

# Conservación *ex situ* de variedades de papas nativas. Caso de estudio de la variedad 'Collareja' del noroeste de la Argentina

ATENCIO, H.M.<sup>1</sup>; ISPIZÚA, N.V.<sup>2</sup>; FEINGOLD, S.<sup>3</sup>; CLAUSEN, A.M.<sup>1,2</sup>

## RESUMEN

La papa andina nativa *Solanum tuberosum* Grupo Andigenum ha sido cultivada durante milenios en los Andes del noroeste de Argentina. Las variedades nativas de papa poseen una gran diversidad de formas y colores de sus tubérculos. Una de las variedades de más amplia distribución en el NOA es la variedad 'Collareja'. En el Banco Activo de Germoplasma de la EEA Balcarce (INTA) (BAL) se conservan accesiones de 'Collareja', muestreadas en diferentes departamentos y localidades de Jujuy. En este estudio se examinó la variabilidad genética de las accesiones de la variedad 'Collareja' conservadas en el BAL y, en paralelo se evaluó morfológica y molecularmente una muestra de 'Collareja' proveniente de una parcela de un agricultor andino. La variabilidad fue examinada usando descriptores morfológicos y cuatro *Simple Sequence Repeats* (SSRs). La distribución espacial de los marcadores fenotípicos y moleculares fue calculada con técnicas estadísticas multivariadas, y se estimaron los Índice de Contenido Polimórfico (PIC) para cada SSR. Los resultados revelaron variabilidad a nivel morfológico y genómico en los tubérculos de la muestra de 'Collareja' del campo del agricultor. Las accesiones de 'Collareja' del BAL también mostraron variabilidad molecular, pero diferencial respecto a la estimada en el campo del agricultor, y con mayor polimorfismo de acuerdo a los valores PIC. Con estos resultados preliminares discutimos respecto de la variabilidad morfológica y molecular encontrada, su posible impacto sobre el muestreo del germoplasma, y las estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* sobre las variedades andinas de papa en general y de 'Collareja' en particular.

**Palabras clave:** *Solanum tuberosum* Grupo Andigenum, cultivos tradicionales, conservación *in situ* y *ex situ*, microsatélites.

## ABSTRACT

*The native Andean potato Solanum tuberosum Group Andigenum, it has been cultivated for millennia in the Northwest Andes of Argentina. The native potato varieties have a large diversity of shapes and colors of their tubers. One of the most widely distributed varieties in the NOA is the variety Collareja. In the Active Bank of*

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Sur, Estación Experimental Agropecuaria (EEA), Balcarce, Banco Activo de Germoplasma, Ruta 226 km 73,5 (7620) Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: atencio.hugo@inta.gov.ar

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP), Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Cátedra de Botánica Agrícola. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro Regional Buenos Aires Sur, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Balcarce, Laboratorio de Agrobiotecnología, Ruta 226, km 73,5 (7620), Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Recibido 01 de septiembre de 2017 // Aceptado 21 de noviembre de 2018 // Publicado online 02 de octubre de 2019

*Germplasm of the EEA Balcarce - INTA (BAL) accessions of variety 'Collareja' are conserved, sampled from different departments and localities of Jujuy. In this study, the genetic variability of the accessions of the 'Collareja' variety conserved in the BAL was examined, while in parallel, a sample of 'Collareja' from an Andean farmer's field was evaluated morphologically and molecularly. The variability was examined with morphological descriptors and four Simple Sequence Repeat (SSRs). The spatial distribution of the phenotypic and molecular markers was calculated with multivariate statistical techniques, and the Polymorphic Index Content (PIC) was estimated for each SSR. The results revealed variability at the morphological and genomic level in the tubers of the 'Collareja' sample of the farmer's field. The accessions of 'Collareja' of the BAL also showed molecular variability, but differential with regard to that estimated in the farmer's field and with higher polymorphism according to the PIC values. With these preliminary results we discussed the morphological and molecular variability found, its possible impact on germplasm sampling, and ex situ and in situ conservation strategies on Andean potato varieties in general and 'Collareja' in particular.*

**Keywords:** *Solanum tuberosum* Group Andigenum, traditional farming, in situ and ex situ conservation, microsatellites.

## INTRODUCCIÓN

La papa es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y el principal producto no cerealero para consumo humano. Las variedades de papas andinas se distribuyen desde el sur de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia hasta el noroeste de Argentina (Hawkes, 1990). En la Argentina se cultivan principalmente en las provincias de Jujuy, Salta, Catamarca, y ocasionalmente en Tucumán (Okada, 1979; Clausen *et al.*, 2010), en los valles y quebradas andinas de la Puna y Prepuna, entre los 2300 y 4300 m de altitud (Hawkes, 1990; Clausen, 2005). Las papas andinas son una fuente importante de genes que confieren resistencia a plagas y enfermedades que afectan al cultivo de la papa. Numerosos trabajos han sido realizados para evaluar la resistencia a hongos, bacterias, virus, nemátodos, insectos y estreses ambientales (Suárez *et al.*, 2009; Pelletier *et al.*, 2011; Litmanseva *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2016; Tordable *et al.*, 2018), además se ha evaluado la variabilidad para caracteres de interés agronómico tales como la calidad de papas fritas, alto contenido de sólidos, hierro, zinc y compuestos antioxidantes. (Monti *et al.*, 2010; Akyol *et al.*, 2016; Ayvaz *et al.*, 2016; Colman *et al.*, 2017; Valiñas *et al.*, 2017; Monte *et al.*, 2018).

*Solanum tuberosum* Grupo Andigenum es una papa nativa que posee una gran diversidad en las características morfológicas de las plantas, incluyendo formas y colores en tubérculos y flores (Hawkes, 1990). Una de las variedades de más amplia distribución en el NOA de la Argentina es la 'Collareja', que exhibe una alta variabilidad morfológica, bioquímica y molecular (Huarte *et al.*, 1991; Clausen, 2010). Los agricultores del NOA mantienen altos niveles de variabilidad morfológica en sus cultivos, a pesar de que estos se encuentran bajo una fuerte presión antrópica y ambiental (Clausen *et al.*, 2005).

En el Banco Activo de Germoplasma de la EEA Balcarce, INTA (BAL), se conserva *ex situ* desde hace unos 40

años una colección de variedades andinas de papas del NOA que incluye más de 400 accesiones de papas nativas, que representan más de 40 variedades diferentes y que proceden de distintos lugares de colecta. Cerca de la mitad de las accesiones conservadas en el Banco BAL son representadas por la variedad 'Collareja', con sus sinónimos 'Chorcocoyeña' y 'Churqueña', procedentes de diferentes sitios de la provincia de Jujuy.

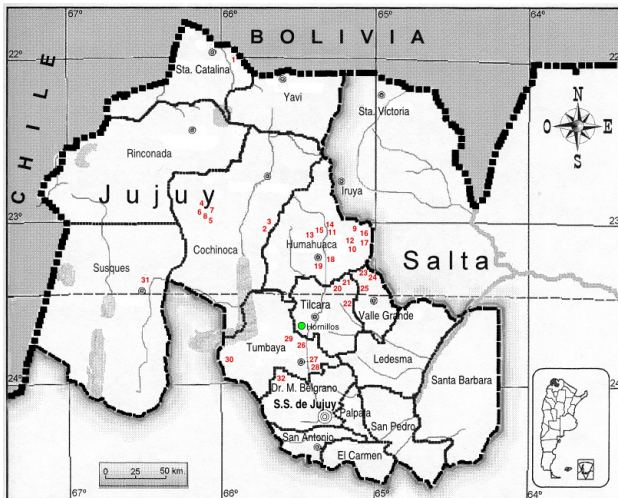
Hasta el momento no ha sido evaluada la variabilidad genética y morfológica de las variedades de papas nativas, tanto en la región donde se distribuyen como en las parcelas de los productores individuales. En el presente trabajo proponemos explorar la diversidad presente en la variedad 'Collareja' mantenida en el Banco BAL y comparar los resultados con muestras de 'Collareja' provenientes de un productor andino, por lo que se plantean los siguientes objetivos: (1) describir la variabilidad morfológica de la variedad 'Collareja' cultivada en la parcela de un productor; (2) analizar la variabilidad molecular de 'Collareja' cultivada en el campo de un agricultor andino; (3) analizar la variabilidad molecular presente en 'Collareja' de las accesiones conservadas en el Banco BAL procedentes de la provincia de Jujuy; (4) realizar propuestas para mejorar la representatividad de la variabilidad en el Banco BAL.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Por un lado, se trabajó con material vegetal proveniente del campo de un agricultor andino, situado en la localidad de Hornillos, provincia de Jujuy. Para esto, se muestrearon al azar 24 tubérculos de la variedad 'Collareja' del campo, T1 al T24, que constituye la Muestra del productor (figura 1). Los tubérculos obtenidos a campo fueron cultivados en cámara antiáfidos, en campo experimental de la Unidad Integrada Balcarce, hasta la etapa de floración.

Por otro lado, se trabajó con material mantenido en el Banco Activo de Germoplasma. Para esto se seleccionaron 32 accesiones de 'Collareja' *in vitro*, mantenidas a 10 °C con fotoperiodo 16/8 luz/oscuridad (tabla 1). Las accesiones fueron identificadas como 'Collareja' y 'Collareja redonda', de acuerdo a si presentaron morfología oblonga o redonda, respectivamente, la que se denominará Colección de germoplasma.



**Figura 1.** Procedencia de las 32 accesiones de 'Collareja' mantenidas en el BAL que son detalladas en la tabla 2 (la entrada 31 corresponde a la variedad Yaguana). El círculo verde corresponde a la Localidad de Hornillos donde se muestrearon los tubérculos de la variedad 'Collareja' del productor andino. Elaborado para la presente edición.

### Extracción y amplificación de ADN

Para el aislamiento de ADN desde los materiales del productor andino, se obtuvieron hojas jóvenes de las 24 plantas cultivadas en cámara antiáfidos, en tanto el material del BAL se obtuvo a partir de hojuelas de 32 plántulas mantenidas *in vitro*. Como grupo externo se eligió la variedad 'Yaguana', variedad nativa andina con morfología y coloración diferente a 'Collareja'.

Para la extracción se empleó el método de Haymes (1996) con algunas modificaciones. La concentración de ADN fue cuantificada espectrofotométricamente a 260 nm, y la calidad inferida de la relación 260 nm/280 nm. Se seleccionaron cuatro marcadores microsátélites o *Simple Sequence Repeats* (SSRs) (Stm2005, Stm1104, Sti012 y Sti014) a partir de un kit de identidad genética para papas robustos y altamente informativos (Ghislain *et al.*, 2009). Cada reacción de amplificación contenía: 10 ng de templado de ADN, 0.25 unidades de *Taq* DNA Polymerase (Platinum® *Taq* DNA Polymerase, Invitrogen), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1X Buffer Polymerase, mezcla de 0.2 mM dNTPs, 0.2 uM de cada cebador (Invitrogen). Las condiciones de amplificación y de electroforesis en gel de poliacrilamida son las descriptas en Atencio (2011).

### Análisis de datos morfológicos

Se registraron 62 caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos, tanto cualitativos como cuantitativos, siguiendo la metodología propuesta por Gomez, (2000) (tabla 2). De los datos morfológicos cualitativos y cuantitativos generados, se construyó una matriz de similitud entre pares de morfotipos, cuyos coeficientes fueron transformados en distancias (Gower, 1971). La representación geométrica de los morfotipos se trazó en un gráfico cartesiano por el método de ordenación de Análisis de Coordenadas Principales (ACoorP) (programa INFSTAT, 2005). El coeficiente de correlación cofenético (*r*) fue usado para medir el grado de distorsión entre la matriz original de datos y la distribución alcanzada con el ACoorP (Sneath y Sokal, 1973).

### Análisis de datos moleculares

A partir de los datos moleculares fue construida una matriz de presencia (1) y ausencia (0). Se evaluó la similitud entre pares de genotipos, generada al aplicar el coeficiente de apareamiento simple (Sokal y Mitchener, 1958). La representación gráfica se realizó utilizando el ACoorP. Para la interpretación de la ordenación en el espacio de los datos morfológicos y moleculares se construyó un árbol de mínima distancia (AMD). Para calcular la correlación entre las matrices morfológicas versus la molecular, se aplicó el test de Mantel (*r*) (Mantel, 1967).

El Índice de Diversidad de Nei (1973) fue usado para estimar el poder discriminatorio de cada SSR, con valores que varían entre 0 y 1. Basado en las frecuencias de los patrones de los fragmentos de ADN se estimó el Coeficiente de Información Polimórfica (PIC):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n (P_i)^2$$

donde *P<sub>i</sub>* es la frecuencia del *i*ésimo patrón y *n* es el número de patrones observados.

## RESULTADOS

### Variabilidad morfológica

En el análisis conjunto de los caracteres morfológicos cuali y cuantitativos se observó la distribución espacial de los 24 morfotipos de 'Collareja' de la Muestra del productor en el ACoorP. Así, los dos ejes principales explicaron el 22,4% y el 12,7% respectivamente, de la varianza total (*r*=0,93). Los 24 morfotipos analizados fueron únicos en sus patrones morfológicos, es decir, no se encontraron pares de morfotipos con más del 75% de similitud. El patrón de distribución en el espacio del ACoorP estuvo constituido por un grupo de 20 morfotipos localizados en la intersección de los ejes a partir del valor cero de ambas coordenadas (figura 2a); la distancia promedio dentro de este grupo fue de 0,45. Los morfotipos T15, T16, T23 y T24 se localizaron alejados del grupo anterior y a una distancia promedio de aquel de 0,57, 0,72, 0,65 y 0,64 respectivamente; T23 y T24 se encontraron a una distancia de 0,36 entre ellos, menor a la encontrada entre T15 y T16 que fue de 0,66. Los morfotipos T23 y T24 se distanciaron de T15, con las máximas distancias 0,77 y

N.º Colección	Varietal	Departamento / Localidad	Lat. S / Long. O	Altura (m)
1- CCS 1304	'Collareja'	Santa Catalina / Casira	21°56' / 65°54'	3638
2- CCS 1368	'Collareja redonda'	Cochinoca / Quebraleña	23°17' / 65°46'	3618
3- CCS 1372	'Collareja redonda'	Cochinoca / Agua Castilla	23°12' / 65°48'	3524
4- CCS 1324	'Collareja redonda'	Cochinoca / Agua Caliente	22°50' / 66°04'	3561
5- CCS 1322	'Collareja'	Cochinoca / Agua Caliente	23°03' / 66°04'	3651
6- CCS 1320	'Collareja redonda'	Cochinoca / Agua Caliente	22°50' / 66°04'	3561
7- CCS 1328	'Collareja redonda'	Cochinoca / Rachaite	22°59' / 66°09'	3435
8- CCS 1331	'Collareja'	Cochinoca / Rachaite	22°59' / 66°09'	3435
9- CCS 1212	'Chorcoveña'	Humahuaca / Chorcán	23°03' / 65°12'	3855
10- CCS 1186	'Chorcoveña'	Humahuaca / Palca de Aparso	23°06' / 65°08'	3435
11- CCS 1219	'Collareja'	Humahuaca / Ocumazo	23°14' / 65°15'	3070
12- CCS 1224	'Collareja'	Humahuaca / Coctaca	23°09' / 65°16'	3226
13- CCS 1175	'Collareja'	Humahuaca / Humahuaca	23°12' / 65°21'	2952
14- CCS 1232	'Collareja redonda'	Humahuaca / Hornaditas	23°05' / 65°22'	3195
15- CCS 1233	'Collareja redonda'	Humahuaca / Hornaditas	23°05' / 65°22'	3195
16- CCS 1203	'Chorcoveña'	Humahuaca / Varas	23°06' / 65°06'	3678
17- CCS 1205	'Churqueña'	Humahuaca / Varas	23°06' / 65°06'	3678
18- CCS 1216	'Collareja'	Humahuaca / Pucara	23°12' / 65°15'	3374
19- CL 751	'Collareja'	Humahuaca / Chaupi Rodero	22°55' / 65°18'	3551
20- CCS 1156	'Collareja'	Tilcara / Maimará	23°36' / 65°24'	2371
21- CCS 1159	'Collareja'	Tilcara / Juella	23°31' / 65°23'	2614
22- CCS 1171	'Collareja'	Tilcara / Casa Colorada	23°34' / 65°20'	3450
23- CL 806	'Chorcoveña'	Valle Grande / Santa Ana	23°20' / 65°20'	3500
24- CL 758	'Collareja redonda'	Valle Grande / Santa Ana	23°20' / 65°20'	3500
25- CL 831	'Collareja'	Valle Grande / Santa Ana	23°20' / 65°20'	3500
26- CCS 1362	'Collareja redonda'	Tumbaya / El Moreno	23°52' / 65°48'	3640
27- CCS 1378	'Churqueña'	Tumbaya / Patacal	23°42' / 65°32'	2629
28- CCS 1380	'Collareja'	Tumbaya / Patacal	23°42' / 65°32'	2629
29- CCS 1388	'Collareja'	Tumbaya / Patacal	23°40' / 65°32'	2900
30- CS 1403	'Collareja'	Tumbaya / Cárcel	23°48' / 65°31'	2493
31- CCS 1340	'Yaguana'	Susques / Sala	23°25' / 66°14'	3496
32- CS 1432	'Collareja'	General Belgrano / Cuevas	23°59' / 65°36'	3010

**Tabla 1.** Acciones de la variedad 'Collareja' mantenidas *in vitro* en el BAL y procedentes de Jujuy, con su número de colección, sitio de colecta y coordenadas de localización geográfica. Los nombres 'Churqueña' y 'Chorcoveña' son sinónimos de 'Collareja'. Elaborado para la presente edición.

0,75, respectivamente; en tanto T23 y T24 de T16 lo hicieron a 0,59 y 0,55, respectivamente.

El grupo principal de 20 morfotipos posee caracteres cuantitativos promedios y cualitativos diferenciales, a saber: flores de color violeta oscuro con forma pentagonal, con tallos y nerviación de las hojas de color verde (T18, figura 2b). El morfotipo T15 se diferencia del grupo principal por el mayor número de flores y folíolos secundarios y el mayor tamaño sus hojas, en tanto que T16 tiene un elevado número de flores/inflorescencias. Los morfotipos T23 y T24 se diferenciaron del resto por el color violeta claro

y forma rotada en las flores, color púrpura en los tallos y nerviación de las hojas, con un mayor tamaño de las flores (T23, figura 2b). El análisis independiente de los descriptores morfológicos, cuantitativos por un lado y cualitativos por el otro, arrojó un patrón de distribución similar al obtenido al análisis en conjunto (resultados no se muestran).

#### Variabilidad molecular inferida mediante SSRs

En la totalidad de las muestras analizadas en este estudio los cuatro SSRs resultaron polimórficos. El número de

Planta
1- Altura de la planta (cm);
2- Número de tallos / planta;
3- Alas del tallo;
4- Color del tallo.
Hoja
5- Longitud de hoja (cm);
6- Ancho de hoja (cm);
7- Longitud del peciolo (cm);
8- Longitud del foliolo terminal (cm);
9- Ancho del foliolo terminal (cm);
10- Longitud del peciolo del foliolo terminal (cm);
11- Longitud del 1.º foliolo lateral (cm);
12- Ancho del 1.º foliolo lateral (cm);
13- Longitud del 2.º foliolo lateral (cm);
14- Ancho del 2.º foliolo lateral (cm);
15- Número de pares de foliolos laterales;
16- Número de foliolos intermedios;
17- Número de foliolos laterales secundarios;
18- Distancia del peciolo a la base del foliolo terminal (cm);
19- Disección de la hoja;
20- Margen del foliolo;
21- Base terminal del foliolo;
22- Pubescencia adaxial de la hoja;
23- Pubescencia abaxial de la hoja;
24- Superficie de la hoja;
25- Arqueo terminal de la hoja (punta de la hoja);
26- Ángulo de la base del raquis de la hoja al tallo sobre el centro de la hoja de la planta.
Flor
27- Longitud del pedúnculo (cm);
28- Número de divisiones del pedúnculo;
29- Número de flores/inflorescencias;
30- Longitud del pedicelo (cm);
31- Longitud de la inserción del cáliz a la articulación del pedicelo (cm);
32- Longitud del cáliz (cm);
33- Longitud del acumen de la corola (mm);
34- Longitud del lóbulo del cáliz (mm);
35- Radio de la corola (mm);
36- Ancho del lóbulo de la corola (mm);
37- Longitud de la base al ápice del lóbulo de la corola (cm);
38- Longitud del centro del lóbulo a la unión de lóbulos de la corola (cm);
39- Longitud de la antera (mm);
40- Longitud del estilo (mm);
41- Longitud de la ejerción del estilo (cm);
42- Articulación del pedicelo;
43- Color del cáliz;
44- Simetría del cáliz;
45- Forma de la corola;
46- Color del tejido interpetolar adaxial;
47- Color del tejido interpetolar abaxial;
48- Color de los rayos adaxial de la corola;
49- Color de los rayos abaxial de la corola;
50- Color adaxial del acumen de la corola;
51- Color of abaxial del acumen de la corola.
Tubérculo
52- Forma general del tubérculo;
53- Forma inusual del tubérculo;
54- Profundidad de los ojos del tubérculo;
55- Número de ojos por tubérculos;
56- Distribución de los ojos del tubérculo;
57- Color predominante de la piel del tubérculo;
58- Color secundario de la piel del tubérculo;
59- Distribución del color secundario de la piel del tubérculo
60- Tipo de piel del tubérculo;
61- Color predominante de la carne del tubérculo;
62- Color secundario de la carne del tubérculo.

**Tabla 2.** Caracteres morfológicos cuantitativos y cualitativos usados en la caracterización de la variedad de papa 'Collareja' de un productor andino (los caracteres cuantitativos son resaltados en negrita) (Adaptado de Gomez, 2000).

fragmentos totales identificados en la Muestra del productor y en la Colección de germoplasma resultó similar, 18 y 19, respectivamente (tabla 3). Sin embargo, el número de fragmentos polimórficos fue mayor en la Colección de germoplasma (15) duplicando a los identificados en la Muestra del productor (7); en tanto el número de patrones generados por los marcadores moleculares resultó ser el doble en la Colección de germoplasma (18) respecto a la Muestra del productor (9) (tabla 3).

La estimación de los valores PIC muestran un mayor grado de polimorfismo detectado en la Colección de germoplasma que en la Muestra del productor, con valores de PIC promedio de 0.58 y 0.32, respectivamente (tabla 3). El STI012 fue el más informativo para la Colección de germoplasma (PIC=0.72), en tanto que el STI014 fue más informativo para la Muestra del productor (PIC=0.57). El STM014 fue monomórfico (PIC=0) únicamente en la Muestra del productor (tabla 3).

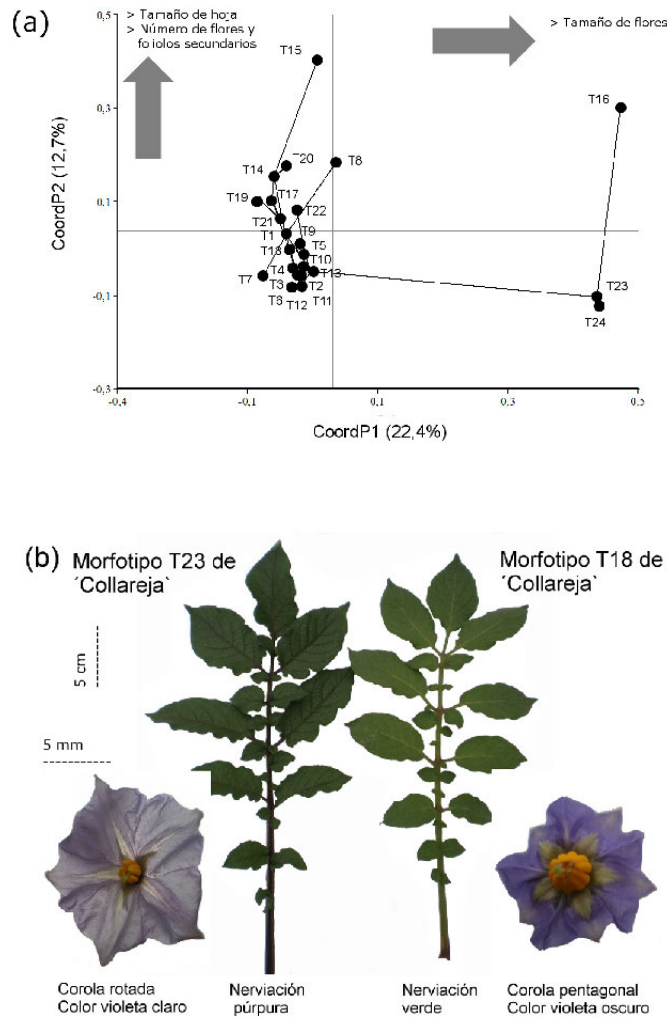
Las dos primeras coordenadas principales del ACoorP explicaron el 36,9% y 17,8% respectivamente, de la varianza genética total ( $r=0.87$ ). Los 24 tubérculos que constituyen la Muestra del productor se ubicaron en cada uno de los siete clones o genotipos generados. Los genotipos 1, 2 y 3 estuvieron integrados por más de un tubérculo, mientras que los genotipos 4, 5, 6 y 7 incluyeron solo un tubérculo y cada uno de ellos con un patrón de fragmentos único (figura 3). Las 32 entradas del Banco BAL o Colección de germoplasma se ubicaron en diecisiete genotipos con el empleo de los cuatro SSRs, doce de los genotipos tuvieron patrones de fragmentos de ADN únicos. La totalidad de las entradas de la Colección de germoplasma se distribuyeron en dos grupos de genotipos principales, pero de acuerdo con la morfología que presentan: un grupo entre los genotipos 8 al 17 ('Collareja', morfología oblonga) y el otro grupo entre los genotipos 18 al 24 ('Collareja redonda') (figura 3).

El test de Mantel permitió determinar una alta correlación entre los marcadores morfológicos cualitativos en comparación con los moleculares ( $r=0.84$ ); en cambio una baja correlación fue identificada entre los marcadores morfológicos cuantitativos respecto de los moleculares, así como también entre los morfológicos cuantitativos y cualitativos contra los moleculares,  $r=0.13$  y  $r=0.15$ , respectivamente.

## DISCUSIÓN

Un análisis integral de la variedad de papa nativa 'Collareja', la más ampliamente distribuida en el NOA, es necesario para comprender el grado y la distribución de la variabilidad genética y morfológica, y de ese modo contar con un conocimiento general de la variabilidad mantenida en las fincas de los productores y con la estrategia de conservación *ex situ* en el Banco de Germoplasma BAL.

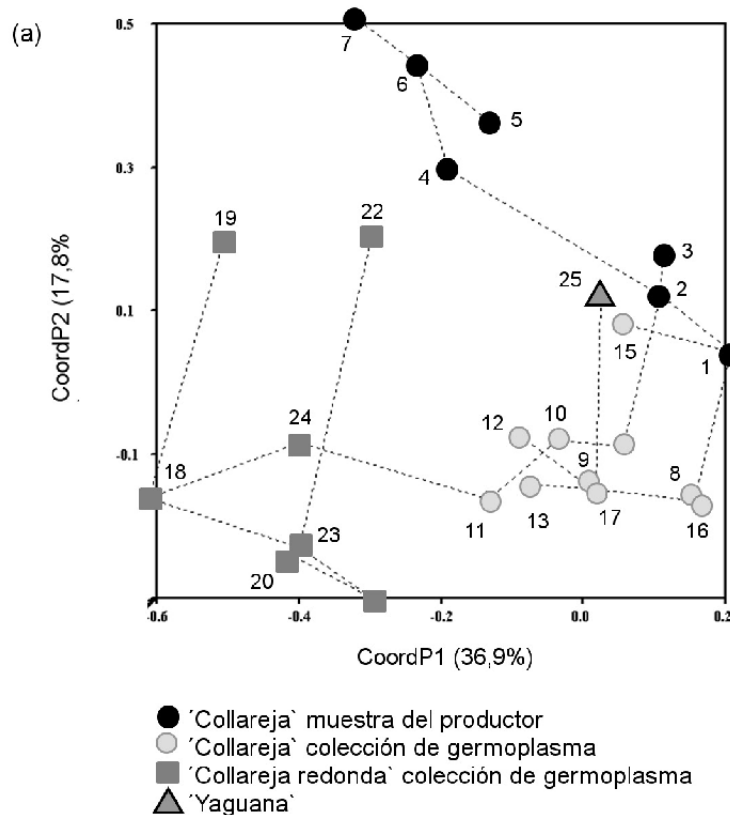
En este estudio se reporta la presencia de variabilidad morfológica y genómica de 'Collareja' en el campo de un productor andino de la localidad de Hornillos. Adicionalmente, se detectó variabilidad genómica en las accesiones de 'Collareja' mantenidas en el BAL (procedentes de



**Figura 2.** Caracteres fenotípicos analizados en la variedad ‘Collareja’ en la muestra del productor andino. (a) Distribución de los morfotipos en el ACoorP sobre los caracteres morfológicos cualitativos y cuantitativos a partir del coeficiente de similitud general de Gower (Gower, 1971). (b) Principales caracteres cualitativos que diferencian los dos tipos de morfotipos detectados. Adaptado para la presente edición.

SSR	Muestra del productor				Colección de germoplasma			
	Número de fragmentos totales	Número de fragmentos polimórficos	Número patrones	PIC	Número de fragmentos totales	Número de fragmentos polimórficos	Número patrones	PIC
STI 012 (IV)	4	2	2	0.31	4	3	6	0.72
STI 014 (IX)	4	3	4	0.57	4	2	4	0.62
STM 1104 (VIII)	4	0	1	0.00	4	4	2	0.42
STM 2005 (XI)	4	2	2	0.41	7	6	6	0.56
<b>Promedio</b>	-	-	-	0.32	-	-	-	0.58
<b>Total</b>	<b>18</b>	<b>7</b>	<b>9</b>		<b>19</b>	<b>15</b>	<b>18</b>	

**Tabla 3.** Contenido de información polimórfica (PIC), número de fragmentos totales y polimórficos y patrones generados por los cuatro SSRs. Elaborado para la presente edición.



**Figura 3.** Tubérculos y accesiones de 'Collareja' estudiados con marcadores SSRs. (a) Representación bidimensional de los genotipos detectados en el ACoorP. (b) Tubérculos y accesiones de 'Collareja' agrupadas con su genotipo correspondiente (patrones de fragmentos de ADN) y con sus nombres de colección. Elaborado para la presente edición.

distintas localidades de Jujuy), que resultó diferencial de la determinada en la parcela del productor andino.

El análisis morfológico permitió identificar variantes o morfotipos en la Muestra del productor, con un patrón de distribución diferencial que depende de los descriptores que caracterizan el agrupamiento. Así, la distancia promedio entre pares de morfotipos fue de 0.56, con un rango entre 0.35-0.77, donde no se encontraron morfotipos con más del 75% de similitud. Particularmente distinguibles resultaron los morfotipos T23 y T24 con caracteres morfológicos cuantitativos y cualitativos diferenciales, y T15 y T16 que se diferenciaron únicamente en los cuantitativos. Considerando la morfología uniforme oblonga de los tubérculos de la Muestra del productor, y a que se cultivaron en idénticas condiciones ambientales hasta alcanzar su estadio de floración, es posible que las diferencias fenotípicas observadas sean atribuidas principalmente a la expresión a nivel genético y no a diferencias ecomorfológicas. Por lo expuesto decimos que los descriptores caracterizaron apropiadamente la Muestra del productor, aunque a partir de los caracteres cuantitativos se estableció una categorización medida en porcentaje para discriminar los

morfotipos de la Muestra del productor y así establecer un ordenamiento de acuerdo con la contribución de cada descriptor. Por ejemplo, el tamaño de las hojas y el número de flores/inflorescencias fueron los descriptores con mayor peso para la caracterización morfológica de 'Collareja', en tanto un menor aporte fue establecido para el tamaño de la planta y de las flores. Estos resultados son relevantes para futuras caracterizaciones de 'Collareja', lo que puede extenderse a otras variedades de papas nativas, para discriminar y obtener un mayor grado de diferenciación entre los individuos.

En este estudio se encontró una correlación entre los marcadores morfológicos cualitativos y moleculares ( $R=0.84$ ). Así, la forma de la corola, un carácter cualitativo no afectado por el ambiente y que ha sido usado ampliamente en taxonomía de papa (Hawkes, 1990), contribuyó a diferenciar las plantas en la Muestra del productor, reforzando el valor de su uso en la caracterización del germoplasma de papa nativo. Estas observaciones concuerdan con las realizadas por Gomez (2000) y De Hann (2009) cuando trabajaron con papas nativas, quienes informaron que los caracteres morfológicos no influenciados por el ambiente fueron rele-

(b)

Genotipo	Tubérculo/Entrada	Variedad	Genotipo	Tubérculo/Entrada	Variedad	
1 ●	T2	'Collareja'	9 ●	CCS 1203	'Chorcoyeña'	
	T4	'Collareja'		CCS 1380	'Collareja'	
	T5	'Collareja'		CCS 1388	'Collareja'	
	T6	'Collareja'		CCS 1304	'Collareja'	
	T7	'Collareja'		CCS 1232	'Collareja'	
	T8	'Collareja'		CL 831	'Collareja'	
	T9	'Collareja'		CCS 1205	'Churqueña'	
	T10	'Collareja'		12 ●	CCS 1322	'Collareja'
	T11	'Collareja'		13 ●	CCS 1216	'Collareja'
	T12	'Collareja'		14 ●	CL 806	'Chorcoyeña'
	T14	'Collareja'		15 ●	CCS 1378	'Churqueña'
T17	'Collareja'	16 ●	CS 1403	'Collareja'		
T18	'Collareja'	17 ●	CS 1432	'Collareja'		
T19	'Collareja'	18 ■	CCS 1372	'Collareja redonda'		
T20	'Collareja'		CCS 1320	'Collareja redonda'		
			CCS 1328	'Collareja redonda'		
2 ●	T3	'Collareja'	19 ■	CCS 1368	'Collareja redonda'	
	T15	'Collareja'	20 ■	CCS 1324	'Collareja redonda'	
3 ●	T1	'Collareja'	21 ■	CCS 1233	'Collareja redonda'	
	T22	'Collareja'	22 ■	CL 758	'Churqueña bola'	
4 ●	T13	'Collareja'	23 ■	CCS 1362	'Collareja redonda'	
5 ●	T16	'Collareja'	24 ■	CL 751	'Collareja redonda'	
6 ●	T23	'Collareja'	25 ▲	CCS 1340	'Yaguana'	
7 ●	T24	'Collareja'				
8 ●	CCS 1331	'Collareja'				
	CCS 1212	'Chorcoyeña'				
	CCS 1186	'Chorcoyeña'				
	CCS 1219	'Collareja'				
	CCS 1224	'Collareja'				
	CCS 1175	'Collareja'				
	CCS 1156	'Collareja'				
	CCS 1159	'Collareja'				
CCS 1171	'Collareja'					

vantes para detectar variabilidad morfológica dentro de las papas nativas cultivadas. Contrariamente, no se detectó correlación entre los marcadores morfológicos cuantitativos y los SSRs ( $R=0.13$ ) dado que los primeros no son estables al ambiente y están bajo un control poligénico. Debido a ello, su utilización debe ser cautelosa al momento de verificar diferencias en el germoplasma, coincidiendo con los resultados reportados por Solis *et al.* (2007) en papas cultivadas y por Pissard *et al.* (2008) en *Oxalis tuberosa*.

Al considerar las ventajas y la complementariedad de los marcadores moleculares a los morfológicos, los cuatro SSRs detectaron una mezcla de clones o genotipos en la Muestra del productor. Si bien la morfología de los tubérculos era uniforme al momento del muestreo, estos quedaron agrupados en siete genotipos distintos, donde cuatro de ellos tenían patrones de fragmentos de ADN únicos (figura 3). La parcela bajo estudio se encuentra localizada en una zona clave en cuanto a la producción y comercialización de papas nativas, donde es probable encontrar mezclas de genotipos en los campos de los agricultores. Esto puede deberse a factores tales como el intercambio habitual de papa semilla, la adquisición

en mercados locales o ferias de semillas, sumado a que genotipos diferenciales pueden surgir como consecuencia de la recombinación sexual y el cultivo seguidamente de la semilla botánica (Zimmerer y Douches, 1991). El conjunto de estos factores contribuiría a que el productor mantenga en su campo una mezcla de genotipos de la variedad 'Collareja'. Esta es una de las primeras aproximaciones experimentales para detectar y confirmar la presencia de una mezcla de genotipos en el campo de un productor en la región del NOA de la Argentina. Ispizúa *et al.* (2007) reportaron un alto nivel de diversidad genética dentro de las diferentes variedades de papas nativas en la región NOA, en el que se emplearon 4 SSRs, dos de ellos usados en el presente trabajo (STM1104 y STM2005), pero solo un individuo fue analizado por sitio y localidad.

El análisis de la Colección de germoplasma con los cuatro SSRs resultó en la determinación de 17 genotipos diferentes, donde quedaron distribuidas las 32 accesiones mantenidas *ex situ* en el Banco BAL. Los 17 genotipos se agruparon espacialmente en el ACoorP en dos grupos independientes, donde cada grupo se corresponde con el tipo morfológico 'Collareja' (oblongo) o 'Collareja



redonda (figura 3). Estos resultados empleando cuatro SSR son relevantes dentro de la Colección de germoplasma dado que se agruparon los genotipos en cada uno de los tipos morfológicos, aunque las accesiones de Collareja son procedentes de sitios geográficos muy distantes dentro de la provincia de Jujuy. Adicionalmente, los dos grupos de genotipos revelados en la Colección de germoplasma, se mantuvieron espacialmente separados de los genotipos encontrados en la Muestra del productor que posee morfología de 'Collareja' (oblonga); aunque la separación espacial es evidente, estos últimos genotipos se interconectan a través del AMD únicamente con los genotipos con morfología de 'Collareja'. Es importante resaltar el uso de los SSRs para asistir en la caracterización de germoplasma andino, en nuestro caso, detectando una mezcla de genotipos en la parcela de un productor andino y su relación con genotipos mantenidos *ex situ* en el BAL, relación mayormente cercana a genotipos que comparten el mismo tipo morfológico del tubérculo y más alejada de genotipos con un tipo morfológico distinto.

Este estudio enfocado en la variedad 'Collareja' provee una comprensión preliminar de la variabilidad genética mantenida por un productor andino en su campo de cultivo, y cómo se relaciona aquella con las accesiones mantenidas en el Banco BAL, pero procedentes de distintas regiones ecogeográficas de Jujuy. De acuerdo a nuestros resultados los genotipos de 'Collareja' determinados en el campo del agricultor se diferencian de los genotipos de localidades cercanas y alejadas a este, por, por ello podemos inferir que el número de genotipos que conforman el universo de genotipos de la variedad 'Collareja' será aún mayor. Este trabajo puede ser extendido a otras variedades locales para conocer el universo de genotipos que constituirían cada una de ellas, pero no solamente incrementando el número de individuos para ensayar, sino también el número de campos de agricultores para analizar, y el número de marcadores SSRs.

Los resultados obtenidos en este trabajo sobre la mezcla de genotipos que constituyen una variedad local confirman la definición moderna de *landrace*. Estos consisten de variedades cultivadas que han evolucionado y continúan evolucionando en ambientes agrícolas tradicionales o nuevos, dentro de un área ecogeográfica definida y bajo la influencia del cultivo humano (Casañas, 2017). Adicionalmente, debe considerarse la necesidad de realizar una revisión más profunda sobre el número de tubérculos para coleccionar o muestrear, para su posterior conservación *ex situ*, y de esa manera contribuir a conservar una muestra más representativa del universo de genotipos de cada variedad de papas nativas. Sin embargo, deberá reforzarse la efectividad de la conservación *in situ* de variedades nativas de papas en las fincas de los agricultores, como estrategia que asegurará la disponibilidad y continuidad de la variación genética, reduciendo de este modo la exposición a riesgos de pérdidas de diversidad, pero complementadas con la estrategia *ex situ* para preservar el germoplasma actual de papas nativas.

## BIBLIOGRAFÍA

- AKYOL, H.; RICIPUTI, Y.; CAPANOGLU, E.; CABONI, M.F.; VERARDO, V. 2016. Phenolic Compounds in the Potato and Its Byproducts: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (6), 835.
- ATENCIO, H.M. 2011. Diversidad en variedades andinas de papa (*Solanum tuberosum ssp. andigena*) evaluada con microsatélites. Tesis Maestría, FCA, Universidad Nacional de Mar del Plata. 135 p. (Disponible: <http://intrabalc.inta.gov.ar/dbtw-wpd/imagenes/Atencio-H-M.pdf> verificado: junio de 2018).
- AYVAZ, H.; BOZDOGAN, A.; GIUSTI, M.M.; MORTAS, M.; GOMEZ, R.; RODRIGUEZ-SAONA, L.E. 2016. Improving the screening of potato breeding lines for specific nutritional traits using portable mid-infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Food Chemistry*. 211, 374-382.
- CASAÑAS, F.; SIMÓ, J.; CASALS, J.; PROHENS, J. 2017. Toward an evolved concept of *landrace*. *Frontiers in Plant Science*. 8, 145.
- CLAUSEN, A.M.; COLAVITA, M.; BUTZONITCH, I.; CARRANZA, A.V. 2005. A potato collecting expedition in the province of Jujuy, Argentina and disease indexing of virus and fungus pathogens in Andean cultivars. *Genetic Resources Crop Evolution*. 52, 1099-1109.
- CLAUSEN, A.M.; ISPIZÚA, V.N.; DIGILIO, A. 2010. Conservation and Evaluation of an Endangered Genetic Resource: Native Andean Potato Varieties in Argentina. *The Americas Journal of Plant Science & Biotechnology*. 3, 72-82.
- COLMAN, S.L.; MASSA, G.A.; CARBONI, M.F.; FEINGOLD, S.E. 2017. Cold sweetening diversity in Andean potato germplasm from Argentina. *Journal of the Science of food and agriculture*. 97 (14), 4744-4749.
- DE HAAN, S. 2009. Potato diversity at height: Multiple dimensions of farmer-driven *in situ* conservation in the Andes. PhD Tesis, Wageningen University, Países Bajos. 245 p.
- GHISLAIN, M.; NÚÑEZ, J.; HERRERA, M.D.R.; PIGNATARO, J.; GUSMAN, F.; BONIERBALE, M.; SPOONER, D. 2009. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Molecular breeding*. 23 (3), 377-388.
- GOMEZ, R. 2000. Guía para las Caracterizaciones Morfológicas Básicas en Colecciones de Papas Nativas. *International Potato Center (CIP)*, Lima, 1-27. 27 p.
- GOWER, J.C. 1971. General coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*. 27, 857-874.
- HAWKES, J.G. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Oxford. Belhaven Press, Londres. Reino Unido. 259 p.
- HAYMES, H. 1996. Mini-prep method suitable for plant breeding program. *Plant Molecular Biology Reporter*. 14 (3), 280-284.
- HUARTE, M.A.; CLAUSEN, A.M.; CAMADRO, E.L.; CORTÉS, M.C.; MASUELLI, R.W.; CAPEZIO, M.; ECHEVERRÍA, M. del M.; MANTECÓN, J.; VEGA, E. 1991. Utilización de mayor variabilidad genética en el programa argentino de mejoramiento de papa. Actas 2.º Simposio Latinoamericano sobre recursos genéticos de especies hortícolas. Mar del Plata, Argentina, 191-210.
- INFOSTAT. 2005. InfoStat versión 2005. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- ISPIZÚA, V.N.; GUMA, I.R.; FEINGOLD, S.; CLAUSEN, A.M. 2007. Genetic diversity of potato *landraces* from northwestern Argentina assessed with simple sequence repeats (SSRs). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 54 (8), 1833-1848.
- LITMANTSEVA, L.; MIRONENKI, N.; SHUVALOV, O.; ANTANOVA, O.; KHIUTTI, A.; NOVIKOVA, L.; AFANASENKO, O.; SPOON-

- ER, D.; GAVRILENKO, T. 2014. Characterization of resistance to *Globodera rostochiensis* pathotype Ro1 in cultivated and wild potato species accessions from the Vavilov Institute of Plant Industry. *Plant Breeding*. 133, 660-665.
- MANTEL, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*. 27 (2), 209-220.
- MONTE, M.N.; REY BURUSCO, M.F.; CARBONI, M.F.; CASTELLOTE, M.A.; SUCAR, S.; NORERO, N.S.; COLMAN, S.L.; MASSA, G.A.; COLAVITA, M.L.; FEINGOLD, S.E. 2018. Genetic Diversity in Argentine Andean Potatoes by Means of Functional Markers. *American Journal of Potato Research*. 95 (3), 286-300.
- MONTI, M.C.; IRIGOYEN, R.; CLAUSEN, A.M. 2010. Composición química de papas nativas del noroeste argentino. 24.º Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP). Cuzco, Perú. 367-368.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academic of Science, USA*. 70, 3321-3323.
- OKADA, K.A. 1979. Collection and taxonomy of Argentine wild species (tuber-bearing *Solanum*). Comment: Report of the Planning Conference on the Exploration, Taxonomy and Maintenance of Potato Germplasm. October, 15-19. CIP, Lima, Perú. 98-113.
- PELLETIER, Y.; HORGAN, F.G.; POMPON, J. 2011. Potato resistance to insects. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*. 5 (1), 37-52.
- PISSARD, A.; ARBIZU, C.; GHISLAIN, M.; FAUX, A.M.; PAULET, S.; BERTIN, P. 2008. Congruence between morphological and molecular marker inferred from the analysis of the intra-morphotype genetic diversity and the spatial structure of *Oxalis tuberosa*. *Mol. Genetica*. 132, 71-85.
- RODRÍGUEZ, L.; SANJUANELO D.C.; ÑÚSTEZ, C.E.; MORENO-FONSECA, L.P. 2016. Growth and phenology of three Andean potato varieties (*Solanum tuberosum* L.). *Agronomía Colombiana*. 34 (2), 141-154.
- SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman and Co, San Francisco, California, EUA.
- SOKAL, R.R.; MITCHENER, C.D. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationship. *Univ. Kansas. Science Bulletin*. 38, 1409-1438.
- SOLIS, J.S.; ULLOA, D.M.; RODRÍGUEZ, L.A. 2007. Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. 10 (3), 436-443.
- SUÁREZ, S.; CHAVEZ, E.; CLAUSEN, A.; FRANCO, J. 2009. *Solanum* tuber-bearing species resistance behavior against *Nacobbus aberrans*. *Journal of Nematology*. 41 (1), 5-10.
- TORDABLE, M. del C.; ANDRADE, A.J.; DOUCET, M.E.; LAX, P. 2018. Histopathology of Andean Potato (*Solanum tuberosum* Andigenum group) varieties parasitized by the false root-knot nematode, *Nacobbus aberrans*. *Brazilian Journal of Biology*. 78 (4), 679-685.
- VALIÑAS, M.; LANTERI, M.L.; TEN HAVE, A.; ANDREAU, A.B. 2017. Chlorogenic acid, anthocyanin and flavan-3-ol biosynthesis in flesh and skin of Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*). *Food Chemistry*. 229, 837-846.
- ZIMMERER, K.; DOUCHES, D. 1991. Geographical Approaches to Crop Conservation: The Partitioning of Genetic Diversity in Andean Potatoes. *Economic Botany*. 45, 176-189.