: estabilización de proteínas, de membranas y de estructuras sub-celulares, la protección de las funciones celulares mediante la eliminación del oxígeno reactivo y la función de la osmorregulación (Yancey, 2005). El contenido de prolina se ha relacionado con el potencial hídrico de la hoja y con el contenido relativo de agua (CRA), lo que indica que la prolina podría estar involucrada en la osmorregulación de plantas de papa con déficit de agua (Knipp y Honermeier 2006). Posiblemente la eficiencia del uso del agua (rendimiento x mL⁻¹ consumido) podría explicar estos rendimientos en genotipos tolerantes.

En la actualidad, herramientas de análisis estadístico como los modelos mixtos brindan la posibilidad de seleccionar de forma insesgada genotipos con comportamientos deseados frente a un variable de interés, como la tolerancia frente al estrés hídrico, aun en ensayos multi-ambientales y desbalanceados (Balzarini 2002; Smith et al. 2005).

Roztropawicz et al. (1995) han descripto que las estrategias de tolerancia en las papas varían según la variabilidad genética. Sin embargo, estos estudios se realizaron con un número reducido de genotipos pertenecientes a los mismos grupos taxonómicos.

El objetivo de este capítulo fue evaluar las estrategias en la respuesta diferencial asociadas a la tolerancia frente al estrés hídrico en un panel de papa de gran diversidad genética.

Materiales y Métodos

Material vegetal:

La población evaluada estuvo compuesta por un subgrupo de 144 genotipos de un total de 183 genotipos de papa descritos en el capítulo 1 (Tabla Suplementaria 1). La imposibilidad de trabajar con los 204 genotipos fue explicada en dicho capítulo.

Ensayos a campo:

Durante dos ciclos de cultivo (2011-2012, 2012-2013), se realizaron ensayos a campo con regímenes de lluvia contrastantes. Las temporadas de cultivo se extendieron de octubre a marzo. Los ensayos de campo se realizaron en la estación experimental agropecuaria del INTA en Balcarce, Argentina (37° 45' 32" S, 58 ° 17" O, 100 msnm) y en la estación experimental del INTA en Lujan de Cuyo, Argentina (33° 00' 11.1" S, 68° 51' 59.4" O, 925 msnm) bajo las prácticas locales de manejo estándar del cultivo. Se registraron los valores de humedad relativa (HR, %) y los milímetros de lluvia caída en los campos experimentales (Figura Suplementaria 3). Los ensayos se realizaron bajo un diseño de bloque aumentado (Federer 1961) con ocho bloques y ocho variedades comerciales de papa como testigos repetidos: Asterix, Bintje, Frital INTA, Innovator, Kennebec, Newen INTA, Pampeana INTA y Spunta (Cotes y Ñustez 2001). Todo el material vegetal se plantó en el campo empleando papa semilla libre de virus. Se plantaron cinco tubérculos semillas por clon y por bloque. En el campo de Balcarce, el régimen de riego fue a demanda del cultivo desde la emergencia de la planta hasta la senescencia natural. En el campo de Lujan de Cuyo, se aplicó riego artificial solo para garantizar la emergencia de las plantas de papa. Luego, el riego artificial se detuvo.

Ensayos en invernáculo:

Los ensayos se realizaron durante dos ciclos de cultivos consecutivos (2015-2016 y 2016-2017) en la estación experimental de INTA-Balcarce, Argentina (37° 45' 32 " S, 58 ° 17" O, 100 msnm). Se plantaron macetas con un tubérculo semilla por maceta, utilizando macetas de plástico cilíndricas de 1500 ml con una mezcla de sustrato seco y sustrato inerte (perlita) (3:1, v / v). La plantación se llevó a cabo cuando todos los tubérculos semillas mostraron brotes visibles. Los ensayos se realizaron bajo un diseño de bloque aumentado (Federer 1961) con ocho bloques con las mismas ocho variedades comerciales de papa utilizadas en el ensayo a campo (Cotes y Ñustez 2001). El diseño de bloque aumentado se modificó utilizando dos réplicas para cada genotipo y ocho para las variedades testigo. Las plantas se cultivaron en invernáculo bajo condiciones controladas de luz y temperatura. Al comienzo de los ensayos, cada maceta se regó a demanda con agua destilada. Después de la emergencia de la planta y de acuerdo con la curva de saturación de agua del suelo, cada maceta con la planta emergida se pesó manualmente cada 48 h y su contenido de agua se mantuvo constante en 0,28 g de agua x g⁻¹ de suelo seco, correspondiente a la capacidad del campo. Cuarenta y cinco días después de la plantación, el riego se dividió en dos regímenes de suministro de agua: condición de "déficit hídrico" (DH) (0,19 gr de agua x gr⁻¹ suelo seco) y condición de "riego control" (0,28 g de agua x g⁻¹ suelo seco). Se continuó con el pesado manual de cada maceta cada 48 horas para todos los regímenes hídricos (Hummel et al. 2010) hasta finalizar el ensayo.

Muestreo y Medición

Variables a campo:

Después de la cosecha en abril de los años 2012 y 2013, el rendimiento (R) de cada genotipo de papa en cada ambiente se evaluó como $T_n \times ha^{-1}$ de la producción total de tubérculos. Se utilizó un subconjunto de tubérculos de la cosecha total para medir el porcentaje de materia seca en tubérculo (MS) y la aptitud para freír en hojuelas (AF). La MS se evaluó gravimétricamente según Cacace et al. (1994), y la AF por puntuación visual según Li et al. (2008).

Variables en invernáculo:

El consumo de agua (CA) de cada maceta se midió gravimétricamente cada 48 h como la diferencia del peso de la maceta de la hora 0 luego de ser regada y el peso de la maceta en la hora 48 antes de ser regada.

Para el análisis de la concentración de prolina (P) y contenido relativo de agua (CRA) se tomaron muestras de hojas jóvenes completamente expandidas y de tamaño similar ubicadas en el tercer folíolo desde la yema terminal. Las hojas se recolectaron a los 15, 30 y 45 días después del inicio del déficit de agua (equivalentes a 60, 75 y 90 días después de la plantación) en un lapso de tiempo comprendido entre las 9:00 y 10:00 h de la mañana. Para las mediciones de P, las muestras de hojas (0,1 g de tejido fresco) se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80° C hasta que se procesaron. La P se determinó de acuerdo con la modificación de Carillo y Gibon (2011) del procedimiento de Bates et al. (1973). La savia de cada hoja se recogió con una prensa eléctrica de rodillos (Sew-Eurodrive D752) y se obtuvieron homogeneizados de extracción a partir de una dilución de 20 veces del peso fresco de la hoja (p/v) en una mezcla de etanol y agua 70:30 (v/v) (Hummel et al., 2010). Se vertió una mezcla 1:1 de homogeneizado de extracción y mezcla de reacción (ninhidrina al 1% (p/v) en ácido acético al 60% (v/v) y etanol al 20% (v/v)) en tubos eppendorf de 2 ml. Los tubos se sellaron, se agitaron y luego se calentaron a 95° C en un baño de agua durante 20 min. Después de enfriar a temperatura ambiente, cada tubo se centrifugó (1 min, 500 RCF o Fuerza G) y se transfirieron 100 µl de las mezclas a microplacas de polipropileno. La absorbancia a 520 nm se midió con un lector automático de microplacas (Epoch™, BioTek Instruments). La P se determinó utilizando una curva estándar. El contenido de P libre se expresó como µmol x g⁻¹ peso fresco de la hoja (Irigoyen et al., 1992).

La CRA (%) se evaluó como $CRA (\%) = (\text{peso fresco, peso seco}) / (\text{peso turgente, peso seco}) \times 100$, según fue descrito por Boguszewska et al. (2010).

Análisis estadístico.

La población total se dividió en grupos según sus niveles de ploidía, diferenciación taxonómica, subespecies y origen de germoplasma. Los grupos asignados fueron: "adg", "chc", "tbr", "tbr x gr", "trj". El resumen de las características de cada genotipo

de papa empleado se describe en la Tabla Suplementaria 1 del capítulo 1. Para las variables medidas en el campo, el modelo estadístico fue:

$$y_{ijpn} = \mu + g_i + t_j + (gt)_{ij} + m_p + (ma)_{pn} + e_{ijpn} \quad [1]$$

donde μ es la media general, g_i es el efecto fijo del i^{th} grupo de papas, t_j es el efecto fijo del tratamiento j^{th} , $(gt)_{ij}$ son los efectos de interacción entre los efectos fijos previos, m_p es el efecto aleatorio del genotipo p^{th} , $(ma)_{pn}$ es el efecto de interacción aleatoria entre el genotipo p^{th} con el año n^{th} , y e_{ijpn} es el error aleatorio de la observación $(ijpn)^{\text{th}}$ con $m_p \sim N(0; \sigma^2_g)$, $(ma)_{pn} \sim N(0; \sigma^2_{gxa})$, $e_{ijpn} \sim N(0; \sigma^2_e)$, $\text{corr}(e_{ijpn}; e_{i'j'p'n}) = [1 - 1.5(\text{dist}(y_{ijpn}; y_{i'j'p'n})/\rho) + 0.5(\text{dist}(y_{ijpn}; y_{i'j'p'n})/\rho)^3]$, si $\text{dist}(y_{ijpn}; y_{i'j'p'n}) < \rho$ y $\text{corr}(e_{ijpn}; e_{i'j'p'n}) = 0$ si $\text{dist}(y_{ijpn}; y_{i'j'p'n}) \geq \rho$, donde "dist" mide la distancia espacial entre las parcelas donde se realizaron esas observaciones. Para las variables medidas en invernadero (CA, P y CRA), el modelo estadístico ajustado fue:

$$y_{ijkfpns} = \mu + g_i + t_j + d_k + (gt)_{ij} + (td)_{jk} + (gd)_{ik} + (tgd)_{ijk} + b_f + m_p + (ma)_{pn} + e_{ijkfpns} \quad [2]$$

donde μ , g_i , t_j , $(gt)_{ij}$, m_p , $(ma)_{pn}$ como quedaron definidas en la ecuación [1], d_k es el efecto fijo del k^{th} día de tratamiento, $(td)_{jk}$, $(gd)_{ik}$ y $(tgd)_{ijk}$ son los efectos de interacción entre los efectos fijos anteriores, b_f es el efecto fijo del bloque f^{th} y $e_{ijkfpns}$ es el error aleatorio de la observación $(ijkfpns)^{\text{th}}$. Los supuestos de distribución en este modelo son: $m_p \sim N(0; \sigma^2_g)$, $(ma)_{pn} \sim N(0; \sigma^2_{gxa})$, $e_{ijkfpns} \sim N(0; \sigma^2_e)$, $\text{corr}(e_{ijk1fpns}; e_{ijk2fpns}) = \phi^{|k_2 - k_1|}$ donde $k_2 - k_1$ es la distancia en días entre $y_{ijk1fpns}$ y $y_{ijk2fpns}$ observaciones, los errores de la observación repetida en la misma unidad experimental a lo largo del tiempo se correlacionan automáticamente y todas las demás correlaciones entre efectos aleatorios son cero. Estas suposiciones se verificaron mediante análisis exploratorio gráfico de residuos y prueba de razón de verosimilitud restringida. En caso de violación a estas suposiciones, se propusieron supuestos alternativos y se verificaron nuevamente. Como en el caso anterior, estas suposiciones se verificaron y modificaron cuando se lo requirió. Cada MLM y ANOVA se realizó para los factores principales y sus interacciones. Cuando se detectaron diferencias estadísticamente significativas, se realizó una comparación por pares post hoc a través de cada factor de variación mediante el uso de la prueba de Tukey. La significación se estableció en un valor de $p < 0.05$. Los BLUPs de cada genotipo para cada variable medida se calcularon de acuerdo con el MLM ajustado previamente [1 y 2]. Los valores de BLUPs para cada genotipo se calcularon como promedio entre los años y el régimen hídrico.

La asociación entre los rasgos para cada grupo de papas en cada régimen hídrico se evaluó mediante dos enfoques: 1) coeficiente de correlación de Pearson (r) y 2) PCA basado en variables estandarizadas. A los genotipos se los ordenó mediante un ranking decreciente utilizando los valores de BLUPs para las variables MS, AF, CRA, R, P y en orden creciente para CA. El ordenamiento final de los genotipos se logró sumando los valores de los rankings para cada uno de los rasgos fenotípicos, y los genotipos más tolerantes fueron aquellos con el menor valor en la sumatoria.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat (Di Rienzo et al. 2011) y el software R-Project (RC Team 2013)

Resultados

Ensayo a campo

Rendimiento (R)

La heterogeneidad de la varianza residual se detectó en los gráficos de residuos y se modeló como $e_{ijkf\text{pns}} \sim N(0; \sigma^2_{e_jn} \exp(2 \delta \hat{y}_{ijkf\text{pns}}))$. Este modelo mostró un rendimiento superior (valor de $p < 0,0001$). El $\hat{\sigma}_e$ en el primer año se estimó en 16.4 Tn x ha⁻¹ para Balcarce y 4.35 Tn x ha⁻¹ para Mendoza, mientras que fue de 13.06 Tn x ha⁻¹ y 5.03 Tn x ha⁻¹ en el segundo año (respectivamente). El $\hat{\delta}$ fue 0.013 (Tn x ha⁻¹). Para la correlación espacial entre las observaciones, $\hat{\rho}$ fue de 1.42 m, lo que significa que las observaciones pueden considerarse no correlacionadas a distancias mayores de 1.42 m. El rendimiento medido bajo estrés hídrico en Lujan de Cuyo mostró una reducción promedio de 95.42% con respecto a Balcarce (condición bien regada). El R de cada grupo de papas en ambas localidades se muestra en la Figura 6. En Balcarce, el grupo *tbr* presentó el mayor rendimiento (71,95 Tn x ha⁻¹), seguido (en orden decreciente) por los grupos de papas de *tbr x grl* (45 Tn x ha⁻¹), *adg* (24 Tn x ha⁻¹), *chc* (21.3 Tn x ha⁻¹) y *trj* (6 Tn x ha⁻¹) (Fig. 6). En Lujan de Cuyo, el R fue significativamente diferente entre los grupos de papas (rendimiento promedio: 3.01 Tn x ha⁻¹), el grupo *tbr x grl* presentó el valor promedio de rendimiento más alto (4.74 Tn x ha⁻¹). El porcentaje de reducción del rendimiento fue de 94,92% para el grupo *tbr*,

91,5% para el grupo *adg*, 89,53% para el grupo *tbr x trj*, 85,62% para el grupo *chc* y 73,94% para el grupo *trj*. El grupo *chc* fue el único grupo en el que el porcentaje de reducción de rendimiento no fue significativo.

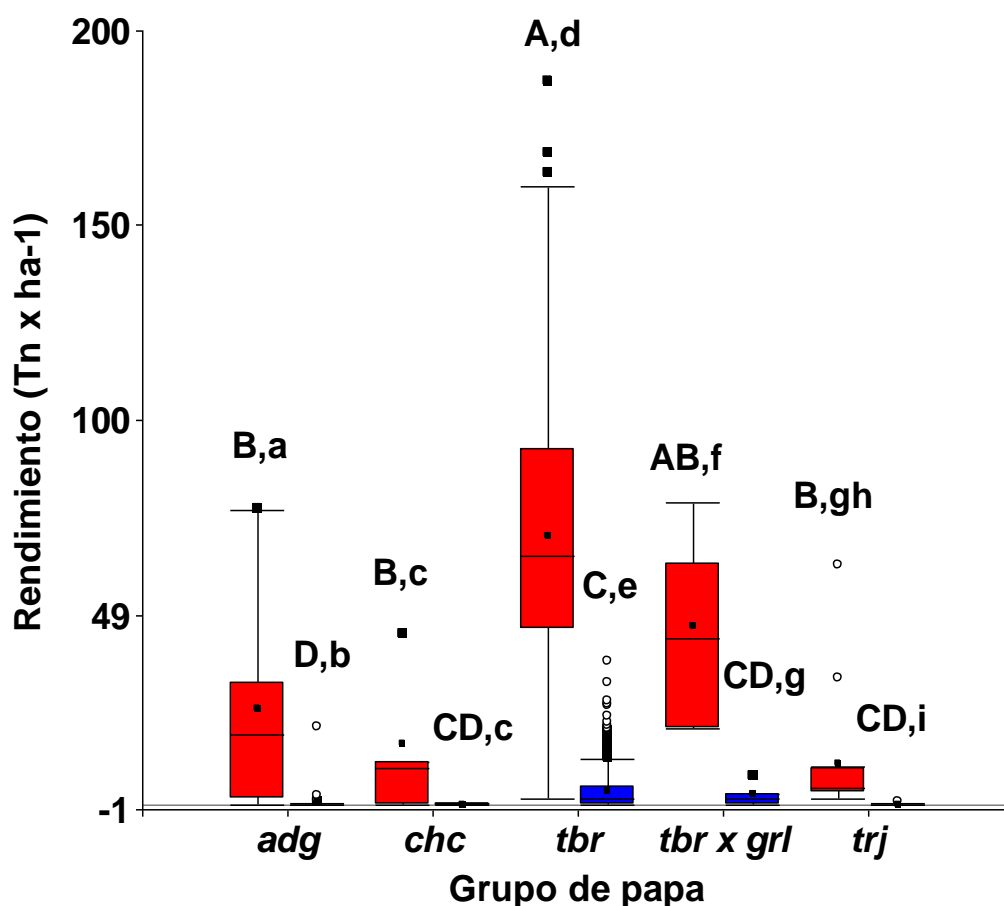


Figura 6: Rendimiento en cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes. Rendimiento ($Tn \times ha^{-1}$) de grupos de papas: "*adg*", "*chc*", "*tbr*", "*tbr x grl*" y "*trj*" en tubérculos cultivados en condiciones de alta humedad (Balcarce) y con déficit de agua (Lujan de Cuyo). Cajas de grupos de papa diferentes con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes dentro de una misma localidad ($p \text{ valor}=0.05$). Cajas de un mismo grupo de papa con la misma letra minúscula no son significativamente entre localidades diferentes ($p \text{ valor}=0.05$)

Materia seca del tubérculo (MS)

La heterogeneidad de la varianza residual se calculó y modeló como $e_{ijkfpms} \sim N(0; \sigma_{e_j}^2)$ (valor de $p < 0,0001$). El $\hat{\sigma}_e$ fue 1.35% para Balcarce y 2.47% para Mendoza. El $\hat{\rho}$ fue de 13.42 m. La MS fue afectada por el régimen hídrico. En general, el promedio de MS aumentó significativamente en un 20% en el entorno semiárido con respecto al campo de alta producción de papa (25.6 y 21.36%, respectivamente)

(valor de $p < 0.001$). La Figura 7 muestra el porcentaje de MS por localidad y grupos. El aumento en la MS debido al déficit de agua fue del 39% en el grupo *trj*, del 25% en el grupo *adg*, del 23,5% en el grupo *chc*, del 3% en el grupo *tbr* y del 1,8% en el *tbr x grl* (significativo en cada grupo, excepto en *tbr x grl*). Para ambas localidades, el grupo *chc* mostró una MS significativamente mayor (Lujan de Cuyo: 33,26%; Balcarce: 26,92%) (Fig. 7). En Lujan de Cuyo, la MS del grupo *chc* (33.26%) fue seguida de *trj* (30.28%), *adg* (23.44%), *tbr x grl* (22.85%), *tbr* (20.95%) (Fig. 7). En Balcarce, dicho aumento fue para el grupo *trj* de 21,74% para *tbr* de 20,33%, para *tbr x grl* de 19,53% y para *adg* de 18,76%.

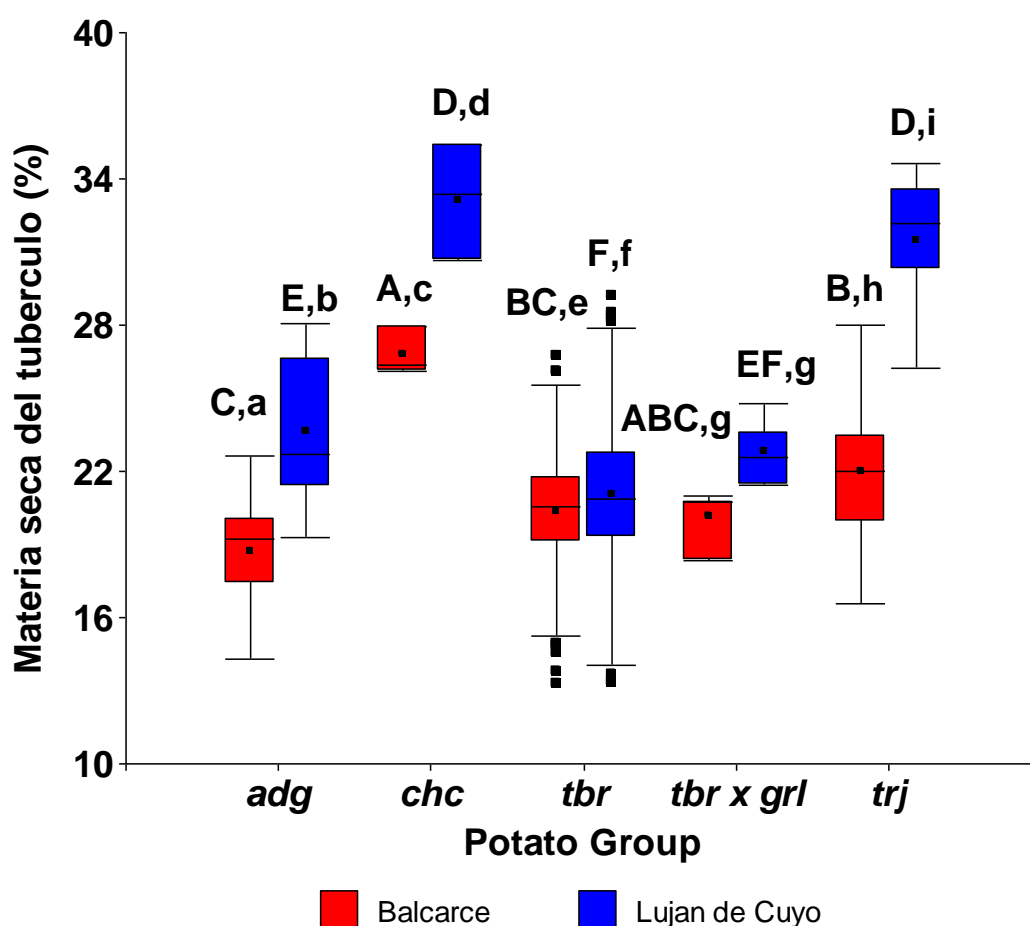


Figura 7: Variación del contenido de materia seca (%) bajo dos regímenes regímenes hídricos contrastantes. Porcentaje de materia seca de grupos de papa: "*adg*", "*chc*", "*tbr*", "*tbr x grl*" y "*trj*" en tubérculos de papa cultivados en condiciones de buen riego (Balcarce) y con déficit de agua (Lujan de Cuyo). Cajas de grupos de papa diferentes con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes dentro de una misma localidad (p valor=0.05). Cajas de un mismo grupo de papa con la misma letra minúscula no son significativamente entre localidades diferentes (p valor=0.05)

Aptitud para freír (FA)

La varianza residual fue homoscedástica, y $\hat{\sigma}_e$ fue 1.25. El $\hat{\rho}$ fue de 2.24 m. El promedio de FA en Lujan de Cuyo se incrementó en un 5% con respecto a Balcarce (5.89 y 5.61, respectivamente). La Figura 8 muestra la FA de cada grupo en ambas localidades. *Chc* fue el grupo de papa que mostró una mayor FA (6.95) en promedio para ambas localidades, seguido de *trj* (6.64), *tbr* (6.25), *tbr x grl* (5.16) y *adg* (5.01) (Fig. 8). Aunque la diferencia no fue significativa, el grupo *tbr x grl* mostró un aumento mayor (6%) en Lujan de Cuyo con respecto a Balcarce (Fig. 8). Una situación similar se observó en otros cuatro grupos (*adg* aumentó un 5,8%, *tbr* aumentó un 4,6% y *chc* y *trj* aumentaron un 4,2%) (Fig. 8).

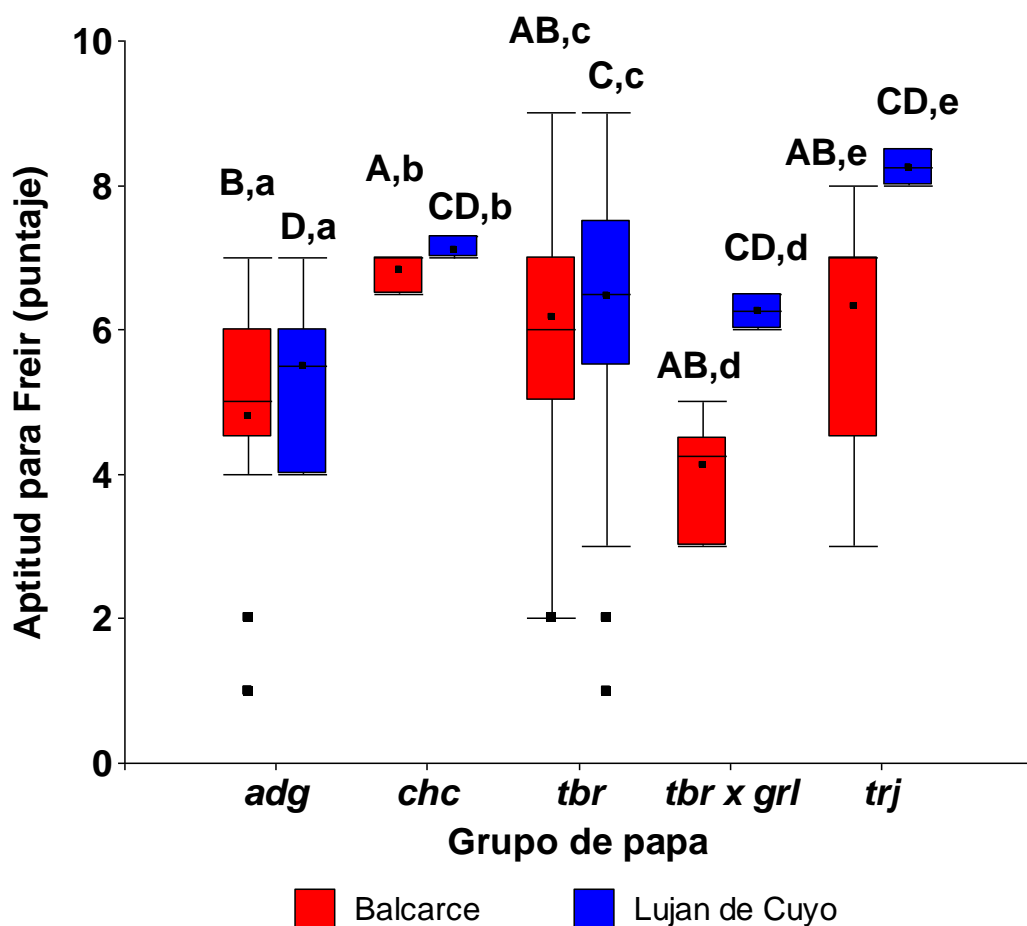


Figura 8: Variación de la aptitud para freír en cinco grupos de papas bajo dos regímenes regímenes hídricos contrastantes. Puntaje de aptitud para freír de los grupos de papas: " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* " en tubérculos de papa cultivados en condiciones de alto rendimiento (Balcarce) o con déficit de agua (Lujan de Cuyo). Cajas de grupos de papa diferentes con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes dentro de una misma localidad (p valor=0.05). Cajas de un mismo grupo de papa con la misma letra minúscula no son significativamente entre localidades diferentes (p valor=0.05)

Ensayos bajo condiciones de invernáculo

Consumo de agua (CA)

La heterogeneidad de la varianza residual se detectó y modeló como $e_{ijkfjns} \sim N\left(0; \sigma_{e_{jn}}^2 \exp(2\delta \hat{y}_{ijkfjns})\right)$. La $\hat{\sigma}_e$ en el primer año fue de 0,36 mL x h⁻¹ para el tratamiento riego control y 0,1 mL x h⁻¹ para déficit de agua del primer año, y 0,1 mL x h⁻¹ y 0,17 mL x h⁻¹ en el segundo año (respectivamente). El $\hat{\delta}$ fue de 0.6 (mL x h⁻¹)⁻¹ y para la correlación temporal, el ϕ fue de 0.67. La DH disminuyó significativamente el CA (mL x h⁻¹) en un 42% en promedio (valor de p <0,001). El CA disminuyó significativamente en todos los grupos de la siguiente manera: *chc* (53.5%), *adg* y *tbr* (41%), *trj* (35.7%) y *tbr x grl* (32.4%) (Fig. 9). Dentro del tratamiento con DH, solo el grupo *tbr x grl* mostró el CA más bajo (0.9 mL / h) con respecto al consumo promedio de los otros grupos (1.18 mL x h⁻¹) (Fig. 9).

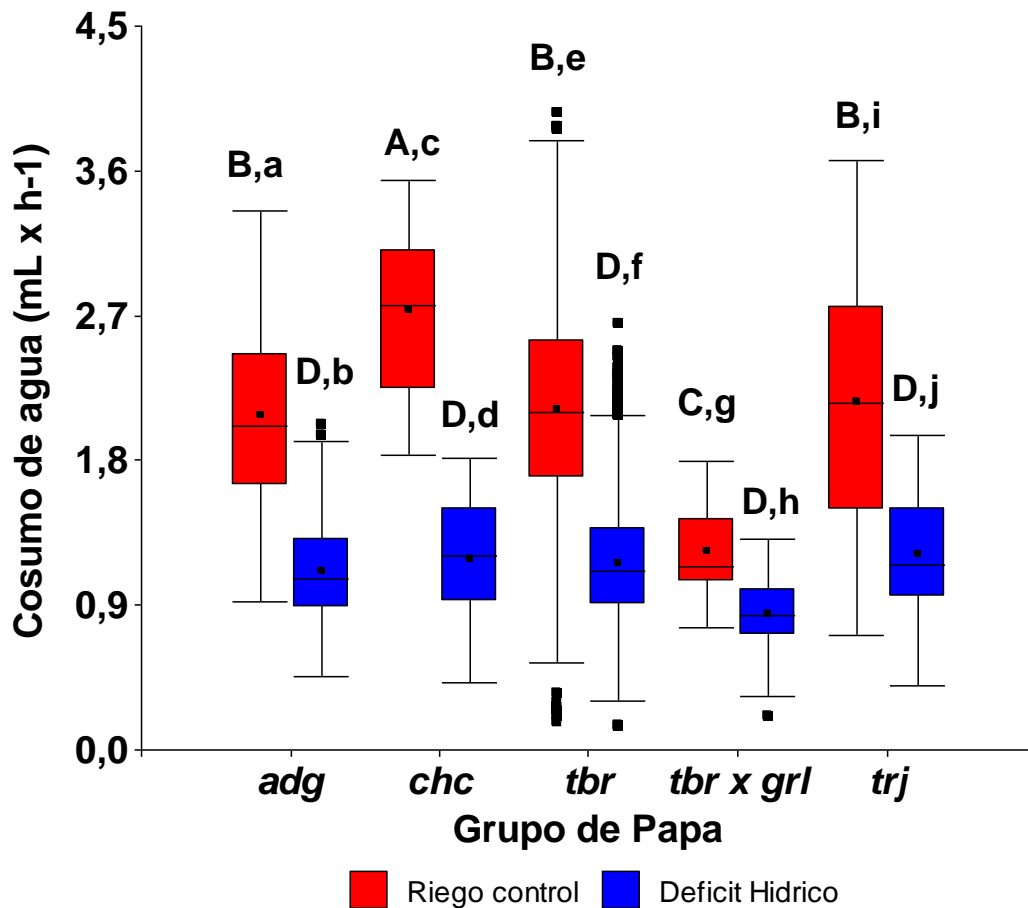


Figura 9: Consumo de agua de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes. El consumo de agua ($\text{mL} \times \text{h}^{-1}$) de los grupos de papa " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* " se midió gravimétricamente bajo tratamiento riego control ($0.28 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ suelo seco) y tratamiento de déficit hídrico ($0.19 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ de suelo seco). Cajas de grupos de papa diferentes con la misma letra mayúscula no son significativamente dentro en un mismo tratamiento ($p \text{ valor}=0.05$). Cajas de un mismo grupo de papa con la misma letra minúscula no son significativamente entre tratamientos diferentes ($p \text{ valor}=0.05$).

La variación de CA durante el período de crecimiento para los dos tratamientos se representa en la Figura Suplementaria 4. En ambos tratamientos, la variación de CA a lo largo del ensayo fue similar en todos los grupos de papas (Fig. Suplementaria 4). En el tratamiento riego control, el grupo *chc* siempre presentó el CA más alto mientras que el grupo *tbr x grl* se asoció con el CA más bajo, ambos independientemente de la duración del tratamiento (Fig. Suplementaria 4I). El resto de los grupos (*tbr*, *adg* y *trj*) mostraron un CA intermedio, no estadísticamente diferentes entre sí. Bajo DH, la variación de CA fue más homogénea entre los grupos (Fig. Suplementaria 4II). El grupo *tbr x grl* presentó el CA inferior a lo largo del ensayo.

Concentración de prolina (P)

La varianza residual fue homocedástica y $\hat{\sigma}_e$ fue $0,62 \mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco, los residuos no se correlacionaron. En general, la P se incrementó significativamente en un 560% por el déficit de agua (valor de $p < 0,001$). La Figura 5 muestra la P para cada grupo y regímenes de agua. Los porcentajes de aumento con respecto al tratamiento riego control fueron 2500% en *tbr x grl*, 1030% en *tbr*, 422% en *adg*, 375% en *chc* y 116% en el grupo *trj*. El *trj* fue el único grupo donde la diferencia de la P no fue significativa entre los tratamientos. En el tratamiento riego control, no hubo diferencias significativas entre los grupos de papas (P promedio: $0.13 \mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco). Bajo déficit hídrico, el grupo *tbr* produjo el valor más alto de P ($1.31 \mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco), seguido de los grupos *chc*, *tbr x grl* y *adg* (1.06 , 0.97 y $0.86 \mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco, respectivamente) (Fig. 10). El grupo *trj* no mostró diferencias significativas en P para ambos regímenes de disponibilidad hídrica ($0.18 \mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco en promedio) (Fig. 10).

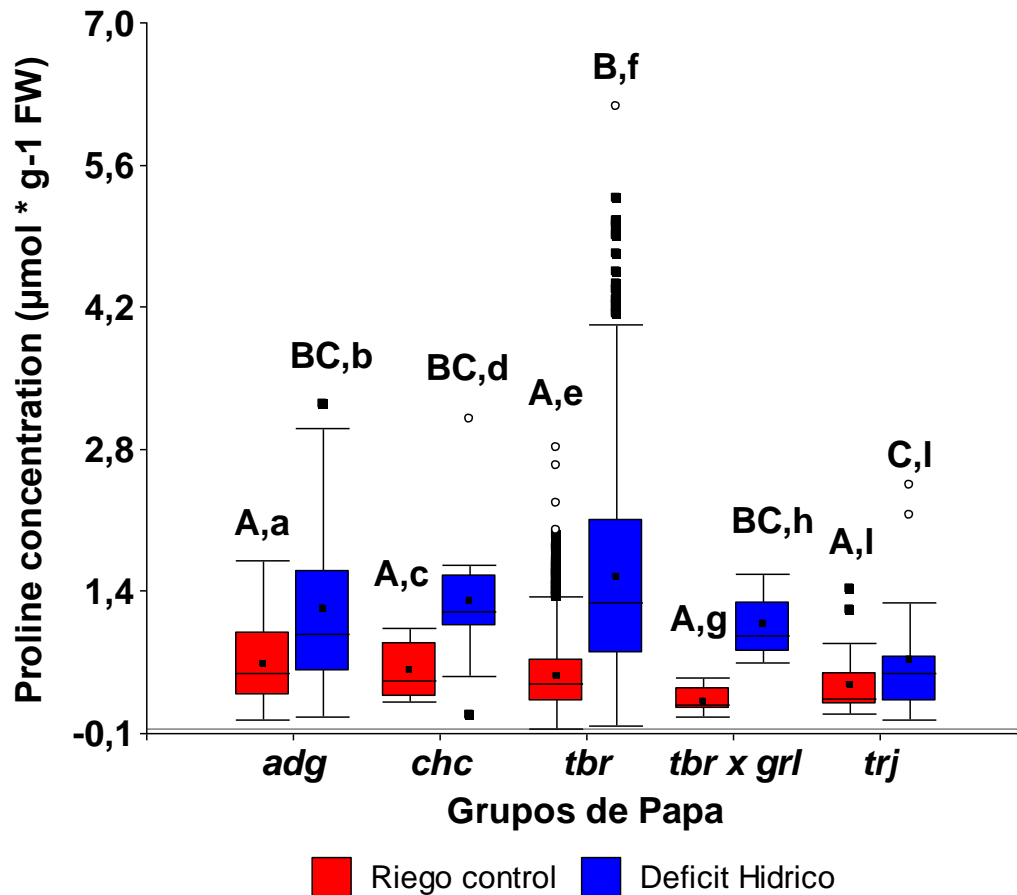


Figura 10: Concentración de prolina de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes. Concentración de prolina ($\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco) de los grupos de papa "adg", "chc", "tbr", "tbr x grl" y "trj" en hojas de plantas cultivadas en bajo riego control ($0,28 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ suelo seco) o tratamiento con déficit de agua ($0,19 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ de suelo seco) plantas. Cajas de grupos de papa diferentes con la misma letra mayúscula no son significativamente dentro en un mismo tratamiento ($p \text{ valor}=0,05$). Cajas de un mismo grupo de papa con la misma letra minúscula no son significativamente entre tratamientos diferentes ($p \text{ valor}=0,05$).

En el tratamiento riego control, la P promedio aumentó a medida que avanzaba el ensayo (4% de 18 a 32 y 65% de 32 a 45 días después de que comenzara el tratamiento) (Fig. Suplementaria 5I). Sin embargo, la P de todos los grupos de papas no mostró diferencias significativas entre ellos. En déficit hídrico, la P globalmente aumentó un 10%. Entre 18 y 32 días después de comenzar el tratamiento, la P disminuyó un 67%, y aumentó un 78% entre 32 y 45 después del comienzo del tratamiento (Fig. Suplementaria 5II; Tabla 2). Durante el tratamiento de déficit hídrico, los grupos *adg*, *tbr x grl* y *tbr* aumentaron su P (108, 34 y 23, 7%, respectivamente), mientras que *chc* y *trj* disminuyeron la P (65 y 47, 8%, respectivamente) (Tabla 2). De 18 a 32 días después de comenzar el tratamiento, el grupo *adg* aumentó la P (32%) y los grupos *chc*, *tbr* y *trj* lo disminuyeron (150, 124 y 91%, respectivamente) (Fig. Suplementaria 5II; Tabla 2). De 32 a 45 días después de comenzar el tratamiento,

todos los grupos de papas aumentaron la P de la siguiente manera: *adg* 75%, *chc* 102%, *tbr* 148%, *tbr x grl* 37% y *trj*: 26% (Tabla 2).

Tabla 2: Variación media de la concentración de prolina bajo déficit hídrico. La variación de P (%) para cada grupo de papas se determinó por pares en tres períodos de tiempo después de que comenzó el tratamiento (18, 32 y 45). Los valores se presentan como los valores promedio para cada grupo de papa \pm error estándar.

Grupo de Papa	Días después del inicio del tratamiento			Media (%)
	18-32	32-45	18-45	
<i>tbr x grl</i>	-3,01 \pm 0,08	37,10 \pm 7,91	34,09 \pm 0	22,73 \pm 12,9
<i>adg</i>	32,34 \pm 1,33	75,87 \pm 0,71	108,21 \pm 0,62	72,14 \pm 21,98
<i>trj</i>	-91,56 \pm 1,5	26,50 \pm 3,37	-65,05 \pm 1,84	-43,37 \pm 35,76
<i>chc</i>	-150,17 \pm 4,77	102,35 \pm 0	-47,82 \pm 4,77	-31,88 \pm 73,33
<i>tbr</i>	-124,45 \pm 0	148,16 \pm 0,1	23,71 \pm 0,2	15,81 \pm 78,8
Media (%)	-67,37 \pm 35,2	78,00 \pm 22,19	10,63 \pm 31,14	

Contenido relativo de agua (CRA)

La heterogeneidad de la varianza residual se detectó y modeló como $e_{ijkfpns} \sim N(0; \sigma_e^2 \exp(2\delta \hat{y}_{ijkfpns}))$ (p value < 0.001). El $\hat{\sigma}_e^2$ fue del 97% y el $\hat{\delta}$ fue (-0.03%)⁻¹. El DH disminuyó el contenido relativo de agua (CRA) de la hoja en un 8,5% (87% a 79,7% de CRA) (valor de p < 0,0001). La reducción del CRA fue de 16.5% para *tbr x grl*, 13.3% para *trj*, 9.3% para *tbr*, 5.6% para *adg* y *chc*. La Figura 11 muestra el CRA para cada grupo en ambos tratamientos. En el tratamiento riego control, el CRA de los grupos de papa no mostró diferencias significativas entre ellos (promedio: 87%). Bajo el déficit hídrico, los grupos *chc* y *adg* presentaron un 83% de CRA, mientras que los grupos *trj* y *tbr* mostraron un valor de 76.6% y el grupo *tbr x grl* 71.15% de CRA (Fig. 11).

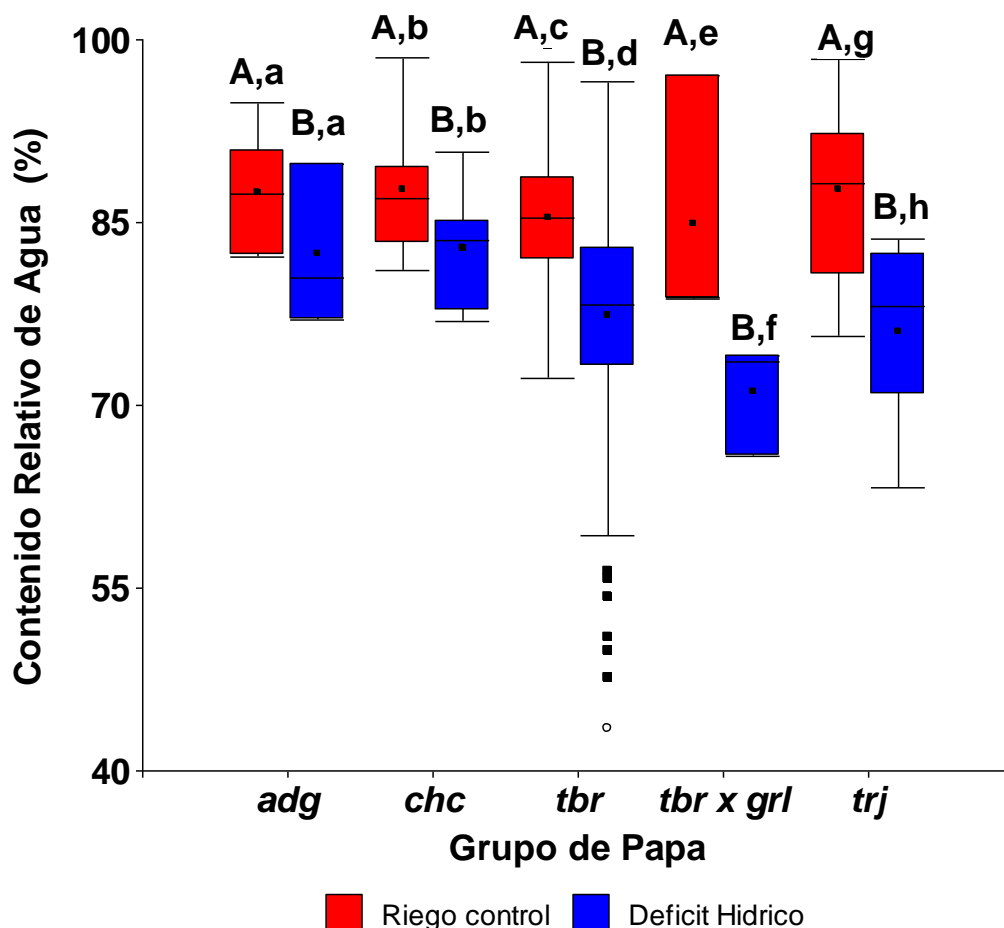


Figura 11: Contenido relativo de agua de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes. Porcentaje de contenido de agua (%) de grupos de papas " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* " en hojas de plantas cultivadas bajo tratamiento riego control (0,28 g de agua x g⁻¹ suelo seco) o tratamiento con déficit de agua (0,19 g de agua x g⁻¹ de suelo seco). Cajas de grupos de papa diferentes con la misma letra mayúscula no son significativamente dentro en un mismo tratamiento (p valor=0.05). Cajas de un mismo grupo de papa con la misma letra minúscula no son significativamente entre tratamientos diferentes (p valor=0.05).

En ambos tratamientos, la variación de CRA después del inicio del tratamiento no fue significativa a lo largo del ensayo (Fig. Suplementaria 6). En el tratamiento riego control, el promedio de CRA para cada grupo no varió significativamente durante el ensayo (1% de aumento), excepto los grupos de papas *trj* y *tbr x grl*. Para el grupo *trj*, el CRA disminuyó un 5% durante el ensayo, mientras que para el grupo *tbr x grl* el CRA aumentó un 23% (Fig. Suplementaria 6I). Bajo DH, el grupo *adg* mostró los aumentos más altos (16%) en la variación total de CRA, seguido de *trj* (2.7%), *chc* (0.8%), *tbr x grl* (0.5%) y *tbr* (0.4%) (Fig. Suplementaria 6II).

Análisis conjunto

El coeficiente de correlación de Pearson (r) entre las variables se presenta en la Tabla 3. El CA y el CRA se asociaron significativamente (r: 0,79). Ambos (CRA y CA) no se asociaron significativamente con MS y AF (Tabla 3). La P se correlacionó significativamente con CA y CRA (r: -0,66 y -0,59, respectivamente), mientras que no mostró una correlación significativa con la MS y la AF (Tabla 3). La AF y la MS se correlacionaron significativamente (r: 0,69). El R se asoció positivamente con el CA y CRA (r: 0,47 y 0,44, respectivamente) y se correlacionó negativamente con la MS (r: -0,46) y P (r: -0,57) (Tabla 3).

Tabla 3: Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre el consumo de agua, la concentración de prolina, el contenido de materia seca, la capacidad de fritura, el contenido relativo de agua y el rendimiento. El coeficiente r se calculó en pares para cada variable medida. El nivel de significación se indica mediante "ns" (P > 0.1), † 0.1 > P ≥ 0.05, * 0.05 > P ≥ 0.01, ** 0.01 > P ≥ 0.001.

	CA	P	MS	AF	CRA	R
CA	1					
P	-0,66*	1				
MS	-0,23 ^{ns}	0,24 ^{ns}	1			
AF	0,21 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,69*	1		
CRA	0,79**	-0,59*	-0,21 ^{ns}	0,08 ^{ns}	1	
R	0,47†	-0,57*	-0,46 †	-0,24 ^{ns}	0,44 †	1

La Figura 12 muestra la distribución de los grupos de papas en un espacio multidimensional generado con todas las variables medidas. El análisis de PCA (Fig. 12) presentó una correlación cofenética de 0,96 que determinó dos grandes grupos, en el lado derecho del gráfico con grupos de papa bajo tratamiento riego control (puntos rojos) y el lado izquierdo con los mismos grupos de papa, pero bajo tratamiento con DH (puntos azules). Los rasgos asociados con el tratamiento riego control fueron R, CA y CRA. Por el contrario, la P, AF y MS se asoció al régimen de DH.

En ambos tratamientos, el grupo *chc* seguido del grupo *trj* se asociaron con valores más altos de MS y AF. En el tratamiento riego control, el grupo *tbr* se asoció con mayor R, CA y CRA (Fig. 12). Bajo DH, el grupo *adg* se asoció con la P más baja y con un R, CA y CRA más altos (Fig. 12). En contraste, el grupo *tbr x grl* se asoció con una mayor P y un menor R, CA y CRA que el grupo *adg* (Fig. 12).

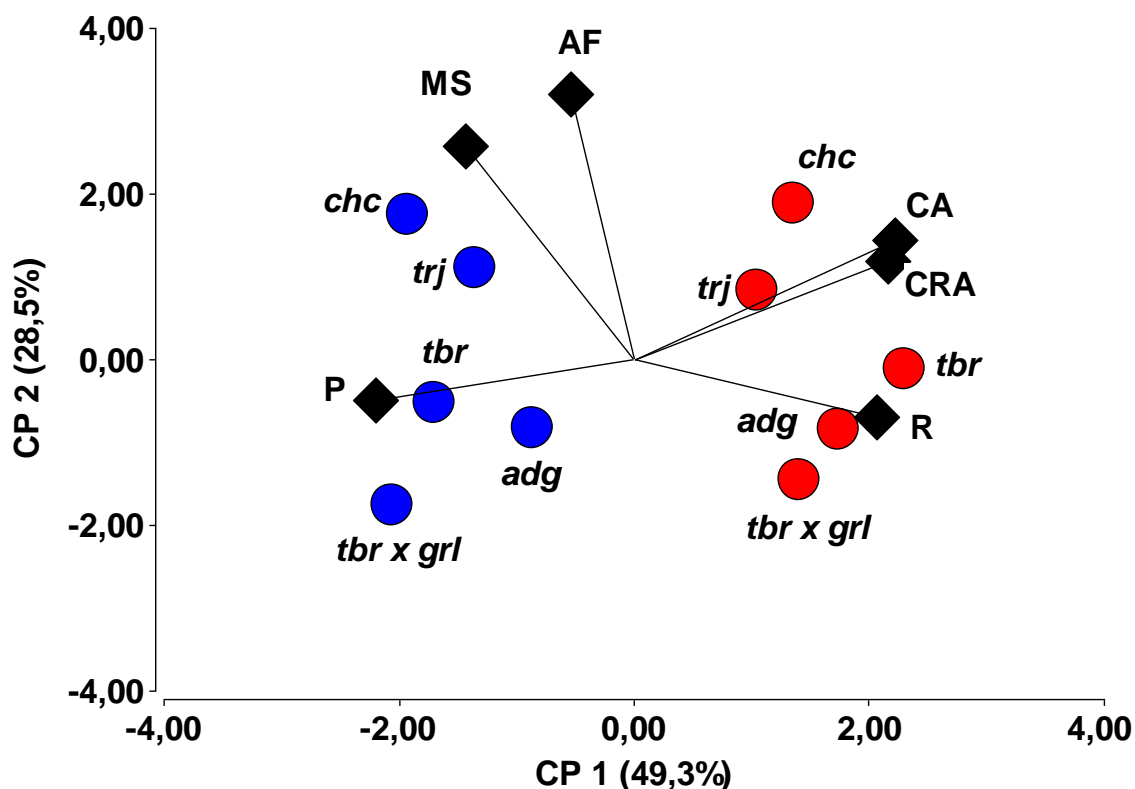


Figura 12: PCA Biplot para cinco grupos de papas bajo dos regímenes hídricos contrastantes. Un análisis de componentes principales (PCA) -Biplot fue generado para los valores de los rasgos estandarizados. Los rasgos fueron designados con diamantes negros y los grupos de papas con puntos de colores. Los puntos rojos están asociados con el tratamiento riego control y los puntos azules con el tratamiento de déficit de agua. Grupos de papas " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* ". Rasgos: P: concentración de prolina, MS: materia seca en tubérculo, AF: aptitud para freír, CA: consumo de agua, CRA: contenido relativo de agua en hoja y R: rendimiento como Tn x ha⁻¹

Genotipos clasificados por BLUPs

El ordenamiento de genotipos por sus valores de BLUPs en cada rasgo se realizó usando la suma de los mismos como se muestra en la Tabla 4. P no se incluyó en el ordenamiento o ranking de genotipos debido a ser considerado como una respuesta no específica a la sequía. Los primeros cuarenta genotipos se integraron por un 90% de genotipos pertenecientes al grupo de papas *tbr*. Estos genotipos incluían la mayoría de los clones de papa de INTA-Balcarce, variedades comerciales (Ana, Arazati, Asterix Atlantic, Baronesa, FL 1867, Gem Russet, Iporá, Purén, Yagana, Ranger Russet, Ramos, Pimpernel) y un clon del Centro Internacional de la Papa (CIP) (397077.16). Además, se incluyeron en la lista un genotipo de *S. tarijense* (OCL 7383.7) y tres genotipos del grupo *adg* (Desconocido, YY10 y Blanca Dulce). Cuando la suma de los ordenamientos (*ranking*) incluyó solo rasgos de interés agro-económico (MS, AF e R), la lista de genotipos clasificados coincidió en 77% con la clasificación

realizada con todas las variables excluyendo P. Estos genotipos mostraron tener las puntuaciones óptimas producto de una combinación de rasgos de interés económicos con aquéllos vinculados con la tolerancia al déficit hídrico.

Tabla 4: Genotipos clasificados por BLUP de MS, AF, CA R y CRA. Se enumeró los primeros cuarenta genotipos con menor suma de BLUPs para cada rango (sin concentración de prolina).

Genotipo	Grupo de papa	Orden MS	Orden AF	Orden CA	Orden P	Orden R	Orden CRA	Suma del ordenamiento(sin P)
B 79.571.1	<i>tbr</i>	15	57	11	36	21	10	114
B 98.99.508.1	<i>tbr</i>	14	11	33	80	33	47	138
B 97.523.4	<i>tbr</i>	65	8	22	107	7	47	149
B 03.575.4	<i>tbr</i>	27	21	40	146	14	47	149
B 90.557.2	<i>tbr</i>	23	3	35	103	46	47	154
B 02.543.1	<i>tbr</i>	44	8	60	66	30	25	167
OCL 7383.7	<i>trj</i>	1	16	75	7	71	5	168
Purén	<i>tbr</i>	9	60	40	93	25	47	181
Asterix	<i>tbr</i>	11	61	17	17	89	4	182
FL 1867	<i>tbr</i>	3	1	53	59	110	15	182
B 91.1042.2	<i>tbr</i>	6	32	53	75	9	87	187
B 86.604.2LR	<i>tbr</i>	56	28	42	34	26	36	188
B 79.526.2	<i>tbr</i>	84	47	30	136	29	1	191
Gem Russet	<i>tbr</i>	14	12	35	71	127	3	191
Iporá	<i>tbr</i>	87	64	16	99	10	16	193
B 03.574.1	<i>tbr</i>	24	47	63	15	22	37	193
Atlantic	<i>tbr</i>	20	9	71	14	87	7	194
Ana	<i>tbr</i>	2	57	55	74	43	47	204
B 85.523.11	<i>tbr</i>	115	26	7	9	24	33	205
B 06.07.817.2	<i>tbr</i>	74	26	71	27	5	29	205
Unknown	<i>adg</i>	45	9	55	33	52	47	208
B 91.899.6	<i>tbr</i>	91	23	35	48	16	47	212
Yagana	<i>tbr</i>	75	23	24	109	27	63	212
397077,16	<i>tbr</i>	13	60	27	45	66	47	213
B 06.07.640.1	<i>tbr</i>	60	18	58	73	32	47	215
B 85.616.3	<i>tbr</i>	132	50	8	125	18	8	216
B 03.578.1	<i>tbr</i>	24	51	49	87	47	47	218
Baronesa	<i>tbr</i>	66	62	54	120	19	19	220
Arazati	<i>tbr</i>	8	55	36	26	80	47	226
B 06.07.640.6	<i>tbr</i>	83	31	56	28	11	47	228
B 88.959.4	<i>tbr</i>	57	76	14	60	68	14	229
YY10	<i>adg</i>	88	29	30	72	36	47	230
Ranger Russet	<i>tbr</i>	53	65	38	101	28	47	231
Ramos	<i>tbr</i>	99	31	54	32	8	39	231
B 87.621.7	<i>tbr</i>	50	58	22	23	55	47	232
Pimpernel	<i>tbr</i>	31	42	67	10	20	74	234
Blanca dulce	<i>adg</i>	106	31	14	133	37	47	235
B 93.1116.3	<i>tbr</i>	98	43	36	29	13	47	237
B 02.556.2	<i>tbr</i>	76	34	38	101	42	47	237
B 87.605.2	<i>tbr</i>	28	7	42	98	100	60	237

Discusión

El déficit hídrico modificó todos los rasgos medidos, tanto en el campo como en el invernáculo. El rendimiento medido en el campo con regímenes hídricos contrastantes evidenció la sensibilidad del cultivo de papa al déficit hídrico. En el ambiente de alta producción (Balcarce), los grupos de papa mostraron variabilidad en su rendimiento (Fig. 6). Dentro de los genotipos *S. tuberosum*, aquellos que pertenecen al grupo *tbr* presentaron los valores de rendimiento más altos ($71.95 \text{ Tn} \times \text{ha}^{-1}$) y los pertenecientes al grupo *adg* los más bajos ($24 \text{ Tn} \times \text{ha}^{-1}$). Mientras que los genotipos del grupo *tbr* son seleccionados bajo regímenes de alta humedad y días largos (entorno de alta producción), los genotipos del grupo *adg* generalmente son seleccionados en hábitats de alta montaña con días cortos (Quiros et al. 1992). El menor rendimiento de los genotipos diploides (silvestres) en Balcarce coincidió con lo descrito por Srivastava et al. (2016). El híbrido inter-específico *tbr* x *grl* mostró un rendimiento intermedio entre el grupo *tbr* y los grupos diploides, no mostrando vigor híbrido para el rendimiento más allá del grupo *tbr* (Fig. 7).

En Lujan de Cuyo, el rendimiento de los cultivos se vio afectado adversamente por el DH continuo. La disminución del rendimiento en el cultivo de papa por DH fue documentado previamente (Lynch et al. 1995; Dalla Costa et al. 1997; Schafleitner et al. 2007). La presión del estrés hídrico fue alta dado que la reducción del rendimiento promedio en Lujan de Cuyo fue del 95,4% respecto al ambiente de alta producción en Balcarce, no detectándose diferencias significativas entre los grupos de papa. Sin embargo, hubo variabilidad en la proporción de reducción del rendimiento entre los grupos de papa. De forma similar, Lahlou et al. (2003) describió variabilidad en la reducción del rendimiento en el cultivo de papa bajo déficit hídrico. El grupo *trj* tuvo la menor reducción de rendimiento (73.9%). Las especies de papas silvestres se describen como tolerantes a la sequía, entre las que se encuentran *trj* y *chc* (Monneveux et al. 2013). La MS en general aumentó su porcentaje debido al estrés hídrico (20%). El aumento de la MS presentó variabilidad entre los grupos de papa, mostrando a los genotipos del grupo *trj* con el mayor incremento (39%). Los grupos de papas *tbr* y *tbr* x *grl* aumentaron levemente la MS bajo DH (3 y 1.8%, respectivamente). La producción de MS y su acumulación en tubérculos se ha

sugerido como un rasgo importante que indica la adaptación de genotipos de papa en condiciones de estrés (Levy 1983). Por otro lado, la AF no se modificó significativamente por el estrés hídrico en ninguno de los grupos de papas. Estos resultados fueron similares a los reportados para ocho variedades comerciales por Lynch et al. (1995) bajo condiciones similares. Sin embargo, la influencia del estrés hídrico en el color de las hojuelas fritas de papa es controvertida debido a la influencia de otros factores ambientales (Shock et al. 1993).

En general, el CA se redujo significativamente en un 42% por DH. El consumo de agua en regímenes de DH promedio fue de 1.2 mL x h⁻¹ en todos los grupos de papa (Fig. 10). El CA promedio de cada grupo de papas varió de acuerdo con los factores ambientales (Figura Suplementaria 3). El genotipo de *S. chacoense* mostró el mayor CA durante el ensayo. A pesar de que *S. chacoense* ha sido caracterizado como tolerante a la sequía (Silhavy et al. 1995), en Argentina tiene una amplia distribución geográfica y crece hasta los 2000 m.s.n.m. evidenciando que la introducción aquí estudiada fue recolectada en ambientes de alta humedad. El grupo *tbr x grl* mostró el promedio de CA más bajo tanto en regímenes de alta humedad como bajo déficit hídrico, combinado con el menor porcentaje de reducción de CA. Cuando se discriminó el CA en los días posteriores al inicio del tratamiento, el grupo de papa *tbr x grl* mostró el CA más bajo en ambos tratamientos durante todo el ensayo de invernadero (Figura Suplementaria 3). *S. gourlayi* fue descrita como resistente a virus y nematodos (Janssen et al. 1997). Sin embargo, el rendimiento de *S. gourlayi* bajo estrés hídrico es aún desconocido.

La P mostró la mayor variación debido al estrés hídrico y aumentó 560% como promedio de todos los grupos de papas. Solo bajo déficit hídrico, la P mostró diferencias significativas entre los grupos de papa. La P mostró una variación temporal y genotípica cuando las plantas de papa se sometieron a un déficit de agua (Figura Suplementaria 4II; Tabla 2). La P se describe generalmente por aumentar sus niveles bajo estrés abiótico, principalmente bajo déficit hídrico (Teixeira y Pereira, 2007; Bündig et al. 2017). El grupo con genotipos tetraploides (*adg*, *tbr* y *tbr x grl*) tuvieron los mayores aumentos en P, con respecto al tratamiento riego control. Además, solo estos grupos aumentaron la P durante el tratamiento de DH. Por otro lado, los grupos con genotipos diploides (*chc* y *trj*) presentaron los menores incrementos en P con respecto al tratamiento riego control. Bajo DH, los genotipos diploides mostraron una

reducción de su P durante el ensayo (Tabla 2). Bündig et al. (2017) describieron variación genotípica en la producción de prolina en distintos genotipos pertenecientes a *S. tarijense* y *S. chacoense*. Futuras investigaciones podrían revelar diferencias en las vías metabólicas de la prolina entre papas tetraploides y diploides.

El porcentaje de CRA bajo el tratamiento con riego control no mostró diferencias entre los grupos de papa durante el ensayo, como se describió anteriormente Liu et al. (2006). El CRA tuvo una reducción media del 8,5% con variaciones entre los grupos de papas (Fig. 11). Si bien el CRA fue previamente descrito por disminuir en respuesta al DH (Shaw et al. 2002; Liu et al. 2006; Bürling et al. 2013; Shi et al. 2015), se debe remarcar que estos estudios fueron realizados con muy pocos genotipos contrastantes.

El análisis multivariado y de correlación describió la asociación entre los rasgos económicos y fisiológicos en cultivares de papa. Dentro de los rasgos fisiológicos, el CA y CRA mostraron la correlación positiva más fuerte (0,79). Está claro que la absorción de agua aumenta la turgencia de la planta en todas las condiciones hídricas. La correlación negativa entre P, CRA y CA confirmó la asociación descrita anteriormente entre P y el déficit de agua. De acuerdo con la asociación entre R y P ($r: -0.57$), los aumentos en la acumulación de P bajo DH podrían ser una respuesta general de la planta al estrés osmótico en lugar de ser una respuesta específica para tolerar el déficit de agua (Tabla 3). Bürling et al. (2013) reportaron una observación similar. Schafleitner et al. (2007) también indicaron que la variación en la concentración de prolina es un mecanismo inespecífico ante estrés y por lo tanto no es una herramienta útil para la predicción de mecanismos específicos de estrés hídrico por sequía, en concordancia con los resultados de este trabajo. Si los grupos de papas se incluyen en un entorno multidimensional que abarque todos los rasgos medidos, surgen dos grupos principales, uno bajo tratamiento con alto nivel de riego y otro bajo déficit hídrico (Fig. 12), lo que indica el valor discriminatorio de las variables utilizadas en este estudio. Los genotipos tetraploides incluyeron los grupos *adg*, *tbr* y *tbr x grl* asociados a una mayor R con altos niveles de CA y CRA bajo el tratamiento riego control. Los genotipos diploides (*chc* y *trj*) se asociaron con mayor MS y mejor AF en el tratamiento bajo riego control. Los mismos grupos tetraploides y diploides también se representaron bajo DH. Principalmente, la MS separó los genotipos diploides de los genotipos tetraploides bajo DH. Aunque el grupo *tbr x grl* presentó el mayor

rendimiento bajo DH ($4,7 \text{ Tn} \times \text{ha}^{-1}$), el grupo *tbr* fue el que presentó un R alto combinado con un alto nivel de MS y AF y un CA promedio (Fig. 12). Con estos resultados se debería desarrollar un modelo económicamente sostenible para compensar la pérdida de rendimiento con el aumento del contenido de AF y MS bajo estrés hídrico.

La selección por medio de un índice de selección con una combinación particular de todos los rasgos ha demostrado ser un enfoque superior, incluso en ensayos desbalanceados en múltiples ambientes (Kelly et al., 2007). En este estudio, el índice utilizado fue un ordenamiento de los BLUP para cada rasgo. Teniendo en cuenta que la concentración de prolina evidencia una respuesta no específica al estrés hídrico por sequía, este rasgo no se incluyó en la clasificación del genotipo. Los primeros cuarenta genotipos con los valores más bajos de la suma de los ordenamientos de rasgos incluyeron en su mayoría los clones del programa de mejoramiento INTA (55%), seguidos de las variedades comerciales (33%) (Tabla 4). Estos genotipos mostraron un buen desempeño en rasgos agronómicos combinados con una menor demanda de agua. Un programa de mejoramiento diseñado para desarrollar variedades de papa con tolerancia a estrés hídrico por sequía debería combinar el fondo genético de *S. tuberosum* spp. *tuberosum*, con la introgresión de fondos genéticos de genotipos de *S. tuberosum* spp. *andígena* y genotipos diploides silvestres.

Conclusiones

Este capítulo proporciona tanto conocimientos útiles para diseñar estrategias de mejoramiento para aumentar la tolerancia en papa al estrés hídrico como nuevas líneas de investigación en fisiología. La utilización de los genotipos de elite identificados en este estudio como progenitores constituye un punto de partida para los programas de mejoramiento orientados a desarrollar variedades tolerantes al estrés hídrico. Una estrategia basada en selección por BLUPs mejorará la eficiencia de selección.

En general los rasgos fenotípicos seleccionados mostraron una respuesta diferencial frente al estrés hídrico, y por lo tanto deberían ser incluidos como variables a medir

en programas de mejoramiento genético en papa para la tolerancia frente a estrés hídrico.

Se evidenció variabilidad genética en el panel de papa utilizado para los ensayos de este trabajo de investigación. El agrupamiento por grupo taxonómico mostro ser útil para evidenciar el comportamiento diferencial de los genotipos frente al estrés. El programa de mejoramiento genético en papa del INTA-Balcarce mostró ser capaz de tener el potencial genético en su germoplasma para desarrollar nuevas variedades comerciales con tolerancia frente al estrés hídrico por sequía. Para ello, se deberá continuar incorporando genotipos diploides y andinos al fondo genético de las futuras variedades.

Material Suplementario

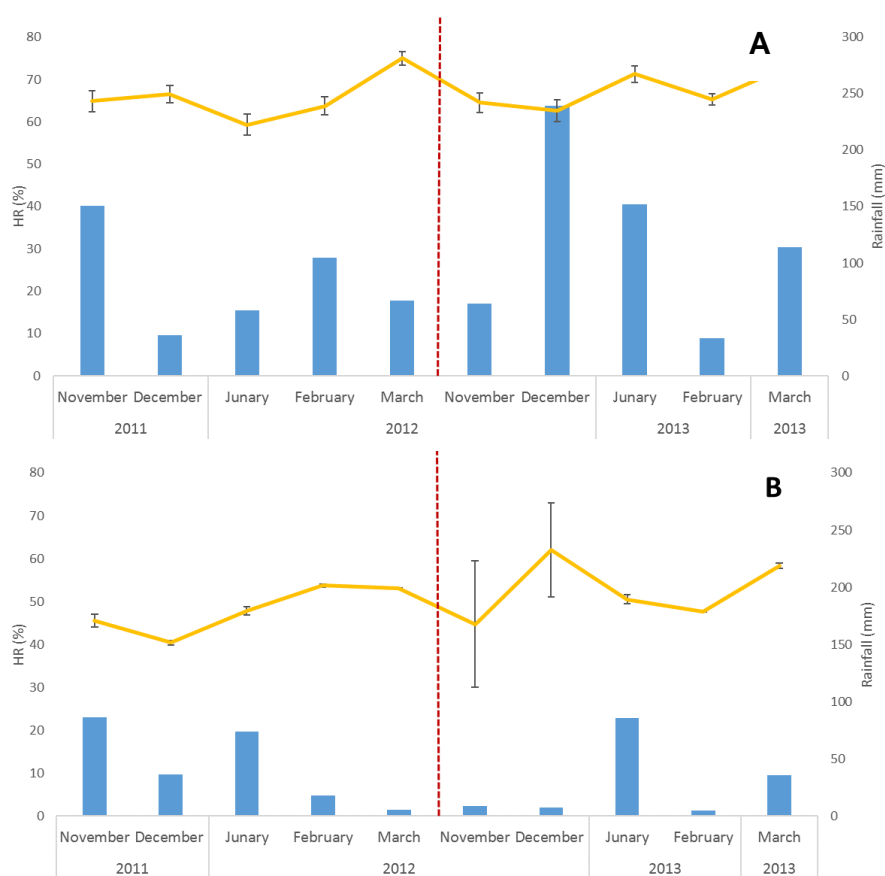


Figura Suplementaria 3: HR (%) y precipitación (mm) en los campos INTA. El porcentaje de HR y precipitación (mm) se registró en los campos experimentales de INTA-Balcarce (A) e INTA-Lujan de Cuyo (B) durante dos temporadas de crecimiento consecutivas (2011-2012, 2012-2013). HR (%) se simboliza con una línea amarilla y la cantidad de lluvia (mm) con barras azules. La línea roja divide cada estación de crecimiento

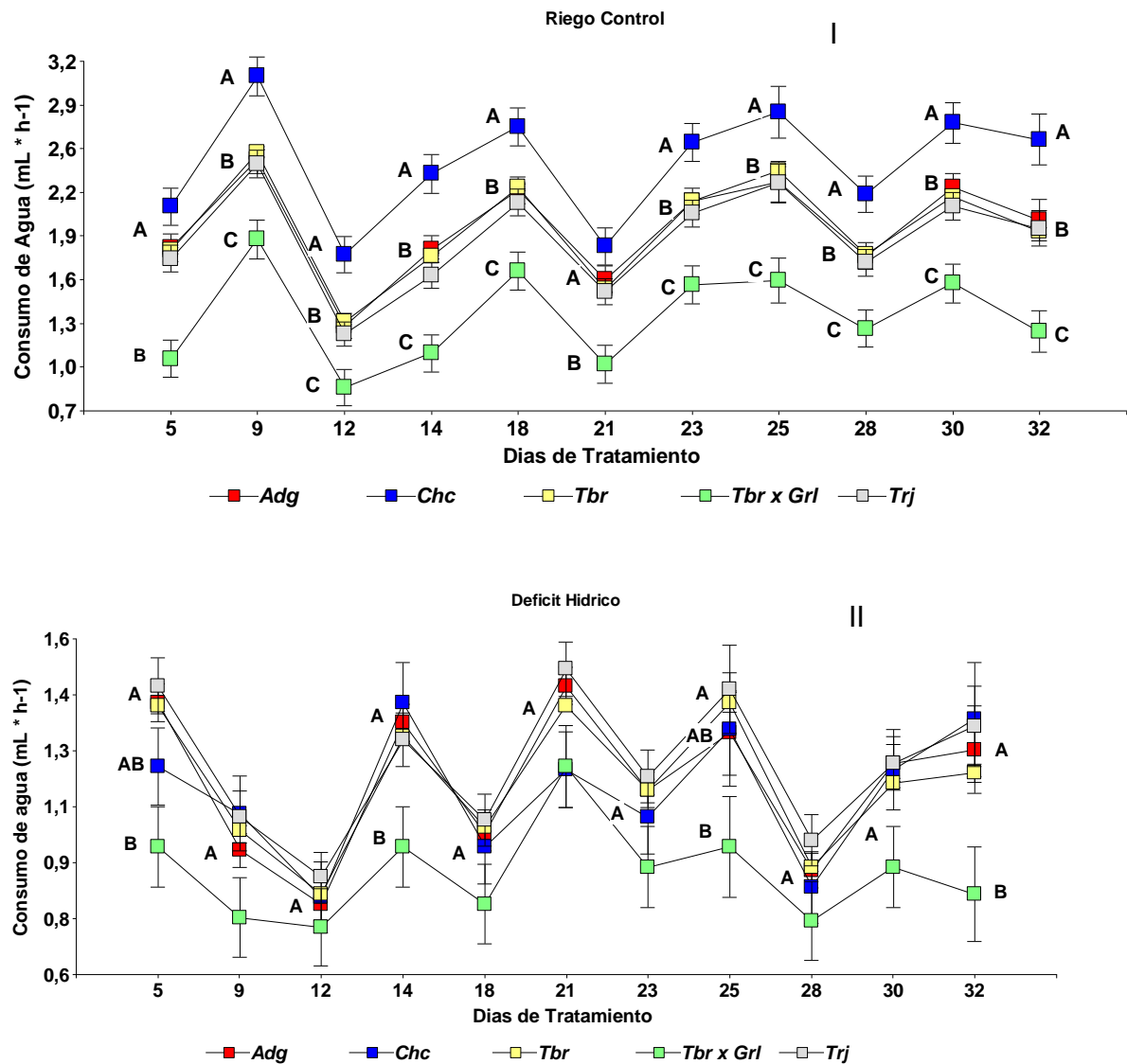


Figura Suplementaria 4: Variación temporal del consumo de agua de los grupos de papas bajo dos regímenes hidricos contrastantes. El consumo de agua ($\text{mL} \times \text{h}^{-1}$) de los grupos de papa " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* " se midió gravimétricamente en diferentes bajos tratamiento riego control ($0,28 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ de suelo seco) (I) y tratamiento de déficit de agua ($0,19 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ de suelo seco) (II). Los valores se presentan como el consumo promedio de agua \pm error estándar. Los valores que son significativamente diferentes en $P < 0.05$ no tienen letras en común. Las diferencias significativas fueron evaluadas para cada día después del inicio del tratamiento.

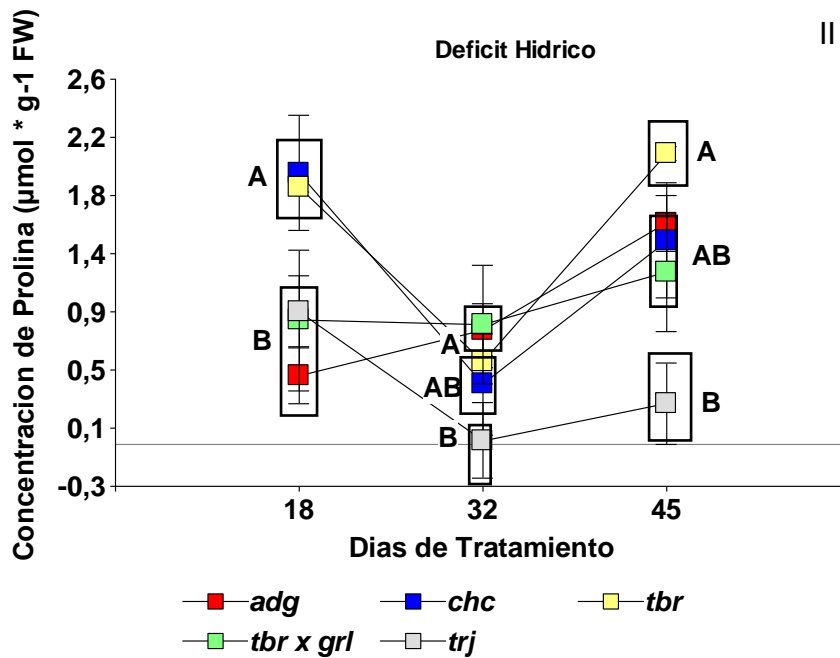
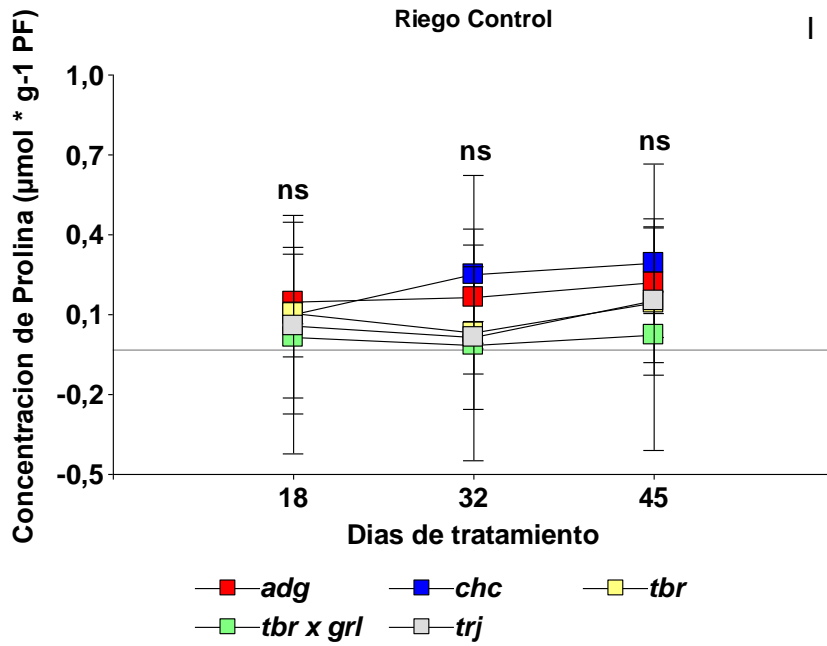


Figura Suplementaria 5: Variación temporal de la concertación de prolina de cinco grupos de papas bajo dos regímenes regímenes hídricos contrastantes. La P ($\mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1}$ peso fresco) de los grupos de papa " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* " se midió en diferentes momentos bajo tratamiento riego control ($0,28 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ de suelo seco) (I) y tratamientos de déficit de agua ($0,19 \text{ g de agua} \times \text{g}^{-1}$ de suelo seco) (II). Los valores se presentan como la concentración de prolina \pm error estándar. Los valores que son significativamente diferentes en $P < 0,05$ no tienen letras en común. Las diferencias significativas fueron evaluadas para cada día después del inicio del tratamiento.

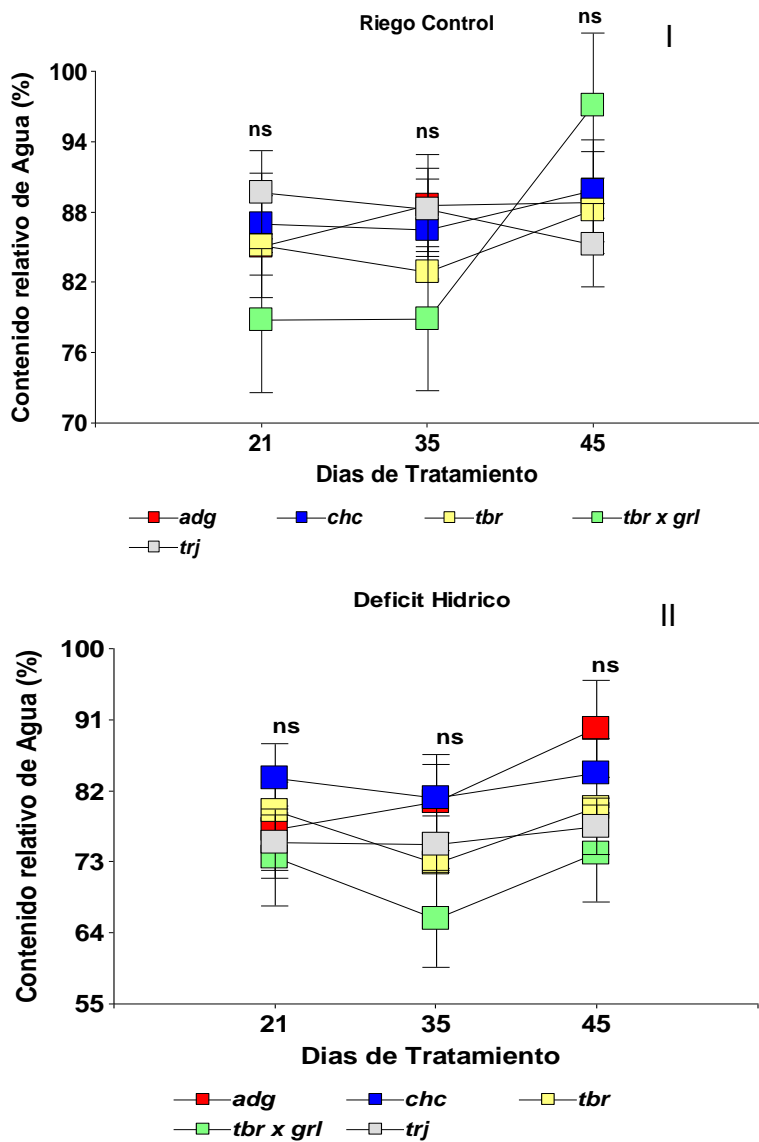


Figura Suplementaria 6: Variación temporal del contenido de agua relativa de cinco grupos de papas bajo dos regímenes hidricos contrastantes. El contenido de agua (%) de los grupos de papas " *adg* ", " *chc* ", " *tbr* ", " *tbr x grl* " y " *trj* " se midió en diferentes momentos bajo tratamiento riego control (0,28 g de agua x g⁻¹ de suelo seco) (I) y tratamientos de déficit de agua (0,19 g de agua x g⁻¹ de suelo seco) (II). Los valores se presentan como el promedio del contenido de agua ± error estándar. Los valores que son significativamente diferentes en P < 0.05 no tienen letras en común. Las diferencias significativas fueron evaluadas para cada día después del inicio del tratamiento.

CAPÍTULO 3

Análisis de desequilibrio de ligamiento y mapeo asociativo para caracteres ligados al estrés hídrico por sequía

TAGLIOTTI MARTIN

Resumen

El mapeo asociativo a través del desequilibrio de ligamiento es una metodología con el potencial de resolución para los rasgos cuantitativos contemplando la interacción a nivel alélico. Es una técnica capaz de aprovechar al máximo los grandes avances en el desarrollo de la tecnología a nivel molecular, bioinformático y estadístico. Si se aplica adecuadamente puede tener significancia en el mejoramiento genético. En la actualidad se han descrito herramientas de análisis estadístico adecuado para análisis de mapeo asociativo en poblaciones de papa que incluyen genotipos tetraploides de orígenes geográficos diversos. Se calculó el desequilibrio de ligamiento y la asociación entre la variación fenotípica inducida por el estrés hídrico en un panel de papa perteneciente al programa de mejoramiento genético de INTA-Balcarce que incluyó genotipos de diversos orígenes geográficos, características taxonómicas y nivel de ploidía. Se utilizaron como estimadores insesgados de la variación fenotípica los valores medios de los BLUPs para seis variables cuantitativas medidas en regímenes hídricos en 144 genotipos. La variación genotípica de la población en estudio se evaluó mediante marcadores moleculares utilizando 4859 SNPs. El análisis de asociación contempló las posibles interacciones alélicas en genotipos tetraploides mediante el programa GwasPoly aplicando diferentes niveles de tasas de falsos positivos y métodos de corrección del umbral de significancia. El análisis de asociación utilizó como cofactores fijos la estructura de la población y la matriz de parentesco. Se detectó la presencia de desequilibrio de ligamiento mediante la presencia de bloques de ligamiento con diferentes niveles de correlación entre los marcadores SNPs. Los cromosomas 1, 6 y 8 presentaron bloques de ligamiento con correlación entre SNPs mayores. El análisis de asociación detectó marcadores moleculares del tipo SNPs asociados a la variación fenotípica en regímenes hídricos contrastantes para los rasgos: contenido de prolina, consumo de agua y rendimiento. Si bien se detalla las posibles funciones biológicas para los QTLs detectados, este capítulo discute los recaudos que se deben tomar a la hora de concluir sobre la verosimilitud de los resultados en los estudios de mapeo asociativo.

Introducción

La variación fenotípica de muchos rasgos complejos de importancia agrícola o evolutiva está influenciada por múltiples loci de rasgos cuantitativos (QTL), la interacción entre ellos, el ambiente y la interacción entre QTL y el ambiente. La tolerancia a la sequía es un rasgo cuantitativo complejo controlado por varias, hasta ahora desconocidas, combinaciones de genes y familias de genes, que no son fáciles de seleccionar simultáneamente (Monneveux et al. 2013). La complejidad de la tolerancia a este estrés explica el lento progreso en el mejoramiento genético asociado al rendimiento en condiciones de sequía.

El mapeo asociativo (GWAS) es una de las herramientas más utilizadas para disectar rasgos complejos (Yang et al. 2010). Esta técnica, también conocida como mapeo de desequilibrio de ligamiento (LD), surge como una alternativa eficaz para el mejoramiento genético en rasgos cuantitativos porque posibilita la asociación entre los rasgos fenotípicos de rasgos cuanti y cualitativos con la variación génica explotando los eventos de recombinación históricos y evolutivos a nivel de la población (Risch y Merikangas 1996; Nordborg y Tavaré 2002). En función de la escala y el enfoque de un estudio en particular, el mapeo de asociación generalmente se divide en dos categorías amplias, (i) mapeo de asociación de un gen candidato, que relaciona polimorfismos en genes candidatos seleccionados que han sido descritos por estar asociados a la variación fenotípica para rasgos específicos; y (ii) mapeo de asociación de todo el genoma (GWAS), o exploración del genoma, que analiza la variación genética en todo el genoma para encontrar señales de asociación para varios rasgos complejos (Risch y Merikangas 1996).

En adición a las complejidades inherentes a los rasgos cuantitativos, la papa cultivada es un cultivo altamente heterocigoto y autotetraploide de herencia tetrasómica, que debido a su carácter poliploide, la mayoría de los estudios de mejoramiento genético en este cultivo se han realizado a nivel diploide utilizando poblaciones biparentales. Sin embargo, en la actualidad la metodología de mapeo asociativo en programas de mejoramiento en papa ha producido numerosas publicaciones (D'hoop et al. 2008; Fischer et al. 2013; D'hoop et al. 2014; Lindqvist-

Kreuze et al. 2014; Rosyara et al. 2016; Schönhals et al. 2016; Vos et al. 2017; Sharma et al. 2018). Estos estudios por asociación (GWAS) han conducido a hallazgos significativos de alelos marcadores asociados con rasgos que son importantes para el mejoramiento de papa, tales como forma del tubérculo, color de carne, pardeamiento enzimático (D'hoop et al. 2014), resistencia al tizón tardío (Lindqvist-Kreuze et al. 2014) y contenido de almidón (Schönhals et al. 2016). El mapeo asociativo ofrece ventajas considerables sobre el mapeo biparental como mayor resolución de mapeo, un mayor número de rasgos que se pueden analizar en un solo estudio, así como un aumento de probabilidad de que las asociaciones marcador-rasgo descubiertas en el germoplasma de estudio sean robustas (Yu y Buckler, 2006). Esta última característica aumenta la posibilidad de utilizar paneles de mapeo de asociación como "genotipos o clones de prueba" para el establecimiento de futuros programas de mejoramiento genético (Sharma et al. 2018).

El mapeo por GWAS requiere una comprensión detallada y la exploración de la estructura de la población para minimizar asociaciones falsos positivos y falsos negativos debida a la estratificación de la población (Sharma et al. 2018). Los falsos positivos generados por la estructura de la población han sido considerados por mucho tiempo como un obstáculo para el mapeo de asociación y ha sido difícil replicar los resultados de asociación en estudios independientes. Dados los múltiples orígenes geográficos, los procesos de adaptación local, las características y el historial reproductivo de la planta, generalmente los genotipos en un panel de mapeo de asociación suelen presentar una estructura poblacional asociada con cierto grado de parentesco (Yu y Buckler 2006). Adicionalmente, a fin de evitar la dificultad en diferenciar los efectos de los polimorfismos funcionales de los de la dosificación de alelos, el nivel de ploidía debe ser considerado, especialmente si la población de estudio contiene introducciones silvestres (Zhu et al. 2008). Autores previos han considerado el dosage alélico en papa para realizar estudios de mapeo asociativo (Yang et al. 2010; Rosyara et al. 2016). La diversidad genética, la extensión del LD y el parentesco dentro de la población determinan la resolución del mapeo, la densidad de marcadores, los métodos estadísticos a emplear y el poder del mapeo (Sharma et al. 2018).

El análisis del desequilibrio de ligamiento (LD) en el genoma de un organismo es un factor clave que afecta la precisión que proporciona el mapeo de asociación y, a su

vez, se ve afectado por muchos factores genéticos y no genéticos, como la recombinación, la deriva génica, la selección natural y artificial, el patrón de apareamiento, y la dosis alélica (Yang et al 2010). En particular el LD busca determinar el grado de asociación no aleatoria entre marcadores moleculares con marcadores moleculares, marcadores moleculares con alelos de cierto locus o entre alelos de diferentes loci. En general, el LD se extiende a una distancia mayor en el genoma en las especies autóгамas, como el trigo, que en las especies de polinización cruzada (alógamas), como la papa (Flint-Garcia et al., 2003). En particular, en el maíz (alógama) el LD decae a 100–1500 pb (Remington et al. 2001; Tenaillon et al. 2001), mientras que en cebada o trigo duro lo hace hasta en 20 cM (Kraakman et al. 2004; Maccaferri et al. 2005). En general *S. tuberosum* L. y la caña de azúcar al ser propagadas vegetativamente, muestran un número limitado de eventos de recombinación históricos y por lo tanto ciertos autores describen el decaimiento del LD en forma moderada (Raboin et al. 2008; D'hoop et al. 2010; Sharma et al. 2018), a pesar de la naturaleza alógama de estos cultivos. En la actualidad la utilización de plataformas de marcadores moleculares del tipo SNPs como Infinium 8303 y sus versiones posteriores, permiten realizar estudios de mapeo por asociación en el cultivo de papa para caracteres complejos al permitir (i) determinar la estructura poblacional y la matriz de parentesco, (ii) considerar el dosage alélico y (iii) poseer una significativa cobertura genómica dado que incluye SNPs asociados a múltiples caracteres de interés en la papa (Felcher et al. 2012). Adicionalmente los estudios de mapeo por asociación en papa mediante GWAS están incrementándose (Kloosterman et al. 2013; Lindqvist-Kreuzer et al. 2014; Rosyara et al. 2016; Schmitz Carley et al. 2017; van Eck et al. 2017; Vos et al. 2017), y se posicionan como una estrategia útil para generar material para el mejoramiento genético con tolerancia a estrés hídrico por sequía. Los objetivos en este capítulo fueron: (i) Determinar el desequilibrio de ligamiento (LD) en el germoplasma utilizado como progenitor en el Plan de Mejoramiento de papa EEA INTA Balcarce como requisito necesario para detectar asociaciones entre QTLs vinculados con la tolerancia a estrés hídrico y marcadores moleculares tipo SNPs, (ii) Identificar asociaciones entre marcadores moleculares tipo SNPs y caracteres fenotípicos relacionados con el estrés hídrico por sequía en un marco de cambio climático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material

Se utilizó la caracterización molecular por marcadores tipo SNPs de la población de papa en estudio como fue descrito en el capítulo 1. Se utilizó la plataforma Illumina Infinium 12K V2 (Hamilton et al. 2011; Felcher et al. 2012). La matriz V2 contiene 12,808 SNPs y fue desarrollada a partir de la plataforma previa Infinium 8303 por el programa coordinado de Solanaceas (SolCap) cito en la universidad de Michigan (Norte-América). Luego del proceso de filtrado, se descartaron marcadores SNPs con bajo nivel de polimorfismo, 100% de ausencia en los resultados para un genotipo de papa evaluado (100% de *no call*) y que no se ajustaran a un modelo alélico tetraploide con cinco posibles genotipos (AAAA, AAAB, AABB, ABBB y BBBB). La evaluación de la calidad de los marcadores se realizó mediante protocolo de GenomeStudio como fue descrito en Felcher et al. (2012) y Hirsch et al. (2013). Luego de este proceso de filtrado se obtuvieron 4,859 marcadores SNPs de alta calidad. Los marcadores presentaron la codificación “AB”.

Los resultados de predictores del tipo BLUPs para cada variable obtenidos en el Capítulo 2 fueron utilizados como matriz de datos fenotípicos.

Se tomaron sólo los genotipos de los cuales se disponía información genotípica y fenotípica (144 genotipos) (Tabla Suplementaria 1).

Métodos

Cálculo de desequilibrio de ligamiento

Se calculó el desequilibrio de ligamiento (LD) y los haplotipos para cada cromosoma utilizando el programa Haploview (v4.2) (Barret et al. 2005). El análisis de ligamiento y haplotipos se realizaron utilizando la siguiente configuración: (1) se ignoraron las comparaciones por pares de marcadores con más de 100 kb de separación (LD de corto alcance) en concordancia con lo discutido por Vos et al. (2017), (2) se excluyeron a los marcadores con genotipos faltantes \geq al 20% y con un Mínimo de Frecuencia Alélica (MAF) \leq al 5%. Estas métricas de verificación de calidad de marcadores

moleculares fueron configuradas en el programa Haploview de acuerdo con lo discutido en Sharma et al. (2018). El LD entre los marcadores se calculó mediante el grado de correlación entre pares de SNPs dentro de cada uno de los 12 cromosomas de la papa (número básico de cromosomas de la papa) mediante el coeficiente de Pearson (r^2) de acuerdo es descrito en trabajos anteriores (D' hoop et al. 2010; Sharma et al. 2018).

La posición física de cada SNP se obtuvo a partir de la versión 4.03 del genoma de referencia de la papa (Sharma et al. 2013). Se realizaron ampliaciones gráficas en las regiones cromosómicas que presentaron asociaciones significativas entre marcadores polimórficos tipo SNPs y la variación fenotípica del rasgo evaluado para observar el r^2 entre los SNPs adyacentes al marcador asociado.

Análisis de asociación

Para diseñar la matriz de marcadores moleculares tipo SNPs se utilizó el resultado alélico para los 4,859 loci de marcadores tipo SNPs. La matriz se construyó de 144 filas donde se encontraban los genotipos y 4,859 columnas con los locus de cada uno de los marcadores SNPs.

La asignación probabilística de pertenencia de cada genotipo a pertenecer a uno de los cinco grupos determinados por STRUCTURE fue utilizada como cofactor fijo en el análisis de asociación. Adicionalmente a los resultados de STRUCTURE, mediante el uso del paquete estadístico GwasPoly (Rosyara et al. 2016) y a partir de la matriz de marcadores tipo SNPs se calculó la matriz de parentesco (*Kinship*) para ser considerados como efectos fijos en el análisis de asociación.

A partir de los valores de los predictores lineales insesgados (BLUPs) para cada rasgo fenotípico evaluado en el capítulo 2 se diseñó la matriz de variables fenotípicas. Los valores de los BLUPs para cada genotipo y rasgo fenotípico se originaron por consenso entre todos los ambientes evaluados (años x localidades o tratamientos). Los rasgos evaluados fueron “Rendimiento” (R), “Porcentaje de materia seca” (MS), “Aptitud para Freír” (AF), “Consumo de Agua” (CA), “Concentración de Prolina” (P) y “Contenido relativo de agua” (CRA) (Capítulo 2), los cuales fueron utilizados para evaluar la asociación entre los marcadores moleculares y fenotípicos. La matriz de análisis se conformó de 144 filas (una por genotipo) y once columnas (seis

pertencientes a los rasgos fenotípicos antes mencionados y 5 columnas para los grupos de STRUCTURE). Se estudió la matriz de los valores BLUPs para cada variable mediante medidas de resumen (media, mediana), de dispersión (desvío y error estándar) y diagrama de frecuencia relativas.

El análisis de mapeo asociativo se realizó utilizando el paquete estadístico GwasPoly (Rosyara et al. 2016) desarrollado para el software estadístico R (R Core Team, 2017). Los datos genotípicos se filtraron por la frecuencia del alelo menor (MAF) de 0,05 y se aplicó una aproximación P3D. La aproximación P3D estima los componentes de varianza una vez reduciendo los tiempos de análisis sin incorporar sesgo en el análisis (Rosyara et al. 2016). La exclusión de SNP con $MAF < 0.05$ elimina de la población SNPs que presentan variantes con frecuencias mínimas y conserva aquellos SNPs frecuentes, disminuyendo la tasa de error (https://www.illumina.com/Documents/products/technotes/technote_genotyping_rare_variants.pdf 21-3-2019). Para los SNP bialélicos en autotetraploides, hay cinco clases de genotipos que se pueden parametrizar por la dosificación del alelo menor: 0, 1, 2, 3 y 4. El modelo genético más general permite que el efecto fijo para cada clase de genotipo sea arbitrario. Debido a que solo la diferencia entre los niveles del efecto fijo es importante para la prueba F, hay 4 grados de libertad para este modelo (uno menos que el número de clases de genotipo). Además del modelo general, se utilizaron tres modelos genéticos diferentes de un solo parámetro: aditivo, dominante simple y doble dominante. En el modelo aditivo, el efecto del SNP es proporcional a la dosis del alelo minoritario. En el modelo dominante simple, los tres heterocigotos son equivalentes a uno de los homocigotos; como hay dos clases homocigotas, hay dos parametrizaciones dominantes simples no equivalentes para cada marcador. También hay dos modelos doble dominantes no equivalentes para cada marcador, en el que el estado duplexo (AABB) tiene un efecto común con los estados simplexo (AAAB) y nuliplexo (AAAA), o con el triplexo (ABBB) y cuadriplexo (BBBB), dependiendo del alelo dominante (A o B) (Rosyara et al. 2016). Se verificó la desviación de los valores p respecto a la hipótesis nula para cada modelo genético (inflación de los valores) (general, aditivo, dominante simple, doble dominante) mediante el grado de desviación de la recta $y=x$ en un gráfico cuantil-cuantil (qq plot) de los valores observados $-\log(p)$ vs valores esperados $-\log(p)$.

Para identificar las asociaciones marcador-fenotipo significativas, se siguieron tres estrategias generalmente utilizadas para corregir el umbral de significancia: Bonferroni, test de permutaciones y la tasa de falsos descubrimiento de Benjamini-Hochberg (FDR) (Rosyara et al. 2016; Benjamini y Hochberg 1995). Los posibles loci de rasgos cuantitativos (QTLs) se calcularon a tasas de ocurrencia de falsos positivos del 10, 25 y 35% con el objetivo de contrastar el grado de significancia o la “fuerza en la asociación de cada posible QTLs” con la variación en el rasgo fenotípico. Para el test de permutaciones se utilizaron 1000 iteraciones.

Se graficó los posibles QTLs mediante gráficos del tipo *manhattan* (manhattan plot) según se describe en Rosyara et al. (2016). Se consultó la base de datos del proyecto agrícola Coordinado en Solanaceas (SolCAP) (http://solcap.msu.edu/potato_infinium.shtml) para determinar las funciones biológicas o bioquímicas asociadas a cada marcador.

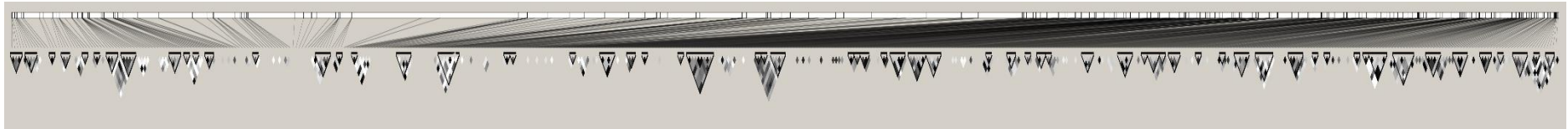
RESULTADOS

Cálculo de desequilibrio de ligamiento y haplotipos

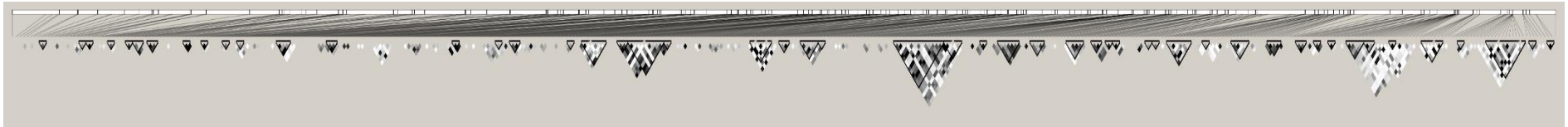
Se calculó el desequilibrio de ligamiento y los bloques haploides entre los marcadores moleculares tipo SNPs dentro de cada uno de los 12 cromosomas (número básico de cromosomas de la papa) de los genotipos de papa evaluados en el panel de estudio mediante 4859 marcadores moleculares del tipo SNPs. Los sectores donde la asociación entre los marcadores SNPs fue mayor se representaron con colores más oscuros (bloques de asociación) y asociaciones más débiles con colores claros (Figura 13). Se observó LD en los 12 cromosomas. Los valores de r^2 mostraron variabilidad en los grados de asociación y en las regiones en donde se observaron las asociaciones entre SNPs a lo largo de los 12 cromosoma (Figura 13). Los cromosomas 1, 6 y 8 mostraron los bloques de asociación con los mayores valores de correlación entre marcados SNP (mayores triángulos con fuerte coloración con valores de $r^2 \geq 0.5$), mientras que los cromosomas 10, 11 y 12 presentaron los bloques de asociación con los menores valores de asociación (colores pálidos, valores de r^2 entre 0 y 0.5). El resto de los cromosomas presentaron mayoritariamente bloques de asociación con colores grisáceos (correspondientes a valores de $r^2 \leq 0.5$)

Según la densidad de los bloques de ligamiento entre SNPs en los brazos cromosómicos, se agruparon los cromosomas 1, 2, 3, 4, 6, 8, y 10 con mayor densidad de bloques en la región derecha de la representación cromosómica (Figura 13). El cromosoma 5 presentó mayor densidad de bloques de ligamiento entre SNPs en la región izquierda de la representación cromosómica. Los cromosomas 7, 9, 11 y 12 no presentaron una distribución distintiva en los bloques de ligamiento.

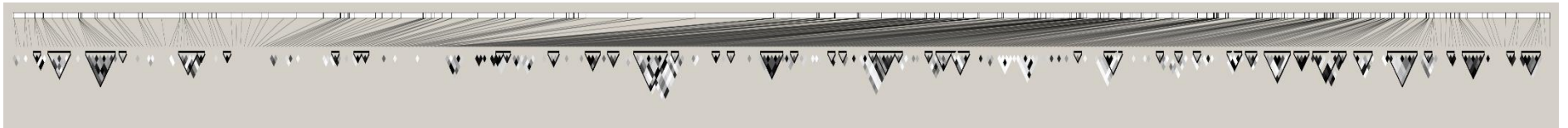
Cromosoma 1



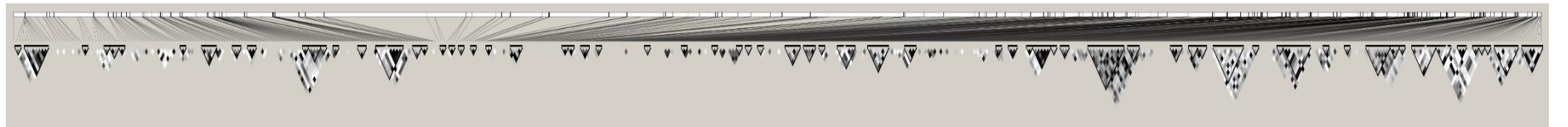
Cromosoma 2



Cromosoma 3



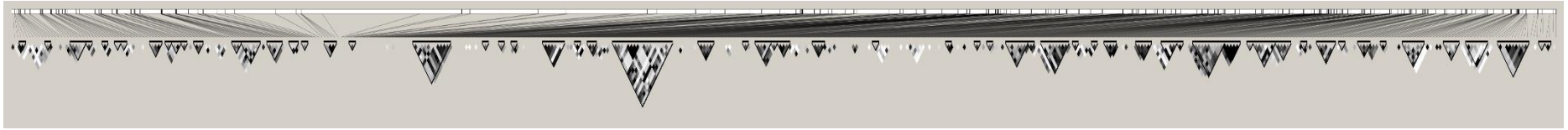
Cromosoma 4



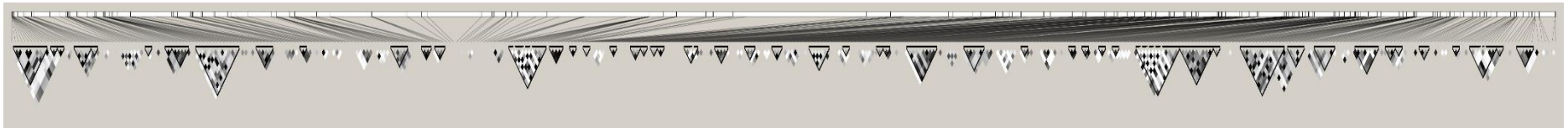
Cromosoma 5



Cromosoma 6



Cromosoma 7



Cromosoma 8



Cromosoma 9



Cromosoma 10



Cromosoma 11



Cromosoma 12

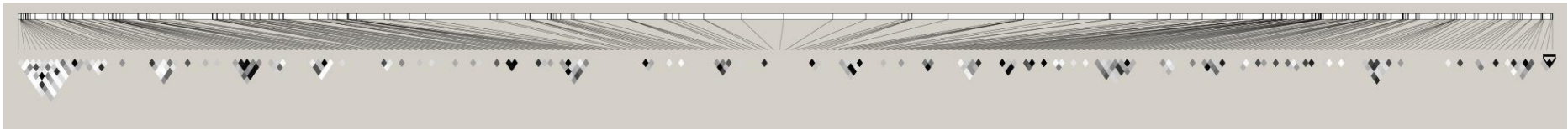


Figura 13. Desequilibrio de ligamiento en cada uno de los cromosomas de la papa. Se graficó el desequilibrio de ligamiento presente en cada uno de los 12 cromosomas (numero básico) presentes en el panel de papa en estudio perteneciente al Plan de Mejoramiento de papa de la EEA INTA Balcarce. El análisis de ligamiento se llevó a cabo utilizando 4859 marcadores moleculares del tipo SNPs con posición física cromosómica conocida (Felcher et al. 2012). La intensidad del color negro es proporcional al grado de asociación entre marcadores moleculares, medido mediante el índice de correlación de Pearson (r^2).

Análisis de asociación

Previo al análisis de asociación se estudió las características y distribución de los valores BLUPs utilizados. En la Tabla 5 se observa las medidas de resumen (media y mediana) y de dispersión de los valores BLUPs (desvío y error estándar). Las medidas de resumen de aptitud para freír, contenido relativo de agua en hoja, consumo de agua y materia seca en tubérculos mostraron valores cercanos a 0. Por otro lado, las medidas de resumen para el rendimiento y contenido de prolina presentaron valores 0.36 y 1.01 respectivamente. El análisis de las medidas de dispersión mostró que los BLUPs de consumo de agua y contenido de prolina presentaron los valores más bajos de dispersión (por ejemplo, error estándar 0 y 0.01, respectivamente), mientras que el rendimiento la mayor dispersión de datos (error estándar: 1.16) (Tabla 5). En la Figura 14 se muestra la distribución de las variables medidas a través de sus valores BLUPs. Esta figura nuevamente pone en evidencia que la variable rendimiento posee la mayor dispersión, tendiendo a una distribución continua normal con sesgo a los valores bajos. El consumo de agua muestra una distribución continua que tiende a la simetría, en tanto el contenido relativo de agua, materia seca y aptitud para freír muestran una distribución continua que tiende a una asimetría negativa (acumula a la derecha) y el contenido de prolina una distribución continua que tiende a una asimetría positiva (acumula a la izquierda).

Tabla 5: Medidas de resumen y dispersión de los valores BLUPs. A partir de los valores BLUPs obtenidos en el capítulo 2, se comparó las medidas de resumen (media y mediana) y dispersión (desvío estándar y error estándar) para cada variable estudiada. D.E.: desvío estándar, E.E.: error estándar.

Variable	Media	Mediana	D.E.	E.E.
Consumo de agua	0,00	0,00	0,02	0,00
Contenido de Prolina	1,01	1,01	0,10	0,01
Aptitud para freír	0,00	0,00	0,43	0,04
Contenido relativo de agua	0,00	-0,01	0,51	0,06
Materia seca	-0,02	-0,09	1,38	0,12
Rendimiento	0,36	0,26	13,66	1,16

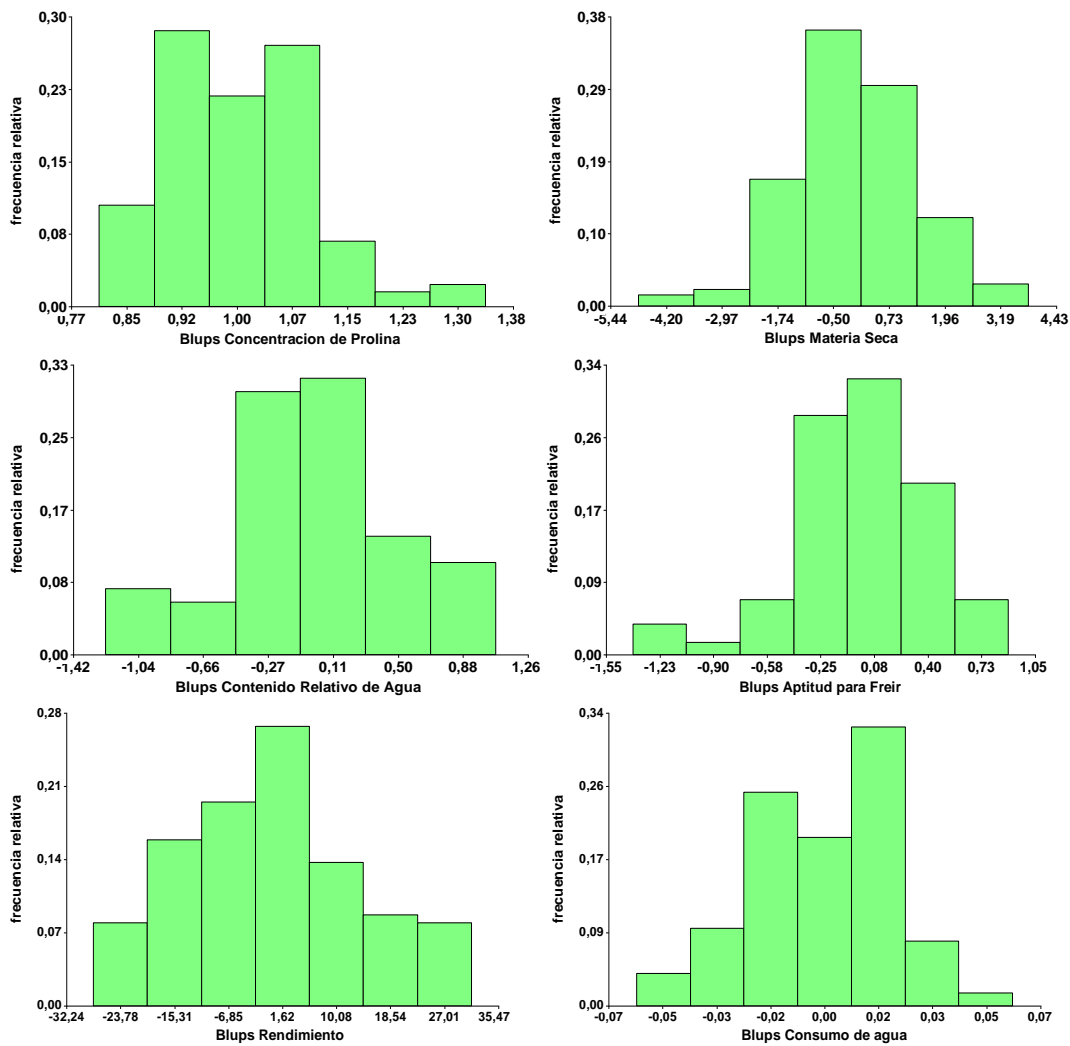


Figura 14: Frecuencia relativas de los valores BLUPs. Se graficó las frecuencias relativas para los valores BLUPs asociados a las variables: concentración de prolina, materia seca, contenido relativo de agua, aptitud para freír, rendimiento y consumo de agua.

El grado de inflación que presentó cada modelo alélico se evaluó mediante gráficos cuantil-cuantil (qq plot) de los valores $-\log_{10}(p)$ observados versus esperados para cada variable (Figura Suplementaria 7). Mediante este gráfico se pudo observar cuanto se desvían los valores p observados de los esperados, y por lo tanto cuanto crece la tasa de falsos positivos en cada modelo. Si los valores p observados son idénticos a los esperados (recta $x=y$) se interpreta que los valores p sigue una distribución normal y minimizan la tasa de falsos positivos. Se pudo observar que los valores p para todos los rasgos fenotípicos caen mayoritariamente sobre la recta $x=y$ bajo un modelo genético tetraploide de dominancia simple ($A < B$, 1-dom-alt) (Figura Suplementaria 7).

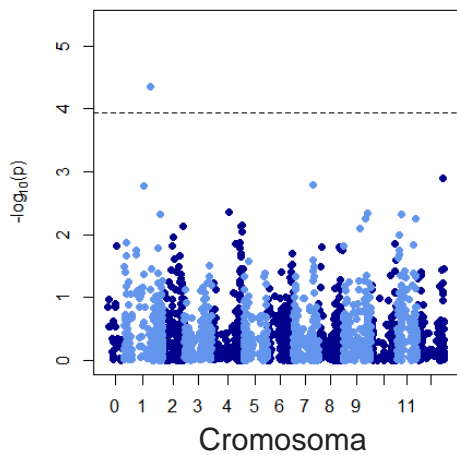
Los posibles QTLs fueron testeados mediante tres métodos de corrección del umbral descriptos para ello: el test de Bonferroni, el test de permutaciones y el test FDR. El

test FDR presentó 100 marcadores tipo SNPs asociados únicamente al rasgo de porcentaje de materia seca en tubérculo con valores p de 1×10^{-30} . Estas asociaciones fueron desestimadas por considerarlas poco confiables. Los métodos de corrección de Bonferroni y Permutación coincidieron en los SNPs asociados a QTLs a partir de un valor p igual a 0.1. Las asociaciones entre marcadores y loci se evaluaron mediante una tasa de falso positivo (α) igual a 0.1, 0.25 y 0.35. En la Tabla 6 se presentan los resultados de los test de Bonferroni y Permutación. En complementación la Figura 15 muestra los gráficos de manhattan para todas las variables medidas trazando la línea umbral del valor p acorde a una tasa de falsos positivos del 10%, excepto en el contenido de prolina que también se incluyó una tasa del 25%. En estos gráficos de dispersión se representa el grado de asociación que posee cada polimorfismo en los marcadores con el rasgo fenotípicos evaluado. Para todos los gráficos se observa la naturaleza cuantitativa de los rasgos evaluados ya que existen múltiples marcadores polimorfismos que, aunque sin efecto significativo, contribuyen a la variación de dicho rasgo (visualizado por aquellos puntos que se separan de la masa de puntos). Para el rasgo concentración de prolina se consideraron los modelos alélicos de dominancia simple y dominancia doble ya que se detectaron SNPs asociados significativamente al dicho rasgo en ambos modelos. Bajo un modelo de interacción alélica de dominancia simple se observan marcadores asociados con mayor efecto en el cromosoma 1 y en menor medida en el cromosoma 12, aunque solo fue significativa la asociación del SNP en cromosoma 1 a partir de una tasa de falsos positivos del 10% (Figura 15, Tabla 6). Mientras que bajo el modelo de dominancia doble los marcadores (más de uno) con mayor efecto se encuentran sobre todo en el cromosoma 4, con asociación significativa a partir de una tasa de falsos positivos del 25% (Figura 15, Tabla 6). Para el rasgo aptitud para freír, ningún marcador mostro asociación significativa para las tasas de falsos positivos consideradas, aunque se observó en el cromosoma 5 un SNP con un efecto mayor al resto sobre este rasgo (Figura 15). Para el rasgo rendimiento, en el cromosoma 10 se encontró un SNP con efecto mayor al resto, solo significativo con una tasa de falso positivo del 35% (Figura 15, Tabla 6). El contenido de agua en hoja mostró un marcador asociado en el cromosoma 10, aunque no significativo para ninguna de las tasas de falsos positivos ensayadas. Al igual que en el rendimiento, el rasgo consumo de agua mostró asociación significativa con un SNP situado en el 1 con una tasa de falso positivo del

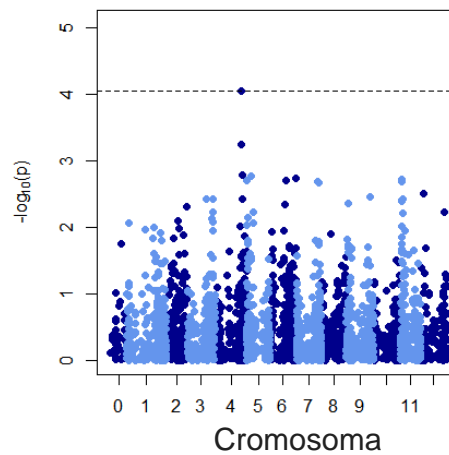
35%, aunque en el cromosoma 1 y 2 se presentan dos marcadores con efectos ligeramente menores al detectado en el cromosoma 1 (Figura 15, Tabla 6). El contenido de materia seca en tubérculo no presentó asociaciones significativas para ninguna de las tasas de falsos positivos ensayadas, aunque en los cromosomas 3 y 7 posee SNP con efecto sobre el rasgo que se diferencia del resto de los SNPs (Figura 15). Se evaluaron los bloques de ligamiento en las regiones cromosómicas adyacentes a los marcadores moleculares SNPs asociado a posibles QTLs (Figura 16). En el cromosoma 1 el SNP *solcap_snp_c1_13430* asociado al contenido de Prolina se presentó en un bloque de ligamiento de 28 Kb de largo cromosómico involucrando 6 SNPs asociados con un valor medio de r^2 igual a 0.5. En el mismo cromosoma el SNP *solcap_snp_c2_12106* asociado al consumo de agua se encontró en un bloque de ligamiento de 32 Kb de largo cromosómico involucrando 5 SNPs con un valor medio de r^2 igual a 0.53. En el cromosoma 4, el bloque de ligamiento adyacente al SNP *solcap_snp_c1_10750* asociado al contenido de Prolina fue constituido por 7 SNPs en un largo cromosómico de 73 Kb y una correlación media entre los SNPs de 0.41 (Figura 16). El bloque de ligamiento vinculado al SNP *solcap_snp_c1_14992* asociado al rendimiento se ubicó en el cromosoma 10 conformado por 3 SNPs, un tamaño de 25 Kb y una correlación media entre los SNPs de 0.82.

Mediante el uso de la base de datos del proyecto agrícola Coordinado en Solanaceas (SolCAP) (http://solcap.msu.edu/potato_infinium.shtml) se determinó que los marcadores moleculares asociados significativamente con la concentración de prolina se vincularon con genes candidatos, con funciones del tipo 1,4 alfa glucano-maltohidrolasa y la cicloartenolsintasa ($-\log_{(p)}$ 4.35 y 4.06, respectivamente; Tabla 6). Adicionalmente el marcador molecular asociado con el consumo de agua se vinculó con un locus con función de dominio de unión a proteína "SPX" ($-\log_{(p)}$ 3.8) (Tabla 6). Por último, para el rasgo rendimiento (R) se detectó asociación con un SNP ($-\log_{(p)}$ 3.8) que no presenta función conocida.

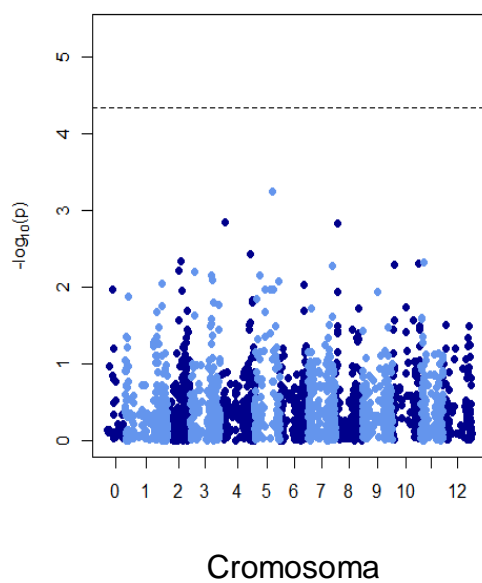
Prolina DS



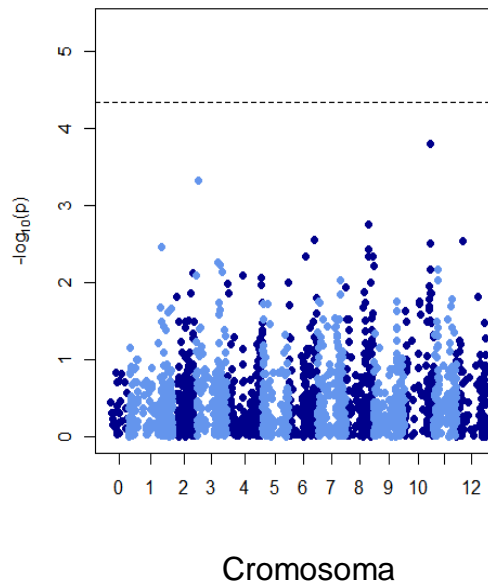
Prolina DD



Aptitud para freír DS



Rendimiento DS



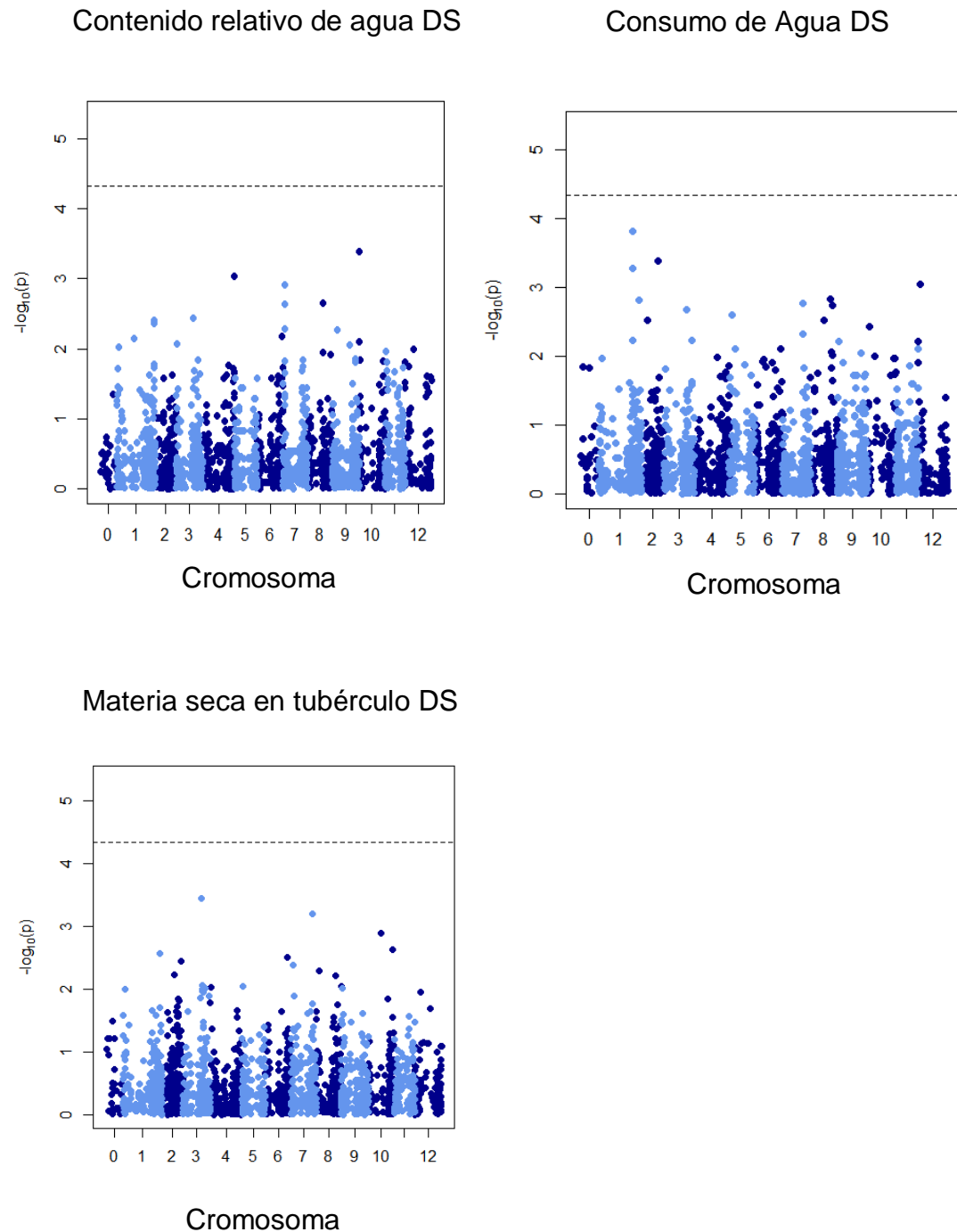


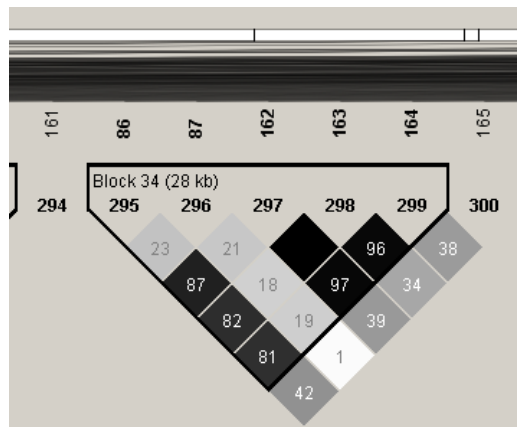
Figura 15: Comparación de los gráficos tipo Manhattan para la totalidad de los rasgos medidos.

Se presentan gráficos tipo Manhattan para los rasgos fenotípicos “Contenido de Prolina”, “Aptitud para Freír”, “Rendimiento”, “Contenido Relativo de Agua”, “Consumo de Agua” y “Materia Seca del tubérculo”. Excepto para contenido de prolina, el resto de los rasgos se evaluaron bajo un modelo de interacción alélica de dominancia simple (DS). El contenido de prolina se evaluó bajo el modelo de interacción alélica simple (DS) y doble (DD). El umbral de significación (línea intermitente negra) fue el correspondiente el método de corrección de Bonferroni para una tasa de falso positivo del 10%, excepto en el contenido de prolina bajo modelo de dominancia doble que fue del 25%.

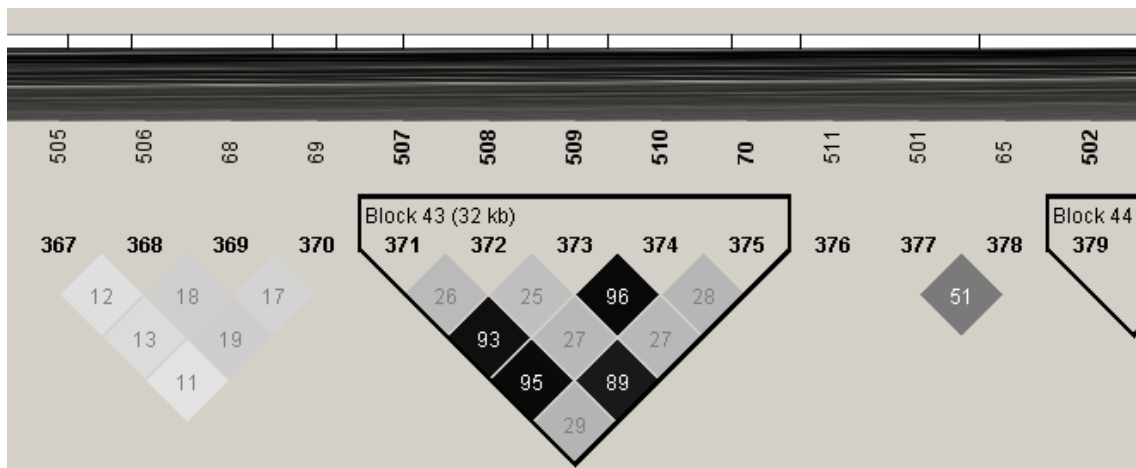
Tabla 6: Asociaciones significativas entre marcadores moleculares y rasgos fenotípicos. Se evaluó la asociación entre marcadores moleculares tipo SNPs con rasgos fenotípicos según Rosyara *et al.*, 2016. Se presentan dos metodologías de corrección del umbral de significancia: Bonferroni y Permutación. α : nivel de tasa de falso positivo; Crom: Cromosoma; P: Concentración de Prolina; CA: Consumo de agua; R: Rendimiento; DS: Dominancia simple; DD: Dominancia doble.

Metodología	Rasgo	Modelo	α	Umbral $-\log(p)$	Marcador	Crom.	Posición	Valor $-\log(p)$	Efecto	Función asociada	Gen Candidato
Bonferroni	P	DS	0.1	4.33	solcap_snp_c1_13430	1	59363461	4.35	-0.16	1,4-Alfa-Glucano-Maltohidrolasa	SI
	P	DS	0.25	3.93	solcap_snp_c1_13430	1	59363461	4.35	-0.16	1,4-Alfa-Glucano-Maltohidrolasa	SI
	P	DS		4.05	solcap_snp_c1_10750	4	58836709	4.06	-0.16	Cicloartenol sintasa	SI
	CA	DS	0.35	3.79	solcap_snp_c2_12106	1	71298295	3.8	0.03	Dominio unión a proteína SPX	NO
	P	DS		3.79	solcap_snp_c1_13430	1	59363461	4.35	-0.16	1,4-Alfa-Glucano-Maltohidrolasa	SI
	P	DD		3.91	solcap_snp_c1_10750	4	58836709	4.06	-0.16	Cicloartenol sintasa	SI
	R	DS		3.79	solcap_snp_c1_14992	10	52663730	3.8	17.97	Gen con función desconocida	NO
Permutaciones	P	DS	0.1	4.26	solcap_snp_c1_13430	1	59363461	4.35	-0.16	1,4-Alfa-Glucano-Maltohidrolasa	SI

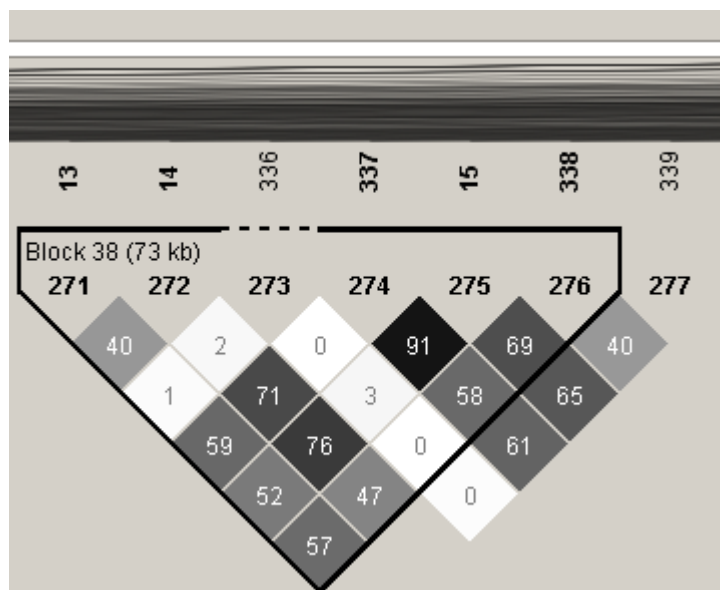
Cromosoma 1 *solcap_snp_c1_13430* Concentración Prolina



Cromosoma 1 *solcap_snp_c2_12106* Consumo de Agua



Cromosoma 4 *solcap_snp_c1_10750* Concentración Prolina



Cromosoma 10 *solcap_snp_c1_14992* Rendimiento

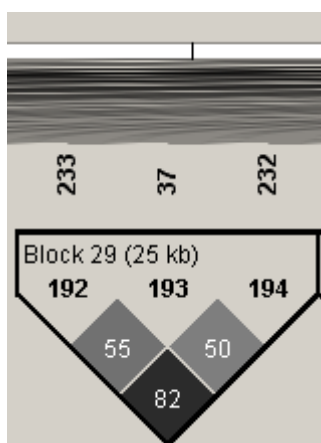


Figura 16: Bloques de LD para las regiones cromosómicas adyacentes a los QTLs detectados. Se representan los bloques de ligamientos asociados a las regiones cromosómicas donde se detectó asociación significativa entre un marcador molecular SNPs y el rasgo fenotípico evaluado. Los valores dentro de cada casillero romboidal indican el índice de correlación de Pearson (r^2) entre marcadores moleculares tipo SNPs. La intensidad de la coloración indica mayor grado de correlación entre los marcadores. Excepto para contenido de prolina, el resto de los rasgos se evaluaron bajo un modelo de interacción alélica de dominancia simple (DS). El contenido de prolina se evaluó bajo el modelo de interacción alélica simple (DS) y doble (DD).

DISCUSION

Análisis de desequilibrio de ligamiento

Los bloques de asociación representan la asociación no aleatoria entre los alelos de distintos SNPs (Flint-Garcia et al., 2003). El análisis de LD mediante marcadores tipo SNPs permitió observar bloques de ligamiento en todos los cromosomas en la población de papa bajo estudio perteneciente al Plan de Mejoramiento de Papa INTA Balcarce. En general los cromosomas mostraron asimetría respecto a la distribución de bloques de asociación (Figura 13). El LD decae básicamente por la frecuencia de recombinación entre cromosomas homólogos. Esta frecuencia es mínima en regiones adyacentes al centrómero y aumentan a medida que se alejan de este (Sharma et al. 2018). Los cromosomas en los genotipos de *S. tuberosum* tienden a presentar un cariotipo conservado, donde en su mayoría son del tipo sub-metacéntricos y metacéntricos (Peloquin et al. 2008; Braz et al. 2018). Las distribuciones de los bloques de ligamiento observados en este trabajo de tesis proponen a los cromosomas 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9 y 10 como sub-metacéntricos y a los cromosomas 5, 11 y 12 como metacéntricos, en concordancia con lo descrito en Peloquin et al. (2008). El cromosoma 2 es descrito como acrocéntrico (Peloquin et al. 2008; Braz et al. 2018), descripción acorde a lo observado en la Figura 13.

Respecto al grado de asociación entre los marcadores SNPs a lo largo de los cromosomas, los cromosomas 1, 6 y 8 presentaron los niveles de correlación entre SNPs mayores (evidenciado por coloraciones más oscuras). En general los bloques de SNPs con mayor asociación correspondieron a regiones de heterocromatina pericentroméricas, en concordancia por Vos et al. (2015) y Sharma et al. (2018). Puntualmente la presencia de bloques de SNPs con valores de r^2 altos coincide con lo reportado por Vos et al. (2015) y Sharma et al. (2018) en poblaciones de estudio similares. Vos et al. (2015) proponen que el cromosoma 8 ha recibido un número casi despreciable de segmentos introgresados en las últimas seis décadas. Sharma et al. 2018 describen que el cromosoma 8 ha sufrido presión de selección positiva, aunque no se describe en particular a favor de que rasgo fenotípico es la selección. Es posible que lo

descripto para el cromosoma 8 se pueda extrapolar para los cromosomas 1 y 6 en el panel de papa evaluado en esta tesis. El decaimiento del LD respecto a la distancia cromosómica entre los marcadores moleculares en papa es objeto de debate. La papa al ser una planta principalmente alógama, se esperaría que el LD entre marcadores moleculares decaiga a valores de r^2 de 0.1 rápidamente, en distancia de 300 Kb. Esta observación se fundamenta en que los procesos meióticos elevan la frecuencia de recombinación cromosómica. Este rápido decaimiento del LD fue observado en poblaciones de papa 2x y 4x por Stich et al. (2013). Sin embargo, Vos et al. (2015) y Sharma et al. (2018) describieron un decaimiento del LD entre marcadores moleculares a valores de r^2 de 0.1 en distancia de 0,2 a 0,5 Mb en panel de estudio que incluía papa tetraploide. Posiblemente la propagación vegetativa de la papa, sin eventos meióticos involucrados, permitan la fijación de bloques de ligamiento más grandes a lo largo del genoma (Raboin et al. 2008; D'hoop et al. 2010). Este último concepto es aún más evidente en los genotipos de papa que son ampliamente utilizados con fines comerciales. Estos genotipos sufren presión de selección por parte de los productores locales en general hacia rasgos como rendimiento y calidad para industria por lo que han disminuido los eventos de entrecruzamiento meiótico facilitando la detección de bloques haploides mayores (Hirsch et al. 2013). Un análisis independiente realizado por Deperi (2019) (datos no publicados) sobre el mismo panel de genotipos de papa y los mismos 4859 SNPs utilizados en esta tesis evidenciaron que el decaimiento del LD entre marcadores SNPs a valores de r^2 0.1 ocurre a una distancia de 0,5 Mb, ratificando lo observado por Vos et al. (2015) y Sharma et al. (2018). Posiblemente las discrepancias entre los autores recién citados se deban a tamaño de la población de papa evaluado, siendo notablemente mayores las poblaciones evaluadas por Vos et al. (2015), Sharma et al. (2018) y Deperi 2019. En resumen, los genotipos de papa pertenecientes al Plan de Mejoramiento de Papa INTA Balcarce evaluados en esta tesis probablemente presenten ligamiento entre segmentos de ADN con menos de 0,5 Mb de distancia entre ellos.

El haber descripto el LD en la población es el paso fundamental para avanzar en el estudio de mapeo por asociación (Yang et al. 2010). La detección de los numerosos bloques de asociación demostró que la estrategia de cobertura

genómica mediante marcadores tipo SNPs fue útil para la detectar la segregación conjunta de regiones cromosómicas, aspecto fundamental para los análisis de mapeo asociativo (Felcher et al. 2012). Al mismo tiempo puso en evidencia la asociación física entre regiones de los cromosomas en el panel de papa perteneciente al Plan de Mejoramiento de Papa INTA Balcarce.

Análisis de asociación

El objetivo principal de GWAS es discriminar las asociaciones reales de marcador-rasgo que surgen del enlace físico de los loci de los efectos espurios que resultan como consecuencia de posibles factores de confusión como el parentesco y la estructura de la población (Sharma et al. 2018). Los rasgos evaluados en este trabajo de tesis tienen patrones de herencia complejos que dificultan aún más la capacidad de las tecnologías de mapeo existentes para detectar la genética subyacente. Sin embargo, en el presente trabajo se reportaron 4 SNPs, que dependiendo de la tasa de falsos positivos utilizada mostraron asociación significativa con la variación fenotípica frente al estrés por sequía. En los estudios de mapeo asociativo es de suma importancia que al momento de la interpretación de los resultados se proceda con recaudo. Para poder concluir que la asociación entre marcadores moleculares y posibles QTLs con función biológica descrita es verdadera es importante reparar en siguientes puntos:

(i) Se deben evaluar sin sesgos experimentales los rasgos fenotípicos vinculados con el carácter deseado (tolerancia a sequía), contemplando las interacciones ambientales. En este trabajo de investigación el número de ambientes (año x tratamiento o localidad) evaluados a campo y en invernáculo (4 en cada uno) y el análisis de las variables fenotípicas mediante modelos estadísticos (MLM) se realizaron de forma similar a lo detallado en bibliografía para ensayo similares (Balzarini et al. 2002, Schönhals et al. 2016; Sharma et al. 2018). Posiblemente un mayor número de ambientes totales mejore la capacidad de discriminar efecto ambiental del efecto del genotipo sobre la variación fenotípica. El número de genotipos evaluados fenotípicamente fue de 144, lo cual en general es inferior a lo descrito para trabajos similares, donde los mismos varían de 190 a 300 aproximadamente (D'hoop et al 2014; Rosyara et al. 2016;

Schönhals et al. 2016; Sharma et al. 2018). Rosyara et al. (2016) describen que el mapeo asociativo utilizando genotipos tetraploides de papa incrementa un 15% su poder estadístico cuando la población en estudio pasa de 200 a 400 genotipos. Es muy probable que el menor número de genotipos de papa evaluados en este trabajo de tesis, respecto a los trabajos anteriores, disminuya la capacidad de detección de posibles QTLs asociados a la variación fenotípica cuantitativa inducida por estrés hídrico, ya sea por acotar la variabilidad genética total en el panel de papa fenotipado como también disminuir el poder estadístico de detección. Es válido aclarar que se observó que la presión de selección que ocasionó el estrés por déficit hídrico en ensayos a campo fue alta, dado que se observó muchos genotipos con resultados en los rasgos fenotípicos medidos a campo con valores cercanos a 0, esto disminuyó la variabilidad en estos rasgos para la localidad con déficit hídrico y por ende el poder estadístico de detectar QTLs asociados a rasgos fenotípicos como rendimiento, materia seca y aptitud para freír.

(ii) Otro aspecto fundamental en el estudio de mapeo asociativo es realizar un eficaz mapeo del genoma mediante marcadores moleculares polimórficos con gran cobertura genómica con el objetivo de mapear las variaciones alélicas de la población en estudio (Oraguzie y Wilcox 2007). Estudios genotípicos basados en plataformas con marcadores moleculares del tipo SNPs que consideren el dosage alélico asociado al nivel de ploidía en papa, como las plataformas basadas en Infinium 8303 son documentadas como válidas (Hackett et al. 2013; Voorrips et al. 2011; Scmitz Carley et al. 2017). Existen antecedentes del uso de esta plataforma de SNPs para detectar asociaciones de QTLs asociados con rasgos fenotípicos con variación cuantitativa (Sharma et al. 2018). Las diferencias de secuencia de ADN son el requisito básico para el estudio de la genética molecular. A diferencia de los marcadores moleculares RAPD y los RFLP, los marcadores SNPs proporcionan la naturaleza exacta de las variantes alélicas. Los análisis genéticos mediante SNP son de gran interés debido a su mayor abundancia en comparación al resto de los marcadores. Los SNP son mucho más frecuentes que los microsatélites y, por lo tanto, pueden proporcionar una alta densidad de marcadores en una región cromosómica de interés. La abundancia de SNPs compensa la desventaja del bialismo, en comparación con

la naturaleza multialélica de los microsatélites. Esta abundancia permite la construcción de mapas genéticos de alta densidad, ofreciendo el potencial para detectar asociaciones entre formas alélicas de un gen y fenotipos observados. La baja tasa de mutación de los SNP también los convierte en excelentes marcadores para el estudio de rasgos genéticos complejos. Los SNP pueden usarse para acceder a la estructura del haplotipo y pueden aplicarse para estudios de desequilibrio de ligamiento (LD), debido a su mayor frecuencia y especificidad en el genoma

(iii) Desestimar falsos positivos en las posibles asociaciones entre QTLs y marcadores moleculares es un punto fundamental en el análisis de mapeo asociativo. Para cumplimentar con este requisito crítico generalmente se evalúa cuidadosamente el parentesco y la estructura de la población en el panel de estudio. En este trabajo de tesis se evidenció la estructura de la población presente en el panel de papa bajo estudio perteneciente al Programa de Mejoramiento Genético de Papa de la EEA INTA-Balcarce. Adicionalmente, se calculó la matriz de parentesco a partir de los marcadores tipo SNPs como es recomendado en Rosyara et al. (2016), a fin de evitar asociaciones espurias que surgen de las diferencias sistemáticas en las frecuencias alélicas debido a la diferencia en los ancestros en panel de papa bajo estudio perteneciente al Programa de Mejoramiento Genético de Papa de la EEA INTA-Balcarce. En este trabajo de Tesis se usaron las matrices de la estructura de la población y del parentesco como cofactores en análisis de mapeo asociativo a fin de evitar falsas asociaciones que pueden llevar a la ocurrencia de falsos positivos en la detección de asociaciones locus-marcador. Sharma et al. (2018) demostró en estudios similares a la presente tesis que estudios GWAS que involucren a la estructura poblacional y a la matriz de parentesco como co-factores disminuyen sustancialmente la tasa de falsos positivos. En coincidencia con Sharma et al. (2018), en el presente trabajo de tesis se pudo controlar la tasa de falsos positivos, medida como el grado de inflación (desviación) de los valores p observados respecto a los valores p esperados bajo una distribución normal, para cada modelo de interacción génica más acorde (Rosyara et al. 2016; Sharma et al. 2018). Rosyara et al. (2016) concluyeron que estudios de mapeo asociativo en genotipos tetraploides de papa que incluyan en su análisis los

posibles modelos de interacción alélica en genotipos tetraploides (aditivo, dominancia simple, dominancia doble) aumentan el poder estadístico para detectar posibles QTLs. La detección de dos marcadores SNPs asociados al contenido de prolina bajo modelos de interacción alélica diferentes (dominancia simple, dominancia doble) posiblemente se deba al aumento del poder estadístico mencionado, aunque siempre se debe reparar en la probabilidad de ocurrencia por azar de ser un falso positivo. Es necesario mencionar en este apartado lo descrito por Zhao et al. (2011) y Sharma et al. (2018), donde se menciona que la sobrecompensación de los modelos que utilizan como cofactores la estructura de la población y la matriz de parentesco puede dar lugar a falsos negativos (error de tipo II). Es posible que dicha sobrecompensación podría haber dejado fuera del nivel de significancia posibles QTLs en este trabajo de tesis.

(iv) Los umbrales de significancia es una herramienta estadística ampliamente utilizada en el mapeo asociativo para controlar la ocurrencia de falsos positivos en las asociaciones entre marcadores moleculares y posibles QTLs. Los métodos más utilizados para la corrección de umbrales de significancia son Bonferroni, FDR (Benjamini & Hochberg 1995) y Test de Permutaciones (Churchill y Doerge 1994). La corrección de Bonferroni, cuyo objetivo es controlar la probabilidad de tener al menos un resultado falso positivo, calcula el umbral de valor de p (detección de asociación estadística significativa) ajustando la fórmula α/n , donde α es la tasa de falso positivos y n es el número de SNP evaluados en el estudio. El método Bonferroni se vuelve muy restrictivo perdiendo poder estadístico porque para determinar el umbral de significancia se divide un α generalmente fijo al 5% por el número de marcadores moleculares que por definición es deseable que sea muy alto para garantizar una buena cobertura genómica (Holland et al. 2007; Yang et al. 2010; Sharma et al. 2018). El aumento de falsos negativos inducido por Bonferroni podría explicar porque solo se detectó asociaciones marcador-locus significativas con tasas de detección de falsos positivos mayores o iguales al 10%. El método de corrección FDR controla la proporción esperada de falsos positivos entre todas las posibles asociaciones estableciendo un valor de tasa de detección de falso positivos por debajo de un umbral fijo, asumiendo que los SNP son independientes (Benjamini

y Hochberg 1995). Este método es menos conservador o restrictivo que la corrección de Bonferroni. Cabe señalar que el control de FDR no implica ninguna noción de significación estadística; es simplemente un método para minimizar la proporción esperada de falsos positivos. Adicionalmente, el método FDR tiene su propia limitación con el análisis de marcadores moleculares del tipo SNP ya que los valores p no son independientes, mientras que este es un supuesto del método FDR (Benjamini & Hochberg 1995). La falta de resultados confiables mediante este método se debería principalmente a su carácter menos restrictivo, dando como numerosos resultados (QTLs) que posiblemente sean falsos positivos o sobreestimaciones del modelo (en este trabajo más de 100 marcadores asociados en la variación del porcentaje de materia seca). Finalmente, los métodos de permutación pueden usarse para pruebas múltiples (múltiples rasgos fenotípicos asociándose con miles de SNPs). Para calcular los valores de p basados en la permutación, las observaciones de los rasgos medidos se permutan aleatoriamente en general para estos estudios 1000 veces (1000 iteraciones), lo que elimina efectivamente cualquier asociación falsa o espuria entre la medida de resultado y el genotipo. Para todos los conjuntos de datos permutados, se realizan pruebas estadísticas. Esto proporciona la distribución empírica de la prueba estadística y los valores de p bajo la hipótesis nula de no asociación. El valor de p obtenido a partir de los datos observados se compara posteriormente con la distribución empírica de los valores de p para determinar un valor de p empíricamente ajustado. Este procedimiento es computacionalmente intensivo, especialmente si se requieren muchas permutaciones, lo cual es necesario para calcular con precisión valores de p muy pequeños. En la presente tesis se observó una convergencia entre los métodos de Bonferroni y el de Permutaciones en las posibles asociaciones SNP-QTL con una tasa de falsos positivos de 10%, validando al marcador *solcap_snp_c1_13430* como asociado a un posible QTLs para el contenido de prolina por métodos independientes. Si bien el umbral de significancia planteado para mapeo asociativo fue fijado en valor p de 5×10^{-8} (International HapMap Consortium, 2005), dista mucho del observado para una tasa de falsos positivos del 10% por Bonferroni (2×10^{-5}), el carácter cuantitativo de la variación de los rasgos fenotípicos medidos en esta Tesis hace que umbrales de p valores muy

pequeños reduzcan notablemente el poder estadístico de detección de posibles QTLs asociados (aumento de falsos negativos). La imposibilidad de detectar asociaciones con $\alpha < 0.1$ se debería básicamente al bajo número de genotipos de papa evaluados, el carácter cuantitativo de los rasgos fenotípicos medidos y lo restrictivo de los métodos de corrección utilizados en el mapeo asociativo, como fue descrito por Purcell et al. (2003).

(v) Entender la biología de los rasgos fenotípicos evaluados y su posible asociación con regiones del genoma. Los marcadores moleculares tipo SNPs que mostraron una posible asociación con QTLs se cotejaron con el mapa cromosómico de la papa publicado por los desarrolladores de la plataforma Infinium 8303 (SolCap, http://solcap.msu.edu/potato_infinium.shtml, 20-01-2019) para determinar su locación y su posible función biológica. El SNP *solcap_snp_c1_13430* se encontró asociado al rasgo contenido de Prolina. Este SNP se encuentra en el cromosoma 1 de papa próximo a un gen que codifica la enzima 1,4-Alfa-Glucano-Maltohidrolasa. Según Oufir et al. (2008) dicha proteína se encontró asociada a respuestas al estrés por baja temperatura en papas de variedad Desiree. La 1,4-Alfa-Glucano-Maltohidrolasa es descrita con funciones amilasa (β -amilasa) y por poseer sitios de unión a iones. El marcador molecular *solcap_snp_c1_10750* también se asoció con el contenido de Prolina. A diferencia del marcador anterior, este segundo marcador SNP se localiza en el cromosoma 4 próximo a la región del ADN asociada con la enzima cicloartenol sintasa (CAS). Según Ginzberg et al. (2012) esta enzima se vincula con la síntesis de esteroides en papa (como el colesterol) que derivan en la producción de solaninas y chaconinas. Basyuni et al. (2009) asociaron a la enzima CAS como una respuesta ante estrés por salinidad. El estrés por salinidad induce respuestas similares al estrés hídrico (Monneveux et al. 2013).

El marcador molecular *solcap_snp_c2_12106* se asoció con el rasgo fenotípico consumo de agua. Dicho marcador se localizó en el cromosoma 1 próximo a la región de ADN asociada al dominio de proteína SPX. Según Duan et al (2008), este dominio SPX se encuentra en el extremo N-terminal de varias proteínas, particularmente proteínas de transducción de señales. Estos mismos autores señalaron que este dominio está asociado a la respuesta al estrés por deficiencia de fosfato.

Por último, el marcador *solcap_snp_c1_14992* se asoció con el rasgo “rendimiento”. Al cotejar la localización cromosómica del marcador se lo ubicó en el cromosoma 10 asociado a regiones cromosómicas sin función descrita. Al evaluar el posible efecto de cada SNP-QTLs significativamente asociado a los rasgos estudiados, debemos tener en cuenta la naturaleza genética del rasgo asociado como la distribución de las observaciones fenotípicas a fin de evitar errores de interpretación. Cuando se evaluaron los gráficos de frecuencias relativas de los BLUPs y los gráficos de manhattan, se evidenció la naturaleza cuantitativa de la variación en los rasgos fenotípicos medidos. En particular, el rasgo “rendimiento” sobresale por su tendencia a formar una distribución que tiende a ser normal simétrica, implicando que los valores BLUPs para este rasgo presentan una dispersión mayor al resto de las variables. Por ende, los posibles QTLs descritos en el trabajo de esta tesis tendrán efectos menores sobre la variación a variación fenotípica del rendimiento en genotipos sometidos a condiciones hídricas contrastantes. Es altamente probable que los QTLs detallados previamente estén involucrados en mecanismos bioquímicos o moleculares que involucren numerosos QTLs, como por ejemplo cascada de señales, regulación de la expresión génica, señalización celular, etc.

Es posible que los QTLs detectados en este trabajo de tesis actúen modificando la expresión de un gen involucrado en la variación fenotípica inducida por el estrés hídrico, y ese QTL se puede ubicar cerca (por ejemplo, el QTL es un promotor) o lejos del gen involucrado (el QTL es una región regulatoria en posición cis o trans). También debemos considerar lo observado en la Figura 16, donde se observa que las regiones donde se encuentran los SNPs asociados a la variación fenotípica inducida por estrés hídrico está bajo desequilibrio de ligamiento con regiones adyacentes de hasta 73 Kb que podrían contener en realidad el verdadero QTLs con una función diferente a la descrita en los resultados, por ejemplo: regulación en la expresión génica como fue mencionado.

(vi) La aplicación de los resultados observados en este trabajo de tesis en programadas de mejoramiento en papa para tolerancia a sequía. Los SNPs asociados a los posibles QTLs descritos muestran efectos sobre la variación fenotípica inducida por estrés hídrico acorde al rasgo evaluado, siendo de -0.16

$\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco para contenido de prolina, $0.03 \text{ mL} \times \text{h}^{-1}$ para consumo de agua y $17,97 \text{ Tn} \times \text{ha}^{-1}$ de rendimiento. Estos valores se interpretan como el desvío fenotípico inducido por estrés hídrico asociado a la presencia del marcador (Rosyara et al. 2016). Para un plan de mejoramiento genético para genotipos tolerantes a estrés hídrico, el efecto que aporta la presencia del SNPs asociado al rendimiento sería el más atractivo de los tres, dado que los genotipos que presenten el SNPs *solcap_snp_c1_14992* se asociarían con un incremento de $18 \text{ Tn} \times \text{ha}^{-1}$ respecto a la media obtenida a partir de regímenes hídricos contrastantes. Como fue descrito previamente, la prolina es un osmolito que cumpliría un rol indicador de los niveles de estrés incluyendo estrés hídrico. Los SNPs asociados al contenido de prolina serían seleccionados positivamente, dado que los genotipos que presenten los SNPs *solcap_snp_c1_13430* o *solcap_snp_c1_10750* se asociarían con una producción de $0.16 \mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ peso fresco menos que el promedio de los genotipos en regímenes hídricos contrastantes en los genotipos de papa pertenecientes al programa de mejoramiento genético del INTA Balcarce utilizados en esta tesis. El SNP asociado al consumo de agua no sería sujeto de selección en planes de mejoramiento para tolerancia a estrés hídrico por presentar un efecto cercano al 0. Sin embargo, se deben tomar los recaudos detallados en los apartados i, iii, iv y v a la hora de predecir los resultados por presencia de los QTLs en programas de mejoramiento genético de papa como así también validar los QTLs obtenidos (Bai et al. 2012) mediante cruzamientos de los genotipos parentales de papa contrastantes para la presencia del SNP con el objetivo de introgresar el posible QTL asociado al SNP. Sin embargo, esta técnica debe considerar la epistasis genética que podrían diluir el efecto del QTL, aunque la metodología de mapeo asociativo tiene en cuenta el efecto epistático al evaluar la significancia del QTL en diversos fondos genéticos

CONCLUSIONES GENERALES

Las hipótesis que dieron marco a esta tesis doctoral fueron:

1. La variabilidad genética presente en la población de papa tetraploide utilizada en este estudio permite la identificación de factores genéticos

asociados a la tolerancia a estrés por sequía, mediante el uso de técnicas de mapeo asociativo

2. El uso del mapeo asociativo mediante predictores insesgados de rasgos fenotipos asociados a la tolerancia a sequía permite la identificación de marcadores asociados a genes para tolerancia a estrés por sequía en variedades tetraploides de papa

Los resultados desarrollados a lo largo de esta tesis permiten no rechazar ninguna de las dos hipótesis. Al cumplir los objetivos del primer capítulo se verificó que la población del panel de papa perteneciente al Programa de Mejoramiento de Papa del INTA Balcarce mostró diversidad a nivel genético como a nivel fenotípico. Adicionalmente se pudo estructurar la diversidad presente en el panel de papa mediante aproximaciones Bayesianas basadas en marcadores moleculares tipo SNPs y rasgos fenotípicos de fácil medición, evidenciando cierto grado de correlación entre ambos análisis. Los fondos genéticos encontrados en el panel de papa perteneciente al Programa de Mejoramiento de Papa del INTA fueron capaces de establecer relaciones filogenéticas entre los genotipos de papa con múltiples orígenes geográficos. También se evidenció que la variabilidad en el germoplasma del Programa de Mejoramiento de Papa del INTA fue alta presentando valores promedio de heterocigosidad de 0.5.

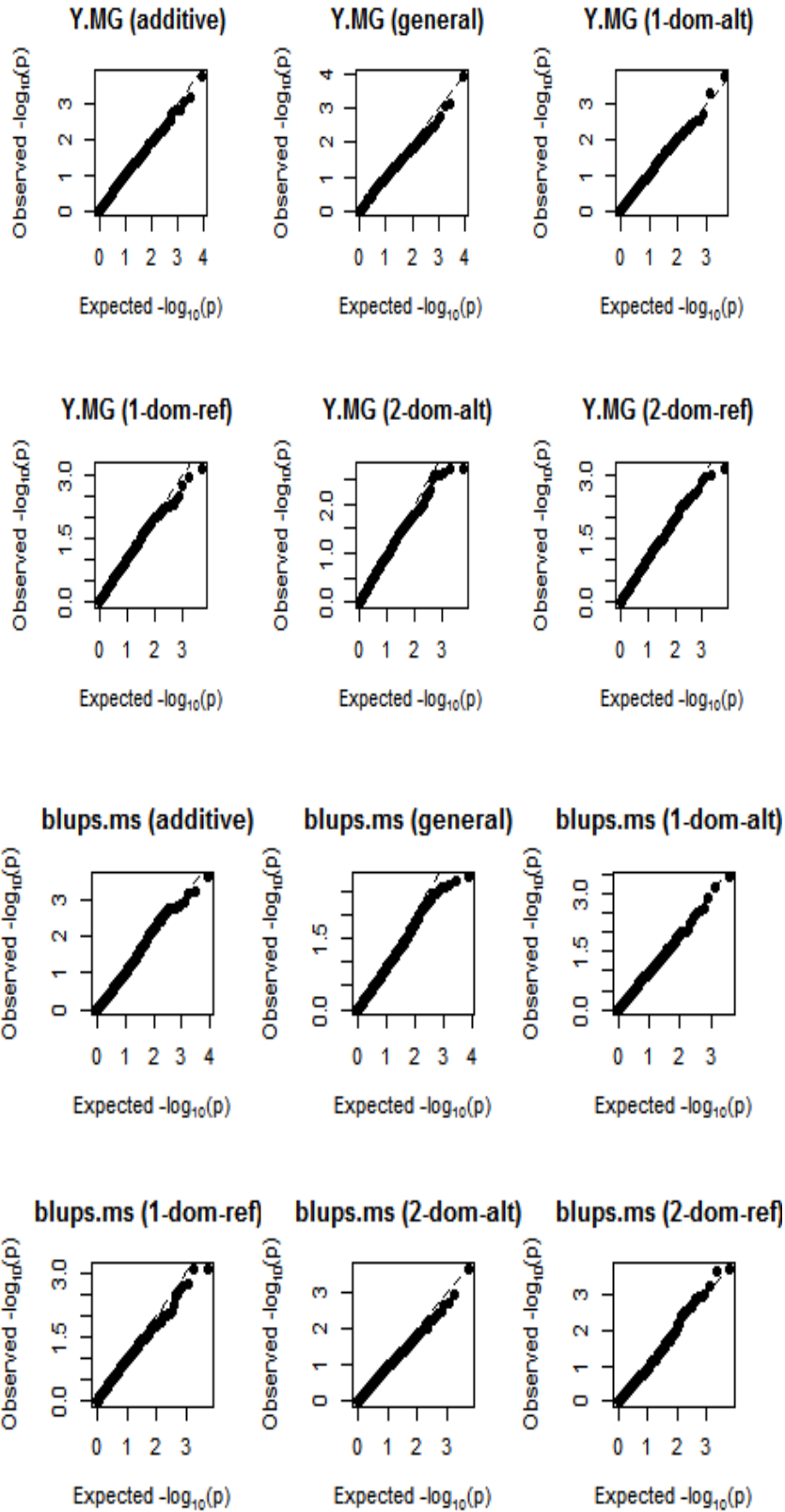
En el segundo capítulo se verificó que la selección de genotipos de papa para la tolerancia frente a sequía mediante predictores del tipo BLUPs es una estrategia adecuada para los rasgos fenotípicos seleccionados ya que mostraron una respuesta diferencial ante este estrés. Fue evidente que esta capacidad selectiva es más precisa cuando la presión por estrés hídrico no es alta. Adicionalmente se logró determinar que los grupos de papa determinados por sus características taxonómicas y su nivel de ploidía mostraron variabilidad en sus respuestas al estrés hídrico. Investigar las estrategias que presentan estos grupos de papa para tolerar el estrés hídrico se constituye como una línea de investigación promisorio.

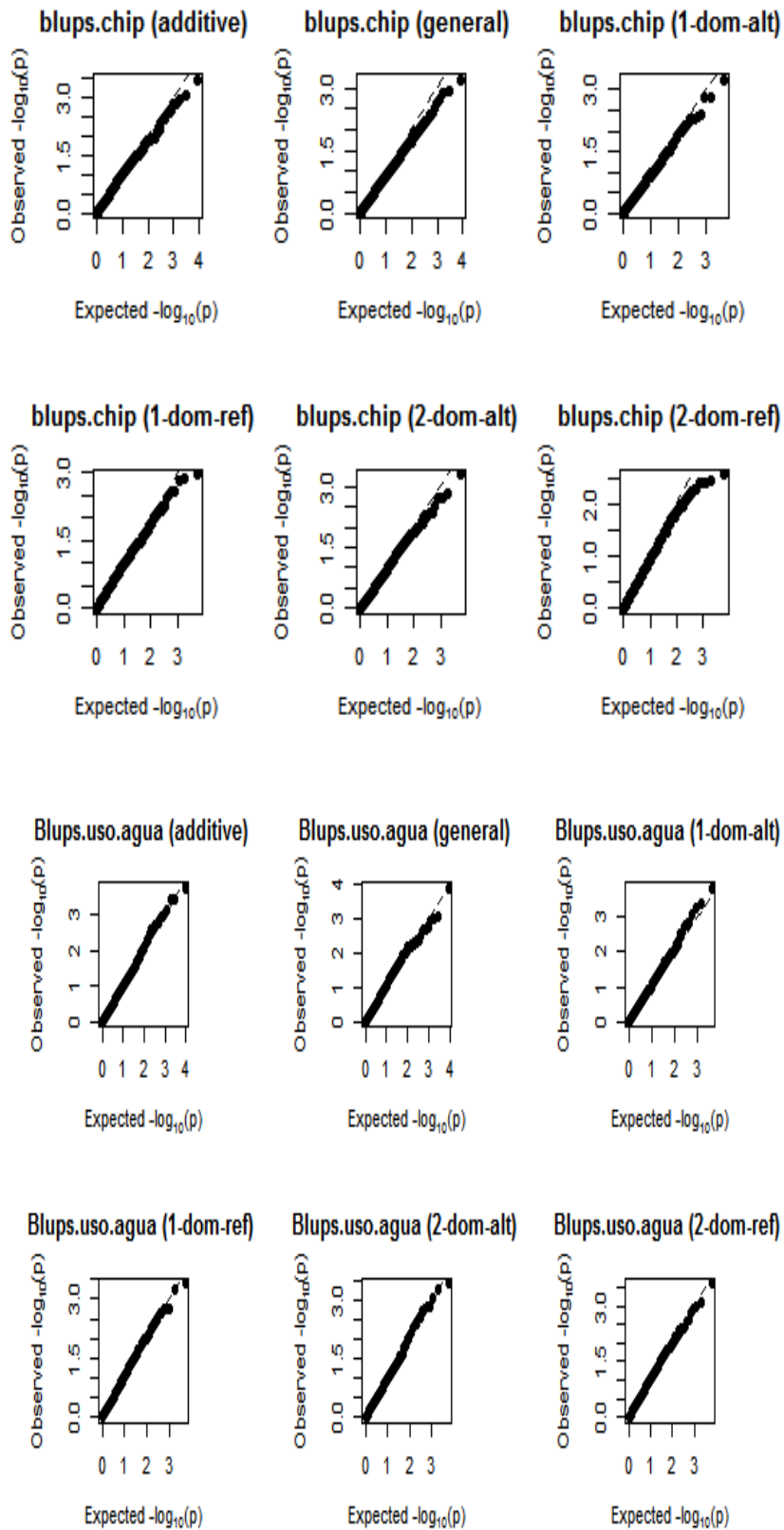
Por último, se logró determinar la presencia de desequilibrio de ligamiento en el genoma del panel de papa del Programa de Mejoramiento de Papa del INTA. Cada cromosoma presentó variabilidad en la cantidad de los bloques de

ligamiento, como también en los grados de asociación entre los marcadores SNPs. Se determinaron marcadores moleculares del tipo SNPs ligados a posibles QTLs con efecto en la variación fenotípica de los rasgos contenido de prolina, consumo de agua y rendimiento bajo estrés hídrico en el panel de papa del Programa de Mejoramiento de Papa del INTA. El efecto de estos posibles QTLs deben ser entendidos como efectos menores dentro de la variación cuantitativa de cada rasgo. Estudios de expresión génica y silenciamiento o inhibición de la función asociada a los posibles QTLs en plantas de papa sometidas a regímenes hídricos contrastantes sería una estrategia válida para dilucidar el verdadero efecto de los QTLs detectados sobre la tolerancia a estrés hídrico.

En el marco de un proyecto mayor de mejoramiento genético en papa para la tolerancia o resistencia a estreses bióticos y abióticos, esta tesis doctoral permitirá incorporar datos significativos para futuros programas de mejoramiento genético a desarrollar en INTA-Balcarce o en otros lugares. La presencia o ausencia de los QTLs aquí descritos podrán ser condición necesaria pero no suficiente para la pre-selección de genotipos de papa con posible tolerancia a estrés hídrico en programas de mejoramiento. Modificar la frecuencia de alelos favorables o desfavorables al principio del proceso de mejoramiento genético mediante la selección asistida por marcadores (MAS) es particularmente útil cuando el rasgo de interés está bajo un control genético complejo, o cuando los ensayos de campo no son confiables o altos costos.

Material Suplementario





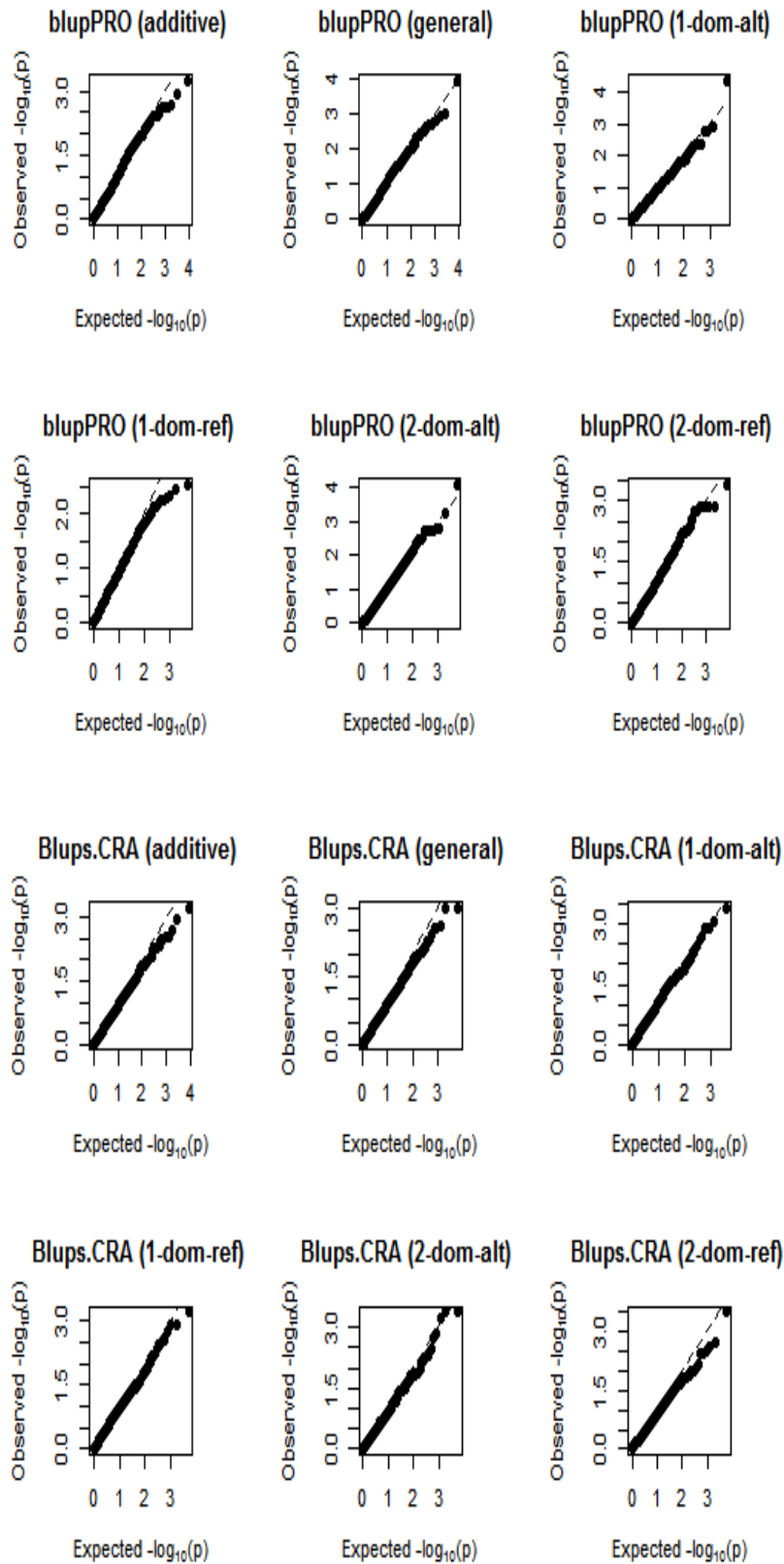


Figura Suplementaria 7: Grafico cuantil-cuantil (QQ plot) para cada rasgo fenotípico. Se evaluó el grado de inflación de los valores p respecto a la hipótesis nula mediante un gráfico cuantil-cuantil. Se grafica los valores $-\log_{10}(p)$ observados vs $-\log_{10}(p)$ esperados para cada

modelo genético (aditivo, general, dominante simple y dominante doble). La recta representada es $x=y$ bajo una distribución normal. Additive = aditivo, 1-dom-alt: modelo dominante simple $A<B$; 1-dom-ref: modelo dominante simple $A>B$; 2-dom-alt: modelo dominante doble $A<B$; 2-dom-ref: modelo dominante doble $A>B$. Y: rendimiento; MS: porcentaje de materia seca en tubérculo; chip: Aptitud para freír; uso.agua: Consumo de agua; PRO: concentración de Prolina; CRA: Contenido relativo de agua.

Bibliografía

- Barrett, J.C., B. Fry, J. Maller y M. J. Daly, 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. [PubMed ID: 15297300]
- Balzarini, M. 2002. 23 Applications of Mixed Models in Plant Breeding. *Quantitative genetics, genomics, and plant breeding*, 353.
- Balzarini, M. G., J. A. Di Rienzo, 2013. InfoGen. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. [<http://www.info-gen.com.ar>]
- Basyuni, M., S. Baba, M. Inafuku, H. Iwasaki, K. Kinjo y H. Oku, 2009. Expression of terpenoid synthase mRNA and terpenoid content in salt stressed mangrove. *Journal of plant physiology*, 166(16), 1786-1800.
- Bates, L. S., R. P. Waldren y I. D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207.
- Bedogni, M. C. y E. L. Camadro, 2009. Morphological and molecular evidence of natural interspecific hybridization in the diploid potato *Solanum Kurtzianum* from Argentina. *Can J of Bot.* 87:78-87.
- Benjamini, Y. y Y. Hochberg, 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, 57(1), 289-300.
- Bernardo, R. (2016). Bandwagons I, too, have known. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(12), 2323-2332.
- Bradshaw, J.E., C. A. Hackett, B. Pande, R. Waugh y G. J. Bryan, 2008. QTL mapping of yield, agronomic and quality traits in tetraploid potato (*Solanum Tuberosum* subsp. *tuberosum*). *Theor Appl Genet* 2008; 116:193-211.

- Bramardi, S.J., G. P. Bernet, M. J. Asíns y E. A. Carbonell, 2005. Simultaneous agronomic and molecular characterization of genotypes via the generalized Procrustes analysis. *Crop Sci.* 45:1603-9.
- Braz, G. T., L. He, H. Zhao, T. Zhang, K. Semrau, J. M. Rouillard, .. y J. Jiang, 2018. Comparative oligo-FISH mapping: an efficient and powerful methodology to reveal karyotypic and chromosomal evolution. *Genetics*, 208(2), 513-523. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.3>
- Boguszewska, D., M. Grudkowska, y B. Zagdańska, 2010. Drought-responsive antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato research*, 53(4), 373-382.
- Buckler, E.S. y J. M. Thornsberry, 2002. Plant molecular diversity and applications to genomics. *Curr Opin Plant Biol.*5:7-11.
- Bündig, C., T. H. Vu, P. Meise, S. Seddig, A. Schum y T. Winkelmann, 2017. Variability in osmotic stress tolerance of starch potato genotypes (*Solanum tuberosum* L.) as revealed by an in vitro screening: role of proline, osmotic adjustment and drought response in pot trials. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(3), 206-218.
- Bürling, K., Z. G. Cerovic, G. Cornic, J. M. Ducruet, G. Noga y M. Hunsche, 2013. Fluorescence-based sensing of drought-induced stress in the vegetative phase of four contrasting wheat genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 89, 51-59.
- Camadro, E. L., A. O. Mendiburu, 1988. Utilización de germoplasma en el mejoramiento de la papa. *Revista Latinoamericana Papa.*1:35-43.
- Cacace, J.E., M. A. Huarte y M.C. Monti, 1994. Evaluation of potato cooking: quality in Argentina. *Am Journal of Potato Research* 71:145–53.
- Cabello, R., F. De Mendiburu, M. Bonierbale, P. Monneveux, W. Roca y E. Chujoy, 2012. Large-scale evaluation of potato improved varieties, genetic stocks and landraces for drought tolerance. *American Journal of Potato Research*, 89(5), 400-410.
- Calispa, F., N. Chérrez, O. Encalada, K. Romoleroux, C. Valarezo y F. Valverde, 2000. Caracterización de los suelos, los ecosistemas y las cuencas hidrográficas.
- Carillo, P. y Y. Gibon, 2011. PROTOCOL: Extraction and determination of proline. *Protocols in Ecological and Environmental Plant Physiology. CSIRO, Australia.*

- Churchill, G. A. y R. W. Doerge, 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138(3), 963-971.
- Cotes, J.M. y C.E. Núñez, 2001. Propuesta para el Análisis de Diseños Aumentados en Fitomejoramiento: Un Caso en Papa. *Revista Latinoamericana Papa*.1:15–34
- Dalla Costa, L., G. Delle Vedove, G. Gianquinto, R. Giovanardi y A. Peressotti, 1997. Yield, water use efficiency and nitrogen uptake in potato: influence of drought stress. *Potato Research*, 40(1), 19-34.
- Deperi, S.I., M.C. Bedogni, S.C. Chinestra y S. Capezio, 2014. Base genética de genotipos de papa en relación al comportamiento frente a *Phytophthora infestans*. *Journal Basic Applied Genetic* 25:218.
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecol.*26:297-302.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada y Y. C Robledo, 2011. InfoStat versión 2011. *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*. URL <http://www.infostat.com.ar>, 8, 195-199.
- D' hoop, B. B., P. L. C. Keizer, M. J. Paulo, R. G. F. Visser, F. A. van Eeuwijk et al., 2014 Identification of agronomically important QTL in tetraploid potato cultivars using a marker-trait association analysis. *Theor. Appl. Genet.* 127: 731–748. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2254-y>
- D' hoop, B.B., M.J. Paulo, K. Kowitwanich, M. Sengers, R.G. Visser, H.J. van Eck y F.A. van Eeuwijk, 2010. Population structure and linkage disequilibrium unrevealed in tetraploid potato. *Theoretical and Applied Genetic*121:1151-70.
- D' hoop, B.B., M.J. Paulo, R.A. Mank, H.J. Van Eck y F.A. Van Eeuwijk, 2008. Association mapping of quality traits in potato (*Solanum Tuberosum* L.). *Euphytica*. 161:47-60.
- Duan, K., K. Yi, L. Dang, H. Huang, W. Wu y P. Wu, 2008. Characterization of a sub-family of Arabidopsis genes with the SPX domain reveals their diverse functions in plant tolerance to phosphorus starvation. *The Plant Journal*, 54(6), 965-975.
- Evanno, G, S. Regnaut y J. Goudet, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*14:2611-20.

- Evers, D., I. Lefevre, S. Legay, D. Lamoureux, J. F. Hausman, R. O. G. Rosales, ... & R. Schafleitner, 2010. Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach. *Journal of Experimental Botany*, 61(9), 2327-2343.
- Federer, W.T., 1961. Augmented designs with one-way elimination of heterogeneity. *Biometrics*. 17:447–73.
- Felcher, K.J., J.J. Coombs, A.N. Massa, C.N. Hansey, J.P. Hamilton, R.E. Veilleux, C.R. Buell y D.S. Douches, 2012. Integration of two diploid potato linkage maps with the potato genome sequence. *PLoS One*. 7:e36347.
- Fischer, M., L. Schreiber, T. Colby, M. Kuckenberger, E. Tacke et al., 2013 Novel candidate genes influencing natural variation in potato tuber cold sweetening identified by comparative proteomics and association mapping. *BMC Plant Biol.* 13: 113. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-113>
- Flint-Garcia, S. A., J. M. Thornsberry y B. IV, 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual review of plant biology*, 54(1), 357-374.
- Gabriel, S. B., S. F. Schaffner, H. Nguyen, J. M. Moore, J. Roy, B. Blumenstiel, y S. N. Liu-Cordero, 2002. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 296, 2225–2229.
- Gebhardt, C., A. Ballvora, B. Walkemeier, P. Oberhagemann y K. Schüller, 2004. Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Mol. Breed.* 13: 93-102.
- Glaszmann, J.C., B. Kilian, H.D. Upadhyaya y R.K. Varshney, 2010. Accessing genetic diversity for crop improvement. *Curr Opin Plant Biol.* 13:167-73.
- Ginzberg, I., M. Thippeswamy, E. Fogelman, U. Demirel, , A. M. Mweetwa, J. Tokuhisa y R. E. Veilleux, 2012. Induction of potato steroidal glycoalkaloid biosynthetic pathway by overexpression of cDNA encoding primary metabolism HMG-CoA reductase and squalene synthase. *Planta*, 235(6), 1341-1353.
- Gower, J.C., 1975. Generalized procrustes analysis. *Psychometrika*. 40:33-51.

- Guenther, J.F., 2010. Past, present and future of world potato markets: an overview. *Potato J.* 37:1-8.
- Hackett, C. A., K. McLean y G.J. Bryan, 2013. Linkage analysis and QTL mapping using SNP dosage data in a tetraploid potato mapping population. *PLoS One.* 8:5.
- Hamrick, J. L. y M.J.W. Godt, 1997. Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Sci.* 37:26-30.
- Hamilton, J.P., C.N. Hansey, B.R. Whitty, K. Stoffel, A.N. Massa, A. Van Deynze, W.S. De Jong, D.S. Douches y C.R. Buell, 2011. Single nucleotide polymorphism discovery in elite north American potato germplasm. *BMC Genomics.* 12:1.
- Hawkes, J. G., 1992. History of the potato. In: Harris PM, editor. *The potato crop: the scientific basis for Improvement.* 2nd edition. London: Chapman and Hill; p. 1-13.
- Hedrick, P.W., 1987. Gametic disequilibrium measures: proceed with caution. *Genetics.* 117: 331-341.
- Hijmans, R. J., 2003. The effect of climate change on global potato production. *American journal of potato research*, 80(4), 271-279.
- Hijmans, R.J., D.M. Spooner, A.R. Salas, L. Guarino y J. de la Cruz, 2002. *Atlas of wild potatoes.* Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI); p. 143.
- Hirsch, C.N., C.D. Hirsch, K. Felcher, J. Coombs, D. Zarka, A. Van Deynze, W. De Jong, R.E. Veilleux, S. Jansky, P. Bethke y D.S. Douches, 2013. Retrospective view of north American potato (*Solanum Tuberosum* L.) breeding in the 20th and 21st centuries. *G3: genes| genomes|.* *Genetics.* 3:1003-13.
- Holland J.B. 2007. Genetic architecture of complex traits in plants. *Current Opinion in Plant Biology.* 10:156-161.
- Huarte, M.A., A.O. Mendiburu y H.A. Mendoza, 1994. La colaboración INTA-CIP: un modelo de aplicación general. Circular CIP. 20
- Hummel, I., F. Pantin, R. Sulpice, M. Piques, G. Rolland, M. Dauzat y Y. Gibon, 2010. *Arabidopsis thaliana* plants acclimate to water deficit at low cost through changes of C usage; an integrated perspective using growth, metabolite, enzyme and gene expression analysis. *Plant physiology*, pp-110.

- Irigoyen, J. J., D. W. Einerich y M. Sánchez-Díaz, 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1), 55-60.
- Janssen, G. J. W., A. Van Norel, B. Verkerk-Bakker, R. Janssen y J. Hoogendoorn, 1997. Introgression of resistance to root-knot nematodes from wild Central American *Solanum* species into *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(3), 490-496.
- Jombart T., S. Devillard y F. Balloux 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*. 11:94.
- Kelly, A.M., A.B. Smith, J.A. Eccleston y B.R. Cullis, 2007. The Accuracy of Varietal Selection Using Factor Analytic Models for Multi-Environment Plant Breeding Trials. *Crop Science* 47, 1063-1070.
- Kloosterman, B., M. Oortwijn, J. Uitdewilligen, T. America, R. de Vos et al., 2010 From QTL to candidate gene: Genetical genomics of simple and complex traits in potato using a pooling strategy. *BMC Genomics* 11: 158. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-158>
- Knipp, G. y B. Honermeier, 2006. Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 392-397.
- Kraakman A. T. W., R. E. Niks, P. M. M. Van den Berg, P. Stam y F. A. Van Eeuwijk, 2004. Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*. 168: 435–446.
- Lahlou, O., S. Ouattar y J. F. Ledent, 2003. The effect of drought and cultivar on growth parameters, yield and yield components of potato. *Agronomie*, 23(3), 257-268.
- Levy, D., 1983. Varietal differences in the response of potatoes to repeated short periods of water stress in hot climates. 2. Tuber yield and dry matter accumulation and other tuber properties. *Potato Research*, 26(4), 315-321.
- Li, L, M.J. Paulo, J. Strahwald, J. Lübeck, H.R. Hofferbert, et al., 2008. Natural DNA variation at candidate loci is associated with potato chip color, tuber starch content, yield, and starch yield. *Theoretical and Applied Genetics*. 116:1167–81.
- Lindqvist-Kreuze, H., M. Gastelo, W. Perez, G. A. Forbes, D. de Koeyer et al., 2014 Phenotypic Stability and Genome-Wide Association Study of Late Blight Resistance in Potato Genotypes

Adapted to the Tropical Highlands. *Phytopathology* 104: 624–633. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-13-0270-R>

Liu, F., A. Shahnazari, M. Andersen, S. E. Jacobsen y C. R. Jensen, 2006. Effects of deficit irrigation (DI) and partial root drying (PRD) on gas exchange, biomass partitioning, and water use efficiency in potato. *Scientia Horticulturae*, 109(2), 113-117.

Love, S.L., 1999. Founding clones, major contributing ancestors, and exotic progenitors of prominent North American potato cultivars. *American Journal of Potato Research* 76:263-72.

Lynch, D. R., N. Foroud, G. C. Kozub y B. C. Fames, 1995. The effect of moisture stress at three growth stages on the yield, components of yield and processing quality of eight potato varieties. *American Potato Journal*, 72(6), 375-385.

Maccaferri, M., M. C. Sanguineti, E. Noli y R. Tuberosa, 2005. Population structure and long-range linkage disequilibrium in a durum wheat elite collection. *Molecular Breeding*, 15(3), 271-290.

McGregor, I. y D. Vreugdenhil, 2007. *The fresh potato market, Potato biology and biotechnology: advances and perspectives*. Oxford, UK: Elsevier.

Mendoza, H.A. y F.L. Haynes, 1974. Genetic relationship among potato cultivars grown in the United States. *Hortscience*. 9:328-30.

Monneveux, P., D. A. Ramírez y M. T. Pino, 2013. Drought tolerance in potato (*S. tuberosum* L.): can we learn from drought tolerance research in cereals?. *Plant Science*, 205, 76-86.

Mould, R. D. y R. J. Rutherford, 1980. The effect of moisture stress during consecutive growth stages on tuber yield and quality of BP1 potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Crop Production*, 9, 89-92.

Myles, S., Peiffer, J., Brown, P., Ersoz, E., Zhang, Z., Costich, D., and Buckler, E. 2009. Association Mapping: Critical Considerations Shift from Genotyping Experimental Design. *Plant Cell*. 21: 2194-2202.

Nei, M., 1975. *Molecular population genetics and evolution*. Amsterdam: North-Holland Publishing Co.

Nordborg, M. y S. Tavaré, 2002. Linkage disequilibrium: what history has to tell us. *TRENDS in Genetics*, 18(2), 83-90.

- Oraguzie, N. C. y P. L. Wilcox, 2007. An overview of association mapping. In Association mapping in plants (pp. 1-9). Springer, New York, NY.
- Oufir, M., S. Legay, N. Nicot, K. Van Moer, L. Hoffmann, J. Renaut y D. Evers, 2008. Gene expression in potato during cold exposure: changes in carbohydrate and polyamine metabolisms. *Plant Science*, 175(6), 839-852.
- Passiura, J. B., 2002. Environmental biology and crop improvement. *Functional Plant Biology*, 29(5), 537-546.
- Patterson, N., A. L. Price y D. Reich, 2006. Population structure and eigenanalysis. *PLoS genetics*, 2(12), e190.
- Pavek, J.J. y D.L. Corsini, 2001. Utilization of potato genetic resources in variety development. *American Journal of Potato Research*. 78:433-41.
- Pearse, D.E. y K.A. Crandall. 2004. Beyond FST: analysis of population genetic data for conservation. *Conservation Genetic* 5:585-602.
- Petit, J. R., J. Jouzel, D. Raynaud, N. I. Barkov, J. M. Barnola, I. Basile y M. Delmotte, 1999. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*, 399(6735), 429.
- Peloquin, S. J., Boiteux, L. S., Simon, P. W., & Jansky, S. H. (2008). A chromosome-specific estimate of transmission of heterozygosity by 2 n gametes in potato. *Journal of Heredity* 99 (2), 177-181.
- Pritchard, J.K. y N.A. Rosenberg, 1999. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. *American Journal Human Genetic*. 65:220-8.
- Pritchard, J.K., M. Stephens y P. Donnelly, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155:945-59.
- Prichard, J.K., X. Wen y D. Falush, 2010. Documentation for Structure software: Version 2.3. Chicago: University of Chicago, p.39. Available: <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>.
- Prim, R.C., 1957. Shortest connection networks and some generalizations. *Bell System Technical Journal* 36:1389-1401.

- Purcell, S., S. S. Cherny, P. C. Sham, 2003. Genetic Power Calculator: design of linkage and association genetic mapping studies of complex traits. *Bioinformatics*, 19 (1), 149-150.
- Quiros, C.F., R. Ortega, L. Van Raamsdonk, M. Herrera-Montoya, P. Cisneros, E. Schmidt, S.B. Brush, 1992. Increase of potato genetic resources in their center of diversity: the role of natural outcrossing and selection by the Andean farmer. *Genetic Resource Crop Evolution* 39:107-13.
- Raboin, L. M., J. Pauquet, M. Butterfield, A. D'Hont, y J. C. Glaszmann, 2008. Analysis of genome-wide linkage disequilibrium in the highly polyploid sugarcane. *Theoretical and Applied Genetics*, 116(5), 701-714.
- Ramasamy, R.K., S. Ramasamy, B.B. Bindroo y V.G. Naik, 2014. STRUCTUREPLOT. A program for drawing elegant STRUCTURE bar plots in user friendly interface. *SpringerPlus*. 13:431.
- Risch, N. y K. Merikangas, 1996. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 273(5281), 1516-1517.
- Remington, D. L., J. M. Thornsberry, Y. Matsuoka, L. M. Wilson, S. R. Whitt, J. Doebley y E. Buckler, 2001. Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(20), 11479-11484.
- Rosyara, U.R., W.S. De Jong, D.S. Douches y J.B. Endelman, 2016. Software for genomewide association studies in autopolyploids and its application to potato. *Plant Genome*; doi:<https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.08.0073>.
- Roussel, V, J. Koenig, M. Beckert, F. Balfourier, 2004. Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programs. *Theoretical. Applied Genetic*. 108:920-30.
- Saraçlı, S., N. Doğan y İ. Doğan, 2013. Comparison of hierarchical cluster analysis methods by cophenetic correlation. *Journal of Inequalities and Applications* 1:203.
- Schafleitner, R., R. O. G. Rosales, A. Gaudin, C. A. A. Aliaga, G. N. Martinez, L. R. T Marca y M. Bonierbale, 2007. Capturing candidate drought tolerance traits in two native Andean potato clones by transcription profiling of field grown plants under water stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(9), 673-690.
- Schmitz Carley, C. A., J. J. Coombs, D. S. Douches, P. C. Bethke, J. P. Palta et al., 2017 Automated tetraploid genotype calling by hierarchical clustering. *Theor. Appl. Genet.* 130: 717–726. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2845-5>

- Schönhals, E., F. Ortega, L. Barandalla, A. Aragones, J. I. R. de Galarreta et al., 2016 Identification and reproducibility of diagnostic DNA markers for tuber starch and yield optimization in a novel association mapping population of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 129: 767–785. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2665-7>
- Sharma, S.K., D. Bolser, J. de Boer, M. Sonderkaer, W. Amoros, M.F. Carboni, et al. 2013. Construction of reference chromosome-scale pseudomolecules for potato: integrating the potato genome with genetic and physical maps. *G3*. 3(11);2031–2047. pmid:24062527.
- Sharma, S. K., K. MacKenzie, K. McLean, F. Dale, S. Daniels, y G. J. Bryan, 2018. Linkage Disequilibrium and Evaluation of Genome-Wide Association Mapping Models in Tetraploid Potato. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8(10), 3185-3202
- Shaw, B., T. H. Thomas y D. T. Cooke, 2002. Responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress. *Plant Growth Regulation*, 37(1), 77-83.
- Shi, S., M. Fan, K. Iwama, F. Li, Z. Zhang y L. Jia, 2015. Physiological basis of drought tolerance in potato grown under long-term water deficiency. *International Journal of Plant Production* 9(2).
- Shock, C. C., A. B. Pereira y E. P. Eldredge, 2007. Irrigation best management practices for potato. *American Journal of Potato Research*, 84(1), 29-37.
- Shock, C. C., Z. A. Holmes, T. D. Stieber, E. P. Eldredge y P. Zhang, 1993. The effect of timed water stress on quality, total solids and reducing sugar content of potatoes. *American Potato Journal*, 70(3), 227-241.
- Silhavy, D., G. Hutvágner, E. Barta y Z. Bánfalvi, 1995. Isolation and characterization of a water-stress-inducible cDNA clone from *Solanum chacoense*. *Plant molecular biology*, 27(3), 587-595.
- Simko, I. 2004. One potato, two potato: haplotype association mapping in autotetraploids. *Trends Plant Science* 9:441-8.
- Simko, I, K.G. Haynes y R.W. Jones. 2006. Assessment of linkage disequilibrium in potato genome with single nucleotide polymorphism markers. *Genetics* 173:2237-45.
- Singh, S.P., J.A. Gutierrez, A. Molina, C. Urrea y P. Gepts, 1991. Genetic diversity in cultivated common bean: II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Science* 31:23-9.

- Smith, A. B., B. R. Cullis y R. Thompson, 2005. The analysis of crop cultivar breeding and evaluation trials: an overview of current mixed model approaches. *Theoretical Journal of Agriculture Science* 143(6), 449-462.
- Srivastava, A., V. Bhardwaj, B. P. Singh y S. P. Khurana, 2016. Potato diversity and its genetic enhancement. In *Gene Pool Diversity and Crop Improvement* (pp. 187-226). Springer, Cham.
- Stich, B., C. Urbany, P. Hoffmann, and C. Gebhardt, 2013 Population structure and linkage disequilibrium in diploid and tetraploid potato revealed by genome-wide high-density genotyping using the SolCAP SNP array. *Plant Breed.* 132: 718–724. <https://doi.org/10.1111/pbr.12102>
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Teixeira, J. y S. Pereira, 2007. High salinity and drought act on an organ-dependent manner on potato glutamine synthetase expression and accumulation. *Environmental and Experimental Botany*, 60(1), 121-126.
- Tenaillon, M. I., M. C. Sawkins, A. D. Long, R. L. Gaut, J. F. Doebley y B. S. Gaut, 2001. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *Mays* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(16), 9161-9166.
- Ticona-Benavente, C. A. y D. F. da Silva Filho, 2015. Comparison of BLUE and BLUP/REML in the selection of clones and families of potato (*Solanum tuberosum*). *Genetics Molecular Research* 14(4), 18421-18430.
- Thornton, M. K. 2002. Effects of heat and water stress on the physiology of potatoes. In *Idaho Potato Conference*, Idaho.
- Tourneux, C., A. Devaux, M. Camacho, P. Mamani y J. F. Ledent, 2003. Effect of water shortage on six potato genotypes in the highlands of Bolivia (II): water relations, physiological parameters. *Agronomie*, 23(2), 181-190.
- Uitdewilligen, J.G.A.M.L., M.A. Wolters, B.B. D' hoop, T.J.A. Borm, R.G.F. Visser, et al., 2013. A next-generation sequencing method for genotyping-by-sequencing of highly heterozygous Autotetraploid potato. *PLoS One.* 8(5):e62355. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062355>.
- van Eck, H. J., P. G. Vos, J. P. T. Valkonen, J. Uitdewilligen, H. Lensing et al., 2017 Graphical genotyping as a method to map *Ny ((o,n)sto)* and *Gpa5* using a reference panel of tetraploid

- potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 130: 515–528. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2831-y>
- Van Loon, C. D. 1981. The effect of water stress on potato growth, development, and yield. *American Potato Journal*, 58(1), 51-69.
- Vos, P. G., M. J. Paulo, R. E. Voorrips, R. G. Visser, H. J. van Eck y F. A. van Eeuwijk, (2017). Evaluation of LD decay and various LD-decay estimators in simulated and SNP-array data of tetraploid potato. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(1), 123-135.
- Voorrips, R. E., G. Gort, and B. Vosman, 2011 Genotype calling in tetraploid species from bi-allelic marker data using mixture models. *BMC Bioinformatics* 12: 172. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-172>
- Weisz, R., J. Kaminski y Z. Smilowitz, 1994. Water deficit effects on potato leaf growth and transpiration: utilizing fraction extractable soil water for comparison with other crops. *American Potato Journal*, 71(12), 829-840.
- Williams C.E. y D.A. St Clair. 1993. Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon Esculentum*. *Genome*.36:619-30.
- Yancey, P. H. 2005. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology*, 208(15), 2819-2830.
- Yang J., B. Benyamin, B.P. McEvoy, S. Gordon, A.K. Henders, D.R. Nyholt, P.A. Madden, A.C. Heath, N.G. Martin, G.W. Montgomery, M.E. Goddard y P.M. Visscher, 2010. Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. *Nat Genet.* 2010 Jul;42(7):565-9.
- Yu, J. y E. S. Buckler, 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current opinion in biotechnology*, 17(2), 155-160.
- Zhao, K., C. W. Tung, G. C. Eizenga, M. H. Wright, M. L. Ali et al., 2011 Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nat. Commun.* 2: 467. <https://doi.org/10.1038/ncomms1467>
- Zhu, C., M. Gore, E. S. Buckler y J. Yu, 2008. Status and prospects of association mapping in plants. *The plant genome*, 1(1), 5-20.

