

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LAS ESPECIES SILVESTRES DE PAPA
SOLANUM GOURLAYI Y *SOLANUM SPEGAZZINII* E INCORPORACIÓN DE
GERMOPLASMA SILVESTRE A LA PAPA CULTIVADA

LUIS ERNESTO ERAZZÚ

Trabajo de tesis para ser presentado como requisito
parcial para optar al Título de
DOCTOR en CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

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

Unidad Integrada Balcarce

(Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología
Agropecuaria - Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata)

Balcarce, Argentina

04 Noviembre de 2009

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LAS ESPECIES SILVESTRES DE PAPA
SOLANUM GOURLAYI Y *SOLANUM SPEGAZZINII* E INCORPORACIÓN DE
GERMOPLASMA SILVESTRE A LA PAPA CULTIVADA

LUIS ERNESTO ERAZZÚ

.....
Directora de Tesis: Ing. Agr. **Elsa Lucila Camadro**, M. Sc., Ph. D.

.....
Asesor de Tesis: Ing. Agr. **Andrea M. Clausen**, M.Sc.

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LAS ESPECIES SILVESTRES DE PAPA
SOLANUM GOURLAYI Y *SOLANUM SPEGAZZINII* E INCORPORACIÓN DE
GERMOPLASMA SILVESTRE A LA PAPA CULTIVADA

LUIS ERNESTO ERAZZÚ

Aprobada por:

.....
Evaluador: **Camilo Quarín**, Ing. Agr.

.....
Evaluador: **Ana Castro**, Ing Agr, Dr.

.....
Evaluador: **Alberto Acevedo**, Ing Agr., Dr.

DEDICATORIA

A Mónica y a nuestros hijos,
Gonzalo, Mariana y Federico

AGRADECIMIENTOS

A Elsa Camadro por el permanente estímulo, apoyo e inspiración durante mi formación pero por sobre todo por la calidad humana que despliega en cada acto.

A Andrea Clausen por su apoyo y colaboración, particularmente durante el viaje de colección en el NOA

A Ricardo Masuelli y Carlos Marfil que me recibieron en su Laboratorio de la FCA, UNCuyo, Mendoza, y que me brindaron apoyo y asesoramiento en las técnicas moleculares.

A Juan Espinillo y Walter Moreno, de la Unidad Integrada Balcarce, y Juan Salvatierra, de la EEA Santiago del Estero, INTA, que me apoyaron en las tareas de campo, invernáculo y laboratorio.

A Patricia Suárez, por su apoyo y colaboración durante el desarrollo de las actividades en el laboratorio de marcadores moleculares.

A los que de diversas maneras contribuyeron a la realización de esta tesis y me brindaron su apoyo y amistad: Cecilia Bedogni, Mauricio Capurro, Mercedes Echeverría, Ana Clara Pontaroli, Verónica Ispizúa.

A la Unidad Integrada Balcarce, y en especial al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por el apoyo recibido para la realización del presente trabajo.

Esta tesis fue financiada con fondos del INTA y de la UNMdP.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Objetivo	4
Objetivos específicos	4
Hipótesis	4
 CAPÍTULO 1	 6
INTRODUCCIÓN	6
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Colección	9
Muestreo	10
Acondicionamiento del material	11
Muestras de suelo	11
Recuentos cromosómicos	11
Descripción del ambiente	12
RESULTADOS	12
Itinerario	12
Sitios de colección	13
Entradas coleccionadas	14
Provincia de Salta	14
Quebrada Calchaquí	14
Quebrada del Toro	17
Quebrada de Escoipe	18
Provincia de Jujuy	22
Quebrada de Jueya	22
Quebrada de Lipán	23
Análisis de las muestras de suelo	25
Recuentos cromosómicos	26
Descripción del ambiente	27
DISCUSIÓN	29

CAPÍTULO 2	34
INTRODUCCIÓN	34
MATERIALES Y MÉTODOS	35
RESULTADOS	36
Combinaciones genotípicas y relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma intraespecíficas	36
<i>Solanum spegazzinii</i>	36
<i>Solanum gourlayi</i> (2n=2x=24)	44
<i>Solanum gourlayi</i> (2n=4x=48)	47
Combinaciones genotípicas y relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma interespecíficas intra- e interploides	50
<i>Solanum spegazzinii</i> x <i>S. gourlayi</i> (2n=2x=24) y recíproco	50
<i>Solanum spegazzinii</i> x <i>S. gourlayi</i> (2n=4x=48) y recíproco	58
<i>Solanum spegazzinii</i> x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> y recíproco	63
<i>Solanum gourlayi</i> (2n=2x=24) x <i>S. gourlayi</i> (2n=4x=48) y recíproco	66
<i>Solanum gourlayi</i> (2n=2x=24) x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> y recíproco	69
<i>Solanum gourlayi</i> (2n=4x=48) x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> y recíproco	72
Observación de polen	77
DISCUSIÓN	77
CAPÍTULO 3	86
INTRODUCCIÓN	86
MATERIALES Y MÉTODOS	87
Extracción de ADN	88
Análisis molecular	88
Análisis de datos	90
Análisis molecular de la varianza (AMOVA)	91
RESULTADOS	92
Introducciones de <i>Solanum spegazzinii</i>	93
Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i>	98
Análisis de la varianza molecular (AMOVA)	108
DISCUSIÓN	109
CONCLUSIONES	113

BIBLIOGRAFÍA

114

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo 1

Tabla 1: Sitios de colección de introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> y <i>S. spegazzinii</i> en valles del NOA disponibles en el Banco de Germoplasma de la EEA Balcarce (Okada y Lucarini 1973 y Okada 1974 y 1983, en Clausen y Castaño, 1998).	10
Tabla 2: Análisis del suelo de los sitios de colección de introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> y <i>S. spegazzinii</i>	25
Tabla 3: Números cromosómicos de las colecciones de <i>Solanum gourlayi</i> y <i>S. spegazzinii</i> de los sitios de interés	27
Tabla 4: Datos de temperatura y precipitación media mensual de sitios próximos a las colecciones de <i>Solanum gourlayi</i> y <i>S. spegazzinii</i>	29

Capítulo 2

Tabla 1: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum spegazzinii</i> : número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno	41
Tabla 2: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum spegazzinii</i> y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas	44
Tabla 3: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	45
Tabla 4: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 2x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas	46

- Tabla 5: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno
48
- Tabla 6: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 4x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas
50
- Tabla 7: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. gourlayi* 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno
53
- Tabla 8: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. spegazzinii*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno
54
- Tabla 9: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. gourlayi* 2x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas
57
- Tabla 10: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. spegazzinii* y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas
57
- Tabla 11: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. gourlayi* 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos
60

Tabla 12: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 4x x <i>S. spegazzinii</i> : número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	61
Tabla 13: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum spegazzinii</i> x <i>S. gourlayi</i> 4x	62
Tabla 14: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 4x x <i>S. spegazzinii</i>	63
Tabla 15: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>S. spegazzinii</i> x <i>Solanum tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> : número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	64
Tabla 16: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> x <i>S. spegazzinii</i> : número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	65
Tabla 17: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum spegazzinii</i> x <i>S. tuberosum</i> ssp <i>tuberosum</i>	66
Tabla 18: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum tuberosum</i> ssp <i>tuberosum</i> x <i>S. spegazzinii</i>	66
Tabla 19: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 2x x <i>S. gourlayi</i> 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	67
Tabla 20: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 4x x <i>S. gourlayi</i> 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	68

Tabla 21: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 2x x <i>S. gourlayi</i> 4x	69
Tabla 22: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 4x x <i>S. gourlayi</i> 2x	69
Tabla 23: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>S. gourlayi</i> 2x x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> : número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	70
Tabla 24: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> x <i>S. gourlayi</i> 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	71
Tabla 25: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 2x x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i>	71
Tabla 26: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> x <i>S. gourlayi</i> 2x	72
Tabla 27: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 4x x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> : número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos	74
Tabla 28: Cruzamientos controlados entre introducciones de <i>Solanum tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> x <i>S. gourlayi</i> 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno	75
Tabla 29: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de <i>Solanum gourlayi</i> 4x x <i>S. tuberosum</i> ssp. <i>tuberosum</i> y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas	76

Tabla 30: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* x *S. gourlayi* 4x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

76

Capítulo 3

Tabla 1: Origen, sitio y momento de colección de introducciones de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* utilizadas para el estudio con marcadores AFLP

87

Tabla 2: Combinaciones de iniciadores utilizados en las reacciones de amplificación para marcadores AFLP

90

Tabla 3: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum spegazzinii* de las introducciones original (so=OL 4911), regeneración (sm=OL4911) y nueva colección (sn=CIE 1581) de Cuesta del Obispo (Chicoana).

93

Tabla 4: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum spegazzinii* de las introducciones original (SO=Oka5662), regeneración (SM=Oka 5662) y nueva colección (SN=CIE 1561) de Peña Agujereada (La Poma).

96

Tabla 5: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum gourlayi* de las introducciones de regeneración (GM=OL 4841) y nueva colección (GN=CIE 1572) de El Rodeo (La Poma).

99

Tabla 6: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum gourlayi* de las introducciones original (go=Oka4858), de regeneración (gm=Oka4858) y nueva colección (gn=CIE 1575) de Las Cuevas (Rosario de Lerma).

102

Tabla 7: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* de las introducciones original, regeneración y nueva colección del NOA.

105

Tabla 8: Análisis de la varianza molecular (AMOVA) con datos de marcadores AFLP para plantas de las introducciones *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi*

108

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Mapa del NOA indicando el recorrido del viaje de colección de papas silvestres	13
Figura 2: Vista general del sitio de colección de CIE 1561	15
Figura 3: Vista general del sitio de colección de CIE 1572	17
Figura 4: Vista general del sitio de colección CIE 1575	18
Figura 5: Vista general del sitio de colección de CIE 1581	20
Figura 6: Vista general de los estolones de plantas de CIE 1586	21
Figura 7: Vista general del sitio de colección CIE 1587	22
Figura 8: Vista general del sitio de colección CIE 1597	24

Capítulo 2

Figura 1: Relación polen-estilo/estigma: a) compatible, b) incompatible con detención del crecimiento de los tubos polínicos en: b1) el estigma y b2) segundo tercio del estilo	37
---	----

Capítulo 3

Figura 1: Patrón electroforético representativo de la variabilidad de bandas para marcadores AFLP en plantas de <i>Solanum spegazzinii</i> , colección original, primera multiplicación y nueva colección de Cuesta del Obispo, Chicoana (Salta).	92
---	----

Figura 2: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia $\underline{SM} (\sqrt{(1-S)})$: (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de *Solanum spegazzinii* de introducciones original (so=OL 4911), regeneración (sm=OL4911) y nueva colección (sn=CIE 1581) de Cuesta del Obispo (Chicoana); go=*S. gourlayi*, OL 4858.

94

Figura 3: Fenograma de datos de marcadores AFLP basado en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para plantas de *Solanum spegazzinii* de introducciones original (so=OL 4911), regeneración (sm=OL4911) y nueva colección (sn=CIE 1581) de Cuesta del Obispo (Chicoana); go= *S. gourlayi*, OL 4858.

95

Figura 4: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia $\underline{SM} (\sqrt{(1-S)})$: (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de *Solanum spegazzinii* de introducciones original (SO=Oka 5662), regeneración (SM=Oka 5662) y nueva colección (SN=CIE 1561) de Peña Agujereada (La Poma); go= *S. gourlayi*, OL 4858

97

Figura 5: Fenograma de datos de marcadores AFLP basado en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de *Solanum spegazzinii*, de introducciones original (SO=Oka5662), regeneración (SM=Oka 5662) y nueva colección (SN=CIE 1561) de Peña Agujereada (La Poma); go= *S. gourlayi*, OL 4858

98

Figura 6: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia $\underline{SM} (\sqrt{(1-S)})$: (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas *Solanum gourlayi* de introducciones de regeneración (GM=OL4841) y nueva colección (GM=CIE1572) de El Rodeo (La Poma); SO=*S. spegazzinii*, Oka 5662

100

Figura 7: Fenograma de datos de marcadores AFLP basado en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de introducciones de *Solanum gourlayi*, regeneración (GM=OL4841) y nueva colección (GM=CIE1572) de Peña Agujereada (La Poma); SO=*S. spegazzinii*, Oka 5662.

101

Figura 8: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia $\underline{SM} (\sqrt{(1-S)})$: (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de *Solanum gourlayi* de introducciones original (go=Oka 4858), de regeneración (gm=Oka 4858) y nueva colección (gn=CIE 1575) de Las Cuevas (Rosario de Lerma); SO=*S. spegazzinii*, Oka 5662.

103

Figura 9: Fenograma datos de marcadores AFLP basada en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de introducciones de *Solanum gourlayi*, original (go=Oka 4858), de regeneración (gm=Oka 4858) y nueva colección (gn=CIE 1575) de Las Cuevas (Rosario de Lerma); SO=*S. spegazzinii*, Oka 5662.

104

Figura 10: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de SM ($\sqrt{1-S}$): (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de las introducciones de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* de las introducciones original, regeneración y nueva colección del NOA.

106

Figura 11: Fenograma de datos de marcadores AFLP basada en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de las introducciones de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* de introducciones original, de regeneración y nueva colección del NOA

108

RESUMEN

La papa común, *Solanum tuberosum* L., es una especie tetraploide ($2n=4x=48$, 4NBE), que presenta alrededor de 200 especies emparentadas que constituyen un importante recurso genético para el mejoramiento heredable. Sin embargo, la mayoría de las especies silvestres son diploides ($2n=2x=24$) y, en muchos casos, no es posible aprovechar directamente este valioso recurso genético pues existen barreras internas que impiden la hibridación; entre estas barreras, las poscigóticas son las más frecuentes en cruzamientos interploides debido al colapso del endosperma híbrido. Sin embargo, es posible sobreponer esta dificultad y disponer del “pool” génico silvestre mediante manipulaciones de ploidía. Por otra parte, algunos autores han puesto énfasis en la necesidad de realizar una mayor utilización de las especies silvestres en el mejoramiento genético y, en particular, se ha resaltado la gran potencialidad de dos especies del noroeste argentino, *S. spegazzinii* y *S. gourlayi*. En estas y en numerosas especies de papa, en las cuales hay una extensa superposición de caracteres, se ha señalado la dificultad para establecer límites específicos sobre la base de conceptos puramente morfológicos. El Banco de Germoplasma de la EEA Balcarce, INTA, dispone de numerosas introducciones de *S. spegazzinii* y de ambos citotipos de *S. gourlayi* (2x y 4x) que se regeneran y evalúan periódicamente *ex situ*, de las que se desconoce si persisten en sus ambientes naturales. Además, en trabajos previos del Banco, se observó una alta variabilidad morfológica para poblaciones de ambas especies provenientes de diferentes Departamentos de la provincia de Salta. Por ello, para esta tesis se realizaron nuevas colecciones de *S. spegazzinii* y *S. gourlayi* en sitios que coinciden con los de colecciones previas de estas especies. Además, se coleccionaron las especies de *S. okadae*, *S. acaule*, *S. chacoense*, *S. infundibuliforme*, *S. vernei* y *S. tuberosum* ssp. *andigenum*; estas especies crecían en sitios coincidentes y/o próximos a los sitios de colección de las especies de interés. Se encontraron citotipos tetraploides de *S. gourlayi*, que no habían sido descritos para estos sitios en colecciones previas, se realizaron especulaciones sobre su posible origen y sobre los fenómenos de hibridación interespecífica y flujo génico. Por otra parte, se realizaron cruzamientos dirigidos entre *S. spegazzinii*, *S. gourlayi* 2x y 4x, utilizando tres introducciones por especie y 15 plantas por introducción. Se establecieron combinaciones genotípicas intra- e interespecíficas, intra- e interploides, incluyendo también cultivares de la papa común, en las que se estudió la relación polen-estilo/estigma. Se detectaron problemas en la producción de semilla debido a inhibición del crecimiento de los tubos polínicos en diferentes sitios (estigma, primer

tercio, mitad y segundo tercio del estilo), así como barreras postcigóticas en combinaciones en que la relación polen-estilo/estigma fue normal. Se obtuvo semilla de cruzamientos *S. gourlayi* 4x x la papa común, lo que demuestra la posibilidad de la incorporación de germoplasma de esta especie de papa silvestre al pool de la papa cultivada. Para completar el estudio, se evaluó la variabilidad genética de dos introducciones de las dos especies mencionadas con marcadores AFLP; estas introducciones representaron los sitios de las colecciones originales, la primera regeneración *ex situ* y las nuevas colecciones realizadas en los mismos sitios después de 20-30 años. Las bandas electroforéticas (presencia/ausencia) fueron analizadas mediante análisis de componentes principales, análisis de agrupamiento y análisis de la variabilidad molecular. En el análisis molecular, se observó una extensa superposición de plantas de las dos especies, lo que se puede atribuir a limitaciones de los marcadores AFLP para la separación de estas taxa, o a un posible origen híbrido de las poblaciones muestreadas.

Palabras Clave: *Solanum*, especies silvestres, simpatría, flujo génico, variabilidad genética, barreras a la hibridación, variabilidad molecular, AFLP.

ABREVIATURAS

ACP: Análisis de Coordenadas Principales

AFLP: *Amplified Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismo para la longitud de los fragmentos amplificados)

AMOVA: Análisis de la Varianza Molecular

ARM: Árbol de Recorrido Mínimo

CIE: Clausen, Erazzú

GPS: *Global Positioning System*. (Sistema de posicionamiento global)

NBE: Número de Balance del Endosperma

RAPD: *Random Amplified Polymorphic DNA* (Polimorfismo de ADN aleatoriamente amplificado)

SM: *Simple matching* (Apareamiento simple)

UPGMA: *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages* (Método de agrupamiento no ponderado con medias aritméticas)

Especies de papa

acl: *Solanum acaule*

adg: *Solanum tuberosum* ssp. *andigenum*

chc: *Solanum chacoense*

cmm: *Solanum commersonii*

grl: *Solanum gourlayi*

ifd: *Solanum infundibuliforme*
oka: *Solanum okadae*
spg: *Solanum spgazzinii*
tbr: *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*
vrn: *Solanum vernei*

Coleccionistas

Oka: Okada
OL: Okada y Lucarini
ORHL: Okada, Rahn, Hjerting y Lucarini

Colecciones de *Solanum spgazzinii*

so:original –OL 4911
sm: primera multiplicación–OL 4911
sn: nueva-CIE 1581
SO: original- Oka 5662
SM: primera multiplicación - Oka 5662
SN: nueva-CIE 1561

Colecciones de *Solanum gourlayi*

go: original- OL 4858
gm: primera multiplicación- OL 4858
gn: nueva- 1575
GM: primera multiplicación- ORHL 4841
GN: nueva-CIE 1572

ABSTRACT

The common potato, *Solanum tuberosum* L., is a tetraploid species ($2n = 4x = 48$, 4EBN) that has about 200 related species which constitute an important genetic resource for breeding. However, most wild species are diploid ($2n = 2x = 24$) and, in many cases, it is not possible to directly exploit this valuable genetic resource due to the action of internal barriers that prevent hybridization; among these barriers, the post-zygotic ones are the most common in interploid crosses due to the collapse of the hybrid endosperm. However, it is possible to overcome this difficulty and to make use of the wild gene pool through ploidy manipulations. On the other hand, some authors have emphasized the need for making a greater use of the wild species in breeding and, in particular, they have highlighted the great potential of two species from Northwest Argentina, *S. spagazzinii* and *S. gourlayi*. In these and other potato species, in which there is an extensive overlapping of characters, the difficulty in establishing specific limits on the basis of purely morphological concepts has been pointed out. The Germplasm Bank of the EEA Balcarce, INTA, has numerous accessions of *S. spagazzinii* and both cytotypes ($2x$ and $4x$) of *S. gourlayi* that are periodically *ex-situ* regenerated and evaluated, being unknown whether they persist in their natural environments. Moreover, in previous works carried out at this Bank, a high morphological variability was observed in populations of both species from different geographic Departments of Salta province. Therefore, for this thesis, new collections of *S. spagazzinii* and *S. gourlayi* were made in sites that coincided with those of previous collections of these species. In addition, other potato species, *S. okadae*, *S. acaule*, *S. chacoense*, *S. infundibuliforme*, *S. vernei* and *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, were collected; these were growing in sites coincident with the collection sites of the two species of interest and/or close to them. Tetraploid cytotypes of *S. gourlayi* were found, that had not been described in previous collections at the same site; speculations on their likely origin and the phenomena of interspecific hybridization and gene flow were made. Moreover, controlled crosses between *S. spagazzinii*, *S. gourlayi* $2x$ and $4x$ were carried out, employing three accessions per species and 15 plants per accession. Both intra- and interspecific, intra- and interploid genotypic combinations were established, that also included common potato cultivars, to study pollen-stigma/style interactions. Problems were detected in seed production due to the inhibition of pollen tubes growth at different sites (stigma, first third, half and second third of the style), as well as to the action of post-zygotic barriers in combinations with normal pollen-stigma/style relationships. Seed were obtained from *S. gourlayi* $4x$ x common potato

crosses, which demonstrates the feasibility of incorporation of germplasm from these wild species into the cultivated potato pool. To complete the study, the genetic variability of two accessions of each of the two species was analyzed with AFLP markers; these accessions represented the original collection sites, the first *ex-situ* regeneration and the new collections made at the same sites after 20-30 years. Electrophoretic bands (presence or absence) were analyzed by principal coordinates clustering and molecular variance analyses. In the molecular analysis, an extensive overlapping of plants from the two species was observed, which can be attributed either to limitations of the AFLP markers for the separation of these taxa, or to a possible hybrid origin of the sampled populations.

Solanum wild species, sympatry, gene flow, genetic variability, hybridization barriers, molecular variability, AFLP.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La papa común, *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* (tbr¹, 2n=4x=48, 4NBE²), es una especie tetraploide con alrededor de 200 especies emparentadas que constituyen un importante recurso genético para el mejoramiento heredable (Correll, 1962; Hawkes y Hjerting, 1969; Hawkes, 1990). Estas especies presentan un gran número de características de interés agronómico susceptibles de incorporación a la papa común (Huamán *et al.*, 2000; Santini *et al.*, 2000; Davies *et al.*, 2002; Oltmans y Novy, 2002; Jansky y Peloquin, 2005).

No obstante ello, para la mayoría de las colecciones de especies silvestres de papa conservadas en bancos de germoplasma a nivel nacional y mundial no se cuenta con registros sobre los sitios de colección, tales como datos climáticos, de suelo, relieve, flora acompañante. Asimismo, los viajes de colección se han realizado (y generalmente se realizan) en áreas que no han sido previamente exploradas; de ese modo, no se cuenta con información sobre la persistencia de las poblaciones y especies originalmente muestreadas, ni sobre las modificaciones que pudieran haber ocurrido tanto en dichas poblaciones como en los ambientes en los que crecían espontáneamente.

Los datos previamente mencionados pueden brindar importante información adicional para el establecimiento de estrategias de conservación de germoplasma así como para valorar la utilidad de poblaciones (y genotipos dentro de ellas) en el mejoramiento genético por adaptación a condiciones particulares de cultivo, como baja disponibilidad hídrica o tolerancia al frío; además, permiten disponer de un punto de referencia de las condiciones ambientales en un momento dado para evaluar posibles cambios que pudieran afectar negativamente la persistencia de los recursos genéticos en sus hábitats naturales.

La utilización de este germoplasma para ampliar la base genética del cultivo e incorporar genes de interés constituye un objetivo permanente de los programas de mejoramiento genético (Ross, 1986; Ortiz, 2001). En general, mediante cruzamientos dirigidos, es factible incorporar pequeños segmentos cromosómicos de las especies

¹ Abreviatura según Simmonds (1963)

² Número de Balance del Endosperma (Johnston *et al.*, 1980)

silvestres de *Solanum*, ya que son relativamente fáciles de cruzar y no muestran una diferenciación cromosómica muy marcada con las formas tuberosas cultivadas.

Sin embargo, la mayoría de las especies silvestres son diploides ($2n=2x=24$) y, en muchos casos, no es posible aprovechar en forma directa este valioso recurso genético pues existen barreras que actúan impidiendo o restringiendo la hibridación. Las barreras pueden ser clasificadas como pre- y poscigóticas, siendo estas últimas las más frecuentes en cruzamientos interploides, en los que se manifiestan como el colapso del endosperma híbrido (Camadro y Peloquin, 1981; Grun y Aubertin, 1966; Johnston y Hanneman, 1980; Masuelli y Camadro, 1997).

Para sobreponer esta dificultad y disponer del "pool" génico de las especies silvestres de papa para el mejoramiento genético, Mendiburu *et al.* (1974) desarrollaron el esquema analítico-sintético, sobre la base del propuesto por Chase (1963) en maíz, que involucra manipulaciones de ploidía (haploidización para obtener esporofitos que presentan el número cromosómico gamético de la planta madre y poliploidización para incrementar el número de genomioms por sobre el esperado teóricamente, debido al funcionamiento de gametos $2n$, que son gametos (oósfemas) y gametofitos (microsporas) con el número no reducido de cromosomas.

Por otro lado, Ross (1986) resaltó el aporte concreto de las especies silvestres de genes de interés agronómico en el desarrollo de cultivares de papa. Así, desde 1954 a 1986 se obtuvieron en Europa 98 variedades de papa con germoplasma de un grupo de 10 especies silvestres que confirieron resistencia a numerosos patógenos e insectos perjudiciales de la papa. Una situación similar ocurrió en América del Norte, en donde 11 especies silvestres aportaron germoplasma para resistencia a factores adversos en el desarrollo de 124 variedades. Además, Ross (1986) expresó la necesidad de realizar una mayor utilización de las especies silvestres en el mejoramiento genético, y resaltó la gran potencialidad de un grupo de especies en particular, en el que se encuentran *S. spegazzinii* (spg, $2n=2x=24$; 2NBE) y *S. gourlayi* (grl, $2n=2x=24$, 2NBE, y $2n=4x=48$, 4NBE), que crecen espontáneamente en el noroeste argentino (NOA).

Paralelamente, la adecuada caracterización y ordenamiento del germoplasma es un requisito fundamental para hacer un uso eficiente y eficaz de este recurso. En este

sentido, Spooner y van den Berg (1992) observaron la dificultad en establecer límites definidos entre las especies silvestres de papa sobre la base de conceptos puramente morfológicos, ya que existe una extensa superposición entre numerosos caracteres estudiados. Spooner *et al.* (1995) mostraron que distintos autores difieren en la interpretación de los límites y definiciones de ciertos taxa. Así, se describen o diferencian especies sobre la base de muy pocos caracteres que, además, muestran gran variabilidad y baja repetibilidad, se especula sobre el origen híbrido de algunas especies y se dispone de escasa información sobre la variabilidad presente dentro y entre introducciones. El Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras de la EEA Balcarce, INTA, dispone de numerosas introducciones de spg y de ambos citotipos de grl de viajes de colección realizados en diferentes años, las que se regeneran periódicamente y evalúan *ex situ*. En trabajos previos de este Banco, Ispizúa (1994) observó una alta variabilidad morfológica para poblaciones de spg provenientes de diferentes Departamentos de Salta y propuso su ubicación en tres grupos morfológicos dado que las plantas presentaban diferencias en varios caracteres. Observaciones similares sobre la variabilidad morfológica fueron detectadas en algunas introducciones de grl que habitualmente se regeneran en el Banco (Clausen, com. pers., 2001).

Erazzú *et al.* (1999) observaron relaciones de incompatibilidad polen-pistilo entre y dentro de los tres grupos morfológicos propuestos por Ispizúa (1994) y detectaron barreras precigóticas a la hibridación tanto en combinaciones genotípicas dentro de dos de los grupos como entre los tres grupos morfológicos; estas barreras consistían en la detención de crecimiento de los tubos polínicos en diferentes niveles del pistilo.

Actualmente, por medio de marcadores de tipo bioquímico y/o molecular es posible realizar estudios que permitan una mejor comprensión de la estructura y variabilidad genética de las poblaciones, y que contribuyan a la definición objetiva de límites específicos, así como a despejar dudas sobre el posible origen de ciertas introducciones.

OBJETIVO

Caracterizar genéticamente las poblaciones de especies silvestres spg y grl e incorporación de germoplasma silvestre a la papa cultivada para su utilización en programas de mejoramiento genético.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Coleccionar germoplasma de spg y grl en diferentes zonas del NOA.
2. Caracterizar ecológicamente los hábitats de las poblaciones que se coleccionen.
3. Determinar las relaciones de compatibilidad polen pistilo entre spg, grl y tbr.
4. Tamizar por producción de polen $2n$ y, eventualmente, óosferas $2n$ las poblaciones silvestres diploides de spg y grl , provenientes del bancos de germoplasma de papa de la EEA Balcarce y nuevas colecciones.
5. Obtener híbridos interespecíficos entre genotipos de spg y del citotipo $2x$ de grl que produzcan gametos $2n$ y tbr.
6. Caracterizar molecularmente las poblaciones de spg y grl provenientes del banco del germoplasma de papa de la EEA Balcarce y nuevas colecciones.
7. Determinar el modo de reproducción preponderante de las poblaciones coleccionadas.

HIPÓTESIS

1. Las especies spg y grl persisten en los diferentes ambientes del NOA donde fueron coleccionadas hace más de 20 años.
2. Las especies spg, grl y tbr son compatibles en el nivel polen–pistilo.
3. Algunos genotipos de spg y grl producen gametos $2n$.

4. Los cruzamientos entre genotipos de spg y grl que producen gametos $2n$ y tbr generan híbridos tetraploides.

5. Es posible separar por patrones de bandas electroforéticas para marcadores moleculares AFLP:
 - a. las poblaciones de spg y grl
 - b. las colecciones del banco de germoplasma y las nuevas colecciones de los mismos sitios.

6. Las poblaciones de spg y grl se reproducen, predominantemente, en forma sexual.

Capítulo 1

PERSISTENCIA DE POBLACIONES DE *SOLANUM SPEGAZZINII* Y *SOLANUM GOURLAYI* EN SALTA Y JUJUY Y DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DE CRECIMIENTO

INTRODUCCIÓN

La papa común, *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* (tbr, $2n=4x=48$, 4 NBE), presenta alrededor de 200 especies emparentadas que constituyen un importante recurso genético para el mejoramiento heredable, dado que presentan un gran número de características de interés agronómico como resistencia/tolerancia a factores bióticos y abióticos adversos y de calidad culinaria e industrial (Correll, 1962; Hawkes y Hjerting, 1969; Hawkes, 1990, Huamán *et al.*, 2000; Santini *et al.*, 2000; Davies *et al.*, 2002; Oltmans y Novy, 2002; Jansky y Peloquin, 2005).

La importancia de las especies silvestres en el mejoramiento genético de la papa fue resaltada por Ross (1986), debido a que un gran número de cultivares europeos y americanos contienen genes deseables de este germoplasma. Por otra parte, este mismo autor puso énfasis en la necesidad de realizar una mayor utilización de las especies silvestres en el mejoramiento genético y resaltó la gran potencialidad en ese sentido de un grupo en particular, en el que se encuentran incluidas las especies argentinas *Solanum spegazzinii* Bitt. y *S. gourlayi* Hawkes.

Solanum spegazzinii (spg, $2n=2x=24$, 2NBE) es una especie endémica de las provincias de Salta, Catamarca y La Rioja, extendiéndose su distribución hasta la provincia de San Juan (Hawkes y Hjerting, 1969). Presenta resistencia contra agentes bióticos adversos tales como *Fusarium* spp., *Synchytrium endobioticum*, cierto grado de resistencia a *Phytophthora infestans*, *Verticillium albo-atrum* y *Globodera* (Ross, 1986; Rousselle-Bourgeois; Mugniery, 1995; Rouppe *et al.*, 1997). Además, posee características deseables de los tubérculos como bajo contenido de azúcares reductores, que es deseable para el proceso industrial.

Por su parte, *Solanum gourlayi* (grl, $2n=2x=24$, 2NBE y $2n=4x=48$, 4NBE), se distribuye en la Argentina en las provincias de Salta y Jujuy (Clausen y Okada, 1987; Van den Berg *et al.*, 1998; Clausen *et al.*, 2005). Es fuente de resistencia a *Globodera*

pallida y *Fusarium* spp. (Lynch *et al.*, 2003) y presenta bajo contenido de azúcares reductores (Bamberg *et al.*, 1996; Hayes y Thill, 2002). Santini *et al.* (1976) y Santini *et al.* (2000) trabajaron con plantas híbridas de esta especie con la papa común y con familias derivadas de haploides de tbr polinizados con polen de spg, grl y *S. chacoense* (chc, $2n=2x=24$, 2 NBE), en las que detectaron características deseables de los tubérculos como alto rendimiento y buena calidad (materia seca de 21,8% vs. 17-20% informado para tbr por Cacace *et al.*, 1994); buena textura y color de la piel y profundidad de ojos.

Las dos especies mencionadas ocupan áreas de valles intermontanos del NOA (Hawkes y Hjerting, 1969; Hanneman, 1989). El Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras de la EEA Balcarce, INTA, dispone de numerosas introducciones de spg y de ambos citotipos de grl de viajes de colección realizados en diferentes años, las que se regeneran periódicamente y evalúan *ex situ*. En trabajos previos de este Banco, Ispizúa (1994) observó una alta variabilidad morfológica para poblaciones de spg provenientes de diferentes Departamentos de Salta y propuso su ubicación en tres grupos morfológicos dado que las plantas presentaban diferencias en caracteres de ancho y largo del primer folíolo lateral y del terminal, forma del ápice terminal, color de hoja, color de corola y pubescencia, según sigue: a) en Quebrada de Escoipe, plantas con folíolos terminal y 1° folíolo lateral angostos (0,8-1,7 cm), largo del folíolo terminal y 1° folíolo lateral reducidos (2,8-4,2 cm), ápice acuminado, corola púrpura y baja pubescencia; b) en Quebrada Calchaquí, plantas con folíolos terminal y 1° folíolo lateral anchos (1,5-2,5 cm), folíolo terminal y 1° folíolo lateral de mayor longitud (4,5-7 cm), ápice agudo, corola violeta pálido con tintes violáceos y acumen blanco, y densa pubescencia y c) en Quebrada de Belén, plantas con ancho y largo de folíolos terminal y 1° folíolo lateral similares a los de la Quebrada Calchaquí, con ápice agudo, corola violeta pálido y escasa pubescencia; observaciones similares sobre la variabilidad morfológica fueron detectadas en algunas introducciones de grl que habitualmente se regeneran en el Banco de Germoplasma de Balcarce (Clausen, com. pers., 2001).

Erazzú *et al.* (1999) observaron relaciones de incompatibilidad polen-pistilo entre y dentro de los tres grupos morfológicos propuestos por Ispizúa (1994) y detectaron barreras precigóticas a la hibridación tanto en combinaciones genotípicas dentro de dos de los grupos como entre los tres grupos morfológicos; estas barreras consistían en la detención de crecimiento de los tubos polínicos en diferentes niveles del pistilo.

Recientemente, Erazzú y Camadro (2008) informaron sobre el comportamiento reproductivo inesperado, de acuerdo a la ubicación taxonómica, de introducciones morfológicamente variables de spg y grl en cruzamientos controlados intra- e interespecíficos. De hecho, un alto porcentaje de combinaciones intra- e intergenotípicas no produjeron semilla (77% en spg, 60% en grl 2x, 66% en híbridos spg x grl 2x y 84% en híbridos grl 2x x spg, respectivamente) debido a barreras precigóticas que actuaban en numerosos sitios (estigma, primer tercio, mitad y segundo tercio del estilo) y presumiblemente barreras postcigóticas dado que un gran número de tubos polínicos que fueron observados creciendo entre los óvulos.

Para el aprovechamiento del germoplasma silvestre en el mejoramiento de la papa común se requiere una primera etapa de exploración y colección de las especies en cuestión, seguida de una segunda etapa de caracterización y evaluación. Para la conservación del material coleccionado se pueden utilizar dos estrategias complementarias: la conservación *ex situ* en bancos de germoplasma, cuando las especies son consideradas de importancia estratégica y/o con riesgo de extinción, y la conservación *in situ* en las zona de origen, en hábitats naturales, expuestas a los procesos de selección natural (Maxted *et al.*, 1997). Además, la caracterización del ambiente donde las especies silvestres crecen y se reproducen es de sumo interés para el diseño de las estrategias de conservación y para la elección de progenitores (o especies parentales) con fines determinados de mejoramiento genético (por ej. tolerancia a sequía).

En general, para una parte importante de las colecciones de papa a nivel mundial se carece de registros ambientales de los sitios en los que se desarrollan las poblaciones muestreadas (por ej. datos climáticos, de relieve, tipo de suelo, flora acompañante). Además, no se dispone de registros sobre la persistencia de las poblaciones y especies silvestres a través del tiempo en los ambientes naturales. Del mismo modo, para estas colecciones sólo esporádicamente se ha registrado el número de plantas muestreadas y la distancia entre ellas, el (los) propágulos (semilla, tubérculo, esqueje) muestreado(s) y el número de propágulos muestreado por planta. El registro sistemático de estos datos permitiría disponer de información más amplia para una mejor valoración de las colecciones con fines de mejoramiento genético (con el consecuente aumento de eficiencia y reducción de costos operativos) y obtención de estimaciones más precisas de riesgo de erosión genética de las poblaciones muestreadas en los ambientes naturales.

Por otro lado, las intervenciones antrópicas a través de acciones de aprovechamiento-extracción-destrucción, desarrollo de infraestructura vial, exceso de carga animal y sobrepastoreo impactan de modo negativo continuo y creciente en estos ambientes, conduciendo a su degradación (Bertonatti y Corcuera, 2000; Vorano y Vargas Gil, 2002).

Una adecuada caracterización y ordenamiento del germoplasma es requisito fundamental para hacer un uso eficiente y eficaz de este recurso en programas de mejoramiento genético. El objetivo de este trabajo fue determinar la persistencia *in situ* de seis poblaciones de las especies silvestres de papa grl (2x y 4x) y spg que fueron muestreadas en distintos valles andinos hace más de 20 años, que son de interés en el mejoramiento genético, y describir las características de los ambientes naturales en los que se realicen las nuevas colecciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colección

El viaje de colección se planificó para el mes de marzo de 2004, teniendo en cuenta las fechas de colecciones anteriores, por la alta probabilidad de encontrar plantas con frutos. Se recorrieron los valles andinos donde originalmente fueron coleccionadas las introducciones de grl y spg que se presentan en el Tabla 1, en valles aledaños a las Quebradas de Humahuaca, Jueya y Lipán (Pcia. de Jujuy) y las Quebradas Calchaquí, del Toro y Escoipe (Pcia. de Salta) entre los 3670 y 2760 m de altitud.

Tabla 1: Sitios de colección de introducciones de *Solanum gourlayi* y *S. spegazzinii* en valles del NOA disponibles en el Banco de Germoplasma de la EEA Balcarce (Okada y Lucarini, 1973 y Okada, 1974 y 1983 en Clausen y Castaño, 1998)

Especie	Introducción	2n ^b	Sitios de colección				
			Provincia	Departamento	Quebrada (Qbda) – Localidad	Latitud, longitud y altitud	Fecha de colección
grl	Oka7588 A ^a	48	Jujuy	Tilcara	Qbda de Jueya – Jueya	23°30'S-65°27'O 2700 msnm	08/04/83
	Oka7547 A	48	Jujuy	Tumbaya	Qbda de Lipán – Lipán	23°36'S-65°35'O 3300 msnm	31/03/83
grl	ORHL4841	24	Salta	La Poma	Qbda Calchaquí - El Rodeo	24°33'S-66°12'O 3900 msnm	21/03/73
	OL4858	24	Salta	Rosario de Lerma	Qbda del Toro - Las Cuevas	24°20'S-66°05'O 3500 msnm	27/03/73
spg	OL4911	24	Salta	Chicoana	Qbda de Escoipe - Cuesta del Obispo	25°10'S-65°52'O 3340 msnm	04/04/73
	Oka5662	24	Salta	La Poma	Qbda Calchaquí-Peña Agujereada	24°49'S-66°10'O 2620 msnm	09/04/74

^a Coleccionistas: Oka: Okada; OL: Okada y Lucarini; ORHL: Okada, Rahn, Hjerting y Lucarini; ^b número cromosómico somático

Muestreo

Se realizaron registros de altitud, latitud y longitud con un posicionador satelital (GPS, *global positioning system*) y altímetro de mano, y se revisaron las notas originales de descripción de los sitios donde se habían coleccionado anteriormente las introducciones. Se coleccionaron bayas de las introducciones de interés, considerando la estrategia propuesta por Marshall y Brown (1975) de muestreo de la diversidad genética. Se tomaron alrededor 50 individuos como número efectivo adecuado para cada población y cinco a diez frutos por planta fructificada fueron coleccionados. Cuando no fue posible coleccionar frutos, se coleccionaron plántulas y/o tubérculos (Frankel y Hawkes, 1975). Se herborizaron plantas de las especies de papa silvestres y cultivadas de cada sitio de colección, así como de la flora

acompañante, y los especímenes se depositaron en el herbario BAL de la EEA Balcarce, INTA.

Acondicionamiento del material

El material coleccionado como semilla fue tratado según las normas establecidas por el Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras de la EEA Balcarce, INTA (limpieza de bayas, determinación del poder germinativo según normas ISTA 2003, secado de semillas con silica gel), y acondicionado en sobres. Si no se disponía de suficiente semilla en la temporada siguiente se procedió a la regeneración de los materiales genéticos; la conservación se realizó en cámara a temperatura constante de 3°C. Las semillas utilizadas en este estudio se conservaron en sobres de papel hasta la siembra. El material coleccionado como tubérculos o en forma de plántula se acondicionó en macetas en invernáculo y, a la floración, se realizaron cruzamientos controlados para obtención de semillas.

Muestras de suelo

Se tomaron muestras compuestas de suelo, de alrededor de 3 k, de los primeros 0,20 m de profundidad donde crecían las especies silvestres de papa en los sitios de muestreo mencionados. Estas fueron analizadas en el Laboratorio de Suelos de la EEA Balcarce, INTA, por contenido de materia orgánica, pH, fósforo, conductividad eléctrica, fracciones de limo, arena, arcilla y gravas.

Recuentos cromosómicos

Se realizaron recuentos cromosómicos en muestras de 10 a 18 plantas por introducción. Las raíces de plántulas provenientes de semillas se pre-fijaron en 8 hidroxiquinoleína (0,002M) por 4 h. y se fijaron en etanol: ácido acético (3:1v/v) por 24 h. La hidrólisis se realizó en HCl 1N a 60° C durante 10'. Los ápices se tiñeron con fucsina leucobásica (Coleman, 1938) durante 4 h en oscuridad y se aplastaron en portaobjetos para su observación en microscopio óptico.

Descripción del ambiente

Se realizó una recopilación de información para la descripción y características de estos ambientes del NOA de Cabrera (1994), Cabrera y Willink (1980), Vorano y Vargas Gil (2002), Bertonatti y Corcuera, (2000) y Bianchi (1996). En cada sitio muestreado se realizó la descripción de la flora acompañante de interés, se herborizaron plantas para su identificación, se registró el relieve ocupado por las plantas de papas, se tomaron fotos de cada sitio, y se recopilaron datos de temperatura y precipitación de las zonas próximas a cada uno de los sitios (Vorano y Vargas Gil, 2002); en caso de no contarse con dichos datos, los mismos se estimaron por la metodología de Bianchi (1996).

RESULTADOS

Itinerario

Las siguientes provincias y localidades fueron visitadas: a) Salta: Valles Calchaquíes, Cafayate, Cachi, La Poma; Quebrada del Toro, Campo Quijano, Chicoana; Quebrada de Escoipe, Cuesta del Obispo y b) Jujuy, Tilcara: Quebrada de Jueya, Purmamarca: Quebrada de Lipán, Humahuaca, Coctaca, Hornillos y San Salvador de Jujuy (Figura 1).

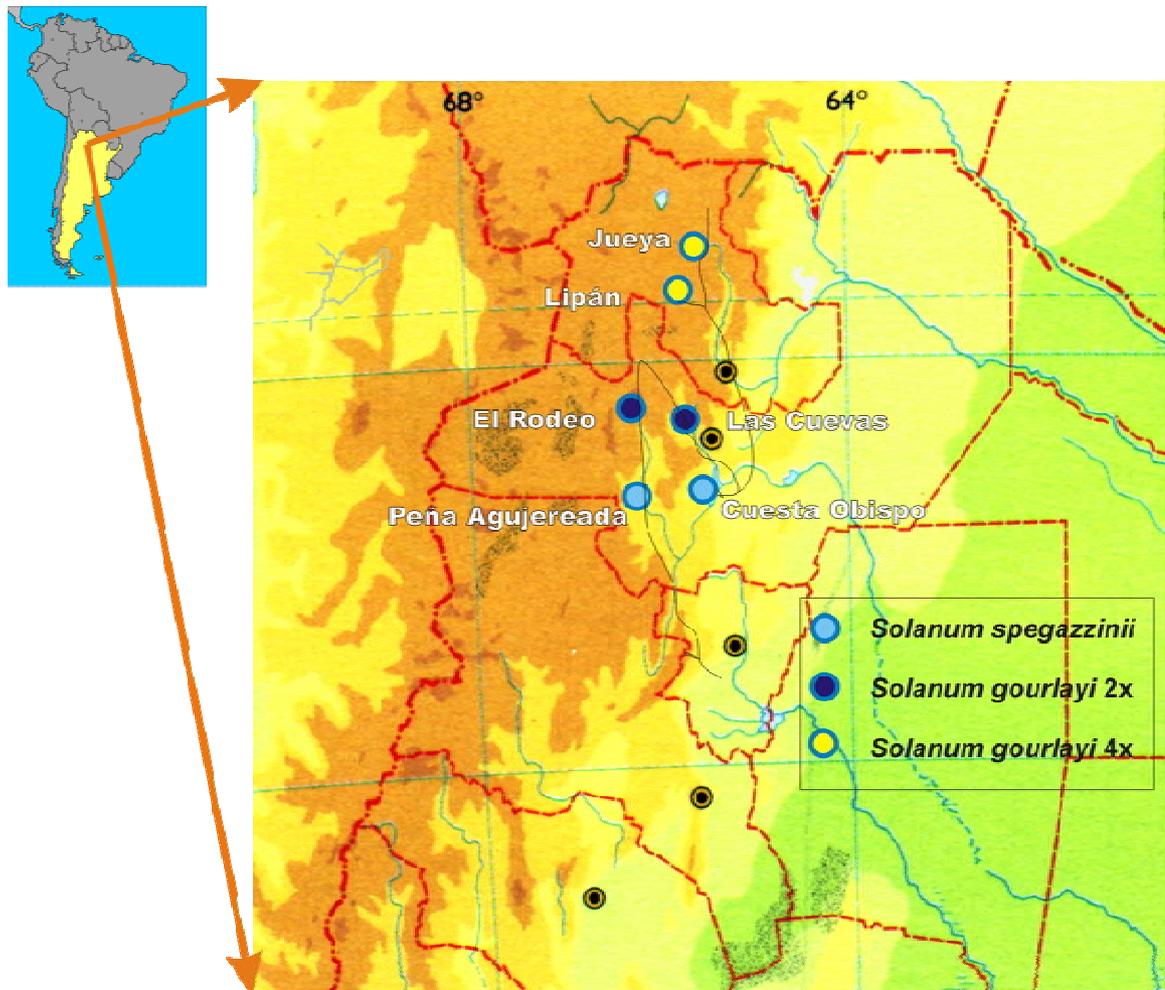


Figura 1: Mapa del NOA indicando el recorrido del viaje de colección de papas silvestres.

Sitios de colección

Los datos de coordenadas y notas de campo se utilizaron para ubicar con gran precisión los sitios de colección descritos de interés aunque, en cada caso, para ubicar un sitio como próximo o coincidente se analizaron los registros disponibles y anotaciones del libro “notas de campo” del Banco de Germoplasma (Clausen y Castaño, 1998). Las notas de la primera colección (original) ubicaban con precisión la mayoría de los sitios, aunque en ciertos casos se verificaron divergencias con las coordenadas y altitudes de referencia registradas o ambigüedades en las notas de campo, lo que motivó la visita de varios lugares alternativos hasta que se confirmó la

ubicación más probable. Durante el viaje se coleccionaron muestras de poblaciones que fueron asignadas a las especies silvestres de papa *S. gourlayi*, *S. spegazzinii*; *S. okadae* Hawkes et Hjerting (oka), *S. acaule* Bitter (acl), *S. chacoense* Bitter, *S. infundibuliforme* Phil. (ifd), *S. vernei* Bitter et Wittm. (vm) y *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (Juz. et Buk.) Hawkes (adg).

Entradas coleccionadas

1. Pcia de Salta:

1.1. Quebrada Calchaquí

CIE 1561³. *S. spegazzinii*, en Departamento La Poma, probable sitio de colección de Oka 5662, 1 km al Norte de Peña Agujereada, cerca del río Calchaquí, a ambos lados de la ruta nacional n° 40 y a 800 m del km 1248. Latitud 24°49'69 S, longitud 66°09'84 O, altitud 2762 msnm. Se ubicó una población de aproximadamente 500 plantas a pocos metros de la ruta nacional n°40, sobre ambos costados, en una superficie de 5 por 20 m. en un típico cono de deyección de pendiente 20%, en suelo de escaso desarrollo. Las plantas no tenían frutos y presentaban un estado vegetativo de apenas 4 a 6 hojas. Se muestrearon 15 tubérculos de cada lado de la ruta, y de cada planta muestreada se tomó un duplicado; se herborizaron plantas de esta población. El aspecto de las plantas se correspondía con el tipo de abundante pubescencia descrito por Ispizúa (1994) Las especies acompañantes fueron: *Larrea* spp., *Eupatorium* spp., *Prosopis ferox*, *Brea* spp., *Trichocereus pasacana* y otras Cactáceas. Las plantas de papa se encontraban protegidas del pastoreo y pisoteo por el ganado, creciendo bajo los arbustos espinosos y cardones (Figura 2).

³ Coleccionistas: Clausen, A. M.: Erazzú, L. E.



Figura 2: Vista general del sitio de colección de CIE 1561

CIE 1566. *S. gourlayi*, en Departamento La Poma, en La Quesera, cerca del río Calchaquí, a ambos lados de la ruta nacional n° 40, junto a una pirca cercana a una vivienda y creciendo como maleza en un lote sembrado de arvejas. Latitud 24°32' S - longitud 66°11' O, altitud 3645 msnm. Se coleccionaron bayas de alrededor 50 plantas y se herborizó material; la población, muy abundante, estaba representada por aproximadamente 500 plantas.

CIE 1567. *S. acaule*. En el mismo sitio anterior, creciendo junto a una pirca, se identificó una población representada por pocas plantas (14) de las que se cosecharon frutos y se herborizó material.

CIE 1568. *S. gourlayi*, en Departamento La Poma, en La Quesera, una quebrada angosta y perpendicular al río Calchaquí, a 50 m de la ruta nacional nº 40. Latitud 24°32' 569 S, longitud 66°11'388, altitud 3602 msnm. Se coleccionaron semillas de alrededor 20 plantas y herborizó material, la población era de aproximadamente 500 plantas.

CIE 1569. *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, astilla rosada; **CIE 1570.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, cuarentona; **CIE 1571.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, Redonda blanca. Todas en el mismo sitio anterior, se obtuvieron tubérculos de cada una.

CIE 1572. *S. gourlayi*, en Departamento La Poma, probable sitio de colección de Oka 4841, km 1289, a 1,5 km de El Rodeo, entre la Quesera y El Rodeo, a ambos lados del camino, muy común. Latitud 24°31' 972 S, longitud 66°11'279 O, altitud 3672 msnm. La quebrada en este sitio se transforma en un angosto desfiladero con altas laderas a ambos lados que enmarcan el río paralelo a la ruta nacional nº 40. Se coleccionaron bayas de 5 plantas y tubérculos de 30 plantas, herborizándose material. La población consistía de aproximadamente 500 plantas; los tubérculos muestreados correspondieron a 15 plantas del lado del río paralelo al camino y 15 plantas del lado de la ladera opuesta; en ambos lugares se tomaron muestras duplicadas. Las especies acompañantes eran: *Satureja parvifolia* (Phil.) Epling (muña-muña), *Baccharis grisebachii* Hieron., *Cortaderia rudiusscula* Stapf, *Mutisia kurtzii* R.E.Fr. var. *anomala* (Lillo) Cabrera, *Stipa* spp., *Festuca* spp., *Baccharis ulicina* Hook. & Arn. El ambiente se caracteriza por ser más húmedo que el entorno debido al reparo de las laderas que determinan la configuración de un lugar sombreado y al aporte adicional de agua dado por el relieve. El suelo presenta mayor desarrollo, alrededor 20 cm de profundidad por aporte aluvional dado que por allí bajan quebradas húmedas hacia la Quebrada Calchaquí. La precipitación y temperatura se encuentran fuertemente influenciadas por el relieve del sitio que provoca un escurrimiento superficial y mayor aporte hídrico lo que posibilita un mayor desarrollo y número de especies (Figura 3).



Figura 3: Vista general del sitio de colección de CIE 1572

1.2. Quebrada del Toro

CIE 1575. *S. gourlayi*, en Departamento Rosario de Lerma, probable sitio de colección de Oka 4858, 6 km al NO de Las Cuevas, sobre ruta nacional nº 51, en sentido a San Antonio de los Cobres, a 4-5 m, lado derecho de la ruta. Latitud 24°20' 74 S, longitud

66°03'64 O, altitud 3500 msnm. Se coleccionaron tubérculos de las 11 plantas que representaban esta población y se herborizó material. Algunas plantas de papa estaban comidas por el ganado, y los folíolos se presentaban glaucos y carnosos. Las especies acompañantes eran: *Senecio* spp. y otra vegetación acompañante seca que no pudo identificarse. El relieve estaba enmarcado por una ladera empinada de pedregullo suelto donde las piedras de mayor tamaño formaban receptáculos que contenían al suelo donde crecían las plantas de papa. El cono donde se encontraban las plantas tiene una dimensión aproximada de 10 m de alto y 7 m de ancho, con pendiente de 60%, por lo que predominaban la infiltración y escurrimiento superficial, determinando una baja acumulación de humedad en el suelo (Figura 4).



Figura 4: Vista general del sitio de colección CIE 1575

1.3. Quebrada de Escoipe

En la misma hay un cambio de ambiente importante con respecto a las quebradas descritas previamente, con mayor aporte hídrico y desarrollo de vegetación. **CIE 1578**. *S. spegazzinii*, en Departamento Chicoana, km 62 de la ruta nacional n° 33, en

una curva, al lado izquierdo de la ruta hacia Chicoana. Latitud 25°11'162 S, longitud 65°51'20 O, altitud 3272 msnm. Se coleccionaron bayas de dos plantas, había una sola planta en flor, y la población era de aproximadamente 50 plantas. Se herborizó una planta. La población crecía en un cono con suelo descubierto, protegida por arbustos.

CIE 1579. *S. vernei*, en Departamento Chicoana, junto a la ruta nacional n° 33, en una curva, al lado izquierdo de la ruta hacia Chicoana. Latitud 25°10'95 S, longitud 65°50'647 O, altitud 3070 msnm. Se herborizó una planta. La población se encontró creciendo junto y debajo de *Nicotiana glauca* (palán-palán).

CIE 1580. *Solanum riparium*.

CIE 1581. *S. spegazzinii*, en Departamento Chicoana, probable sitio de colección de Oka 4911, km 56 de la ruta nacional n° 33, al lado derecho de camino a Cuesta del Obispo. Latitud 25°10'244 S, longitud 65°50'823 O, altitud 3005 msnm. La población era de aproximadamente 100 plantas, se coleccionaron semillas de 20 plantas, tubérculos, material para herborizar y muestras de suelo, se observaron plantas y bayas comidas probablemente por cabras y ovejas. El ambiente es muy rico en vegetación y la misma presenta gran crecimiento vegetativo, las especies acompañantes eran: *Aloysia citriodora* Palau, *Senecio* spp., *Salvia* spp., *Festuca* spp., *Bidens andicola* Kuntze, *Tagetes minuta* L., *Acacia* spp., *Grindelia* spp. El muestreo de la población se realizó a lo largo de 200 m, alrededor de 20 plantas con bayas. Las plantas de papa desarrollaron estolones muy largos (6 metros) y estaban comidas por el ganado, ninguna en flor (Figura 5).



Figura 5: Vista general del sitio de colección de CIE 1581

CIE 1582. *S. spegazzinii*, en Departamento Chicoana, Quebrada El Sunchal, km 54 de la ruta nacional n° 33, junto a una ladera pedregosa en una curva. Latitud 25°09'81 S, longitud 65°50'389 O, altitud 2864 msnm. La mayoría de las plantas de la población estaban en floración, se herborizó una planta y se coleccionaron tres bayas de una planta. Las especies acompañantes eran: *Aloysia citriodora* Palau, *Senecio* spp., *Salvia* spp., *Festuca* spp., *Bidens andicola* Kuntze, *Tagetes minuta* L.

CIE 1583. *S. okadae*, en Departamento Chicoana, San Martín, al lado izquierdo de la ruta nacional n° 33 hacia Chicoana. Se observaron en un precipicio pocas plantas (6), en floración, se coleccionó una baya y se herborizó una planta. Latitud 25°10'258 S, longitud 65°49'75 O, altitud 2798 msnm. Las especies acompañantes eran: *Bromus* spp., *Oxalis* spp., *Vicia* spp.

CIE 1584. *S. spegazzinii*, en Departamento Chicoana, a 200 m del pie de la Cuesta, km 43,7 de la ruta nacional n° 33, junto a la ruta en una curva y cerca de una casa, las plantas de la población estaban a ambos lados del camino. Latitud 25°11'306 S, longitud 65°48'170 O, altitud 2354 msnm. Se coleccionaron numerosas bayas y se herborizó una planta. Las especies acompañantes eran: *Grindelia* spp., *Salvia* spp., a 400 m de *S. chacoense* (CIE 1585).

CIE 1585. *S. chacoense*, en Departamento Chicoana, después de la Hostería “El Maray”, km 40, en una curva pronunciada, al lado izquierdo de la ruta nacional n° 33, hacia Chicoana. Paisaje con laderas muy altas, las plantas de la población creciendo sobre un suelo desnudo, rojo. Latitud 25°10'819 S, longitud 65°46'595 O, altitud 2139 msnm. De la población de alrededor 30 plantas en floración y con bayas Se coleccionaron numerosas bayas de 20 plantas y se herborizó una planta.; se cosecharon bayas de 20 plantas Especies acompañantes: *Zinnia* spp., *Nicotiana glauca*, *Senecio* spp., *Salvia* spp. Suelo rojo.

CIE 1586. *S. spgazzinii*, en Departamento Chicoana, km 37 de la ruta nacional n° 33, al lado izquierdo de la ruta hacia Chicoana. Latitud 25°10'68 S, longitud 65°45' O, altitud 2030 msnm. Se coleccionaron tubérculos y una baya; se herborizó una planta. La población consistía de pocas plantas (30) que crecían en un suelo desnudo originado en un cono pedregoso de derrumbe que avanzó sobre la ruta y hacia un precipicio de 80 m. Las plantas, con estolones muy largos de aproximadamente 5 m. (Figura 6), estaban creciendo aisladas, pisoteadas y comidas por el ganado.



Figura 6: Vista general de los estolones de plantas de CIE 1586

2. Pcia Jujuy

2.1. Quebrada de Jueya

CIE 1587. *S. gourlayi*, en Departamento Tilcara, probablemente el mismo sitio de colección de Oka 7588A, a 10 km al oeste de la ruta nacional n° 9, sobre el lado norte de la Quebrada de Jueya. Latitud 23°29' 22 S, longitud 65°26'651 O, altitud 2990 msnm. Las población consistía de aproximadamente 500-600 plantas, no tenían flores ni bayas y estaban comidas por el ganado, crecían sobre la ladera norte más sombreada y entre piedras sueltas en una extensión de 20 x 20 m. Se coleccionaron 29 tubérculos con un duplicado de estas muestras y herborizó una planta. Las especies acompañantes eran: *Satureja parvifolia*, *Nicotiana glauca*, *Grindelia* spp., *Aloysia citriodora* and *Senecio* spp. El cardón no se encontró en este sector, se presenta a mayor altura (Figura 7).



Figura 7: Vista general del sitio de colección CIE 1587

CIE 1588. *S. infundibuliforme*, en sitio próximo a Oka 7588A (200 m.), del lado sur de la Quebrada de Jueya. La población era de seis plantas sin flores ni bayas, que crecían en la ladera más seca por la mayor exposición al sol. Las plantas de ifd estaban en el borde de cojines de *Tillandsia* spp., entre cardones, *Zinnia* spp. y *Justicia tweediana*.

CIE 1590. *S. gourlayi*, en Departamento Tilcara, 9,1 km al oeste de la ruta nacional n° 9, sobre el lado norte de la Quebrada de Jueya. Latitud 23°29' 46 S, longitud 65°26'397 O, altitud 2831 msnm. Las plantas de la población crecían en un cono pedregoso triangular, algunas presentaban síntomas de roya; no tenían flores y se coleccionó una baya, tubérculos y se herborizó una planta. Las especies acompañantes eran: *Bowlesia* spp., *Prosopis* spp., *Baccaris* spp., *Senecio* spp. y *Bromus catharticus*.

2.2. Quebrada de Lipán

CIE 1593. *S. gourlayi*, en Departamento Tumbaya, Quebrada de Lipán, en un sitio llamado Azul. El campo del Sr. Sambrana Santos con cultivos de maíz, habas, papa y durazneros. Latitud 23°39' 314 S, longitud 65°34'472 O, altitud 3076 msnm. Las plantas tenían bayas, sin flores, se muestrearon 7 plantas, varios tubérculos que se encontraban muy cerca de la base de la planta (estolones cortos) y se herborizó una planta. En el mismo sitio que CIE 1593 se coleccionaron:

CIE 1594. *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Cuarentona. **CIE 1595.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Blanca o Perita. **CIE 1596.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, Blanca con tintes rosados.

CIE 1597. *S. gourlayi*. Departamento de Tumbaya, Quebrada de Lipán, probablemente mismo sitio de colección de Oka 7547A, dos horas a pie rumbo hacia el norte por el lado este de la quebrada. Latitud 23°38' 489 S, longitud 65°34'292 O, altitud 3188 msnm. La población consistía de alrededor 100 plantas sin flores ni bayas, con tubérculos en inicio de brotación. Se muestrearon 50 plantines y tubérculos y se herborizó una planta. Las plantas estaban creciendo en un lote pedregoso al costado del río, suelo rojizo, muy erosionado pero enriquecido con abono orgánico (deyecciones de animales en descomposición). Las especies acompañantes eran: *Cortaderia rudiusscula*, *Aloysia citriodora*, *Satureja parvifolia*, *Medicago sativa* L. y *Trichocereus* spp. a 10m (Figura 8).



Figura 8: Vista general del sitio de colección CIE 1597

CIE 1598. *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Rosada. Departamento de Humahuaca, Coctaca, campo de Lorenzo González, en la banda junto al río. Latitud 23°08'63 S, longitud 65°17'85 O, altitud 3227 msnm. Se coleccionaron tubérculos. En el mismo sitio de CIE 1598 se coleccionaron: **CIE 1599.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Azul. **CIE 1600.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var Tuni blanca. **CIE 1601.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var Oca. **CIE 1602.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var Blanca chica. La papa semilla proviene de Iruya.

CIE 1603. *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Santa María. Departamento Humahuaca, Coctaca, campo de Lorenzo González, en la banda junto al río, a 1 km del sitio anterior. Latitud 23°08'95 S, longitud 65°17'747 O, altitud 3216 msnm. Se coleccionaron tubérculos. En el mismo sitio se coleccionaron: **CIE 1604.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Collareja. **CIE 1605.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Runa. **CIE 1606.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Runa bola.

CIE 1607. *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Chacarera. Mercado de Humahuaca, proviene de Ocumazo; **CIE 1608.** *S. tuberosum* ssp. *andigenum*, var. Collareja. Frente al Mercado de Humahuaca, al lado de la vía, se coleccionaron tubérculos de estos materiales.

Análisis de las muestras de suelo

En el Tabla 2 se presentan los análisis de las muestras de cada sitio de interés, y que se describen con datos de pH, conductividad eléctrica, contenido de fósforo, materia orgánica, y granulometría.

Tabla 2: Análisis del suelo de los sitios de colección de introducciones de *Solanum gourlayi* y *S. spegazzinii* de interés.

Muestra de Suelo	pH	Conductividad Eléctrica Mmhos ^b	Fósforo Ppm ^c	Materia Orgánica %	-----Granulometría-----				Peso total de Muestra Gr. ^d	peso gravas	
					%			Textura		<2mm ^e	>2 mm
Colección					Arena	Limo	Arcilla			Gr.	Gr.
CIE 1575	7,6	0,67	52,05	0,48	88,73	4,93	6,34	Areno Limoso	3585	1115	2047
CIE 1581 ^a	8,3	0,89	18,74	0,55	77,17	10,39	12,44	Franco Arenoso	3376	560	2815
CIE 1581 ^a	8,3	0,80	9,24	0,41	74,97	17,24	7,79	Franco Arenoso	3030	1775	1255
CIE 1587	8,3	0,89	77,13	1,79	69,11	22,14	8,75	Franco Arenoso	3625	1500	2125
CIE 1572	8,3	0,67	36,59	0,62	84,79	9,62	5,59	Areno Limoso	3160	1120	2004
CIE 1561	8,2	1,56	34,41	2,62	82,27	13,18	4,55	Areno Limoso	2940	2195	745
CIE 1597	7,1	2,67	51,39	5,38	64,41	27,49	8,11	Franco Arenoso	2620	645	1975

^a ambos lados del camino, ^b milimhos; ^c partes por millón; ^d gramos; ^e milímetros

Las muestras de suelo de los diferentes sitios donde crecían las plantas de spg y grl presentaron valores de pH que variaron desde levemente alcalinos (7,6), sin inconvenientes de movilidad de nutrientes, a aquellos con reacción alcalina (8,2), con presencia de carbonatos y limitaciones de disponibilidad de nutrientes minerales. Los elementos como hierro y fósforo precipitan formando complejos con el calcio. La salinidad no constituye un problema con los valores de conductividad medidos en las diferentes muestras. El contenido de fósforo es altamente variable, los valores altos se deben a la constitución de la roca originaria de la que deriva el limo rico en este nutriente; los valores reducidos surgen por las texturas más arenosas que le imprimen excesiva permeabilidad y lavado de los suelos, acentuado por fenómenos de erosión. En las muestras CIE 1587 y CIE 1597 los valores elevados de fósforo se deben a la acción de abonado artificial con deyecciones de animales.

La materia orgánica presenta valores muy variables, desde bajos que son determinantes de baja fertilidad a extremos inusuales para la zona (5,38 % para el sitio de colección de CIE 1597 debido a la acumulación de detritos de animales por acción antrópica y 2,62% para el de CIE 1561 por la frecuente carga animal en pastoreo y sus deyecciones).

En las diferentes muestras de suelo la presencia de gran cantidad de gravas ligadas a las texturas predominantemente arenosas determinaban drenajes excesivos, aireación y capacidad baja de uso de suelo. El material original, en general, no presenta evolución, es decir, es suelo inmaduro sin diferenciación de horizontes y dominado por roca sedimentaria debido a la influencia del relieve, por la acción aluvional, coluvional o por ser material disturbado por acción antrópica.

Recuentos cromosómicos

El número de plantas analizadas de las introducciones de spg, grl 2x y grl 4x de los sitios de interés y sus respectivos números cromosómicos se muestran en el Tabla 3.

Tabla 3: Números cromosómicos de las colecciones de *Solanum gourlayi* y *S. spegazzinii* de los sitios de interés.

Especie	Sitio, Departamento	Introducción	2n ^b	Nº de plantas analizadas
Spg	Peña Agujereada, La Poma	CIE 1561	24	10
Grl	La Quesera, La Poma	CIE 1566 ^a	48	11
Grl	La Quesera, La Poma	CIE 1566 ^a	24	6
Grl	La Quesera, La Poma	CIE 1568	24	9
Grl	El Rodeo, La Poma	CIE1572	24	14
Grl	Las Cuevas, Rosario de Lerma	CIE 1575	24	7
Spg	Cuesta del Obispo, Chicoana	CIE 1581	24	18
Spg	Cuesta del Obispo, Chicoana	CIE 1584	24	10
Spg	Cuesta del Obispo, Chicoana	CIE 1586	24	11
Grl	Jueya, Tilcara	CIE 1587	48	9
Grl	Jueya, Tilcara	CIE 1590	48	11
Grl	Lipán, Tumbaya	CIE 1597	48	11

^a ambos lados del camino; ^b número cromosómico somático

Descripción del ambiente

De acuerdo a Cabrera (1994) y Cabrera y Willink (1980), la región fitogeográfica de la provincia Prepuneña abarca las quebradas y laderas secas del NOA, desde una altitud de 1000 a 3400 msnm. Está caracterizada por un clima seco y cálido, con lluvias excesivamente estivales y distribución desuniforme con variaciones según la disposición y orientación de las montañas. La vegetación es típicamente arbustiva, baja y esparcida con la presencia de cardones del género *Trichocereus* spp. y arbustos bajos. En las depresiones y orillas de ríos crecen bosquecillos de *Prosopis ferox* o *Scinus areira* asociados con *Baccharis salicifolia*. Esta provincia está estrechamente ligada a la provincia del Monte por su fisonomía de estepa arbustiva con predominio de Zigofiláceas y Mimosoideas arbustivas (Cabrera, 1994), diferenciándose por la poca importancia de la *Larrea* spp. y la abundancia de Cactáceas columnares como *Trichocererus* spp. y de Bromeliáceas que se extienden por las laderas y quebradas secas del NOA. En este paisaje la Prepuna se encuentra condicionada no sólo por la altura sino particularmente por la disposición y orientación del relieve. Típicamente presenta laderas de cerros con conos de deyección y quebradas, los suelos de montaña son inmaduros, pedregosos-arenosos, sueltos y muy permeables. Las comunidades principales son estepa arbustiva, cardonales, bosques de churqui, bosques de arca, matorrales de molle y chilca y cojines de Bromeliáceas.

La provincia Puneña (Cabrera, 1994) de extensos bolsones comprende altitudes de 3200 a 4400 msnm la vegetación dominante es la estepa arbustiva de 40 a 120 cm de altura y suelo desnudo. Próximo a ríos se encuentran *Cortaderia speciosa*, *Satureja parvifolia* (muña muña), *Baccharis grisebachii*; en suelos algo salobres aparecen gramíneas como *Festuca scirpifolia* y en suelos arenosos y húmedos los pajonales de *Pennisetum chilense*.

Bertonatti y Concuerna (2000) y Brown *et al.* (2005) proponen la designación de ecorregiones de Puna y Prepuna según la propuesta de Burkart *et al.* (1999) en las que se caracterizan las regiones por sus particularidades en los aspectos físicos, bióticos, sociales e históricos. La Puna se encuentra entre 3000-4000 msnm rodeada de los Andes al este y oeste, es de clima seco y frío con gran amplitud térmica de hasta 30°C, las temperaturas medias anuales inferiores a 8°C y mínimas absolutas de -20°C. Las lluvias estivales varían de 100 a 200 mm anuales en promedio. Los suelos de textura sueltas, escaso desarrollo, pedregosos y escasamente cubiertos por vegetación por lo que son susceptibles a la erosión. La vegetación que predomina es la estepa arbustiva como matas dispersas (tolas, tolillas, chijua, añagua, rica-rica, suriyanta) que son comunes en sitios de concentración de agua desde las laderas a vegas o ciénagas. Los bosques de queñoa se distribuyen en laderas y quebradas de 3800 a 4300 msnm.

Otra caracterización presentada por Bianchi y Yañez (1992) describe y recopila numerosos años de registros de precipitaciones en diferentes localidades del NOA. En esta se observan las irregularidades en la distribución provocadas por la influencia orográfica. En Salta, la Quebrada del Toro presenta orientación de noroeste a sureste, transversal a los vientos dominantes, con un acceso estrecho a la quebrada o "boca bastante cerrada", encajonada por altos paredones que determina que esta sea una quebrada muy árida en toda su extensión. La quebrada de Escoipe con mejor orientación al ingreso de vientos húmedos, presenta laderas con características selváticas hasta 10 km en su interior donde se produce un pronunciado cambio de dirección de la quebrada provocando un considerable descenso de las precipitaciones. En la Cuesta del Obispo se reactivan y producen precipitaciones de alrededor 700 mm y la instalación de pastizales húmedos. En Jujuy, la quebrada de Humahuaca presenta orientación norte sur, y a partir de la localidad de Volcán hacia el norte se produce una marcada disminución de la precipitación por efecto de la altura (Volcán, altitud de 2078

msnm y 392 mm anuales) y entre Tumbaya y Humahuaca (2500 msnm) las precipitaciones son menores de 200 mm anuales. Los registros históricos de la temperatura y precipitación mensual promedio de los sitios de colección o de sitios próximos a los mismos se observan en el Tabla 4.

Tabla 4: Datos de temperatura y precipitación media mensual de sitios próximos a las colecciones de *Solanum gourlayi* y *S. spegazzinii*

Localidad: Quebrada de Humahuaca, Tilcara, latitud 23° 34' S, longitud 65° 23' O, 2461 m.s.n.m.

Mes	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Precipitación	42	35	18	3	0	1	0	1	1	4	9	23
Temperatura	15,8	15,4	14,7	12,8	9,8	7,7	6,9	9,1	11,9	13,9	15,4	16,2

Localidad: Quebrada Calchaquí, La Poma, latitud 24° 42' S, longitud 66° 13' O, 3015 m.s.n.m.

Mês	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Precipitación	59	31	14	1	0	2	0	1	0	1	3	27
Temperatura ^a	14,5	14,2	13,1	10,4	7,1	4,8	4,3	6,5	8,9	11,5	13,3	14,3

Localidad: San Fernando de Escoipe, latitud 25° 11' S, longitud 65° 45' O, 1980 m.s.n.m.

Mes	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Precipitación	85	68	52	12	1	0	1	0	2	13	28	53
Temperatura ^a	19,1	18,5	17,1	14,1	10,9	8,2	7,9	10	12,6	15,6	17,6	18,9

Localidad: Quebrada del Toro, latitud 24° 50' S, longitud 65° 42' O, 1811 m.s.n.m.

Mes	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Precipitación	127	107	45	8	1	0	0	0	1	6	22	73
Temperatura ^a	19,7	19,1	17,7	14,8	11,7	8,9	8,6	10,7	13,3	16,4	18,3	19,5

^a Calculada según Bianchi (1996)

DISCUSIÓN

Se encontraron ciertas divergencias en las coordenadas de los datos originales de latitud, longitud y altitud de cada sitio muestreado en 1973, 1974 y 1983, y los de la presente re-colección. Estas diferencias, probablemente, se deban a que los primeros fueron calculados con aproximación manual y utilizando los mapas del Instituto Geográfico Militar mientras que los actuales se registraron con instrumental digital de precisión, utilizando además del GPS, un altímetro adicional. No obstante, podrían deberse también a que los sitios actuales no se corresponden con los sitios originales; sin embargo esta posibilidad fue desestimada dado que en las proximidades de cada sitio de colección original se destinó un tiempo importante en confirmar con el instrumental y la ayuda de la documentación de las notas de referencia y notas de campo que se encontraban disponibles en el Banco de Germoplasma, minimizando las

dudas respecto a la posición real del sitio. Diferencias similares fueron registradas también por diferentes autores (Hijmans *et al.*, 2000) que al sistematizar y generar una base de datos de los lugares de colección realizado por el Banco de Germoplasma en Bolivia, detectaron errores, por lo que sugirieron la asignación de nuevas coordenadas. Hijmans *et al.* (1999) y Hijmans y Spooner (2001) en registros de colección de Germoplasma de papa de Centroamérica, también encontraron importantes diferencias en las coordenadas que ubicaban sitios de colección con errores extremos que indican sitios en el océano. Sin embargo, en base a las coordenadas registradas de los sitios de interés en la presente re-colección se observa que las diferencias detectadas fueron mínimas respecto a las señaladas tres décadas atrás.

A priori, los resultados ponen en evidencia que persisten *in situ* poblaciones de las especies silvestres de papa grl (2x y 4x) y spg en los cinco diferentes valles intermontanos de Salta y Jujuy recorridos. Esta situación es semejante a la descrita por Spooner *et al.* (1998) para las especies silvestres de papa en los valles de Guatemala y Perú, y por Bamberg *et al.* (2003) para las colecciones de papa silvestre del sudoeste de EUA.

No obstante, y a pesar de que en el presente trabajo se detectaron evidencias de fuertes disturbios ambientales en los sitios muestreados luego de 20 y 30 años de la colección original, se pudo constatar que la mayoría de las poblaciones silvestres de papa de spg y grl mostraban en esta re-colección un elevado número de plantas que oscilaba entre 50 y 100. Una excepción constituye la introducción de grl 2x de la localidad de Las Cuevas en la Quebrada del Toro donde podría especularse que hay indicios de erosión genética por la escasa cantidad de plantas observadas (menos de 15 plantas). Es muy probable que esta situación se deba a un disturbio extremo por el gran movimiento de suelo debido a la construcción de infraestructura vial que modificó el paisaje del ambiente original visitado 20 años atrás. Sin embargo, la presencia de las poblaciones de spg, grl 2x y grl 4x en los restantes sitios permite suponer que la forma particular de multiplicación de la papa con capacidad para la reproducción sexual y asexual le otorga ventajas en estos ambientes disturbados frente a otras especies (Hawkes, 1990). Así, es posible la generación de variabilidad por la vía sexual y el mantenimiento en el tiempo de genotipos de gran adaptación o ajuste al ambiente por vía asexual.

Por otro lado, los resultados obtenidos ponen en evidencia que en el área de distribución de estas papas silvestres hay superposición con otras especies en los sitios de colección. Así las colecciones de spg (CIE 1581) de Quebrada de Escoipe, Chicoana, fueron simpátricas con vrn (CIE 1579), chc (CIE 1585) y oka (CIE 1583). Del mismo modo se registraron para las colecciones de grl 2x (CIE 1572) de La Poma poblaciones próximas de acl (CIE 1567) y *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (CIE 1569) creciendo en el mismo sitio; en la Quebrada de Jueya, sitio de colección de grl 4x (CIE 1587), se registró ifd (CIE 1588) creciendo en las proximidades (a 800 m), y en la Quebrada de Lipán, donde se re-coleccionó grl 4x (CIE 1597), se registró *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (CIE 1596).

Esta situación de contacto en las especies silvestres de papa es más frecuente por la influencia antrópica que modificó y alteró por acción directa y/o indirecta (ver Vorano y Vargas Gil, 2002; Brown *et al.*, 2005) numerosas barreras ecológicas y geográficas generando, además, numerosos ambientes híbridos (Clausen *et al.*, 2005). Quizás, esta situación no es aislada en tiempo y espacio ya que en diferentes valles se verificó superposición y/o proximidad entre varias especies silvestres y cultivadas de papa en diferentes años de colección. Así la distribución que se describió en los datos de registros de campo de la colección de 1973 realizada por el Dr. K. A. Okada, se encontró en Chicoana a una población de spg (OL 4911) que crecía con las especies simpátricas chc (OL 4907) y oka (OL 4908). En La Poma, se encontró la población de grl 2x (OL 4841) creciendo con *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (OL 4842). Del mismo modo, la expedición realizada en 1983 describe poblaciones de grl 4x (Oka 7547A) en la Quebrada de Lipán creciendo con *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (Oka 7547C) y *S. microdontum* (Oka 7547B) y, en la Quebrada de Jueya, poblaciones de grl 4x (Oka 7588A) simpátricas con *S. tuberosum* ssp. *andigenum* (Oka 7588B) y opl (Oka 7588C). Otra extensa cita de especies simpátricas fue descrita por Hawkes y Hjerting (1969 p.231); en particular, la colección de poblaciones de Cuesta del Obispo de las especies chc, spg, *S. tarijense*, *S. microdontum* y vrn (p.349) tanto como la descripción de algunos probables híbridos entre ellas. Además, estos autores citan que también se encuentran registros de especies que se superponen en su distribución como grl e ifd en las proximidades de Tilcara (prox. Oka 7588), típicamente en áreas de quebradas secas (p.373). Esta situación reiterada en el tiempo junto a barreras internas a la hibridación incompletas que pueden estar actuando entre numerosas especies

(Camadro *et al.*, 2004) permitiría la formación de híbridos interespecíficos, introgresión y el consecuente flujo génico entre las especies como se sugiere que ocurre en Palca de Aparzo (Clausen *et al.*, 2005) o como fuera demostrado para *S. x rechei* (Clausen y Spooner, 1998).

Las especies silvestres de papa están estrechamente emparentadas y no presentan una diferenciación genómica marcada (Matsubayashi, 1991); de esta manera se pueden formar híbridos naturales (Rabinowitz *et al.*, 1990; Camadro *et al.*, 2004). De hecho, se demostró que varias especies son de origen híbrido: *S. x rechei* (Clausen y Spooner, 1998) y *S. x ruiz-lealii* Brücher (Raimondi *et al.*, 2005) y una alta variabilidad morfológica ha sido reportada en otras (Spooner y van den Berg, 1992; Raimondi *et al.*, 2005; Bedogni y Camadro, 2007). Además, en cruzamientos realizados dentro y entre introducciones de especies silvestres de papa se han registrado disfunciones reproductivas inesperadas tales como baja producción de semilla y numerosos sitios de incompatibilidad polen pistilo (Erazzú *et al.*, 1999, Raimondi *et al.*, 2003; Erazzú y Camadro, 2008) así como colapso del endosperma (Masuelli y Camadro, 1997). Estas evidencias han conducido a Masuelli *et al.* (2009) a la especulación, sobre la base de numerosos informes de la literatura de más de 50 años, que la hibridación, particularmente la hibridación interespecífica, puede inducir cambios genéticos y epigenéticos que pueden actuar como fuerzas creativas de evolución en las papas silvestres. En este sentido, dos especies argentinas, *chc* y *spg*, son de particular interés, ya que ambas presentan una amplia distribución así como afinidad con una serie de especies, muchas de ellas simpátricas. La alta variabilidad morfológica observada en las poblaciones de las dos especies en los hábitats modificados (Hawkes y Hjerting, 1969) podría ser el resultado de la hibridación interespecífica y la introgresión y/o de efectos epigenéticos (Marfil *et al.*, 2006). Además, la presencia de mutantes meióticos está ampliamente extendida entre las especies de papa (den Nijs y Peloquin, 1977; Camadro y Peloquin, 1980; Leue y Peloquin, 1980; Watanabe y Peloquin, 1989 y 1991). Ellos pueden dar origen a gametos y gametófitos con números cromosómicos no reducidos (gametos $2n$) que son funcionales en la fecundación; de esta manera, pueden formarse poliploides mediante el proceso sexual (Mok y Peloquin, 1975). La poliploidización sexual junto con la haploidización, como en *Dichantium* (de Wet, 1968), pueden proporcionar la oportunidad para el flujo de genes y la introgresión dentro y entre los niveles de ploidía (Camadro *et al.*, 2004). La evidencia que surge del recuento cromosómico de plantas

de grl del sitio La Quesera en el Departamento de La Poma, donde en el mismo campo se encuentran creciendo poblaciones de los citotipos grl 2x y plantas de grl 4x (CIE 1566a) que no se registraron en la colección de 1973, permite especular sobre la formación de estos citotipos por poliploidización sexual mediante gametos 2n funcionales en la población original. Adicionalmente, en este sitio también se detectaron plantas de *S. acaule*, que presenta capacidad de cruzamiento y formación de híbridos interespecíficos con grl (Hawkes y Hjerting, 1969). Las especulaciones realizadas anteriormente podrían ser extensivas a los cruzamientos interespecíficos entre estos grupos. La conclusión de Ugent (1970) que la hibridación y el subsiguiente flujo génico dentro y entre niveles de ploidía a menudo resulta en patrones de variación sumamente complicados se ve reforzada por estas observaciones, dando sustento a la idea de que el concepto de especie biológica no es apropiado para las especies tuberosas de *Solanum* (Camadro *et al.*, 2004).

Aunque el fenómeno de la hibridación natural en especies de papa ha sido bien conocido por muchos años (véase Hawkes y Hjerting, 1969; Okada y Clausen, 1982; Masuelli *et al.*, 2009), la mayoría de las introducciones en los bancos de germoplasma han sido identificadas como especies puras. Este es también el caso con las introducciones del viaje de colección reportado en este trabajo. Sin embargo, los resultados de esta investigación apuntan a la necesidad de determinar si la variabilidad morfológica encontrada en las introducciones de grl y spg analizadas, así como en otras especies tuberosas de *Solanum* tuberosos, es la esperada para un determinado taxón o el resultado de eventos de hibridación e introgresión. Esta información es de importancia para la eficaz conservación, multiplicación *ex-situ* y la utilización del germoplasma silvestre.

Capítulo 2

RELACIONES DE COMPATIBILIDAD POLEN-ESTILO/ESTIGMA ENTRE Y DENTRO DE POBLACIONES DE *SOLANUM SPEGAZZINII* BITT. Y *SOLANUM GOURLAYI* HAWKES

INTRODUCCIÓN

Las especies silvestres de papa del NOA *Solanum gourlayi* Hawkes (grl, $2n=2x=24$, 2NBE* y $2n=4x=48$, 4NBE) y *S. spegazzinii* Bitt. (spg, $2n=2x=24$, 2NBE) son de gran interés para el mejoramiento genético de la papa común (*S. tuberosum* ssp. *tuberosum*; tbr, $2n=4x=48$, 4NBE) porque presentan numerosas características de valor agronómico, culinario e industrial. El conocimiento del comportamiento reproductivo de las especies posibilita un mejor entendimiento de sus relaciones de parentesco y es de utilidad para desarrollar estrategias para la conservación y regeneración de poblaciones naturales. Es, además, requisito previo para hacer un eficiente y eficaz aprovechamiento de los recursos genéticos en programas de mejoramiento genético.

La mayoría de las especies silvestres son alógamas obligadas, se encuentran aisladas en la naturaleza por factores ecológicos externos (Bates y Deyoe, 1973) y barreras internas a la hibridación de tipo pre- y poscigótico. Entre las barreras precigóticas se encuentra la autoincompatibilidad gametofítica determinado por el locus S; además, se ha propuesto la presencia de otro(s) locus (loci) que actúan independientemente del locus S en cruzamientos intra- e inter-específicos (Pandley, 1962; Abdalla y Hermsen, 1972; Camadro y Peloquin, 1981; Sala, 1993; Erazzú y Camadro, 2008; Raimondi *et al.*, 2003) y que afectan las relaciones polen-pistilo. En este tipo de barrera, conocida como incompatibilidad cruzada, el polen no germina, el tubo polínico no crece normalmente a través del estilo, o los gametos no se fusionan, es decir, se impide la formación del cigoto por desarrollo anormal del gametofito masculino de un individuo en el pistilo de otro individuo de la misma o de distinta especie o población de una misma especie (*Nota*: en papa, las especies han sido definidas a nivel taxonómico como un conjunto de individuos que comparten características morfológicas que lo distinguen fenotípicamente de otros conjuntos de individuos). Las barreras poscigóticas se manifiestan ya sea por la formación de híbridos F_1 inviables o débiles, F_1 viables pero estériles o F_2 y otras poblaciones segregantes débiles y/o estériles (Johnston *et al.*, 1980; Masuelli y Camadro, 1997).

Por otra parte, es posible disponer del “pool” génico de estas especies, en su mayoría diploides, por medio de la manipulación de niveles de ploidía mediante la haploidización y la poliploidización sexual, que permiten sortear las barreras poscigóticas que provocan el colapso del endosperma híbrido y obtener progenies tetraploides (Mendiburu *et al.*, 1974). De este modo, la incorporación de germoplasma silvestre en la papa común es factible por medio del uso de gametos $2n$ de especies silvestres y haploides de la papa común, aunque otra alternativa la constituye la utilización en forma directa de tetraploides y hexaploides en cruzamientos intra-NBE.

El objetivo de este trabajo fue determinar las relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma en cruzamientos intra- e interespecíficos, e intra- e interploides, de las especies spg, grl 2x, grl 4x y entre estas y la papa común, así como la posibilidad de incorporar germoplasma de estas especies silvestres en el mejoramiento genético.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron al menos 15 plantas por cada introducción de las especies silvestres de papa: 1) spg: OL 4911, OL 4916, Oka 5649 (Chicoana, Cuesta del Obispo), Oka 5662 (La Poma, Peña Agujereada) y Oka 6147 (Belén, Condorhuasi); 2) grl 2x: ORHL 4841 (La Poma, El Rodeo), OL 4858 (Rosario de Lerma, Las Cuevas), Oka 7518 (San Carlos, Isonza) y 3) grl 4x: Oka 7547 (Tumbaya, Quebrada de Lipán), Oka 7558 (San Salvador de Jujuy, Molinos), Oka 7565 (San Salvador de Jujuy, Quebrada de Tolara), Oka 7594 (Humahuaca, Palca de Aparzo) y cuatro cultivares de tbr. Se realizaron cruzamientos dialélicos incompletos entre plantas (genotipos) dentro y entre especies, con la polinización de al menos tres flores por combinación intraespecífica y de cinco flores por combinación interespecífica. A las 48 hs. de la polinización se retiraron los estilos que se conservaron en FAA (1:1:8 v/v; formol, ácido acético glacial y etanol 97%) hasta el procesamiento, el que se realizó de acuerdo a Martin (1958). Se realizó el aplastamiento de los estilos entre cubre y portaobjetos.

Posteriormente, se realizó el estudio de las relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma en las combinaciones genotípicas que presentaron reducida o escasa producción de semilla. Para ello, se consideró una producción de 30 o menos semillas por fruto como una indicación de potenciales anomalías reproductivas dado que en estas especies es normal la producción de alrededor 200 semillas por fruto. Se

registraron las combinaciones genotípicas compatibles a nivel polen-estilo/estigma como aquellas que formaron semilla o en las que se verificó, por microscopía, el crecimiento de un número alto de tubos polínicos (alrededor de 400) a lo largo del estilo y hasta la base del mismo. Se consideró que existe compatibilidad a nivel precigótico al alcanzar los tubos polínicos la base del estilo dado que no se reportaron sitios de detención del crecimiento de los tubos entre este nivel y la posterior penetración en el óvulo. De este modo, se utilizaron todas las combinaciones genotípicas establecidas para potenciar la formación de semilla. Usando los resultados de compatibilidad polen-estilo/estigma, se calcularon diferentes relaciones para describir el comportamiento reproductivo de estas poblaciones: combinaciones genotípicas compatibles respecto de total de combinaciones, combinaciones que formaron frutos sobre combinaciones genotípicas compatibles, frutos formados en referencia a flores polinizadas, promedio de semillas por fruto, valores extremos de producción de semilla por fruto en cada combinación genotípica y número de semillas en relación a flores polinizadas (Grant, 1971).

La determinación de polen de tamaño heterogéneo para la detección de polen $2n$ (Quinn *et al.*, 1974) se realizó por tinción con colorante de Alexander (Alexander, 1980) mediante la lectura de cinco campos microscópicos, registrando alrededor de 100 granos de polen en cada una de ocho plantas por introducción.

RESULTADOS

1. Combinaciones genotípicas y relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma intraespecíficas

1.1. *Solanum spgazzinii*

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 161 combinaciones genotípicas intraespecíficas (Tabla 1). De estas, veintiocho combinaciones produjeron frutos con más de 30 semillas (17,1%), nueve combinaciones produjeron frutos con menos de 30 semillas (5,5%), y el resto de las combinaciones no produjo frutos (77,4%). Así, se observa que en diferentes cruzamientos intra- e inter- introducciones se presentaron problemas para la producción normal de frutos y semillas, ya que el porcentaje de combinaciones sin frutos sumado al de las combinaciones que formaron entre 0 a 30

semillas/fruto varió desde un mínimo de 66,7% para las combinaciones genotípicas dentro de la introducción OL 4911 hasta un máximo de 100% para las combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 5662 x Oka 5649. En el estudio de las relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma que se realizó en las combinaciones sin frutos o que produjeron menos de 30 semillas por fruto se detectaron diferentes sitios de detención del crecimiento de los tubos polínicos: en estigma, en estigma y primer tercio del estilo, en primer tercio, en mitad del estilo, así como crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo en una cantidad tal que saturaban el volumen del estilo (aproximadamente 400 tubos) (Figura 1) y aún creciendo entre los óvulos.



Figura 1: Relación polen-estilo/estigma: a) compatible, b) incompatible con detención del crecimiento de los tubos polínicos en: b1) el estigma y b2) segundo tercio del estilo

Se establecieron, mediante cruzamientos dirigidos, nueve combinaciones genotípicas dentro de la introducción OL 4911; se estudiaron las reacciones de compatibilidad polen-estilo/estigma en seis de estas combinaciones que no produjeron frutos o que produjeron menos de 30 semillas por fruto. En 17% de combinaciones genotípicas se observó la detención del crecimiento de los tubos polínicos en estigma y primer tercio del estilo, y pocos tubos alcanzaron la base del estilo, y en 83% de combinaciones genotípicas los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo, ocupando todo el volumen del mismo.

Entre las siete combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento OL 4911 x OL 4916, cinco presentaron problemas por la escasa producción de semillas por fruto o nula producción de frutos. En estas combinaciones, se detectó a nivel polen-estilo/estigma que el 100% de las combinaciones genotípicas presentaron crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo. Para el cruzamiento recíproco, se establecieron 10 combinaciones genotípicas, en nueve combinaciones que no produjeron frutos o tuvieron menos de 30 semillas por fruto se estudió la relación de compatibilidad polen-estilo/estigma, en estas se observó que todas las combinaciones genotípicas presentaron crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo.

De las 10 combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento OL 4911 x Oka 5649 se estudió la relación polen-estilo/estigma en ocho combinaciones (siete combinaciones genotípicas no produjeron frutos y sólo una combinación produjo un fruto con siete semillas). En 12,5% de las combinaciones genotípicas, los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, y solo pocos tubos polínicos llegaron hasta la base del estilo (dos a tres tubos polínicos); en 87,5% de combinaciones genotípicas se observó el normal crecimiento de los tubos polínicos hasta la base del estilo. De las 21 combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento recíproco Oka 5649 x OL 4911, se estudió las reacciones de compatibilidad polen-estilo/estigma en 18 combinaciones que presentaron problemas por la escasa o nula producción de semillas/fruto. Se detectó en 11,8% de las combinaciones genotípicas la detención del crecimiento de los tubos polínicos en el estigma; en 17,6% de combinaciones genotípicas la detención de los tubos polínicos ocurrió en estigma y primer tercio del estilo y en 70,6% de combinaciones genotípicas los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

De las 13 combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento OL 4911 x Oka 5662, nueve combinaciones no produjeron semillas o produjeron frutos con menos de 30 semillas cada uno. En estas se observó que en 33% de las combinaciones genotípicas los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad del estilo y en 67% de las combinaciones genotípicas los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. De las 37 combinaciones derivadas del cruzamiento recíproco, 28 combinaciones genotípicas presentaron problemas por la escasa o nula producción de semillas. En estas se observó que en 8,3% de las combinaciones genotípicas los tubos polínicos detenían el crecimiento en el estigma, 25% de las combinaciones genotípicas los tubos polínicos detenían el crecimiento en primer tercio del estilo y en 66,7% de las combinaciones genotípicas los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo y entre los óvulos.

De las 14 combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento OL 4916 x Oka 5649, doce combinaciones no produjeron frutos y una combinación produjo menos de 30 semillas por fruto. En el estudio de la relación polen-estilo/estigma de las trece combinaciones se observó que los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. De las 12 combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento recíproco, una combinación genotípica produjo frutos con menos de 30 semillas y el resto de combinaciones no produjeron frutos. En la relación polen-estilo/estigma de estas combinaciones se determinó que los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo en todos los casos.

De las cuatro combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 5649 x Oka 5662, se estudio la relación polen estilo en tres combinaciones que no produjeron frutos, se determinó que en una de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad del estilo y en las otras dos combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente a la base del estilo. De las nueve combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento recíproco, ninguna combinación produjo semilla. En 22% de estas combinaciones genotípicas los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma; en 22% de combinaciones genotípicas los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma y primer tercio del estilo y en 56% de combinaciones genotípicas los tubos polínicos alcanzaron la base del estilo.

De las cuatro combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 5662 x Oka 6147, se estudio la relación polen-estilo/estigma en tres combinaciones genotípicas que no produjeron frutos, los tubos polínicos alcanzaron la base del estilo en todos los casos.

De las siete combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 6147 x OL 4911, cinco combinaciones no produjeron frutos y una combinación produjo frutos con menos de 30 semillas. En estos seis casos se determinó que en 16,7% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 16,7% de combinaciones genotípicas los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo y en 66,7% de combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente hasta la base del estilo.

Tabla 1: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum spegazzinii*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos		Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto o con 0 a 30 semillas/fruto	
		> 30 semillas/fruto	0 a 30 semillas/fruto	Los tubos polínicos:	% de combinaciones
OL 4911 x OL 4911	9	3	2	se detienen en estigma y primer tercio del estilo crecen normalmente hasta la base del estilo.	17 83
OL 4911 x OL 4916	7	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4911 x Oka 5649	10	2	1	se detienen en la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	12,5 87,5
OL 4911 x Oka 5662	13	4	1	se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	33 67
OL 4916 x OL 4911	10	1	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4916 x Oka 5649	14	1	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 5649 x OL 4911	21	3	1	se detienen en el estigma. se detienen en el estigma y primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	11,8 17,6 70,6
Oka 5649 x OL 4916	12	0	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 5649 x Oka 5662	4	1	0	se detienen en la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	33 67
Oka 5662 x OL 4911	37	9	0	se detienen en el estigma. se detienen en el estigma y primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	8,3 25,0 66,7
Oka 5662 x Oka 5649	9	0	0	se detienen en el estigma. se detienen en el estigma y primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	22 22 56
Oka 5662 x Oka 6147	4	1	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 6147 x OL 4911	7	1	1	se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	16,7 16,7 66,7
Oka 6147 x Oka 5649	2	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 6147 x Oka 6147	2	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
	161	28	9		

Nota: Entre introducciones (poblaciones) de una misma especie, se espera compatibilidad polen-estilo/estigma y formación de frutos con 200 semillas c/u, aunque no pueden descartarse reacciones de autoincompatibilidad del locus S multialélico.

En el Tabla 2 se observan los cruzamientos dentro y entre introducciones de spg y los parámetros calculados para cada combinación genotípica: porcentaje de combinaciones compatibles en el nivel polen-estilo/estigma en relación al número total de combinaciones, porcentaje de combinaciones que formaron frutos sobre el número de combinaciones compatibles, porcentaje promedio de frutos formados en relación al número de flores polinizadas, número promedio de semillas por fruto, valores extremos de número de semilla por fruto y número promedio de semillas producidas por flores polinizadas. Para los cruzamientos dentro de la introducción OL 4911 y entre OL 4911 con OL 4916 y Oka 5649 se determinó 89%, 100% y 100% de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma en relación al total de combinaciones genotípicas, respectivamente. En los cruzamientos mencionados, el porcentaje de combinaciones genotípicas que formaron frutos respecto del total de combinaciones genotípicas establecidas en cada caso fue 55,6%, 28,6% y 30%, respectivamente. El porcentaje promedio de frutos producidos respecto al número de flores polinizadas fue 49% para OL 4911 x OL 4911, 12% para OL 4911 x OL 4916 y 17% para OL 4911 x Oka 5649. En estos cruzamientos, el promedio de la producción de semillas por fruto fue 37,2, 35 y 28,2 y el promedio del número de semillas por fruto respecto a las flores polinizadas para estos cruzamientos fue 35, 14 y 22, respectivamente. Para los cruzamientos recíprocos, OL 4916 x OL 4911 y Oka 5649 x OL 4911, el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones genotípicas fue 100% y 71%, respectivamente. El porcentaje de combinaciones que produjeron frutos respecto de las combinaciones compatibles fue 20% y 26,7% y el promedio de semillas por fruto fue 18,9 y 43,8, respectivamente. El porcentaje promedio de frutos producidos respecto de las flores polinizadas fue 20% y 13% para OL 4916 x OL 4911 y Oka 5649 x OL 4911, mientras que el número de semillas producidas en relación al número de flores polinizadas fue 18,9 y 36,4, respectivamente.

Para el cruzamiento OL 4911 x Oka 5662 el porcentaje de combinaciones genotípicas compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue 77% y para el cruzamiento recíproco fue de 67,6%; el porcentaje de combinaciones genotípicas que produjeron frutos en relación a las combinaciones compatibles fue 50% y 36%, respectivamente. El porcentaje promedio de frutos sobre flores polinizadas fue 27% para OL 4911 x Oka 5662 y para el cruzamiento recíproco fue de 18%, el número promedio del número de semillas por fruto fue 58,3 y 74,2 y el promedio de semillas producidas por flores polinizadas fue 43 y 52,7, respectivamente.

Para el cruzamiento OL 4916 x Oka 5649 y el cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones genotípicas compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue 100% para ambos casos; el porcentaje de combinaciones que produjeron de frutos respecto a las combinaciones compatibles fue 14,3% y 8,3%, el promedio de combinaciones con frutos sobre flores polinizadas fue 9% y 2%, el número promedio de semillas por fruto fue 32 y 5,5, el promedio de semillas por flores polinizadas fue 30 y 1,6, respectivamente.

Para el cruzamiento Oka 5649 x Oka 5662 el porcentaje de combinaciones genotípicas compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue de 75% y para el cruzamiento recíproco fue de 55,6%; el porcentaje de combinaciones genotípicas que produjeron fruto respecto a las combinaciones compatibles fue 33,3% para el cruzamiento Oka 5649 x Oka 5662 y 0% para el cruzamiento recíproco. Para Oka 5649 x Oka 5662 el promedio de frutos por flores polinizadas fue 13%, el promedio de semillas por fruto fue 32 y el promedio de semillas por flores polinizadas fue 16.

El cruzamiento Oka 5662 x Oka 6147 presentó 100% de combinaciones genotípicas compatibles a nivel polen-estilo/estigma en relación al total de combinaciones, el porcentaje de combinaciones que produjeron frutos respecto de las combinaciones compatibles fue 25%, con un promedio de 25% de combinaciones con frutos respecto de las flores polinizadas, un número promedio de semillas por fruto y de semillas por flores polinizadas de 117,5 en ambos casos. El cruzamiento Oka 6147 x OL 4911 presentó 85,7% de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones y el promedio de combinaciones que formaron frutos respecto de las combinaciones compatibles fue 33,3%, el promedio de combinaciones con frutos respecto de las flores polinizadas fue de 19% con un promedio de 36,5 semillas por fruto y de 13,8 semillas respecto a las flores polinizadas. Para los cruzamientos Oka 6147 x Oka 5649 y Oka 6147 x Oka 6147 la compatibilidad polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue 100% en todos los casos y no se formaron frutos en ninguno de estos cruzamientos.

Tabla 2: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum spegazzinii* y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
OL 4911 x OL 4911	89	55,6	49	37,2	14-76	35
OL 4911 x OL 4916	100	28,6	12	35,0	25-40	14
OL 4911 x Oka 5649	100	30	17	28,2	7-64	22
OL 4911 x Oka 5662	77	50	27	58,3	7-92	43
OL 4916 x OL 4911	100	20	20	18,9	5-31	18,9
OL 4916 x Oka 5649	100	14,3	9	32,0	4-60	30
Oka 5649 x OL 4911	71	26,7	13	43,8	16-87	36,4
Oka 5649 x OL 4916	100	8,3	2	5,5	5-6	1,6
Oka 5649 x Oka 5662	75	33,3	13	32,0	32	16
Oka 5662 x OL 4911	67,6	36,0	18	74,2	36-146	52,7
Oka 5662x Oka 5649	55,6	0	0	0	0	0
Oka 5662 x Oka 6147	100	25	25	117,5	41-194	117,5
Oka 6147 x OL 4911	85,7	33,3	19	36,5	4-68	13,8
Oka 6147 x Oka 5649	100	0	0	0	0	0
Oka 6147 x Oka 6147	100	0	0	0	0	0

1.2. *Solanum gourlayi* (2n=2x=24)

Se obtuvieron 43 combinaciones genotípicas derivadas de cruzamientos entre introducciones de grl 2x (Tabla 3). De estas, diecisiete produjeron frutos con más de 30 semillas (39,5%), mientras que el resto no produjo frutos (60,5%). El porcentaje de combinaciones genotípicas que no produjeron frutos en relación al número de combinaciones totales para los diferentes cruzamientos varió desde un mínimo de 36,4% para las combinaciones genotípicas del cruzamiento ORHL 4841 x OL 4858 hasta un máximo de 100% para las combinaciones genotípicas dentro de los cruzamientos Oka 7518 x ORHL 4841 y Oka 7518 x OL 4858.

El estudio de las barreras precigóticas se realizó en las combinaciones sin producción de frutos. En las cuatro combinaciones sin fruto de ORHL 4841 x OL 4858 se determinó que en todos los casos los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento recíproco, OL 4858 x ORHL 4841, fueron ocho combinaciones sin fruto y se observó que en 12,5% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el segundo tercio del estilo y en 87,5% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Para el cruzamiento ORHL 4841 x Oka 7518 fueron cuatro combinaciones sin

producción de frutos y en todos los casos los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para las combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento recíproco, Oka 7518 x ORHL 4841, cuatro combinaciones genotípicas no tuvieron producción de frutos. En todas estas combinaciones genotípicas se determinó el crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo.

De las combinaciones genotípicas del cruzamiento OL 4858 x Oka 7518 fueron dos combinaciones las que no produjeron frutos y se determinó que en 50% de las combinaciones el crecimiento de los tubos polínicos no superaban el segundo tercio del estilo y 50% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En las combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento recíproco, Oka 7518 x OL 4858, fueron cuatro y ninguna produjo frutos, en todas las combinaciones se observó el crecimiento normal de tubos polínicos hasta la base del estilo.

Tabla 3: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos *	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
ORHL 4841 x OL 4858	11	7	crecen normalmente hasta la base estilo.	100
ORHL 4841 x Oka 7518	7	3	crecen normalmente hasta la base estilo.	100
OL 4858 x ORHL 4841	12	4	se detienen en el segundo tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base estilo.	12,5 87,5
OL 4858 x Oka 7518	5	3	se detienen en el segundo tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	50 50
Oka 7518 x ORHL 4841	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 7518 x OL 4858	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
	43	17		

Nota: Entre introducciones(poblaciones) de una misma especie, se espera compatibilidad polen-estilo/estigma y formación de frutos con 200 semillas c/u, aunque no pueden descartarse reacciones de autoincompatibilidad del locus S multialélico.

* Todos produjeron > 30 semillas/fruto

En el Tabla 4 se muestran los resultados de diferentes parámetros de la capacidad reproductiva de los cruzamientos entre introducciones de grl 2x. A excepción de los cruzamientos entre la introducción OL 4858 con ORHL 4841 y con Oka 7518 que presentaron, respectivamente, 92% y 80% de combinaciones genotípicas compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de cada combinación, los restantes cruzamientos entre introducciones presentaron 100% de compatibilidad polen-estilo/estigma en relación al número total de combinaciones de cada cruzamiento.

Para el cruzamiento ORHL 4841 x OL 4858 y cruzamiento recíproco se determinó un 63,6% y 36,4% de combinaciones que formaron frutos respecto de las combinaciones compatibles, respectivamente. Para los cruzamientos ORHL 4841 x Oka 7518 y cruzamientos recíprocos se determinó 42,9% y 0% de combinaciones con frutos en relación al total de combinaciones, respectivamente. Para los cruzamientos OL 4858 x Oka 7518 y recíproco se determinó 75% y 0% de combinaciones que produjeron frutos en relación al total de combinaciones, respectivamente.

En los cruzamientos con producción de frutos, el promedio de la producción de semillas por fruto para varió desde 71,1 para el cruzamiento OL 4858 x Oka 7518 hasta 164 semillas para el cruzamiento ORHL 4841 x OL 4858. El porcentaje de producción de frutos respecto a las flores polinizadas varió desde 2% para el cruzamiento OL 4841 x Oka 7518 hasta 43% para el cruzamiento OL 4858 x Oka 7518, el promedio de semillas por flores polinizadas varió desde 59,9 para el cruzamiento OL 4858 x Oka 7518 hasta 89,3 para cruzamiento ORHL 4841 x OL 4858.

Tabla 4: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 2x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
ORHL 4841 x OL 4858	100	63,6	34	164,3	57-219	89,3
ORHL 4841 x Oka 7518	100	42,9	2	100,3	46-203	63,0
OL 4858 x ORHL 4841	92	36,4	20	100,5	63-155	62,5
OL 4858 x Oka 7518	80	75	43	71,1	40-178	59,9
Oka 7518 x ORHL 4841	100	0	0	0	0	0
Oka 7518 x OL 4858	100	0	0	0	0	0

1.3. *Solanum gourlayi* ($2n=4x=48$)

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 41 combinaciones genotípicas entre introducciones de *grl* 4x, según se observa en Tabla 5. De estas, dos combinaciones produjeron frutos con más de 30 semillas (4,9%), dos combinaciones produjeron frutos con menos de 30 semillas (4,9%) y el resto de las combinaciones no produjo frutos (90,2%). Se observa que en los diferentes cruzamientos entre introducciones se presentaron problemas para la producción de frutos y semillas ya que el porcentaje de combinaciones sin frutos sumado al de las combinaciones que formaron menos de 30 semillas por fruto varió entre un mínimo de 80% para las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 7547 x Oka 7558 hasta un máximo de 100% para las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 7547 x Oka 7565. Las relaciones polen-estilo/estigma detectadas en estas combinaciones fueron de: detención de crecimiento de tubos polínicos en estigma, detención en estigma y primer tercio del estilo, detención en la mitad del estilo y crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo.

Para el cruzamiento Oka 7547 x Oka 7558 se estudiaron las relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma en cuatro combinaciones que no produjeron frutos, en 25% de combinaciones se observó la detención de los tubos polínicos en el estigma y 75% de combinaciones alcanzaron la base del estilo y crecieron entre los óvulos normalmente. En el cruzamiento recíproco se estudió la relación polen-estilo/estigma en cuatro combinaciones que no produjeron frutos, se observó la detención de tubos polínicos en la mitad del estilo en 25% de las combinaciones y 75% de combinaciones con crecimiento normal de los tubos polínicos hasta base del estilo y óvulos.

Las seis combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 7547 x Oka 7565 no produjeron frutos y se observó que en 100% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En el cruzamiento recíproco tres combinaciones no produjeron frutos y dos combinaciones produjeron frutos con menos de 30 semillas cada uno, en las cinco combinaciones se observó la relación de compatibilidad polen-estilo/estigma y 100% de las combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente hasta la base del estilo.

En el cruzamiento Oka 7558 x Oka 7565 fueron cuatro las combinaciones sin frutos que se estudiaron en la relación polen-estilo/estigma. En 100% de las combinaciones genotípicas se observó el crecimiento normal de tubos polínicos hasta la base del

estilo. En el cruzamiento recíproco fueron seis las combinaciones que no produjeron frutos, la relación polen-estilo/estigma fue de 17% de combinaciones con detención de tubos polínicos en mitad del estilo y en 83% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron hasta los óvulos normalmente.

Los cruzamientos Oka 7547 x Oka 7594, Oka 7558 x Oka 7594 y Oka7565 x Oka 7594 fueron tres, tres y cuatro, respectivamente; en ninguna de estas combinaciones se registró producción de frutos y fueron estudiadas por la relación-polen estilo/estigma. Para el cruzamiento Oka 7547 x Oka 7594, en 67% de las combinaciones los tubos polínicos se detuvieron en el estigma y primer tercio del estilo y en 33% de las combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente a la base del estilo. En el cruzamiento Oka 7558 x Oka 7594, en 75% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma y 25% las combinaciones los tubos polínicos se detuvieron en el estigma y primer tercio del estilo. Para el cruzamiento Oka 7565 x Oka 7594 se observó que, en todas las combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente a la base del estilo.

Tabla 5: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos		Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto o con 0 a 30 semillas/fruto	
		> 30 semillas/fruto	0 a 30 semillas/fruto	Los tubos polínicos:	% de combinaciones
Oka7547 x Oka7558	5	1	0	se detienen en el estigma. crecen normalmente hasta la base del estilo.	25 75
Oka7547 x Oka7565	6	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo..	100
Oka7547 x Oka7594	3	0	0	se detienen en el estigma y primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo..	67 33
Oka7558 x Oka7547	4	0	0	se detienen en mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo..	25 75
Oka7558 x Oka7565	5	1	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka7558 x Oka7594	3	0	0	se detienen en el estigma.. se detienen en el estigma. y primer tercio del estilo	75 25
Oka7565 x Oka7547	5	0	2	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka7565 x Oka7558	6	0	0	se detienen en el estigma. crecen normalmente hasta la base del estilo.	17 83
Oka7565 x Oka7594	4	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
	41	2	2		

Nota: Entre introducciones(poblaciones) de una misma especie, se espera compatibilidad polen-estilo/estigma y formación de frutos con 200 semillas c/u, aunque no pueden descartarse reacciones de autoincompatibilidad del locus S multialélico.

En el Tabla 6 se observa que para el cruzamiento Oka 7547 x Oka 7558 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma para el total de las combinaciones fue 80%, el porcentaje de combinaciones genotípicas que produjeron frutos en relación a las combinaciones compatibles fue 25%, el promedio de semillas por frutos fue de 35, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue 10% y el número promedio de semillas por flores polinizadas fue de 17,5. El cruzamiento recíproco presentó 75% de combinaciones con compatibilidad a nivel polen-estilo/estigma y no tuvo producción de frutos.

Para el cruzamiento Oka 7547 x Oka 7565 y cruzamiento recíproco el porcentaje de compatibilidad polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100% en ambos sentidos. El cruzamiento Oka 7547 x Oka 7565 no produjo frutos y para Oka 7565 x Oka 7547 se determinó que el porcentaje promedio de frutos en relación a combinaciones compatibles fue 40%, el promedio de semillas por fruto de 11, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue 28% y el promedio de semillas por flores polinizadas fue de 8,5.

Para el cruzamiento Oka 7558 x Oka 7565 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100%, el porcentaje de combinaciones que formaron frutos en relación a las combinaciones compatibles fue 20%, el promedio de semillas por fruto fue de 55, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 10% y el número de semillas por flores polinizadas fue de 27,5. Para el cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma fue de 83% y no se formaron frutos.

Para los cruzamientos Oka 7547 x Oka 7594, Oka 7558 x Oka 7594 y Oka 7565 x Oka 7594 se determinó 33%, 0% y 100% de combinaciones compatibles sobre el total de combinaciones genotípicas de cada una, respectivamente, y ninguna combinación en estos cruzamientos produjo frutos.

Tabla 6: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 4x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
Oka7547 x Oka7558	80	25	10	35	30-40	17,5
Oka7547 x Oka7565	100	0	0	-	-	-
Oka7547 x Oka7594	33	0	0	-	-	-
Oka7558 x Oka7547	75		0	-	-	-
Oka7558 x Oka7565	100	20	10	55	55	27,5
Oka7558 x Oka7594	0	0	0	-	-	-
Oka7565 x Oka7547	100	40	28	11	4-17	8,5
Oka7565 x Oka7558	83	0	0	-	-	-
Oka7565 x Oka7594	100	0	0	-	-	-

2. Combinaciones genotípicas y relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma interespecíficas intra- e interploides

2.1. *Solanum spegazzinii* x *Solanum gourlayi* ($2n=2x=24$) y recíproco

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 41 las combinaciones genotípicas entre spg x grl 2x, según se detalla en Tabla 7. Se observa que fueron 8 las combinaciones genotípicas que produjeron frutos con más de 30 semillas (19,6%), seis las combinaciones que produjeron frutos con menos de 30 semillas (14,6%), el resto de las combinaciones no produjeron frutos (65,8%). En los diferentes cruzamientos se presentaron problemas para la producción normal de frutos y semillas y que el porcentaje de combinaciones genotípicas sin frutos sumado al de las combinaciones que produjeron menos de 30 semillas por fruto varió desde un mínimo de 50% para las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 5649 x ORHL 4841 hasta un máximo de 100% para las combinaciones genotípicas del cruzamiento OL 4911 x ORHL 4841. En el estudio de la relación polen-estilo/estigma se observa que para el cruzamiento Oka 5662 x ORHL 4841 ninguna de las cinco combinaciones produjo frutos y se observó la relación polen-estilo/estigma en la que 20% de combinaciones presentaron detención de crecimiento de los tubos polínicos en la mitad del estilo y 80% de combinaciones con crecimiento normal de tubos polínicos hasta la base del estilo.

Para el cruzamiento Oka 5662 x OL 4858, seis de las nueve combinaciones no produjeron frutos y en la relación polen-estilo/estigma se observó en 33% de las combinaciones los tubos polínicos detenían el crecimiento en el estigma y en 67% de

las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

El resto de los cruzamientos de spg x grl 2x no produjeron frutos ni produjeron más de 30 semillas por fruto, en el estudio de la relación de compatibilidad polen-estilo/estigma se observó que los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo en todos los casos.

Entre grl 2x x spg se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 55 combinaciones genotípicas, según se detalla en Tabla 8. De estas cinco combinaciones fueron las que formaron frutos con más de 30 semillas (9%), cuatro combinaciones produjeron frutos con menos de 30 semillas por fruto (7%), el resto de las combinaciones no produjo frutos (84%). Las observaciones microscópicas de la relación polen-estilo/estigma en las combinaciones que no formaron frutos o que formaron frutos con menos de 30 semillas determinaron diferentes sitios de inhibición del crecimiento de los tubos polínicos: en estigma, en primer tercio del estilo, en la mitad del estilo, en el segundo tercio del estilo y se observó el crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo.

En el cruzamiento ORHL 4841 x OL 4911 se estudió la relación polen-estilo/estigma en 11 combinaciones (10 combinaciones sin fruto y una combinación con 17 semillas en un fruto). En 18% de combinaciones genotípicas se observó que la detención del crecimiento de los tubos polínicos en el primer tercio del estilo, 18% de combinaciones con detención del crecimiento de tubos polínicos en la mitad del estilo y 64% de combinaciones el crecimiento de los tubos polínicos fue normal hasta la base del estilo. En el cruzamiento ORHL 4841 x OL 4916 se observó la compatibilidad polen-estilo/estigma en dos combinaciones con problemas en la producción de frutos y semillas (una combinación sin frutos y otra con menos de 30 semillas), en las dos combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En el cruzamiento ORHL 4841 x Oka 5649 fueron seis las combinaciones genotípicas y ninguna produjo frutos. Se observó a nivel polen-estilo/estigma un crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo. En el cruzamiento ORHL 4841 x Oka 5662 se estudiaron ocho combinaciones genotípicas (seis combinaciones sin fruto y dos combinaciones con menos de 30 semillas por fruto). Se determinó que en 12,5% de combinaciones la detención del crecimiento de los tubos polínicos en el estigma, 25% de combinaciones con detención de tubos polínicos en el primer tercio del estilo, 12,5% de combinaciones genotípicas con detención del crecimiento de los tubos

polínicos en el segundo tercio del estilo y 50% de combinaciones con los tubos polínicos que crecieron normalmente hasta base del estilo y entre los óvulos. En el cruzamiento ORHL 4841 x Oka 6147 fueron cuatro combinaciones genotípicas y no produjeron frutos, en el estudio de la relación polen-estilo/estigma se observó que los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

En el cruzamiento OL 4858 x OL 4911 fueron 10 combinaciones genotípicas, de las cuales ocho no produjeron frutos, en estas las relaciones polen-estilo/estigma determinadas fue en 28,6% de combinaciones detuvieron el crecimiento de los tubos polínicos en el estigma, en 14,3% de las combinaciones la detención del crecimiento de los tubos polínicos fue en la mitad del estilo, y 57,1% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo y entre los óvulos. En el cruzamiento OL 4858 x Oka 6147 se estudiaron dos combinaciones que no produjeron frutos y se observó que una de las combinaciones detenía el crecimiento de los tubos polínicos en el primer tercio del estilo y en la otra combinación los tubos polínicos llegaban normalmente hasta la base del estilo. Para el resto de los cruzamientos que no produjeron frutos, OL 4858 x OL 4916, OL 4858 x Oka 5649, OL 4858 x Oka 5662, se estudiaron las relaciones polen-estilo/estigma observando que en todas las combinaciones los tubos polínicos crecían normalmente hasta la base del estilo.

Tabla 7: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. gourlayi*
 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos		Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto o con 0 a 30 semillas/fruto	
		> 30 semillas/fruto	0 a 30 semillas/fruto	Los tubos polínicos:	% de combinaciones
OL 4911 x ORHL 4841	2	0	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4911 x OL 4858	6	1	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4916 x ORHL 4841	5	2	2	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4916 x OL 4858	2	0	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 5649 x ORHL 4841	4	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo..	100
Oka 5649 x OL 4858	2	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 5662 x ORHL 4841	5	0	0	se detienen en la mitad del Estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo.	20 80
Oka 5662 x OL 4858	9	3	0	se detienen en el estigma. crecen normalmente hasta la base del estilo.	33 67
Oka 6147 x ORHL 4841	3	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 6147 x OL 4858	2	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
Oka 6147 x Oka 7518	1	0	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
	41	8	6		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas que impidan la formación de semilla

Tabla 8: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. spegazzinii*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos		Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto o con 0 a 30 semillas/fruto	
		> 30 semillas/fruto	0 a 30 semillas/fruto	Los tubos polínicos:	% de combinaciones
ORHL 4841 x OL 4911	12	0	1	se detienen en el primer tercio del estilo.	18
				se detienen en la mitad del estilo.	18
				crecen normalmente hasta la base del estilo.	64
ORHL 4841 x OL 4916	5	3	1	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
ORHL 4841x Oka 5649	6	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
ORHL 4841x Oka 5662	8	0	2	se detienen en el estigma.	12,5
				se detienen en el primer tercio del estilo.	25
				se detienen en el segundo tercio del estilo.	12,5
				crecen normalmente hasta la base del estilo.	50
ORHL 4841x Oka 6147	4	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4858 x OL 4911	10	2	0	se detienen en el estigma.	28,6
				se detienen en la mitad del estilo.	14,3
				crecen normalmente hasta la base del estilo.	57,1
OL 4858 x OL 4916	3	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4858 x Oka 5649	3	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4858 x Oka 5662	2	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo.	100
OL 4858 x Oka 6147	2	0	0	se detienen en el primer tercio del estilo.	50
				crecen normalmente hasta la base del estilo.	50
		55	5	4	

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas que impidan la formación de semilla

En los Tablas 9 y 10 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma y producción de semillas en las combinaciones genotípicas entre las introducciones de spg x grl 2x y recíprocos, respectivamente.

Para el cruzamiento OL 4911 x ORHL 4841 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones genotípicas para cada cruzamiento fue 100% y 67%, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 50% y

12,5%, respectivamente. El promedio de semillas por fruto fue de 22 y 17, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 25% y 3%, el número de semillas por flores polinizadas fue de 11 y 5,7, respectivamente.

Para el cruzamiento OL 4911 x OL 4858 y el cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue de 100% y 60%, respectivamente, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 33,3% en ambos sentidos del cruzamiento. El promedio de semillas por fruto fue de 48,7 y 66,1 semillas por fruto, respectivamente, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 29% y 18%, el número de semillas por flores polinizadas fue de 38,5 y 59, respectivamente.

Para el cruzamiento OL 4916 x ORHL 4841 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue en ambos casos de 100%, el porcentaje de combinaciones con frutos respecto a las combinaciones compatibles fue de 80% en ambos casos, el número promedio de semillas por fruto fue de 43,6 y 29,1 semillas por frutos, respectivamente. El porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 29% y 40%, el número de semillas por flores polinizadas fue de 28,8 y 16, respectivamente.

Para el cruzamiento OL 4916 x OL 4858 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100% en ambos casos, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 50% para las combinaciones entre OL 4916 x OL 4858 y 0% para el cruzamiento recíproco. En OL 4916 x OL 4858 el número promedio de semillas por fruto fue de 4, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 20% y el número de semillas por flores polinizadas fue de 1,6.

Para el cruzamiento Oka 5649 x ORHL 4841 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100% compatibles en ambos casos, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 50% para las combinaciones entre Oka 5649 x ORHL 4841 y de 0% para las combinaciones del cruzamiento recíproco. El promedio de semillas por fruto fue de

58,5; el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 38% y el número de semillas por flores polinizadas fue de 40.

Para el cruzamiento Oka 5649 x OL 4858 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100% en ambos casos, ninguna combinación de estos cruzamientos produjo frutos.

Para el cruzamiento Oka 5662 x ORHL 4841 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 80% y 75%, el porcentaje de combinaciones con frutos respecto del total de combinaciones compatibles fue de 0% y 33,3%, respectivamente. El número promedio de semillas por fruto para ORHL 4841 x Oka 5662 fue de 20,5, el porcentaje de promedio de frutos por flores polinizadas fue de 25% y de semillas por flores polinizadas de 20,5.

Para el cruzamiento Oka 5662 x OL 4858 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 78% y 100%; el porcentaje de combinaciones con producción de frutos respecto del total de combinaciones compatibles fue de 42,9% y 0%, respectivamente. El promedio de semillas por fruto fue de 69,3, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 20% y el número de semillas por flores polinizadas fue de 37,9.

Para el cruzamiento Oka 6147 x ORHL 4841 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100% en ambos, las combinaciones no produjeron frutos en ningún sentido del cruzamiento.

Para el cruzamiento Oka 6147 x OL 4858 y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100% y 50%, las combinaciones no produjeron frutos en ningún sentido del cruzamiento.

En el cruzamiento Oka 6147 x Oka 7518 el porcentaje de combinaciones

compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto al total de combinaciones fue 100%, el porcentaje de combinaciones con producción de frutos respecto del total de combinaciones compatibles fue 100%, el porcentaje de combinaciones con producción de frutos respecto del total de combinaciones compatibles fue de 100%, el promedio de semillas por fruto fue de 15.

Tabla 9: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. gourlayi* 2x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
OL 4911 x ORHL 4841	100	50	25	22	22	11
OL 4911 x OL 4858	100	33,3	29	48,7	14-121	38,5
OL 4916 x ORHL 4841	100	80	29	43,6	5-141	28,8
OL 4916 x OL 4858	100	50	20	4	4	1,6
Oka5949 x ORHL 4841	100	50	38	58,5	43-78	40
Oka 5649 x OL 4858	100	0	0	-	-	-
Oka 5662 x ORHL 4841	80	0	0	-	-	-
Oka 5662 x OL 4858	78	42,9	20	69,3	23-99	37,9
Oka 6147 x ORHL 4841	100	0	0	-	-	-
Oka 6147 x OL 4858	100	0	0	-	-	-
Oka 6147 x Oka 7518	100	100	100	15	15	7,5

Tabla 10: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. spegazzinii* y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
ORHL 4841 x OL 4911	67	12,5	3	17	17	5,7
ORHL 4841 x OL 4916	100	80	40	29,1	8-46	16
ORHL 4841 x Oka 5649	100	0	-	-	-	-
ORHL 4841 x Oka 5662	75	33,3	25	20,5	5-28	20,5
ORHL 4841 x Oka 6147	100	0	-	-	-	-
OL 4858 x OL 4911	60	33,3	18	66,1	39-76	59
OL 4858 x OL 4916	100	0	-	-	-	-
OL 4858 x Oka 5649	100	0	-	-	-	-
OL 4858 x Oka 5662	100	0	-	-	-	-
OL 4858 x Oka 6147	50	0	-	-	-	-

2.2. *Solanum spegazzinii* x *Solanum gourlayi* ($2n=4x=48$) y recíproco

En el Tabla 11 se observan que los cruzamientos dirigidos realizados entre las introducciones de spg x grl4x fueron 37 y ninguna produjo frutos. Del estudio de la reacción polen-estilo/estigma en las cinco combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 5662 x Oka7594 se observó que en 20% de las combinaciones genotípicas ocurrió la detención del crecimiento de los tubos polínicos en el primer tercio del estilo y en 80% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En el resto de los cruzamientos entre las introducciones de spg x grl 4x no formaron frutos y la relación polen-estil/estigma que se observó en todos los casos fue que en 100% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Los cruzamientos dirigidos realizados entre las introducciones de grl 4x x spg fueron 81 (Tabla 12), ninguna combinación genotípica produjo semillas. En las observaciones de la compatibilidad polen-estilo/estigma de las combinaciones genotípicas que no produjeron frutos en los cruzamientos entre Oka 7547 con OL 4911, OL 4916 y Oka 5649, entre Oka 7565 con OL 4911 y OL 4916, y entre Oka 7594 con Oka 6147 se determinó 100% de combinaciones con crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo y entre los óvulos en todos los casos.

Las combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 7558 x OL 4911 fueron dos, en el estudio de la relación de compatibilidad polen-estilo/estigma se determinó que en una combinación los tubos polínicos estaban plasmolizados en el estigma y en la otra combinación los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En las cuatro combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 7558 x Oka 5662, 50% de las combinaciones detuvieron el crecimiento de los tubos polínicos en el primer tercio del estilo y 50% de combinaciones presentaron crecimiento normal de los tubos polínicos hasta la base del estilo.

Las ocho combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 7565 x Oka 5662 fueron estudiadas en la relación polen-estilo/estigma, 14% de las combinaciones presentaron detención del crecimiento de tubos polínicos en el estigma, 29% de combinaciones detuvieron los tubos polínicos en estigma y primer tercio y en el 57% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Las combinaciones genotípicas de los cruzamientos entre Oka 7588 con OL 4911,

OL 4916 y Oka 5662 fueron tres, tres y cuatro, respectivamente. En estas combinaciones se observó que en 67%, 33% y 25% de las combinaciones la detención del crecimiento de tubos polínicos ocurrió en primer tercio del estilo, y en 33%, 67% y 75% de combinaciones se observó que los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo, respectivamente. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 7594 x OL 4911 fueron 20 (sólo se observaron 17 combinaciones) y se observó 12% de combinaciones con detención de crecimiento de tubos polínicos en el primer tercio del estilo y en 88% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 7594 x Oka 5649 fueron 10, de estas se observó que 10% de combinaciones con detención del crecimiento de tubos polínicos en el estigma, 20% de combinaciones con detención de tubos polínicos en estigma y primer tercio, 30% de combinaciones con detención de tubos polínicos en el primer tercio del estilo y en 40% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 7594 x Oka 5662 fueron siete y se observó que 14% de combinaciones detuvieron el crecimiento de tubos polínicos en el estigma, 29% de combinaciones la detención de tubos polínicos fue en la mitad del estilo y en el 57% de combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente hasta la base el estilo.

Tabla 11: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S gourlayi* 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
OL 4911 x Oka7547	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4911 x Oka7558	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4911 x Oka7565	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4911 x Oka7558	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4911 x Oka7594	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4916 x Oka7547	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4916 x Oka7565	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4916 x Oka7588	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 5662 x Oka7558	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 5662 x Oka7565	1	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 5662 x Oka7588	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 5662 x Oka7594	5	0	se detienen en el estigma y en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	20 80
Oka 6147 x Oka7594	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100

37

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de oóferas 2n)

Tabla 12: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 4x x *S. spegazzinii*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	Nº combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	Nº total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
Oka7547 x OL 4911	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka7547 x OL 4916	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka7547 x Oka 5649	1	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka7558 x OL 4911	2	0	Polen plasmolizado.	50
			crecen normalmente hasta la base del estilo	50
Oka7558 x Oka 5662	4	0	se detienen en el primer tercio del estilo.	50
			crecen normalmente hasta la base del estilo	50
Oka7565 x OL 4911	8	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka7565 x OL 4916	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka7565 x Oka 5662	8	0	se detienen en el estigma.	14
			se detienen en el estigma y primer tercio del estilo.	29
			crecen normalmente hasta la base del estilo	57
Oka7588 x OL 4911	3	0	se detienen en el primer tercio del estilo.	67
			crecen normalmente hasta la base del estilo	33
Oka7588 x OL 4916	3	0	se detienen en el primer tercio del estilo.	33
			crecen normalmente hasta la base del estilo	67
Oka7588 x Oka 5662	4	0	se detienen en primer tercio del estilo.	25
			crecen normalmente hasta la base del estilo	75
Oka7594 x OL 4911	20	0	se detienen en primer tercio del estilo	12
			crecen normalmente hasta la base del estilo	88
Oka7594 x Oka 5649	10	0	se detienen en estigma	10
			se detienen en estigma y en el primer tercio del estilo.	20
			se detienen en primer tercio del estilo	30
			crecen normalmente hasta la base del estilo	40
Oka7594 x Oka 5662	7	0	se detienen en estigma	14
			se detienen en la mitad del estilo	29
			crecen normalmente hasta la base del estilo	57
Oka7594 x Oka 6147	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
81		0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de polen 2n)

En el Tabla 13 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma y producción de semillas para las combinaciones genotípicas entre las introducciones de spg x grl 4x. En el cruzamiento Oka 5662 x Oka7594 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue de 80% y para el resto de los cruzamientos el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue de 100% y en ningún caso se produjeron frutos.

En el Tabla 14 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma y producción de semillas para las combinaciones genotípicas entre las introducciones de grl 4x x spg. Para las combinaciones genotípicas de los cruzamientos entre Oka 7547 con OL 4911, OL 4916 y Oka 5649 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue 100% para los tres casos. También en las combinaciones de los cruzamientos Oka 7565 x OL 4911, Oka 7565 x OL 4916 y Oka 7594 x Oka 6147 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones fue 100% para los tres casos. En el resto de los cruzamientos el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto del total de combinaciones varió desde un mínimo de 33% para Oka 7588 x OL 4911 hasta un máximo de 75% para Oka 7588 x Oka 5662.

Tabla 13: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. gourlayi* 4x

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
OL 4911 x Oka7547	100	0
OL 4911 x Oka7558	100	0
OL 4911 x Oka7565	100	0
OL 4911 x Oka7558	100	0
OL 4911 x Oka7594	100	0
OL 4916 x Oka7547	100	0
OL 4916 x Oka7565	100	0
OL 4916 x Oka7588	100	0
Oka 5662 x Oka7558	100	0
Oka 5662 x Oka7565	100	0
Oka 5662 x Oka7588	100	0
Oka 5662 x Oka7594	80	0
Oka 6147 x Oka7594	100	0

Tabla 14: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 4x x *S. spegazzinii*

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma- estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
Oka7547 x OL 4911	100	0
Oka7547 x OL 4916	100	0
Oka7547 x Oka 5649	100	0
Oka7558 x OL 4911	50	0
Oka7558 x Oka 5662	50	0
Oka7565 x OL 4911	100	0
Oka7565 x OL 4916	100	0
Oka7565 x Oka 5662	50	0
Oka7588 x OL 4911	33	0
Oka7588 x OL 4916	67	0
Oka7588 x Oka 5662	75	0
Oka7594 x OL 4911	75	0
Oka7594 x Oka 5649	40	0
Oka7594 x Oka 5662	57	0
Oka7594 x Oka 6147	100	0

2.3. *Solanum spegazzinii* x *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* y recíproco

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 39 combinaciones genotípicas entre las introducciones spg x tbr (Tabla 15) y ninguna combinación produjo frutos. En las combinaciones que no formaron frutos se realizó el estudio de la relación polen-estilo/estigma. En las 14 combinaciones genotípicas del cruzamiento OL 4911 x tbr, se determinó que 14% de combinaciones detuvieron el crecimiento de los tubos polínicos parcialmente en el primer tercio del estilo y detención total de tubos polínicos en la mitad del estilo, en 86% de las combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente hasta la base del estilo y entre los óvulos. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento OL 4916 x tbr fueron dos y se observó en estas combinaciones un crecimiento normal de tubos polínicos hasta la base del estilo. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 5649 x tbr fueron 13, (sólo se observaron 9 combinaciones) se observó que en 11,1% de combinaciones los tubos polínicos se detuvieron en el estigma aunque algunos tubos alcanzaban la base del estilo (c.a. 5 tubos), 22,2% de combinaciones detuvieron los tubos polínicos en el primer tercio del estilo y algunos tubos polínicos llegaron a la base del estilo (c.a. 5 tubos) y 22,2% de las combinaciones detenían el crecimiento de los tubos polínicos entre el primer tercio y la mitad del estilo, en 44,4% de las combinaciones los tubos

polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Las combinaciones genotípicas de los cruzamientos Oka 5662 x tbr y Oka 6147 x tbr fueron nueve y una combinación, respectivamente, en todas estas se observó que en 100% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo y entre los óvulos.

Las combinaciones genotípicas de los cruzamientos recíprocos tbr x spg fueron 49 (Tabla 16) de las cuales ninguna formó frutos y en estas se estudió la relación polen-estilo/estigma. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento tbr x OL 4911 fueron 25, en 24% de las combinaciones presentaron inhibición de crecimiento de tubos polínicos en el estigma, en 32% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo (alrededor de 3 tubos llegaron hasta la base) y en 4% de combinaciones los tubos polínicos se detuvieron entre primer tercio y mitad del estilo, en 40% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Las combinaciones genotípicas del cruzamiento tbr x Oka 5649 fueron 15, en 27% de combinaciones los granos de polen no germinaron o se detuvieron en el estigma, en 20% de combinaciones los tubos polínicos se detuvieron en el primer tercio del estilo, en 13% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad del estilo y en 40% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En las combinaciones genotípicas de los cruzamientos tbr x Oka 6107 y tbr x Oka 6147 se lograron siete y una combinación genotípica, en ambas el 100% de las combinaciones los tubos polínicos alcanzaron la base del estilo.

Tabla 15: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	Nº combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	Nº total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
OL 4911 x tbr	14	0	se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. se detienen en estigma y primer tercio del estilo	14 86
OL 4916 x tbr	2	0	se detienen en estigma y primer tercio del estilo	100
Oka 5649 x tbr	13	0	se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio del estilo. se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. se detienen en estigma y primer tercio del estilo	11,1 22,2 22,2 44,4
Oka 5662 x tbr	9	0	se detienen en estigma y primer tercio del estilo	100
Oka 6147 x tbr	1	0	se detienen en estigma y primer tercio del estilo	100
	39	0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de oóferas 2n)

Tabla 16: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* x *S. spegazzinii*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen–estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
tbr x OL 4911	25	0	se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio del estilo. Se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	24 32 4 40
tbr x Oka 5649	15	0	el polen no germina se detienen en el primer tercio del estilo. se detienen en la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	27 20 13 40
tbr x Oka6107	7	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
tbr x Oka 6147	1	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
	49	0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de polen 2n)

En el Tabla 17 se observan los resultados de compatibilidad polen-estilo/estigma de las combinaciones genotípicas entre las introducciones de spg x tbr. En las combinaciones genotípicas establecidas entre OL 4911, Oka 5649, Oka 5662, Oka 6147 con tbr el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 86%, 31%, 89% y 100%, respectivamente.

En el Tabla 18 se presentan los resultados de compatibilidad polen-estilo/estigma de las combinaciones genotípicas entre las introducciones de tbr x spg. Para las combinaciones genotípicas de los cruzamientos entre tbr con OL 4911 y Oka 5649, el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 40% en ambos casos. Para las combinaciones de los cruzamientos de tbr con Oka 6107 y Oka 6147 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 100% en ambos casos.

Tabla 17: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum spegazzinii* x *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma- estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
OL 4911 x tbr	86	0
OL 4916 x tbr	Sin datos	0
Oka 5649 x tbr	31	0
Oka 5662 x tbr	89	0
Oka 6147 x tbr	100	0

Tabla 18: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum tuberosum* ssp *tuberosum* x *S spegazzinii*

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma- estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
tbr x OL 4911	40	0
tbr x Oka 5649	40	0
tbr x Oka 6107	100	0
tbr x Oka 6147	100	0

2.4. *Solanum gourlayi* (2n=2x=24) x *Solanum gourlayi* (2n=4x=48) y recíproco

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 21 combinaciones genotípicas entre las introducciones de grl 2x x grl 4x (Tabla 19), ninguna de estas combinaciones produjo frutos. En estas combinaciones sin frutos se determinó la relación polen-estilo/estigma y se observó en todos los cruzamientos realizados que en 100% de las combinaciones genotípicas los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Las combinaciones genotípicas derivadas de cruzamientos recíprocos entre las introducciones de grl 4x x grl 2x totalizaron 44 (Tabla 20), ninguna combinación produjo frutos y se estudió en estas combinaciones la relación polen-estilo/estigma. Las tres combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 7558 x OL 4858 se observó en 33% de combinaciones que los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo y en 67% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. En las seis combinaciones del cruzamiento Oka 7594 x ORHL 4841, 17% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad del estilo y 83% de las combinaciones los tubos polínicos tuvieron un crecimiento normal hasta la base del estilo. En las ocho

combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 7594 x OL 4858 se observó 16,7% de combinaciones en que el polen no germinó, 16,7% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, en 66,7% de combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para las combinaciones genotípicas del resto de los cruzamientos entre grl 4x x grl 2x se observó que las relaciones de compatibilidad polen-estilo/estigma fue de 100% de combinaciones con crecimiento normal de los tubos polínicos a través del estilo y entre los óvulos.

Tabla 19: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. gourlayi* 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto o con 0 a 30 semillas/fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
ORHL 4841 x Oka 7547	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
ORHL 4841x Oka 7565	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
ORHL 4841x Oka 7594	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4858 x Oka 7547	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4858 x Oka 7558	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4858 x Oka 7565	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4858 x Oka7588	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
OL 4858 x Oka 7594	2	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
	21	0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de oósfemas 2n)

Tabla 20: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 4x x *S gourlayi* 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
Oka 7547 x ORHL 4841	5	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 7547 x OL 4858	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 7558 x OL 4858	3	0	se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	33 67
Oka 7565 x ORHL 4841	5	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka7565 x OL 4858	7	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 7588 x ORHL 4841	3	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 7588 x OL 4858	4	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
Oka 7594 x ORHL 4841	6	0	se detienen en la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	17 83
Oka 7594 x OL 4858	8	0	el polen no germina se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	16,7 16,7 66,7
	44	0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de polen 2n)

En la Tabla 21 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma y producción de semillas entre las combinaciones genotípicas de las introducciones grl 2x x grl 4x. Para todos los cruzamientos el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 100%.

En la Tabla 22 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma y producción de semillas entre las combinaciones genotípicas de las introducciones de grl 4x x grl 2x. Para las combinaciones de los cruzamientos Oka 7558 x OL 4858, Oka 7594 x ORHL 4841 y Oka 7594 x OL 4858 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 66,7%, 83,3% y 66,7%, respectivamente. Para el resto de los cruzamientos el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 100%.

Tabla 21: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. gourlayi* 4x

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma- estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
ORHL 4841 x Oka 7547	100	0
ORHL 4841 x Oka 7565	100	0
ORHL 4841 x Oka 7594	100	0
OL 4858 x Oka 7547	100	0
OL 4858 x Oka 7558	100	0
OL 4858 x Oka 7565	100	0
OL 4858 x Oka 7588	100	0
OL 4858 x Oka 7594	100	0

Tabla 22: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 4x x *S. gourlayi* 2x

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma- estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
Oka7547 x ORHL 4841	100	0
Oka7547 x ORHL 4841	100	0
Oka7558 x OL 4858	66,7	0
Oka7565 x ORHL 4841	100	0
Oka7565 x OL 4858	100	0
Oka7588 x ORHL 4841	100	0
Oka7588 x OL 4858	100	0
Oka7594 x ORHL 4841	83,3	0
Oka7594 x OL 4858	66,7	0

2.5. *Solanum gourlayi* (2n=2x=24) x *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* y recíproco

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 33 combinaciones genotípicas entre las introducciones de grl 2x x tbr, ninguna combinación produjo frutos (Tabla 23) y fueron estudiadas en la relación polen-estilo/estigma. En el cruzamiento ORHL 4841 x tbr se observó que en 10% de las combinaciones el polen no germinó, en 10% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 10% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio y en 70% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento OL 4858 x tbr se observó que en 15,4% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 15,4% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad del estilo, en 7,7% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento entre el

primer tercio y la mitad del estilo y 6,6% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 19 combinaciones genotípicas en los cruzamientos recíprocos entre las introducciones de tbr x grl 2x, ninguna combinación produjo frutos (Tabla 24) y fueron estudiadas en la relación polen-estilo/estigma. En el cruzamiento tbr x ORHL 4841 se observó que en 10% de las combinaciones el polen no germinó, en 50% de las combinaciones tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, en 10% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad de estilo y en 30% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el segundo tercio del estilo, en todos los casos se verificó que pocos tubos (aprox. 8) crecieron hasta la base del estilo. En el cruzamiento entre tbr x OL 4858 se observó que en 44,4% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, en 22,2% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio y mitad del estilo, en 22,2% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el segundo tercio del estilo y en 11,1% de las combinaciones los tubos polínicos llegaron normalmente hasta la base del estilo.

Tabla 23: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
ORHL 4841x tbr	20	0	el polen no germina. se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	10 10 10 70
OL 4858 x tbr	13	0	se detienen en el estigma. se detienen en la mitad del estilo. se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	15,4 15,4 7,7 6,5
	33	0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de oósfemas 2n)

Tabla 24: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* x *S. gourlayi* 2x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos	Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
tbr x ORHL 4841	10	0	el polen no germina. 10 se detienen en el primer tercio del estilo. 50 se detienen en la mitad del estilo. 10 se detienen en el segundo tercio del estilo. 30	
tbr x OL 4858	9	0	se detienen en el primer tercio del estilo. 44,4 se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. 22,2 se detienen en el segundo tercio del estilo. 22,2 crecen normalmente hasta la base del estilo 11,1	
	19	0		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de polen 2n)

En el Tabla 25 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma para las combinaciones genotípicas entre las introducciones de grl 2x x tbr. Para los cruzamientos ORHL 4841 x tbr y OL 4858 x tbr se determinó que el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue 70% y 66,7%, respectivamente.

En el Tabla 26 se muestran los resultados de la compatibilidad polen-estilo/estigma para las combinaciones genotípicas entre las introducciones de tbr x grl 2x. Para los cruzamientos tbr x ORHL 4841 y tbr x OL 4858 se determinó que el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue 0% y 11%, respectivamente.

Tabla 25: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 2x x *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma- estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
ORHL 4841x tbr	70	0
OL 4858 x tbr	66,7	0

Tabla 26: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* x *S. gourlayi* 2x

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles
tbr x ORHL 4841	0	0
tbr x OL 4858	11,1	0

2.6. *Solanum gourlayi* (2n=4x=48) x *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* y recíproco

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 51 combinaciones genotípicas entre las introducciones de grl 4x x tbr. De estas cuatro combinaciones produjeron frutos con más de 30 semillas por fruto (8%) y el resto de las combinaciones genotípicas no produjo frutos (92%) (Tabla 27). En las combinaciones que no produjeron frutos se estudio la relación de compatibilidad polen-estilo/estigma. Para el cruzamiento Oka 7547 x tbr se determinó la relación polen-estilo/estigma en 10 de las combinaciones genotípicas que no produjeron frutos, se observó que en 20% de combinaciones el polen no germinó en el estigma, en 30% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo y en 50% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento Oka 7565 x tbr fueron 17 las combinaciones que se estudiaron en la relación polen-estilo/estigma por que no produjeron frutos, se observó en 29,4% de las combinaciones que el polen no germinó, en 11,8% de las combinaciones tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 17,6% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, en 5,9% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron parcialmente el crecimiento en el primer tercio del estilo y totalmente en la mitad del estilo y 35,3% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente a la base del estilo. Para el cruzamiento Oka 7588 x tbr fueron dos las combinaciones que no produjeron frutos, en una los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo y en la otra combinación los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento Oka 7594 x tbr se estudiaron 13 combinaciones genotípicas porque ninguna combinación produjo frutos. La relación polen-estilo/estigma fue en 33,3% de las combinaciones el polen no germinó, en 11,1% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, en 11,1% de las

combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en la mitad del estilo y en 44,4% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Se realizaron cruzamientos dirigidos en un total de 35 combinaciones genotípicas entre tbr x grl 4x. De estas, una combinación produjo frutos con más de 30 semillas (2,8%), dos combinaciones produjeron frutos con menos de 30 semillas (5,7%), el resto de las combinaciones no produjo frutos (91,5%) (Tabla 28). En las combinaciones que no produjeron frutos o produjeron frutos con menos de 30 semillas se estudiaron en la relación polen-estilo/estigma. En el cruzamiento tbr x Oka 7547 fueron 11 (2 sin datos) las combinaciones observadas, en 9,1% de las combinaciones el polen no germinó, en 18,2% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 27,3% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo, en 9,1% de combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en primer tercio y en la mitad del estilo y 36,4% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento tbr x Oka 7858 se observaron 3 combinaciones que no formaron frutos, se observó que en 100% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento tbr x Oka 7565 se estudiaron 11 combinaciones (10 combinaciones sin producción de frutos y una combinación con menos de 30 semillas), de estas 18,2% de las combinaciones el polen no germinó, en 9,1% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 18,2% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma y primer tercio del estilo, en 9,1% de las combinaciones los tubos polínicos se detuvieron en el primer tercio del estilo, en 9,1% de las combinaciones los tubos polínicos se detuvieron en el primer tercio del estilo y mitad del estilo y en 36,4% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento tbr x Oka 7588 fueron dos las combinaciones en las que se determinó que en una combinación los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el primer tercio del estilo y en la otra combinación los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Para el cruzamiento tbr x Oka 7594 fueron cuatro las combinaciones que se estudiaron porque no produjeron frutos, se observó que en 25% de las combinaciones el polen no germinó, en 25% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el crecimiento en el estigma, en 25% de las combinaciones los tubos polínicos detuvieron el

crecimiento en el primer tercio de estilo y en la mitad del estilo y en 25% de las combinaciones los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo.

Tabla 27: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum gourlayi* 4x x *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos *	Relación polen–estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto	
			Los tubos polínicos:	% de combinaciones
Oka7543 x tbr	2	0	el polen no germina crecen normalmente hasta la base del estilo	50 50
Oka7547 x tbr	15	2	el polen no germina se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	20 30 50
Oka7565 x tbr	19	2	el polen no germina se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio del estilo. se detienen en el primer tercio y la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	29,4 11,8 17,6 5,9 35,3
Oka7588 x tbr	2	0	se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	50 50
Oka7594 x tbr	13	0	el polen no germina se detienen en el primer tercio del estilo. se detienen en la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	33,3 11,1 11,1 44,4
	51	4		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla.

* Todos produjeron > 30 semillas/fruto

Tabla 28: Cruzamientos controlados entre introducciones de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* x *S. gourlayi* 4x: número de combinaciones genotípicas dentro de cada cruzamiento, número total de combinaciones genotípicas con frutos con más de 30 semillas o con 0 a 30 semillas cada uno y relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas que no produjeron frutos o que produjeron frutos con 0 a 30 semillas cada uno

Cruzamientos entre introducciones	N° combinaciones Genotípicas/ cruzamiento	N° total de combinaciones genotípicas con frutos		Relación polen-estigma/estilo en combinaciones genotípicas sin fruto o con 0 a 30 semillas/fruto	
		> 30 semillas/fruto	0 a 30 semillas/fruto	Los tubos polínicos:	% de combinaciones
tbr x Oka7547	15	1	1	el polen no germina se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio del estilo. se detienen en el primer tercio y la mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	9,1 18,2 27,3 9,1 36,4
tbr x Oka7558	3	0	0	crecen normalmente hasta la base del estilo	100
tbr x Oka7565	11	0	1	el polen no germina se detienen en el estigma. se detienen en el estigma y primer tercio del estilo. se detienen en el primer tercio del estilo. se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	18,2 9,1 18,2 9,1 9,1 36,4
tbr x Oka7588	2	0	0	se detienen en el primer tercio del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	50 50
tbr x Oka7594	4	0	0	el polen no germina se detienen en el estigma. se detienen en el primer tercio y mitad del estilo. crecen normalmente hasta la base del estilo	25 25 25 25
	35	1	2		

Nota: Entre diferentes especies, se espera alta incompatibilidad pre- y postgóticas (NBE) que impidan la formación de semilla (excepto producción de polen 2n)

En los Tablas 29 y 30 se muestran los resultados de compatibilidad polen-estilo/estigma y diferentes parámetros de la capacidad reproductiva para las combinaciones genotípicas entre las introducciones de grl 4x x tbr y recíprocos, respectivamente. Para el cruzamiento Oka 7547 x tbr y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 46,7% y 35,7%, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 28,6% y 20%, el número promedio de semillas por fruto fue de 51 y 39, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 7,5% y 8,9% y el número de semillas por flores polinizadas fue de 29,4 y 38, respectivamente.

Para el cruzamiento Oka 7565 x tbr y cruzamiento recíproco el porcentaje de

combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 42,1% y 36,4%, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 25% en ambos sentidos, el número promedio de semillas por fruto fue de 15,7 y 19 semillas por fruto, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 7% y 2% y el número de semillas por flores polinizadas fue de 9 y 4,8, respectivamente.

Para el cruzamiento Oka 7588 x tbr y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 50% en ambos casos, el porcentaje de combinaciones con frutos en relación a las combinaciones compatibles fue de 0% en ambos casos. Para el cruzamiento Oka 7594 x tbr y cruzamiento recíproco el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 30,8% y 25%, respectivamente, y ninguna de estas combinaciones produjo frutos. Para el cruzamiento tbr x Oka 7558 el porcentaje de combinaciones compatibles a nivel polen-estilo/estigma respecto de las combinaciones totales fue de 100% y no produjo frutos.

Tabla 29: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum gourlayi* 4x x *S. tuberosum* ssp. *tuberosum* y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
Oka7543 x tbr	50	0	0	-	-	-
Oka7547 x tbr	46,7	28,6	7,5	51,0	40-70	29,4
Oka7565 x tbr	42,1	25	7	15,7	34-40	9,0
Oka7588 x tbr	50	0	0	-	-	-
Oka7594 x tbr	30,8	0	0	-	-	-

Tabla 30: Compatibilidad polen-estigma/estilo para los cruzamientos entre Introducciones de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* x *Solanum gourlayi* 4x y parámetros de la capacidad reproductiva de las combinaciones genotípicas

Cruzamientos entre Introducciones	% combinaciones compatibles polen-estigma-estilo/ total de combinaciones	% combinaciones con frutos/ combinaciones compatibles	% promedio de frutos/flores polinizadas	Nº promedio de semillas/fruto	Nº extremos de semillas/fruto	Nº promedio de semillas/ flores polinizadas
tbr x Oka7547	35,7	20	8,9	39	3—74	38
tbr x Oka7558	100	0	-	-	-	-
tbr x Oka7565	36,4	25	2	19	19	4,8
tbr x Oka7588	50	0	-	-	-	-
tbr x Oka7594	25	0	-	-	-	-

Observación de polen

Las observaciones microscópicas de granos de polen en plantas individuales de las introducciones de spg, grl 2x y grl 4x estudiadas no revelaron la producción de polen de tamaño heterogéneo.

DISCUSIÓN

En los pistilos polinizados se desencadenan complejos procesos en respuesta a señales claves en cada uno de los niveles de la biocomunicación entre el polen y este tejido (Hogenboom, 1973; Williams *et al.*, 1982; Dumas *et al.*, 1984), que conducen a la fecundación. Esta sucesión de procesos es conocida como “fase progámica” y está compuesta por subsistemas que interactúan coordinadamente pero con cierto grado de independencia determinando el desarrollo normal del gametofito masculino. Preuss (2002) considera que durante el proceso se realizan controles elaborados y se producen señales reproductivas claves a nivel celular que determinan una fuerte adhesión entre polen y estigma, la generación de sorprendentes cambios celulares en el polen para la movilización por la superficie del estigma, la formación del tubo polínico y su elongación a través de la matriz extracelular, y la presencia de factores que contribuyen al crecimiento del tubo polínico en el estilo hasta los óvulos, lo que sugiere la acción de múltiples interacciones celulares durante el proceso.

Los resultados de los cruzamientos intraespecíficos en introducciones de spg, grl 2x y grl 4x, combinados con las observaciones microscópicas de la relación polen-estilo/estigma, ponen en evidencia la presencia de barreras de aislamiento reproductivo que actúan dificultando o previniendo la producción normal de frutos entre genotipos de una misma especie. Si bien las reacciones de incompatibilidad dentro de una población (introducción) podrían inicialmente atribuirse a la identidad de alelos S, las semillas de spg utilizadas en este estudio provienen de colecciones de campo realizadas en Chicoana (OL 4911, OL 4916 y Oka 5649) y fueron obtenidas de numerosos frutos, por lo que no es esperable este tipo de reacción dado que normalmente el locus S es altamente polimórfico en las especies tuberosas de *Solanum*. Otro argumento, que refuerza el anterior, es que los mayores porcentajes de combinaciones incompatibles a nivel polen-estigma/estilo se presentaron entre introducciones de spg provenientes de localidades distantes entre sí (La Poma, Chicoana y Belén, Tabla 2) lo que hace menos probable que las reacciones de

incompatibilidad se deban a la acción del locus S. Más aún, la reacción de autoincompatibilidad gobernada por el locus S se manifiesta como la detención del crecimiento del tubo polínico en el primer tercio del estilo y, dado que el control es gametofítico, se esperan resultados similares en las dos direcciones de una misma combinación genotípica. En las combinaciones genotípicas entre introducciones de spg, como las establecidas en el cruzamiento OL 4911 x Oka 5649, se observó que la detención del crecimiento de los tubos polínicos ocurrió en la mitad del estilo (Tabla 1), mientras que en las combinaciones genotípicas de cruzamientos recíprocos las reacciones fueron muy variadas ya que los tubos polínicos fueron inhibidos en el estigma o en el estigma y primer tercio del estilo. Asimismo, en las combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 5662 x Oka 5649, el crecimiento de los tubos polínicos fue inhibido en el estigma y en estigma y primer tercio del estilo mientras que en las combinaciones del cruzamiento recíproco la inhibición ocurrió en la mitad del estilo. Estas variaciones en los sitios de incompatibilidad exceden los patrones que puede atribuirse a la expresión de un solo gen. En este sentido, en la revisión de Stone y Goring (2001) sobre incompatibilidad gametofítica homomórfica se explicita que la reacción fenotípica de detención de tubos polínicos solo ocurre en el tercio superior del estilo. Dichos autores proponen que este sistema de autoincompatibilidad, clásicamente considerado de un solo locus, en realidad involucra la acción de al menos dos loci fuertemente ligados. El modelo propuesto para el "locus S" en *Solanum* involucra las "proteínas S", que se expresan en el estilo, y tienen actividad de ribonucleasas (S-RNasa); por proteínas S codificadas en el polen por otro gen, fuertemente ligado al locus S, que interactúan con las S-RNasas (locus S) del pistilo con especificidad alélica conduciendo a la inhibición de un tubo de polen autoincompatible. Además, presentan evidencia genética que se requieren de otros factores adicionales a las proteínas S para que se produzca la reacción de autoincompatibilidad, a estos genes los designan como modificadores y se clasifican en tres grupos modificando la expresión y función de las proteínas S.

Otras relaciones polen-estilo/estigma observadas en el presente trabajo tampoco revelaron un comportamiento típico de identidad de alelos S. Por ejemplo, en la introducción de spg OL 4911, la combinación OL 4911 planta 6 x OL 4911 planta 9 presentó detención del crecimiento de tubos polínicos en estigma y primer tercio del estilo, llegando pocos tubos a la base (aproximadamente 30 de 400 estimados en el estigma). En la combinación recíproca, se observó que los tubos polínicos crecieron normalmente hasta la base del estilo. Argumentos similares se propone en las

combinaciones genotípicas establecidas en cruzamientos entre introducciones de grl 4x, dado que las colecciones presentaron una alta dispersión geográfica y las inhibiciones se presentaron en diferentes sitios: estigma, estigma y primer tercio del estilo y mitad del estilo. Todos estos ejemplos dan sustento a la hipótesis de que el control de las reacciones de incompatibilidad observadas se debería a la acción de alelos que no pertenecen al locus S de autoincompatibilidad gametofítica, aunque no puede descartarse que algunos de los tubos polínicos hayan sido inhibidos por la acción de alelos en este locus. (Camadro y Peloquin 1980; Camadro *et al.*, 2004)

Del mismo modo, las combinaciones genotípicas entre introducciones de grl 2x que provienen de sitios alejados presentaron inhibición del crecimiento de los tubos polínicos en diversos sitios del estilo (mitad y segundo tercio). En la combinación genotípica derivada del cruzamiento de grl 2x, OL 4858 planta 16 x ORHL 4841 planta 9, se produjo inhibición del crecimiento de los tubos polínicos en el segundo tercio del estilo, con alrededor 10 de ellos que alcanzaron la base del estilo; en la combinación recíproca se verificó una reacción de compatibilidad total en este nivel marcando claramente un comportamiento reproductivo anormal de estas poblaciones.

Los resultados de las combinaciones genotípicas intra- e interespecíficas e intra- e interploides obtenidas, a excepción de aquellas de grl 2x x grl 4x que fueron totalmente compatibles a nivel polen-estilo/estigma, ponen en evidencia que en las mismas se presentan barreras precigóticas de intensidad mayor (tbr x grl 2x) o menor (spg x grl 4x) de acuerdo a los genotipos intervinientes; de modo similar, se observaron complejos patrones de inhibición del crecimiento de los tubos polínicos dados por los diferentes sitios de inhibición que fueron detectados en las distintas combinaciones y sus combinaciones recíprocas. Estos resultados sustentan el argumento de que las reacciones observadas exceden el control ejercido por el locus S, a menos que se asuman mayores funciones para el gen de autoincompatibilidad gametofítica, lo que es difícil de explicar desde el punto de vista molecular.

No obstante, y dada su magnitud, los fracasos reproductivos y el bajo número de semillas producidas en muchas combinaciones intraespecíficas de spg, grl 2x y grl 4x no pueden ser explicados por la sola acción de las barreras precigóticas observadas. Además, en gran porcentaje de combinaciones con escasa o nula producción de semillas se observó que los tubos polínicos alcanzaron la base del estilo en número suficiente como para producir un número normal de semillas y, así mismo, se observó

su crecimiento entre los óvulos. De este modo, el bajo número de combinaciones genotípicas que produjeron frutos respecto de las combinaciones compatibles, el bajo número promedio de frutos por flores polinizadas, la escasa producción de semillas por flores polinizadas y el bajo número promedio de semillas por fruto evidenciaron un comportamiento reproductivo anormal de las poblaciones naturales que fueron muestreadas.

Así, del total de 15 cruzamientos intragenotípicos entre introducciones de spg (Tabla 2) solo ocho fueron totalmente compatibles en el nivel polen-estilo/estigma y, además, presentaron muy bajos porcentajes de combinaciones genotípicas con producción de frutos (0% a 30%). En el caso particular, las doce combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento Oka 5649 x OL 4916 presentaron total compatibilidad polen-estilo/estigma pero sólo la combinación Oka 5649 planta 12 x OL 4916 planta 5 (siete flores polinizadas) produjo dos frutos (uno con cinco y otro con seis semillas, respectivamente). En el cruzamiento recíproco, OL 4916 x Oka 5649, la compatibilidad también fue total para las 14 combinaciones establecidas pero solo dos combinaciones produjeron frutos, una de las cuales fue OL 4916 planta 5 x Oka 5649 planta 12 (cinco flores polinizadas), que produjo un fruto con sólo cuatro semillas.

Situaciones similares a la descrita previamente se detectaron para grl 2x, ya que cuatro de los seis cruzamientos entre introducciones de grl 2x fueron totalmente compatibles a nivel polen-estilo/estigma (Tabla 4). Las combinaciones entre introducciones presentaron diferencias marcadas en la producción de semillas según el sentido de la combinación, como ORHL 4841 x OL 4858 que fueron 100% compatibles a nivel polen-estilo/estigma y siete de las once combinaciones (63,6%) produjeron frutos con valores normales de semilla. Sin embargo, las combinaciones del cruzamiento recíproco, OL 4858 x ORHL 4841, presentó 92% de compatibilidad polen-estilo/estigma y sólo cuatro de las doce combinaciones genotípicas (36,4%) produjeron frutos. Así, ORHL 4841 planta 2 x OL 4858 planta 17 (tres flores polinizadas) produjo tres frutos con 177 semillas en promedio por fruto; el cruzamiento recíproco, ORHL 4841 planta 2 x OL 4858 planta 17 no produjo semillas.

Análogamente, las combinaciones dentro de grl 4x presentaron anomalías reproductivas ya que se detectaron cuatro de nueve combinaciones genotípicas entre introducciones que fueron totalmente compatibles a nivel polen-estilo/estigma (Tabla 6), el resto presentó valores anormalmente bajos de compatibilidad en este nivel (33%

a 83%) hasta valores de compatibilidad nula (Oka 7558 x Oka 7594). Por ejemplo, Oka 7547 planta 14 x Oka 7565 planta 2 (cuatro flores polinizadas) no produjo frutos. Sin embargo, las combinaciones del cruzamiento recíproco, Oka 7565 x Oka 7547, 100% compatible a nivel polen-estilo/estigma, dos de cinco combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento produjeron frutos (40%), y el cruzamiento recíproco, Oka 7565 planta 2 x Oka 7547 planta 14 (dos flores polinizadas) produjo dos frutos con 17 y 10 semillas por fruto. Estos resultados evidenciarían la acción de barreras de tipo postcigóticas que estarían provocando el aborto de la semilla por disfunción del endosperma híbrido (Johnston *et al.*, 1980), del embrión o de los dos tejidos simultáneamente (Masuelli y Camadro, 1997). Los argumentos que explicarían este comportamiento se basan en que en una misma población puede haber plantas con distintas ploidías por formación de gametos $2n$ o de hibridación, o que hayan ocurrido fenómenos de hibridación e introgresión con especies que presentan diferencias génicas de una magnitud tal que desencadenan el colapso del embrión.

Masuelli (1992) informó resultados similares a los de este trabajo en la obtención de semilla cuando trabajó con poblaciones silvestres de $grl\ 2x$, y señaló que existía variación en cuanto a la capacidad de producir frutos y semillas en distintas combinaciones genotípicas (0 a 170 semillas/fruto). Este investigador realizó cruzamientos controlados dentro de $grl\ 2x$, introducción Oka 7660, e informó que de la polinización de 68 flores obtuvo 23 frutos y 2156 semillas. Con estos datos, el porcentaje promedio de frutos por flores polinizadas fue de 33,8% con 31,7 semillas por flores polinizadas; estos valores fueron similares a los obtenidos en el presente trabajo. Además, este investigador informó sobre los fracasos reproductivos de $grl\ 4x$ en combinaciones genotípicas del cruzamiento Oka 4560 x Oka 7620 y recíproco. En base a los datos reportados se puede calcular que 84,6% de las trece combinaciones genotípicas derivadas del cruzamiento citado presentaron problemas para la producción de frutos, estas produjeron 6,4% de frutos promedio por flores polinizadas, dos frutos con 56 y 31 semillas cada uno y 17,9 semillas por flores polinizadas. En cortes histológicos, el investigador mencionado previamente, observó un desarrollo anormal del embrión y endosperma por lo que propuso que las introducciones de $grl\ 4x$ no eran ejemplares representativos del taxón o que poseían introgresión de genes de otras especies emparentadas (Masuelli y Camadro, 1997).

Numerosas especies silvestres de papa silvestre presentan una amplia difusión en el NOA, son simpátricas y muestra cierto grado de afinidad entre varias de ellas.

Hawkes y Hjerting (1969) describieron colecciones de grl de Jujuy y norte de Salta, que crecían en alturas de 2600 a 3900 msnm, y del Sur de Bolivia, así como de spg con una amplia distribución en el NOA hasta San Juan. Adicionalmente, describieron una serie de híbridos probables de estas especies con otras emparentadas, como grl x *Solanum chacoense* (chc); grl x *S. infundibuliforme* (ifd); grl x *S. vernei* (vrn); *S. tarijense* (tar) x grl, grl x *S. sparsipilum* (spl) y grl x *S. vidaurrei*; híbridos naturales como chc x tar recolectados en Chicoana, Escoipe (HPR 302) y de, chc x spg en Guachipas, Salta; numerosas colecciones spg x chc de Belén, Catamarca; vrn x spg y spg x *S. sanctae-rosae* (Hawkes; Hjerting, 1969, pags 228, 280, 368, 276, 230, 231 y 405).

Las especies tuberosas de *Solanum* fueron agrupadas por Grant (1971) como herbáceas perennes sin diferencias predominantes de mecanismo floral entre ellas, alógamas, que forman series poliploides de 2x a 6x. Estas especies; se cruzan fácilmente en la mayoría, aunque no en todas, las combinaciones. Los híbridos interespecíficos muestran apareamiento cromosómico de parcial a reducido variando de fértiles a estériles pero, en general, las especies están estrechamente relacionadas citogenéticamente. Además, tienen la capacidad de reproducirse sexual y asexualmente. Por reproducción sexual las especies tienen la capacidad de adaptarse a cambios ambientales por selección natural por la producción de un gran número de genotipos; cuando un genotipo exitoso se estabiliza en una situación favorable, puede mantenerse indefinidamente por propagación clonal (Hawkes y Hjerting, 1969, pag. 52). Así, los dos tipos de reproducción le confieren gran capacidad de éxito y oportunismo en el mantenimiento de genotipos superiores ante variaciones en las condiciones ambientales. Además, la hibridación y el flujo génico dentro y entre niveles de ploidía a menudo resulta en complicados patrones de variación con un extenso ensamble de plantas interrelacionadas dentro de las cuales deben trazarse límites, en cierto modo, arbitrariamente para delinear las unidades taxonómicas, como bien lo señalara Ugent en 1966, un concepto que actualmente los taxónomos han comenzado a tener en cuenta (van den Berg *et al.*, 1998).

No obstante, numerosas barreras internas han sido citadas las que, junto a la acción de barreras externas, previenen o dificultan la hibridación interespecífica manteniendo el aislamiento de las especies silvestres de papa (Stebbins, 1950; Grun *et al.*, 1962; Hawkes y Hjerting, 1969; Camadro y Peloquin, 1981; Summers y Grun, 1981; Sala, 1993; Masuelli y Camadro, 1997; Erazzú *et al.*, 1999; Ispizúa *et al.*, 1999; Camadro *et al.*, 2004). Posiblemente, estas han surgido, como subproducto de la

divergencia adaptativa más que por la selección positiva para estos mecanismos entre especies simpátricas (Grant, 1971; Summers y Grun, 1981; Sala, 1993). Bajo estas condiciones las especies pueden coexistir en un área manteniendo sus límites específicos como las especies simpátricas *Solanum commersonii* (cmm) y chc (Summer y Grun, 1981) o *Solanum verrucosum* y *S. bulbocastanum* (Camadro *et al.*, 2004).

Existe evidencia de pequeños rearrreglos estructurales entre algunas de las especies. (ver Stebbins, 1950; Hawkes, 1990). Sin embargo, las especies de papa no presentan importantes diferencias genómicas (Matsubayashi, 1991) y pueden dar lugar a la formación de híbridos fértiles (Rabinowitz *et al.*, 1990; Camadro *et al.*, 2004).

Hawkes (1990) observó en cruzamientos artificiales entre diferentes especies de papa que las F₂ mostraban variaciones en su comportamiento, desde plantas aberrantes que apenas emergían del suelo a otras que morían rápidamente, plantas enanas, plantas que no florecían, otras que florecían pero no formaban frutos y finalmente plantas completamente normales (Hawkes, 1990, pag. 46; Hawkes y Hjerting, 1969, pags. 72-74, 117). Esta debilidad o colapso de la F₂ es resultado de la segregación cuando los progenitores tienen sistemas génicos complementarios (Hadley y Openshaw, 1977).

Las barreras reproductivas entre algunas especies pueden ser parciales o incompletas y, de ese modo, es factible la formación de híbridos, que en sucesivas retrocruzas determinan la formación de “enjambres híbridos” (Hawkes, 1990, pag 49) entre especies que superponen su área de distribución en hábitats intermedios generados por ambientes naturales destruidos o modificados por el hombre. Grant (1971) describe al enjambre híbrido como una mezcla compleja de formas parentales, híbridos F₁ y retrocruzas que exhiben un alto grado de variabilidad individual. Cuando estos híbridos se retrocruzan en forma repetitiva a una especie parental, deriva en introgresión en la población que asemeja al padre recurrente pero que varía en dirección a la otra especie. Los casos citados por Hawkes (1990) de chc x *S. microdontum* y chc x spg en Argentina y *S. raphanifolium* x *S. sparsipilum* en Perú son buenos ejemplos. En Argentina, Hawkes (1962) demostró que se presentaba hibridación interespecífica entre chc y mcd y flujo génico entre estas especies. Otro caso, reportado por Okada y Clausen (1982) entre *S. megistacrolobum* y acl donde las plantas híbridas se asemejaban a acl.

Así, Hawkes y Hjerting (1969) citan evidencias de ambientes híbridos o alterados en el NOA en diferentes viajes de colección. En estos una extensa lista de híbridos naturales fueron descritos por diferentes autores-coleccionistas en distintos años (Hawkes y Hjerting, 1969, p12-26) como híbridos de chc x spg en Río Churqui y vrn x spg en Infiernillo (Castillón 1906-1927); híbridos raros entre vrn x spg en Tucumán y Catamarca Schreiter (1917-40); probables híbridos acl x spg en Sierras de Quilmes, Salta Castellanos (1917-43); vnt x vrn en Chicligasta, Tucumán Meyer (1949); sct x vnt en Tafí, Tucumán Petersen y Hjerting (1952), también describieron una interesante zona de hibridación de especies en la región montañosa entre Yavi y Santa Victoria; chc x spg en Belén, Catamarca Sleumer y Vervoost (1952); la expedición alemana que coleccionó chc x spg en Tafí del Valle, Tucumán (Ross, en 1959). Híbridos naturales entre vrn x spg (Hawkes y Hjerting, 1969, p 369-370), la introducción P&HP332 de Infiernillo, mostró variabilidad en F₂ con plantas que se parecían a vrn, otras se asemejaban a spg y otras que mostraban combinación de caracteres entre ambas especies, este mismo comportamiento se observó entre híbridos entre spg x chc que evidenciaban gran variabilidad morfológica.

Por esto, el complejo patrón de reacciones de incompatibilidad detectado en el nivel polen-estilo/estigma en las combinaciones genotípicas derivadas de cruzamientos intraespecíficas, de spg, grl 2x y grl4x, podría explicarse asumiendo que estas poblaciones presentan cierto grado de introgresión con otras especies como resultado del flujo génico. De este modo, asumiendo que dichas reacciones de incompatibilidad precigótica tienen un control independiente del locus S y que uno o pocos genes controlan dichos eventos como lo propusieron Hogenboom (1973) para *Lycopersicum* y Camadro y Peloquin (1981) para especies silvestres de *Solanum*, la variabilidad observada podría explicarse por la segregación de genes dominantes específicos. De igual modo, es factible que diferencias génicas importantes que se expresan en el embrión, endosperma o ambos tejidos expliquen los fracasos reproductivos y la escasa producción de semilla en aquellas combinaciones genotípicas en las que los tubos polínicos crecen hasta la base del ovario y aún entre los óvulos, y que el bajo porcentaje de combinaciones que produjeron semilla en números cercanos a normales como ORHL 4841 planta 14 x OL 4858 planta 17 (cinco frutos con 200 sem/fruto); spg, Oka 5662 planta 20 X OL 4911 planta 3 (dos frutos con 100 sem/fruto) y Oka 7547 planta 25 x Oka 7558 planta 5 (dos frutos con 40 sem/fruto) se deba, asimismo, a la segregación génica.

Los resultados de la formación de semilla que se presentan en las combinaciones interespecíficas de grl 2x x spg y recíprocas evidencian que las barreras en el nivel polen-estilo/estigma entre estas especies, aunque de intensidad variable, pueden ser incompletas permitiendo la formación de un número reducido de semilla híbridas (en promedio 8 semillas/fruto para OL 4916 planta 5 x ORHL 4841 planta 8; y 29 semillas/fruto para la combinación recíproca); estos resultados determinan la necesidad de un mayor énfasis en las tareas de recolección, evaluación y mantenimiento de las poblaciones de estas especies.

Para las combinaciones spg x tbr y recíprocas, grl 2x x tbr y recíprocas y grl 2x x grl 4x y recíprocas la causa de los fracasos en la formación de semilla puede explicarse por la hipótesis del NBE (Johnston *et al.*, 1980). Dado que dichas combinaciones son interploides e inter NBE, el endosperma híbrido no presenta la relación adecuada de factores (genes) maternos y paternos en la relación 2 a 1 en este tejido, para que su desarrollo sea normal. Es también factible que diferencias génicas en el embrión hayan alterado su normal desarrollo produciendo finalmente su colapso, como ha sido informado en otras especies de papa (Masuelli y Camadro, 1997; Ispizúa *et al.*, 2002). Asimismo, los citotipos de grl podrían presentar diferencias génicas de importancia para el desarrollo de la semilla debido a la introgresión de genes de especies simpátricas.

Por otra parte, las especies silvestres de papa permiten ampliar la base genética de la papa común por el método analítico-sintético (Mendiburu *et al.*, 1974). Uno de los esquemas propone el uso de las especies silvestres, que en su mayoría son diploides, en combinación con tbr mediado por el funcionamiento de gametos 2n (oósfemas y polen 2n). Los resultados de los cruzamientos de grl y spg con tbr y recíprocos junto a las observaciones de polen ponen en evidencia la falta de formación de este tipo de gametos mutantes en las introducciones utilizadas. No obstante, otro esquema para la incorporación de germoplasma silvestre es el que combina tbr con las especies de igual nivel de ploidía (Mendiburu *et al.*, 1977). Así los resultados de las combinaciones grl 4x x tbr y tbr x grl 4x ponen en evidencia que es factible incorporar germoplasma de esta especie silvestre a la papa común en cruzamientos directos.

Capítulo 3

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA EN POBLACIONES DE LAS ESPECIES SILVESTRES *SOLANUM SPEGAZZINII* Y *SOLANUM GOURLAYI* MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES AFLP

INTRODUCCIÓN

Las especies silvestres de papa son de interés para los fitomejoradores por constituir una fuente potencial de caracteres deseables para el mejoramiento genético. Existen alrededor de 200 especies reconocidas, parte de cuya diversidad genética está disponible en bancos de germoplasma en distintos países del mundo. Este material vegetal silvestre proviene de los diferentes viajes de colección que realizan los distintos bancos. En este sentido surge el interés en un grupo particular de especies constituido por *Solanum spegazzinii* (spg, $2n=2x=24$; 2NBE) y *S. gourlayi* (grl, $2n=2x=24$, 2NBE), que ha sido identificado en el Laboratorio de Genética de la Unidad Integrada Balcarce (UIB) por el potencial aporte de características de interés al mejoramiento genético, además de una alta variabilidad fenotípica y de cierta incoherencia en el comportamiento reproductivo esperable si se tratase de especies puras. De estas especies, en el Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras de la UIB se dispone de semillas de colecciones originarias del NOA de 1973, entre otras colecciones, de una primera multiplicación a partir de este material y de colecciones de un reciente viaje de recolección en los mismos sitios de las colecciones originales.

Por otra parte, el desarrollo de distintos marcadores moleculares aportó una potente herramienta para numerosos estudios de diversidad genética (Hosaka y Spooner, 1992; del Río *et al.*, 1997; McGregor *et al.*, 2002; van den Berg *et al.*, 2002; Bamberg y del Río, 2004). Por medio de los marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*; Welsh y McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990) se determinaron falta de asociación entre las características genéticas y el origen geográfico de las poblaciones en *S. sucrense* (del Río y Bamberg, 2002), cambios genéticos drásticos entre las colecciones *ex situ* respecto de las *in situ* (del Río *et al.*, 1997) y mayor heterogeneidad genética en las semillas obtenidas en el banco respecto a las originales en *Solanum fendleri* y *S. jamesi* (del Río y Bamberg, 2003). Los marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*; Vos *et al.*, 1995) permiten una rápida y efectiva evaluación total del genoma, y fueron aplicados exitosamente en el agrupamiento de plantas de introducciones de varias especies de *Solanum* en base a los niveles de variación para los mismos (Kardolus *et al.*, 1998; McGregor *et al.*, 2002).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar por medio de marcadores moleculares AFLP la variabilidad genética de introducciones de las especies silvestres de papa spg y grl 2x provenientes de colecciones originales y del primer ciclo de regeneración de dichas colecciones, disponibles en el Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras de la UIB, así como de nuevas colecciones en los sitios originalmente muestreados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras al azar de un número variable de ocho a 15 plantas de las introducciones de spg y grl 2x, a partir de:

(a) semillas de las poblaciones coleccionadas en 1973-74 de spg, OL 4911 y Oka 5662, y de grl 2x, OL 4858.

(b) semillas de un ciclo de regeneración de las introducciones descritas en (a), además de la introducción ORHL 4841 de grl 2x.

(c) semillas (CIE 1581 y CIE 1582) y tubérculos (CIE 1572 y CIE 1575) de las poblaciones coleccionadas en 2003, de sitios coincidentes o próximos a las introducciones descritas en (a), según se muestra en Tabla 1.

Tabla 1: Origen, sitio y momento de colección de introducciones de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* utilizadas para el estudio con marcadores AFLP

Especie-Introducción	Origen de las Plantas	Identificación	Nº Plantas	Sitio Colección Prov. de Salta. Departamento, Localidad
spg-OL 4911	Colección 1973 *	so	12	Chicoana, Cuesta del Obispo
spg-OL 4911	Regeneración de colección 1973 *	sm	10	
spg-CIE 1581	Colección 2003 *	sn	8	
spg-Oka 5662	Colección 1974 *	SO	10	La Poma, Peña Agujerada
spg-Oka 5662	Regeneración de colección 1974 *	SM	7	
spg-CIE 1561	Colección 2003 **	SN	7	
grl 2x-OL 4858	Colección 1973 *	go	11	Rosario de Lerma, Las Cuevas
grl 2x-OL 4858	Regeneración de colección 1973 *	gm	8	
grl 2x-CIE 1575	Colección 2003 **	gn	8	
grl 2x-ORHL 4841	Regeneración de colección 1973 **	GM	7	La Poma, El Rodeo
grl 2x-CIE 1572	colección 2003 *	GN	9	

* semillas, ** tubérculos

Extracción de ADN

De cada planta se tomaron tres discos de 0,8 cm de diámetro de las hojas jóvenes, aún en expansión, se acondicionaron en nitrógeno líquido, extrayéndose el ADN genómico total según el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983). La concentración de cada muestra de ADN fue estimada mediante electroforesis en gel de agarosa con una muestra de ADN de concentración conocida y ADN lambda estándar. Estas muestras se diluyeron con agua ultra pura estéril, ajustando la concentración del ADN en 250 ng.

Análisis molecular

El protocolo fue ajustado tomando como base el originalmente desarrollado por Vos *et al.* (1995) con las modificaciones propuestas por Masuelli y Marfil (com. pers, 2004). De cada muestra se digirieron 250 ng de ADN con 1 U (0,1 µl) de EcoRI (Promega), 2 U (0,2 µl) de MseI (New England Biolabs), 1,25 µl de buffer de restricción 10X (New England Biolabs) y 0,125 µl de BSA (New England Biolabs) en un volumen final de 12,5 µl, ajustado con agua ultra pura. La digestión se realizó en un baño termostático a 37 °C durante 3 h. Luego, las muestras fueron sometidas a 70 °C durante 15 min para inactivar las enzimas, y se conservaron a -20 °C. El resultado de la digestión fue verificado mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, en forma similar a lo realizado para cuantificar ADN genómico, utilizando 6.25µl de ADN digerido.

Paralelamente se prepararon los adaptadores: para el correspondiente a la enzima EcoRI, se colocaron los iniciadores 'forward' (5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3') y 'reverse' (5'-AATTGGTACGCAGTC-3'), para obtener 5 pmoles en un volumen final de 100 µl. El adaptador de la enzima MseI se preparó colocando iniciadores 'forward' (5'-GACGATGAGTCCTGAG-3') y 'reverse' (5'-TACTCAGGACTCAT-3') para obtener 50 pmoles en el mismo volumen final. Ambas suspensiones se incubaron mediante un ciclo de 94 °C (1min) y de 65 °C (10 min), donde se disminuyó hasta temperatura ambiente en un ciclador térmico Biometra Uno-Thermoblock, luego se conservaron a -20 °C. Se ligaron estos adaptadores al ADN digerido. Para ello, se colocó 1 µl de cada adaptador, 0,8 U (0,25 µl) de ADN ligasa T4 (Promega), 1,25 µl de buffer de ligamiento 10X (Promega) y 6,25 µl de agua ultra pura (10 µl totales) a cada muestra de ADN

digerido. Las muestras se incubaron en un baño termostático a 37 °C durante 3 h, y luego se conservaron a -20 °C.

El ADN digerido, con los adaptadores ligados, fue preamplificado con los iniciadores 'EcoRI+A' (5'-GACTGCGTACCAATTC-3') y 'MseI+C' (5'-GATGAGTCCTGAGTAA-3'). A 1 µl de muestra de ADN producto de la ligación, se le adicionaron 0.8 µl de cada iniciador (preparado a 50ng µl⁻¹), 1 µl de dNTPs 10 mM (Gibco), 5 µl de buffer de PCR 5X (Promega), 0,75 µl de MgCl₂ 50 mM (Promega), 1 U (0,2 µl) de Taq ADN Polimerasa (Promega) y 15,45 µl de agua ultra pura. La preamplificación se realizó en un ciclador térmico MJ Research PTC-100, con el siguiente programa: 20 ciclos de: 94 °C (30 seg), 56 °C (1 min) y 72 °C (1 min); las muestras se mantuvieron a 4 °C hasta extraerlas del ciclador. El resultado de la reacción fue verificado por electroforesis en gel de agarosa al 1%, empleando 8 µl de cada ADN preamplificado. Luego, el ADN preamplificado de cada planta fue diluido 1:3 (ADN preamplificado: TE) y se conservaron a -20 °C.

Las diluciones de ADN preamplificado de cada planta se utilizaron como molde de las reacciones de amplificación selectiva. Éstas se llevaron a cabo con distintas combinaciones de iniciadores 'EcoRI+3' y 'MseI+3' que se muestran en el Tabla 2. A 2 µl de muestra de ADN se le agregaron 0.5 µl de 'EcoRI+3' y 0,6 µl de 'MseI+3' (preparados a una concentración de 50 ng. µl⁻¹), 0,4 µl de dNTPs 10 mM, 4 µl de buffer de PCR 5x, 0,6 µl de MgCl₂ 50 mM y 0,5 U (0.1 µl) de Taq ADN Polimerasa y 11,8µl de agua ultra pura. Para la amplificación se utilizó un ciclador térmico MJ Research PTC-100 o Biometra Uno-Thermoblock; el programa consistió en un ciclo de: 94 °C (30 seg), 65 °C (30 seg), 72 °C (1 min); 12 ciclos de: 94 °C (30 seg), 65 °C (30 seg) bajando 0,7 °C en cada ciclo hasta llegar a 72 °C (1 min); 23 ciclos de: 94 °C (30 seg), 56 °C (30 seg) y 72 °C (1 min), terminación a 4 °C. Posteriormente, de cada muestra de amplificación se tomaron 4 µl y se agregaron 4 µl de buffer de carga (95% v/v formamida, 10 mM Na OH, 0,05% p/v de 'xylene cyanol' y 0,05% p/v de azul de bromofenol). Antes de la siembra en el gel, los productos de la amplificación se desnaturalizaron en el ciclador térmico a 90 °C durante 3 min e inmediatamente se colocaron y mantuvieron en hielo. Los fragmentos amplificados se separaron mediante electroforesis vertical en geles desnaturalizantes de poliacrilamida 6% en 'buffer' TBE 1X, a 85 W (50°C constante) durante aproximadamente 2,5 h.

La tinción se realizó con nitrato de plata, utilizando el método desarrollado por Caetano-Anollés y Gressoff (1974). Para ello, se fijaron los geles con solución de ácido acético glacial 10% preparado con agua ultra pura (20 min) en agitación, se realizaron tres lavados en agitación con agua UP (2 min cada uno); se incubaron en AgNO₃ solución preparada con 3g AgNO₃, 3ml formaldehído y 2 l. agua UP (30 min); se escurrieron (15 seg); se lavaron en agitación con agua UP (5 seg); se incubaron en solución de revelado a 8 °C, preparada con 2 l. agua UP, 60g de Na CO₃, 3 ml formaldehído, 400 µl de solución de tiosulfato de sodio 10mg/ml, en agitación hasta la aparición de bandas nítidas (tiempo variable de 2 a 4 min); luego del revelado se fijaron en ácido acético glacial 10% (20 min); dos lavados con agua destilada (2 min); se escurrieron los geles.

La detección del número total de bandas por combinación de iniciadores y la identificación de polimorfismos se realizaron en forma visual, a partir de los geles y/o sobre la versión digitalizada de las mismas en el programa Corel Photo Paint 10 (Corel Corporation Ltd.).

Tabla 2: Combinaciones de iniciadores utilizados en las reacciones de amplificación para marcadores AFLP		
Denominación ^a		Secuencia
C1	E2	5' GACTGCGTACCAATTCACA 3'
	M2	5' GATGAGTCCTGAGATACTA 3'
C2	E3	5' GACTGCGTACCAATTCAGT 3'
	M2	5' GATGAGTCCTGAGATACTA 3'
C3	E2	5' GACTGCGTACCAATTCACA 3'
	M3	5' GATGAGTCCTGAGATACAA 3'
C4	E3	5' GACTGCGTACCAATTCAGT 3'
	M3	5' GATGAGTCCTGAGATACAA 3'
^a C: combinación de iniciadores; E: iniciadores 'EcoRI+3'; M: iniciadores 'MseI+3		

Las combinaciones de iniciadores selectivos fueron previamente utilizadas en el laboratorio y proveyeron un buen perfil de lectura y gran número de bandas.

Análisis de Datos

Se realizó la lectura de los datos de las bandas considerando sólo las plantas que

presentaron un perfil adecuado de lectura de bandas en las cuatro combinaciones de iniciadores de AFLP. En cada planta se registraron las bandas polimórficas para las cuatro combinaciones de iniciadores como presentes (1) y ausentes (0); aquellas que no presentaron bandas en alguna de las cuatro combinaciones de iniciadores no se consideraron en el análisis.

Para cada sitio de colección se analizaron las plantas de los tres orígenes en forma conjunta, esto es, colección original de 1973-74, 1er ciclo de regeneración a partir de la colección original y nueva colección de 2003. Se realizaron análisis multivariados de ordenamiento y clasificación para determinar la variación, dispersión y agrupamiento que presentaba cada introducción. Se utilizó el programa Infostat (2008) para realizar los análisis de coordenadas principales (ACP) y los análisis de agrupamiento que se basaron en el cálculo de las matrices de distancias entre plantas según la raíz cuadrada del coeficiente de apareamiento simple (SM=*Simple Matching*; Sokal y Michener, 1958), que asigna igual importancia tanto a la presencia como ausencia de las bandas polimórficas, según:

$$S_{ij} = (a + d) / (a + b + c + d);$$

S_{ij} = coeficiente de similitud; a y d = frecuencias con que la presencia (1-1) y ausencia (0-0) de bandas es común en dos individuos, respectivamente; b y c = frecuencias para las discrepancias (1-0 y 0-1) de presencia-ausencia de bandas en dos individuos.

Los gráficos se representaron por dendrogramas utilizando el método de agrupamiento promedio, UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*) y la bondad de ajuste de esta representación se calculó con el coeficiente de correlación cofenética.

En el ACP se estudiaron las relaciones de proximidad establecidas entre las plantas mediante el árbol de recorrido mínimo (ARM) que une según las distancias mínimas reales entre individuos reduciendo las distorsiones al graficar datos multivariados en dos dimensiones.

Luego, se analizaron por ACP y de agrupamiento el conjunto de datos de las plantas e introducciones de las dos especies.

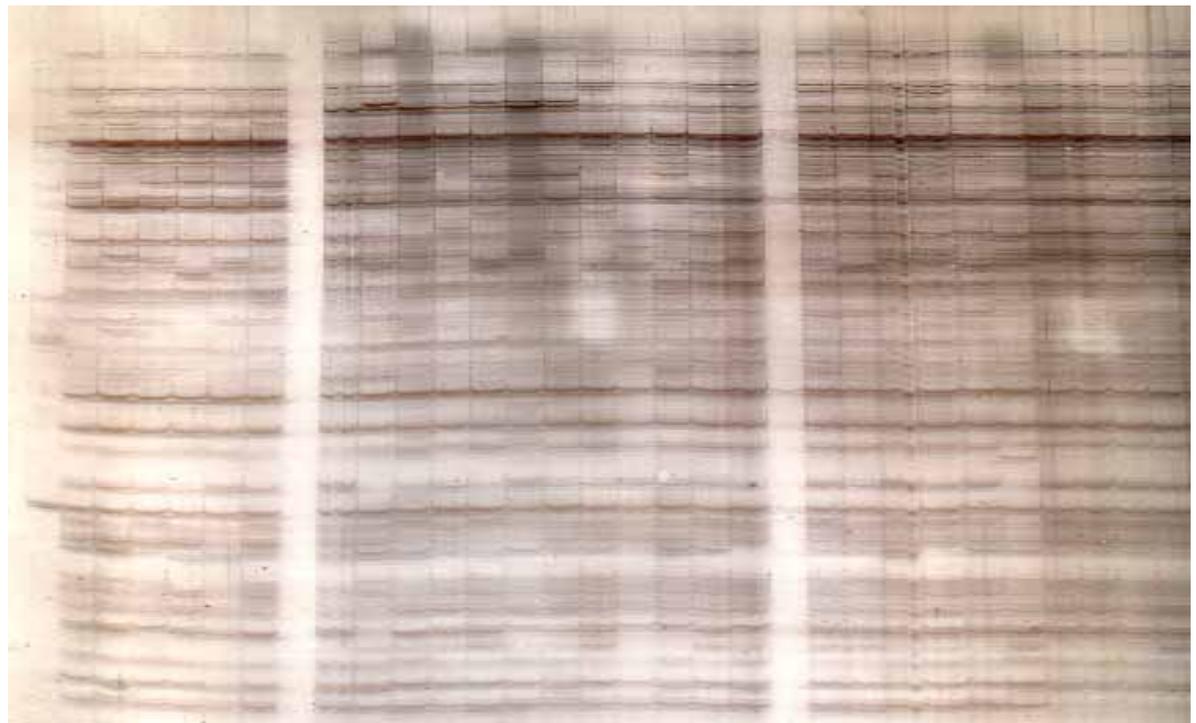
Análisis de la varianza molecular (AMOVA)

Se realizó un análisis de la varianza molecular (AMOVA; Excoffier *et al.*, 1992 y

2005) para estimar los componentes de la varianza. Para ello se planteó una estructura jerárquica de los datos considerando especies, introducciones dentro de especies y origen dentro de introducción. Así se construyeron diferentes estructuras jerárquicas para cuantificar el aporte de cada efecto en la estructura planteada. De este modo, se cuantificó el grado de significancia de cada componente del AMOVA.

RESULTADOS

Se analizaron en total 97 plantas correspondientes a las poblaciones de las especies y al origen de las mismas. No obstante, según el origen de las introducciones de grl y spg se utilizaron para el análisis un número mínimo de siete plantas que desarrollaron perfiles de óptimo contraste para la lectura en las cuatro combinaciones de AFLP (Figura 1).



colección original

primera multiplicación

nueva colección

Figura 1: Patrón electroforético representativo de la variabilidad de bandas para marcadores AFLP en plantas de *Solanum spigazzinii*, colección original, primera multiplicación y nueva colección de Cuesta del Obispo, Chicoana (Salta).

Las combinaciones de iniciadores para las reacciones de amplificación de AFLP produjeron un número variable de bandas polimórficas según: C1, C2, C3 y C4 que produjeron 42, 25, 40 y 38 bandas, respectivamente.

Introducciones de spg

Para el conjunto de plantas de diferente origen de las introducciones de Cuesta del Obispo (Chicoana), OL 4911 colección original de 1973 (so), OL 4911 regeneración en 2000 (sm) y CIE 1581 colección del 2003 (sn) se realizaron los ACP y de agrupamiento del material utilizando 12, diez y ocho plantas, respectivamente. En la Tabla 3 se presentan los valores, la proporción y proporción acumulada de la variabilidad total para cada autovalor, donde se observa que los tres primeros ejes acumulados lograron captar 50% de la variabilidad total.

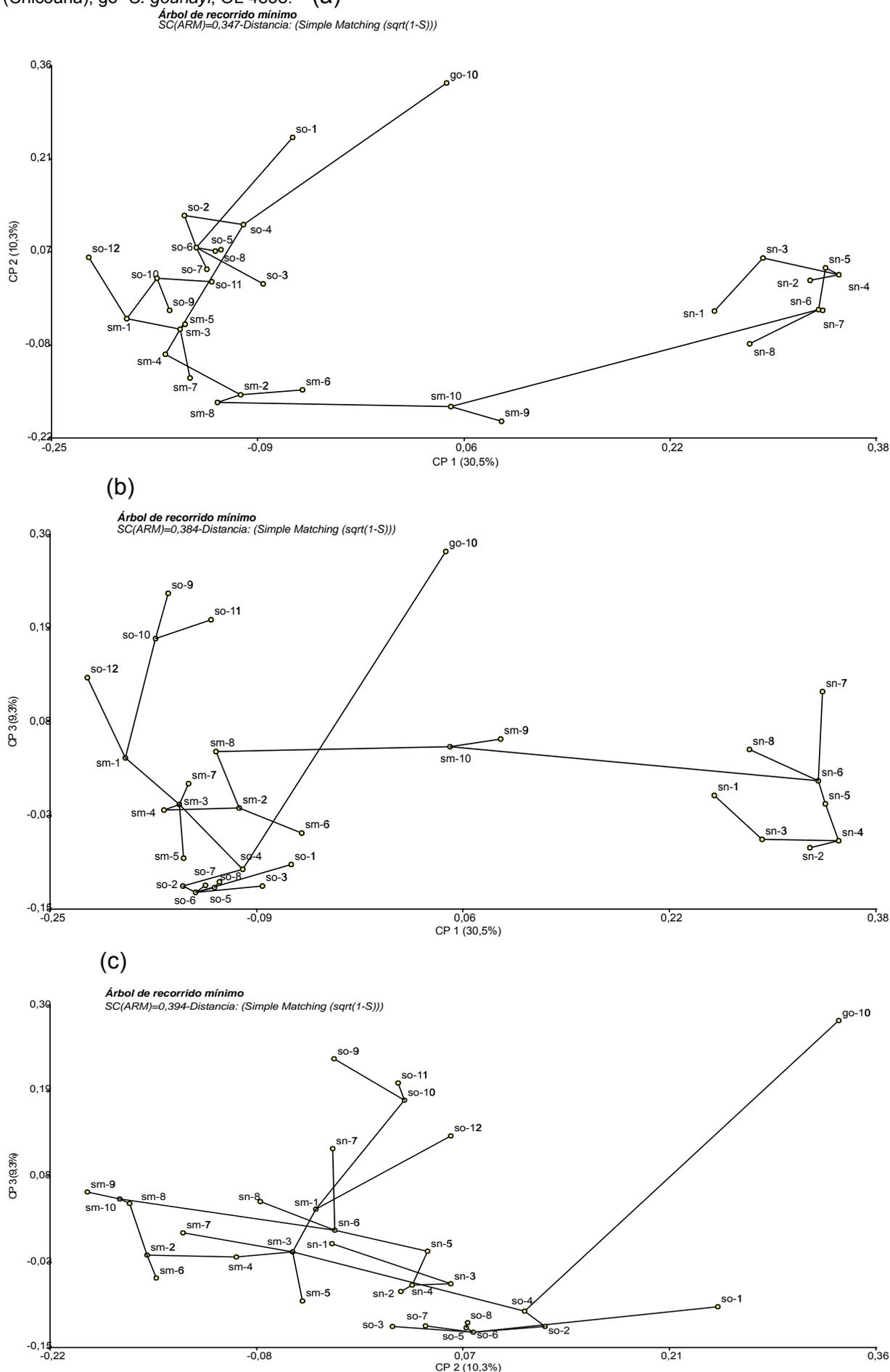
Tabla 3: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \underline{SM} ($\sqrt{1-S}$) para plantas de *Solanum spgazzinii* de las introducciones original (so=OL 4911), regeneración (sm=OL4911) y nueva colección (sn=CIE 1581) de Cuesta del Obispo (Chicoana).

Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	1,22	0,31	0,31
2	0,41	0,10	0,41
3	0,37	0,09	0,50
4	0,27	0,07	0,57
5	0,22	0,05	0,62
6	0,17	0,04	0,66
7	0,16	0,04	0,70
8	0,14	0,03	0,74
9	0,13	0,03	0,77
10	0,10	0,03	0,80

Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \underline{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En Figura 2 se representan en el plano las configuraciones de las plantas para los tres primeros ejes del ACP (ejes 1-2; ejes 1-3 y ejes 2-3). Se observa que los valores que presentaron las plantas de spg fueron de una gran variabilidad representada por la elevada dispersión espacial; además, no se presentaron valores coincidentes o idénticos (clones) entre los valores de las plantas. La Figura 2(a) y (b) del ACP determinaron una menor dispersión para las plantas según el origen de las mismas; a la vez se pudieron distinguir dos subgrupos, uno constituido por las plantas que provienen de la colección nueva (sn) y otra asociación formada por las plantas de la colección original (so) junto a las plantas de la multiplicación (sm), excepto sm9 y sm10 que se presentaron en la transición entre los grupos so y sn. Por otra parte, se observó que la planta de grl se encontraba alejada pero con mayor relación con el grupo de plantas de la colección original (so).

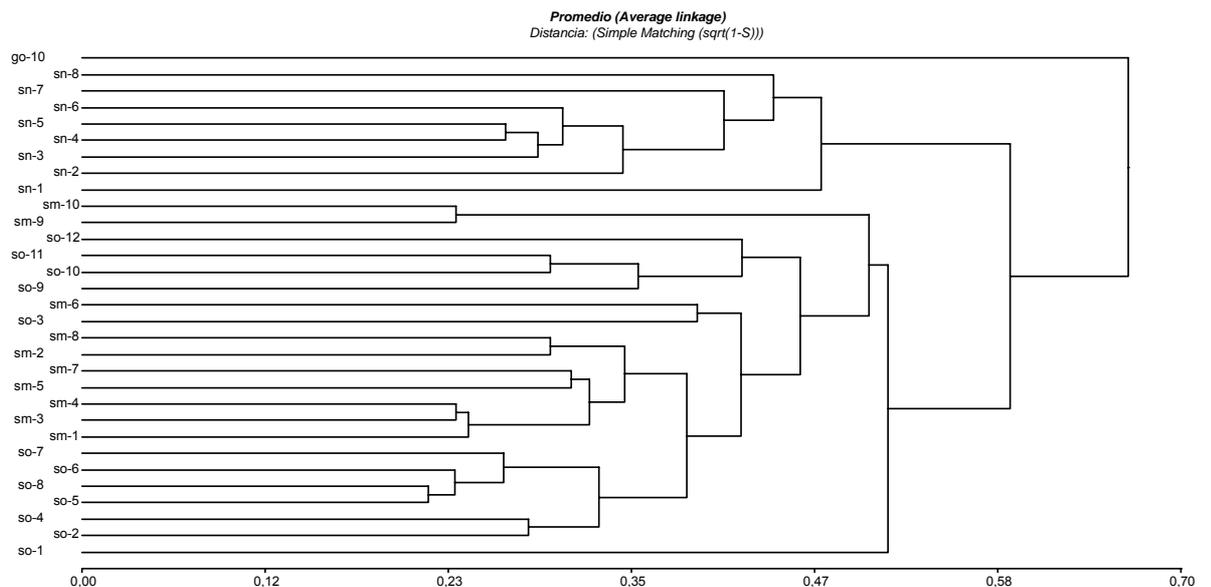
Figura 2: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia \underline{SM} ($\sqrt{(1-S)}$): (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de *Solanum spegazzinii* de introducciones original (so=OL 4911), regeneración (sm=OL4911) y nueva colección (sn=CIE 1581) de Cuesta del Obispo (Chicoana); go=*S. gourlayi*, OL 4858. (a)



Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \underline{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En el fenograma (Figura 3) se representó la distancia de similitud basada en el coeficiente de apareamiento simple con el método de UPGMA de los patrones electroforéticos de marcadores AFLP entre las plantas de spg provenientes de Cuesta del Obispo. En este se verificó el agrupamiento acorde al origen, donde a una distancia de 0,47 se produjo el agrupamiento de todas las plantas de la nueva colección (sn), a una distancia de 0,46 se agruparon la mayoría de las plantas de la colección original (so) junto con las plantas de la primera regeneración (sm), excepto so1, sm 9 y sm 10 que lograron agruparse a una distancia de 0,52; mientras que todas las plantas de spg se agruparon a una distancia de 0,59 y la planta de grl se unió a estos grupos de spg a una distancia de 0,68. El ajuste en la representación de los datos medido a través del coeficiente de correlación cofenética fue de 0,938.

Figura 3: Fenograma de datos de marcadores AFLP basado en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para plantas de *Solanum spegazzinii* de introducciones original (so=OL 4911), regeneración (sm=OL4911) y nueva colección (sn=CIE 1581) de Cuesta del Obispo (Chicoana); go= *S. gourlayi*, OL 4858.



Nota: UPGMA=método de agrupamiento promedio

Para el conjunto de plantas de diferente origen de las introducciones de Peña Agujereada (La Poma), Oka 5662 colección original 1974 (SO), Oka 5662 regeneración 2000 (SM) y CIE 1561 colección de 2003 (SN) se realizaron los ACP y de agrupamiento utilizando 10, 7 y 7 plantas, respectivamente. En el Tabla 4 se presentan los valores, proporción y la proporción acumulada de la variabilidad total para cada autovalor, donde se observó que los 3 primeros ejes acumulados lograron captar 37% de la variabilidad total.

Tabla 4: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum spegazzinii* de las introducciones original (SO=Oka5662), regeneración (SM=Oka 5662) y nueva colección (SN=CIE 1561) de Peña Agujereada (La Poma).

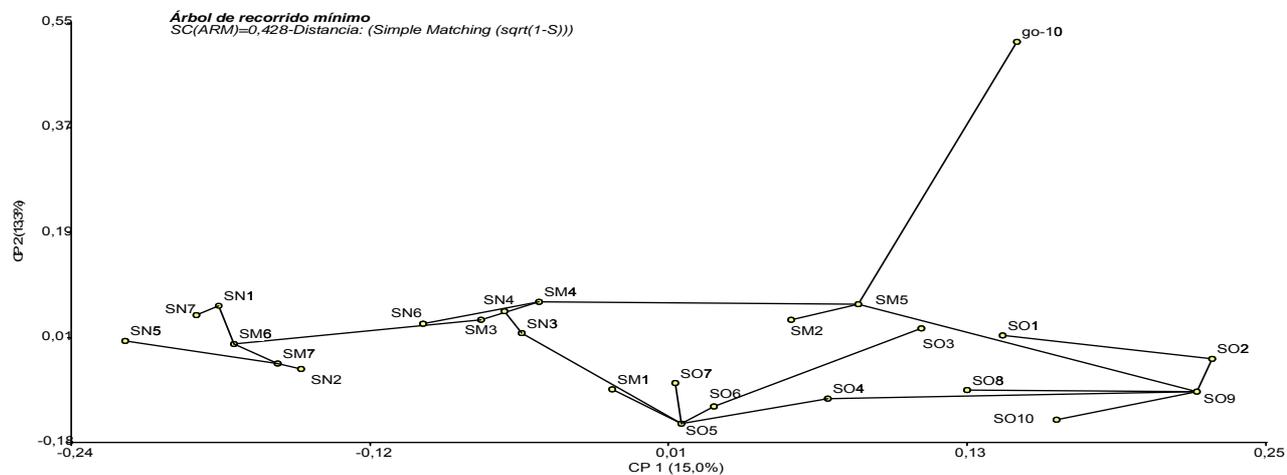
Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	0,44	0,15	0,15
2	0,39	0,13	0,28
3	0,24	0,08	0,37
4	0,23	0,08	0,44
5	0,19	0,06	0,51
6	0,17	0,06	0,57
7	0,15	0,05	0,62
8	0,13	0,05	0,67
9	0,13	0,04	0,71
10	0,12	0,04	0,75

Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \sqrt{SM} =coeficiente de apareamiento simple

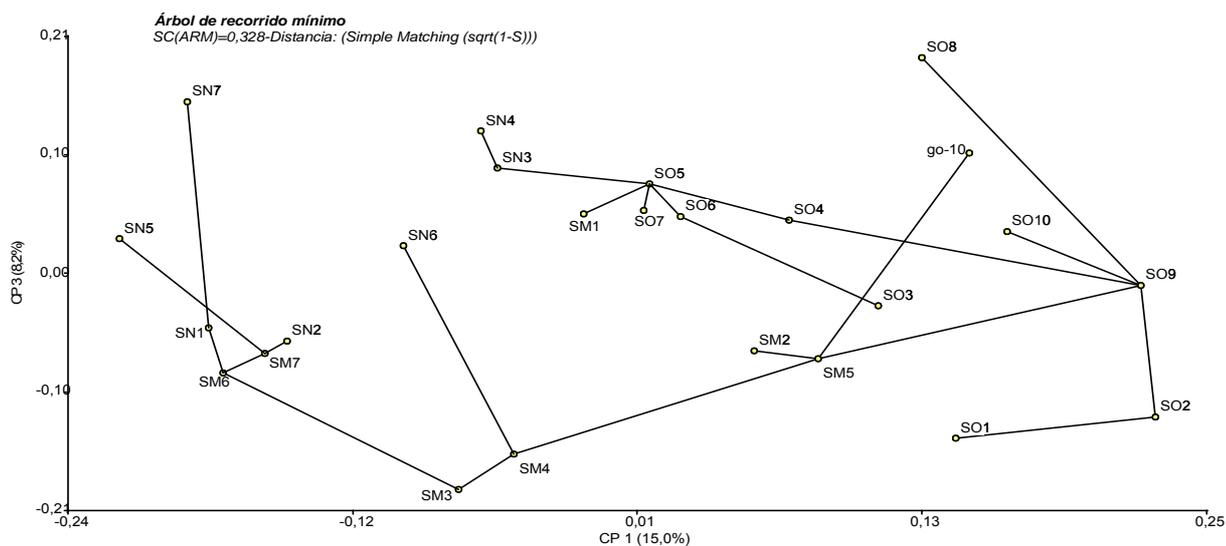
En la Figura 4 se observan las configuraciones para estos ejes del ACP, que se caracterizaron por una alta variabilidad de las plantas de spg determinada por la elevada dispersión que presentaron los valores de las mismas; no se verificaron valores coincidentes entre las plantas. Se pudieron apreciar en los gráficos de ejes de coordenadas principales que existió por una parte una mayor asociación entre las plantas de la colección original (SO) y, por otra parte, entre las plantas de la colección nueva (SN), y que entre estos subgrupos se encontraron repartidas y dispersas las plantas de regeneración (SM), una parte de las plantas de SM (SM1, SM2 y SM5) se encontraron más asociadas al subgrupo SO y otras plantas de SM (SM3, SM4, SM6 y SM7) más asociadas al subgrupo SN; la planta de grl se presentó alejada aunque más próxima al subgrupo SO.

Figura 4: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia \underline{SM} ($\sqrt{1-S}$): (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de *Solanum spegazzinii* de introducciones original (SO=Oka 5662), regeneración (SM=Oka 5662) y nueva colección (SN=CIE 1561) de Peña Agujerada (La Poma); go= *S. gourlayi*, OL 4858.

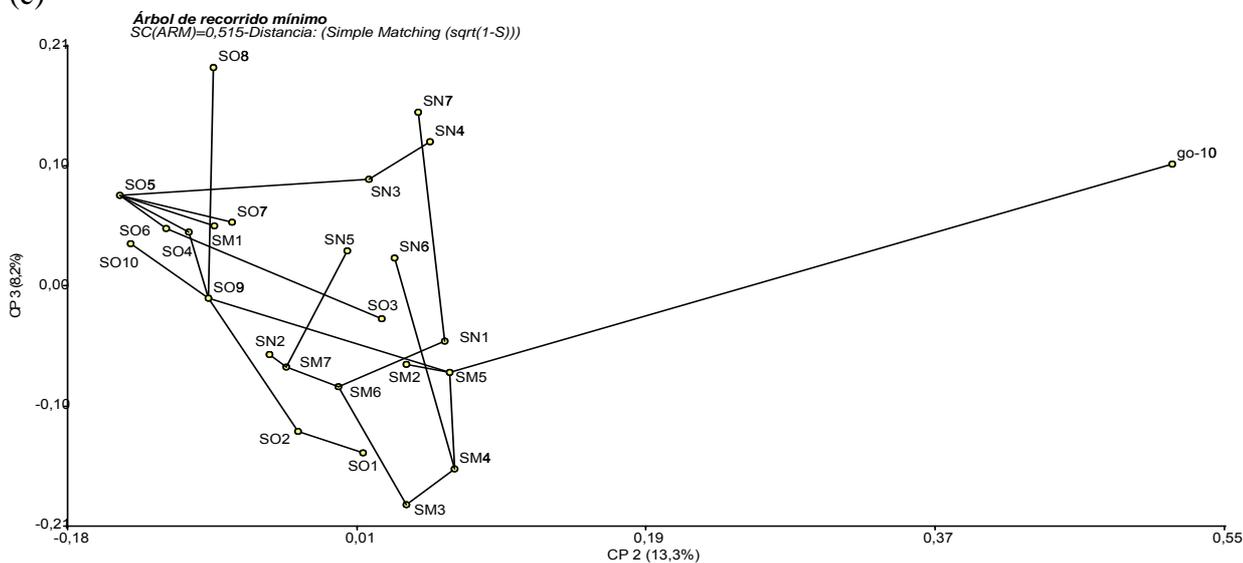
(a)



(b)



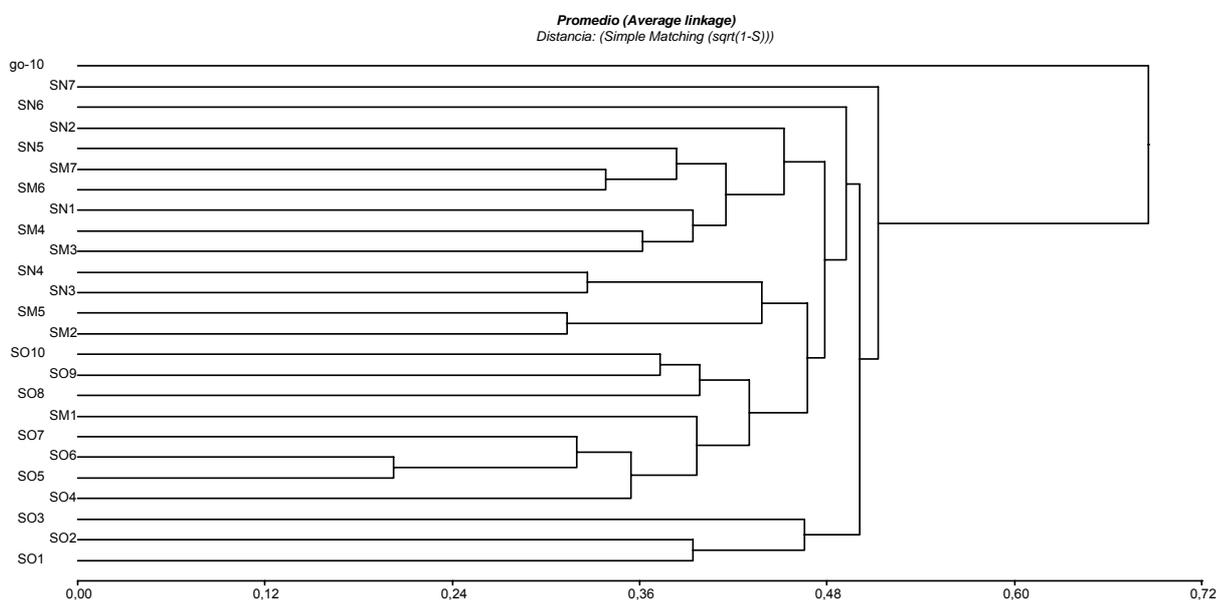
(c)



Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \underline{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En el fenograma (Figura 5) de las plantas de spg se observa que a un nivel de distancia de 0,48 de similitud se agruparon: por un lado parte de las plantas de SO (SO1, SO2 y SO 3) y por otro lado todas las plantas de SO, SM y SN; excepto SN6 y SN7, que lograron agruparse al resto de las plantas de spg a una distancia de 0,53 de similitud; la planta de grl se agrupó a una distancia de 0,7 con las plantas de spg; el ajuste en la representación de los datos medido a través del coeficiente de correlación cofenética fue de 0,884.

Figura 5: Fenograma de datos de marcadores AFLP basado en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de *Solanum spegazzinii*, de introducciones original (SO=Oka5662), regeneración (SM=Oka 5662) y nueva colección (SN=CIE 1561) de Peña Agujereada (La Poma); go= *S. gourlayi*, OL 4858.



Introducciones de grl

Para las plantas de diferente origen de las introducciones de El Rodeo (La Poma), OL 4841 regeneración en 2000 (GM) y CIE 1572 colección 2003 (GN) los ACP y de agrupamiento se realizaron con siete y nueve plantas, respectivamente. En el Tabla 5 se presentan los valores, la proporción y proporción acumulada de la variabilidad total para cada autovalor, donde se observa que los tres primeros ejes acumulados lograron captar 44% de la variabilidad total.

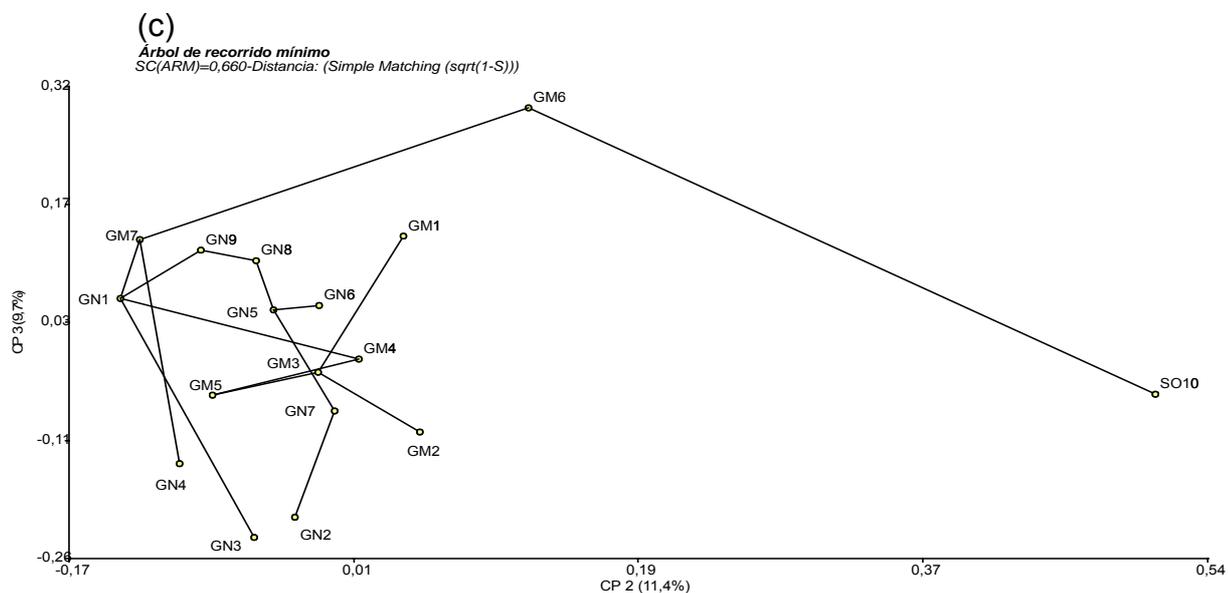
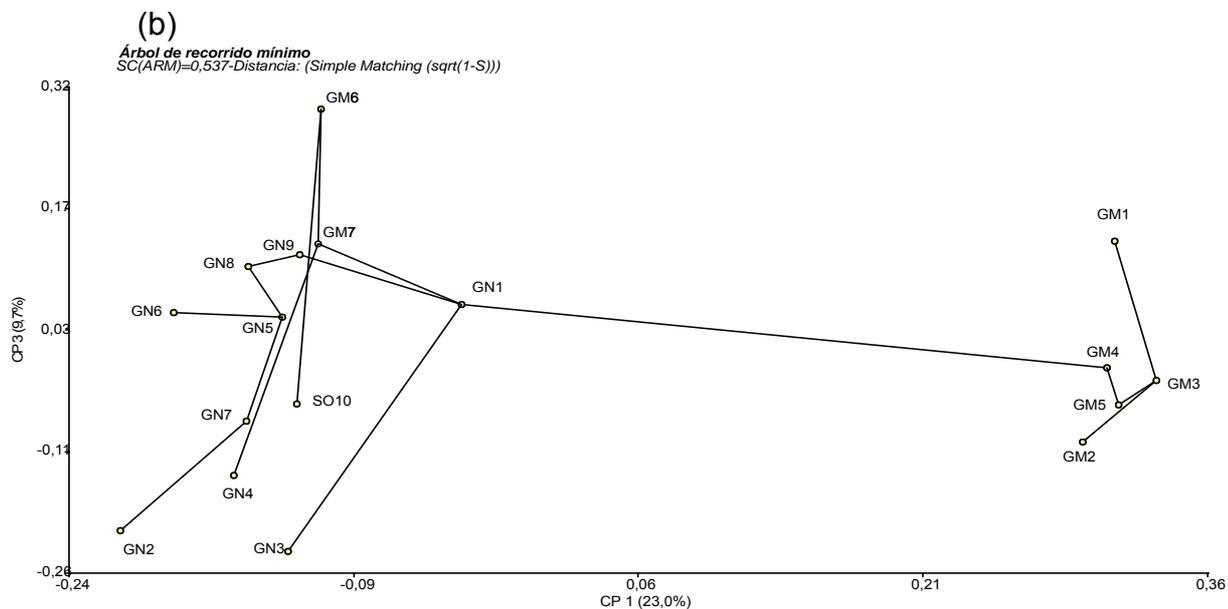
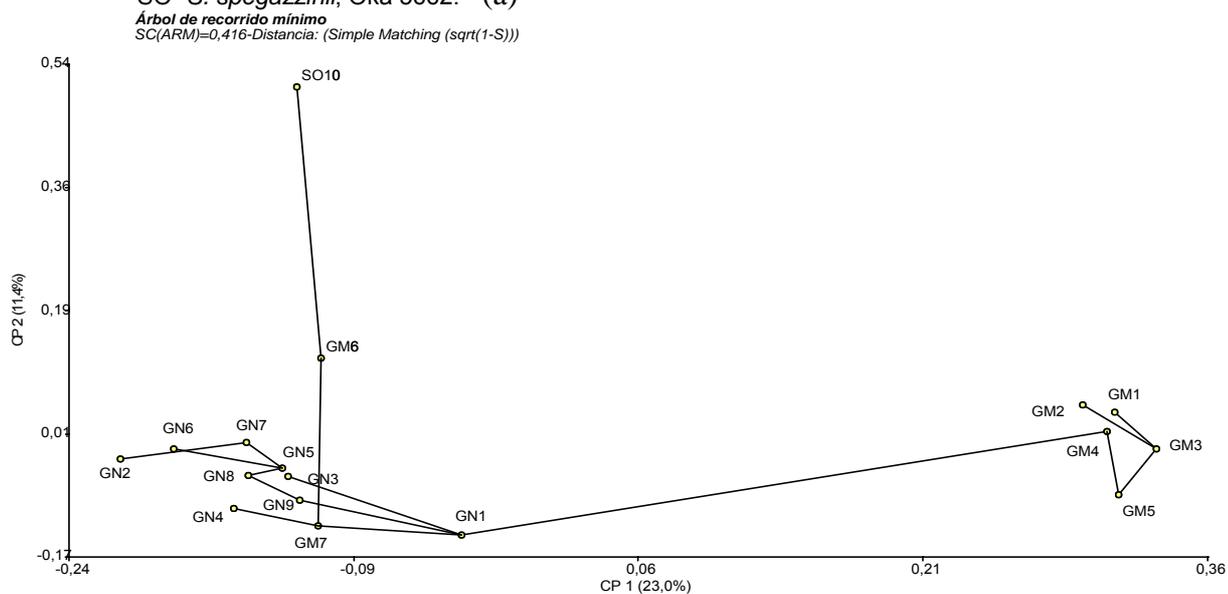
Tabla 5: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \sqrt{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum gourlayi* de las introducciones de regeneración (GM=OL 4841) y nueva colección (GN=CIE 1572) de El Rodeo (La Poma).

Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	0,70	0,23	0,23
2	0,35	0,11	0,34
3	0,29	0,10	0,44
4	0,25	0,08	0,52
5	0,20	0,07	0,59
6	0,19	0,06	0,65
7	0,17	0,06	0,71
8	0,14	0,05	0,76
9	0,13	0,04	0,80
10	0,12	0,04	0,84

Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \sqrt{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En la Figura 6 se observa una gran variabilidad de los valores de las plantas que se evidencia por la alta dispersión espacial que presentaron las mismas; además, no se detectaron valores idénticos entre las plantas. Se pudieron distinguir las plantas en dos grupos según el origen del material, es decir, regeneración (GM) y nueva colección (GN), aunque las plantas GM6 y GM7 se presentaron más relacionadas al grupo de las plantas de la nueva colección (GN). La planta de spg se presentó distante aunque más próxima al grupo de las plantas GN.

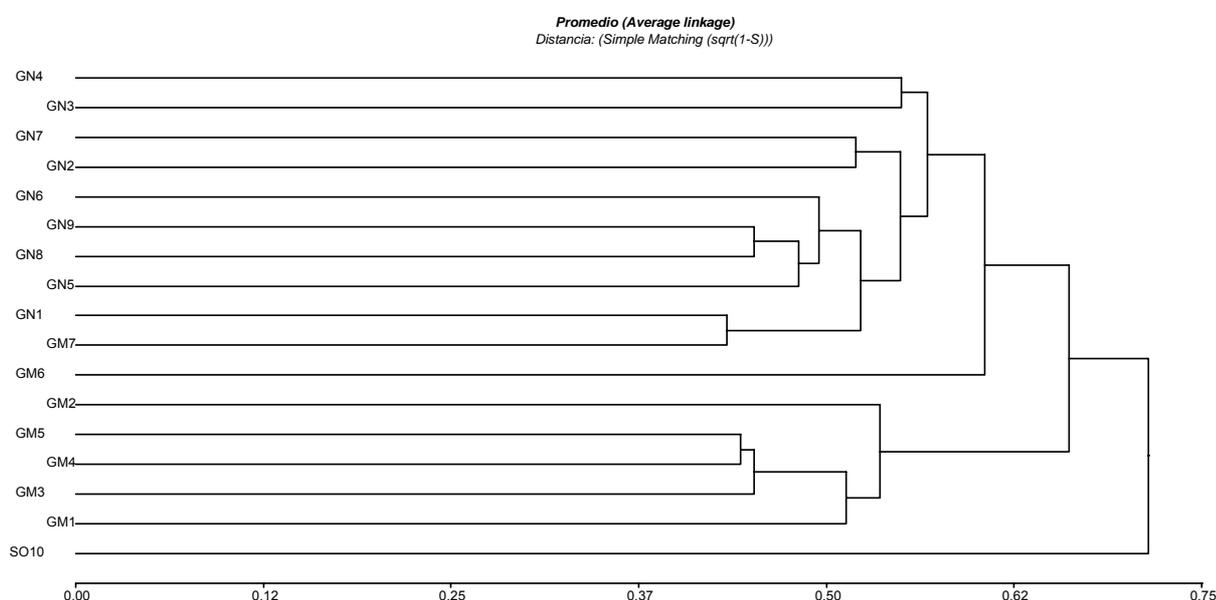
Figura 6: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia \underline{SM} ($\sqrt{1-S}$): (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas *Solanum gourlayi* de introducciones de regeneración (GM=OL4841) y nueva colección (GM=CIE1572) de El Rodeo (La Poma); SO=*S. spegazzinii*, Oka 5662. (a)



Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \underline{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En el fenograma (Figura 7) se formó un grupo con cinco plantas de regeneración de grl (GM) que se agruparon a una distancia de 0,53 de similitud (GM1, GM3, GM4, GM5 y GM2); otro conjunto con las plantas de la colección nueva (GN) junto al resto de plantas de GM se agrupó a una distancia de 0,60, y estos dos grupos de plantas de grl se agruparon a una distancia de 0,65; la planta de spg se agrupó a una distancia de 0,71 con las plantas de grl. La correlación cofenética fue de 0,912.

Figura 7: Fenograma de datos de marcadores AFLP basado en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de introducciones de *Solanum gourlayi*, regeneración (GM=OL4841) y nueva colección (GM=CIE1572) de Peña Agujereada (La Poma); SO=S. *spgazzinii*, Oka 5662.



Nota: UPGMA=método de agrupamiento promedio

Para las plantas de diferente origen de las introducciones de Las Cuevas (Rosario de Lerma), Oka 4858 colección original (go), Oka 4858 regeneración (gm) y CIE 1575 nueva colección de 2003 (gn), se realizaron los ACP y de agrupamiento utilizando 11, ocho y ocho plantas, respectivamente. En el Tabla 6 se presentan los valores, proporción y proporción acumulada de la variabilidad total para cada autovalor, se observa que los tres primeros ejes lograron captar 42% de la variabilidad total.

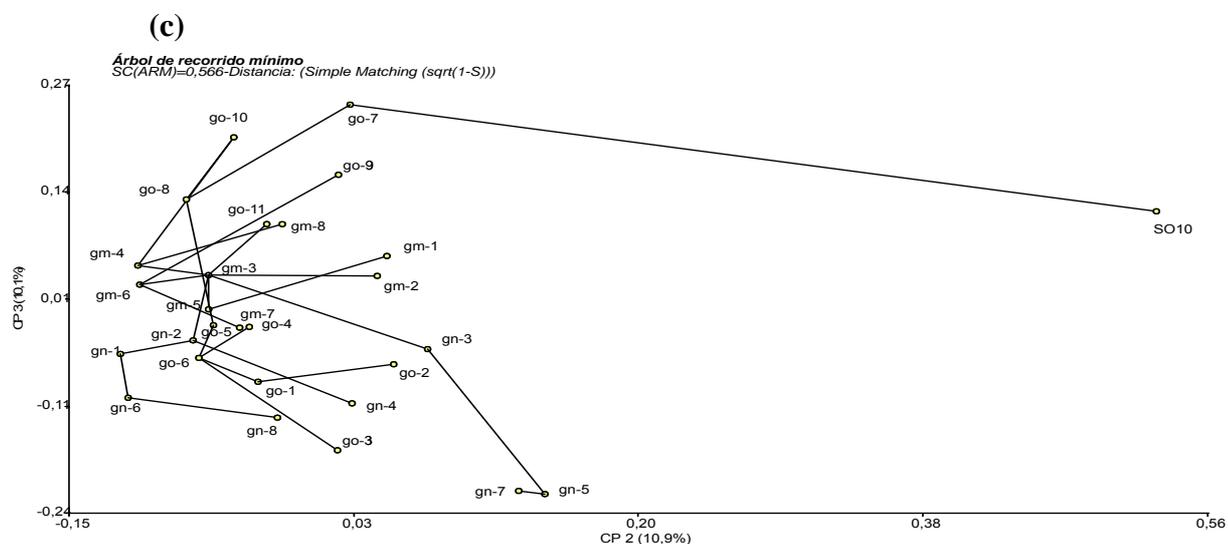
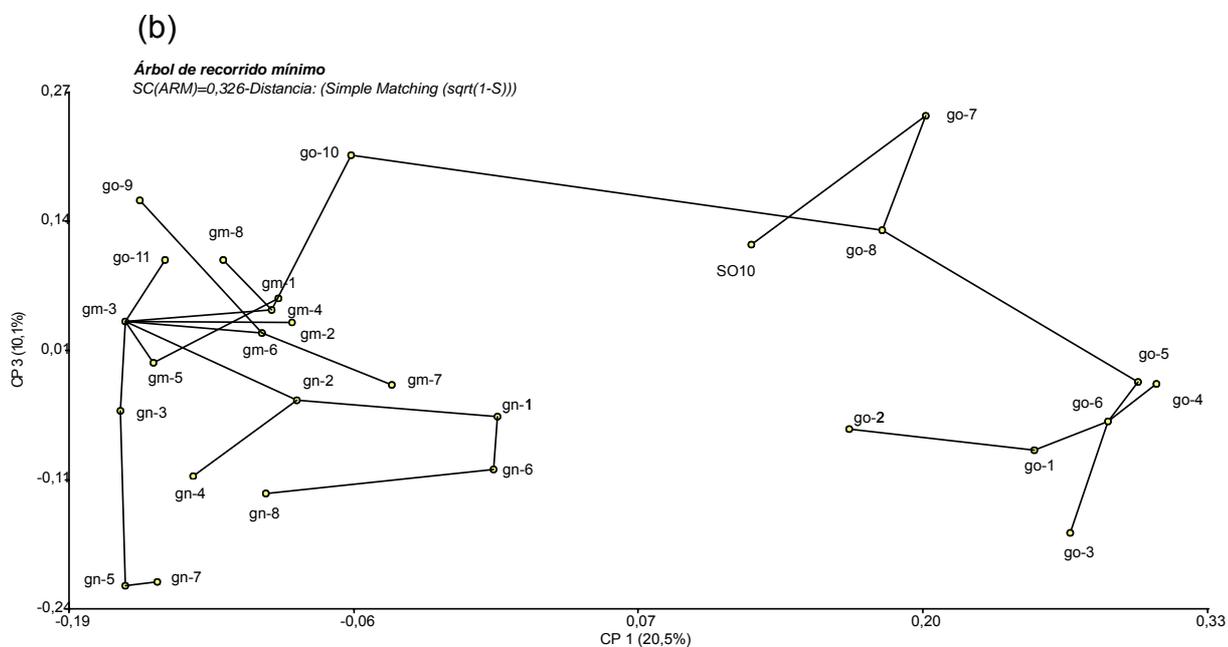
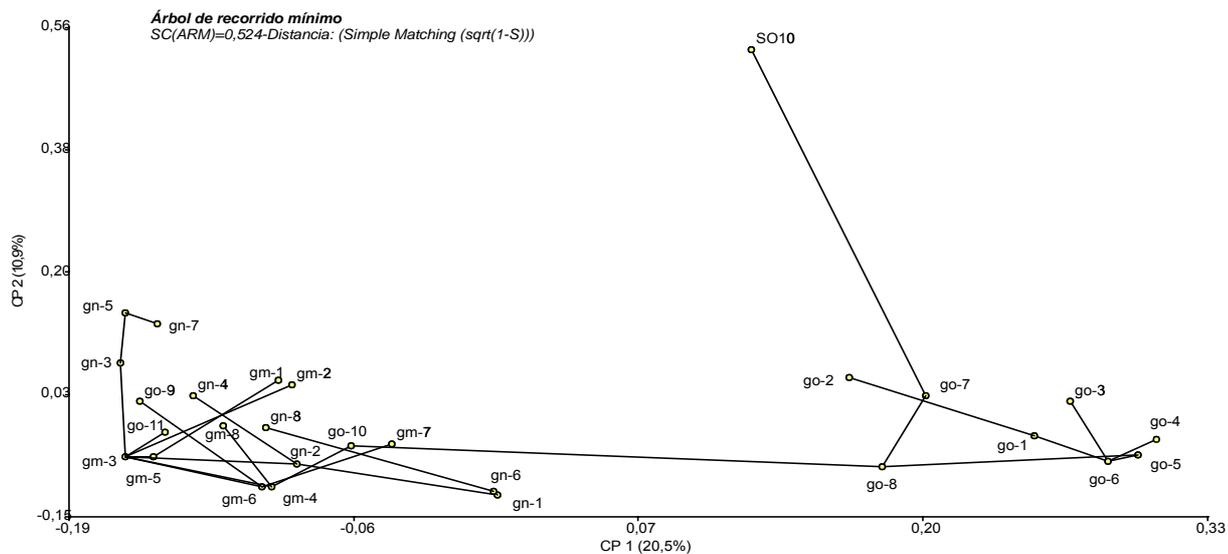
Tabla 6: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de \underline{SM} ($\sqrt{(1-S)}$) para plantas de *Solanum gourlayi* de las introducciones original (go=Oka4858), de regeneración (gm=Oka4858) y nueva colección (gn=CIE 1575) de Las Cuevas (Rosario de Lerma).

Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	0,78	0,21	0,21
2	0,41	0,11	0,31
3	0,38	0,10	0,42
4	0,27	0,07	0,49
5	0,20	0,05	0,54
6	0,19	0,05	0,59
7	0,17	0,05	0,64
8	0,15	0,04	0,68
9	0,13	0,03	0,71
10	0,12	0,03	0,75

Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \underline{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En la Figura 8 se observan las configuraciones para los ejes de ACP, los que mostraron elevada variabilidad entre las plantas caracterizada por la gran dispersión espacial que presentaron las mismas, sin observarse valores coincidentes entre las plantas. Se pudieron distinguir dos subgrupos; uno donde se encontraron asociadas las plantas de la nueva colección (gn) conjuntamente con las plantas de regeneración (gm) y otro constituido por las plantas de la colección original (go), excepto las plantas go9, go10 y go11 que se encontraron incluidas en el primer subgrupo.

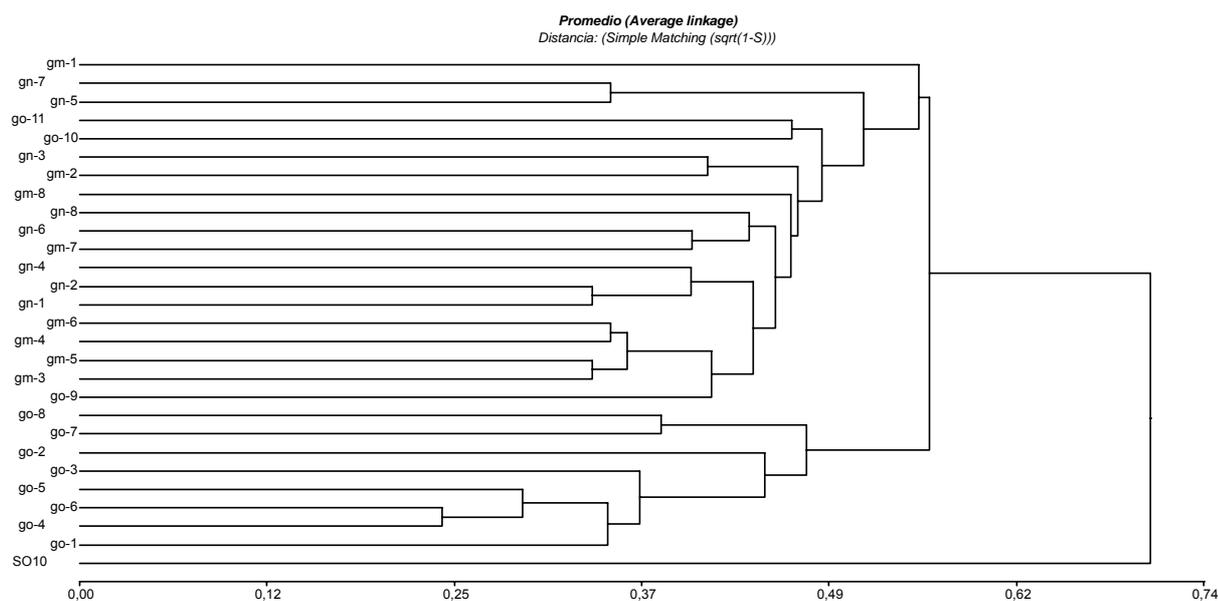
Figura 8: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia \underline{SM} ($\sqrt{1-S}$): (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de *Solanum gourlayi* de introducciones original (go=Oka 4858), de regeneración (gm=Oka 4858) y nueva colección (gn=CIE 1575) de Las Cuevas (Rosario de Lerma); SO=S. *spgazzinii*, Oka 5662. (a)



Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; \underline{SM} =coeficiente de apareamiento simple

En el fenograma de la Figura 9 se representó el agrupamiento de las plantas de grl de Las Cuevas, donde una parte de las plantas de la colección original (go) se agruparon a una distancia de 0,48 y, otro subgrupo fue formado por las plantas de la colección nueva (gn), las plantas de regeneración (gm) y las plantas go10 y go11 de la colección original se agruparon a una distancia de 0,55; todas las plantas de grl se agruparon a una distancia de 0,56 y la planta de spg se agrupó al resto a una distancia de 0,70 . El coeficiente de correlación fue de 0,887.

Figura 9: Fenograma datos de marcadores AFLP basada en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de introducciones de *Solanum gourlayi*, original (go=Oka 4858), de regeneración (gm=Oka 4858) y nueva colección (gn=CIE 1575) de Las Cuevas (Rosario de Lerma); SO=S. *spgazzinii*, Oka 5662. .



Para todas las plantas de las introducciones de spg y grl correspondientes a diferentes orígenes (colección original, multiplicación y nueva colección) se realizaron los ACP y de agrupamiento. En el Tabla 7 se representaron los valores, proporción y proporción acumulada de la variabilidad total para cada autovalor y se observa que los tres primeros ejes lograron captar 39% de la variabilidad total.

Tabla 7: Valores, proporción y proporción acumulada del ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de SM ($\sqrt{1-S}$) para plantas de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* de las introducciones original, regeneración y nueva colección del NOA.

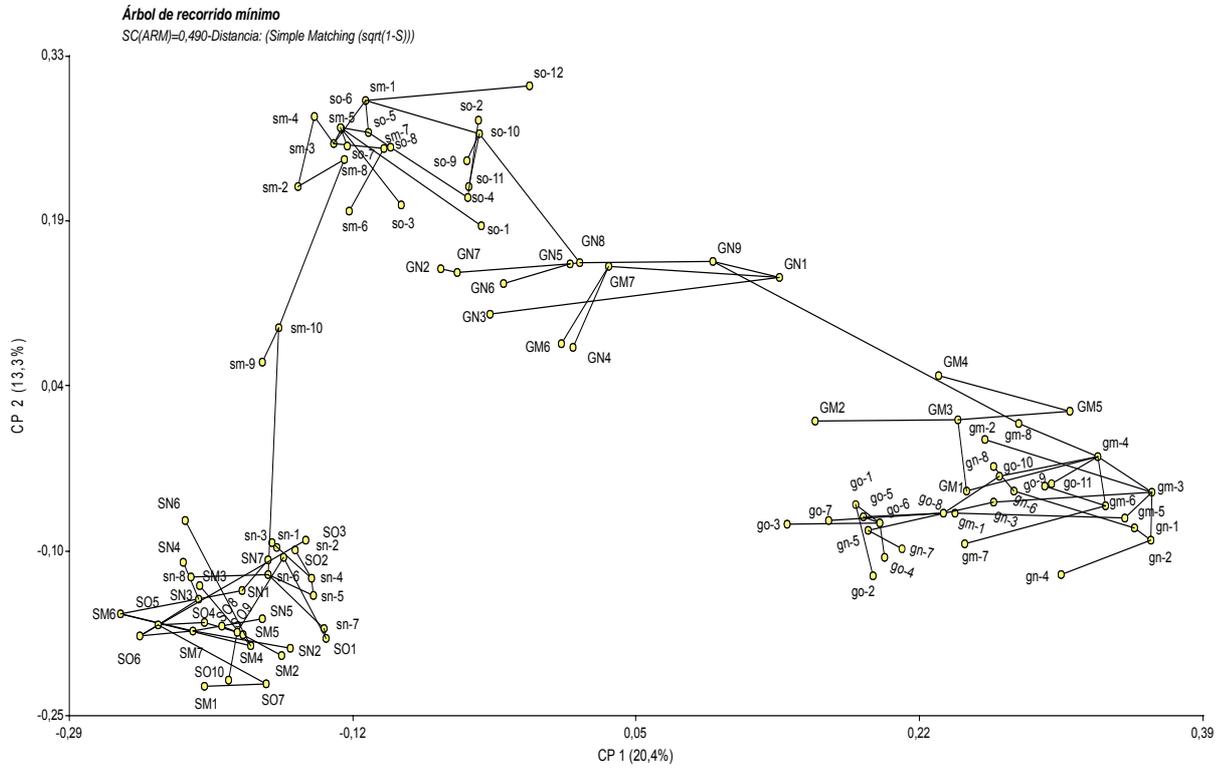
Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	3,69	0,20	0,20
2	2,40	0,13	0,34
3	0,99	0,05	0,39
4	0,86	0,05	0,44
5	0,73	0,04	0,48
6	0,67	0,04	0,52
7	0,54	0,03	0,55
8	0,47	0,03	0,57
9	0,40	0,02	0,59
10	0,36	0,02	0,61

Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; SM=coeficiente de apareamiento simple

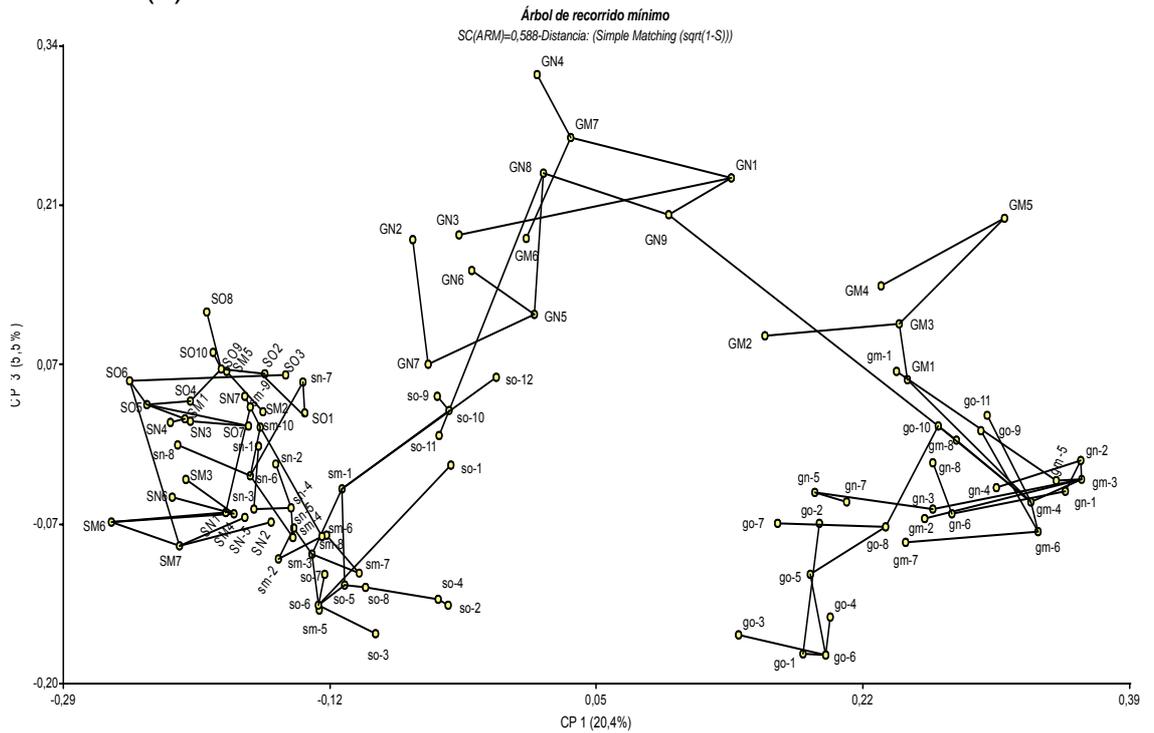
En la Figura 10 se observan las configuraciones para los ejes de ACP, los que mostraron una gran variabilidad entre las plantas, caracterizada por la elevada dispersión espacial. Se distinguieron tres grupos, uno formado por las plantas de spg de Peña Agujereada (La Poma) donde se asociaron los diferentes orígenes y plantas de spg de Cuesta del Obispo (Chicoana) de la colección nueva; en otro grupo se asociaron plantas de spg de Cuesta del Obispo de colección original y primera regeneración junto a plantas de grl de nueva colección y parte de las plantas de regeneración de El Rodeo (La Poma); y un tercer grupo donde se asociaron las plantas de diferentes orígenes de grl de Las Cuevas (Rosario de Lerma) y algunas plantas de regeneración de El Rodeo (La Poma).

Figura 10: ACP de datos de marcadores AFLP según distancia de SM ($\sqrt{1-S}$): (a) ejes 1 y 2, (b) ejes 1 y 3 y (c) ejes 2 y 3 de plantas de las introducciones de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* de las introducciones original, regeneración y nueva colección del NOA.

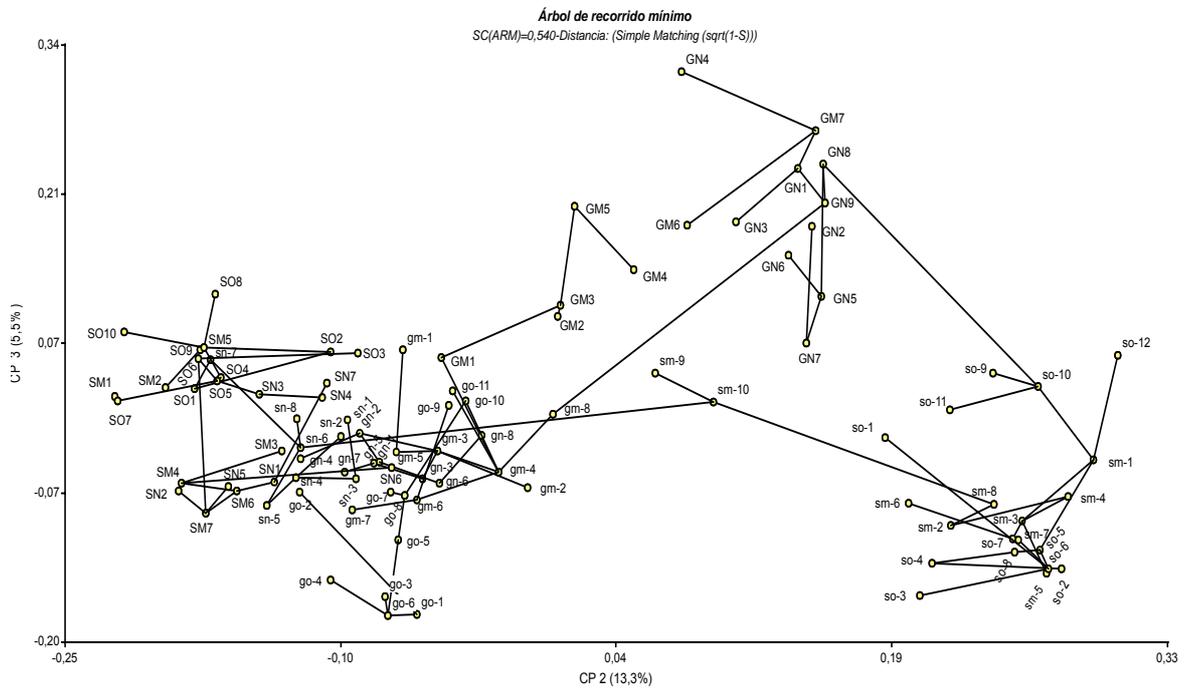
(a)



(b)



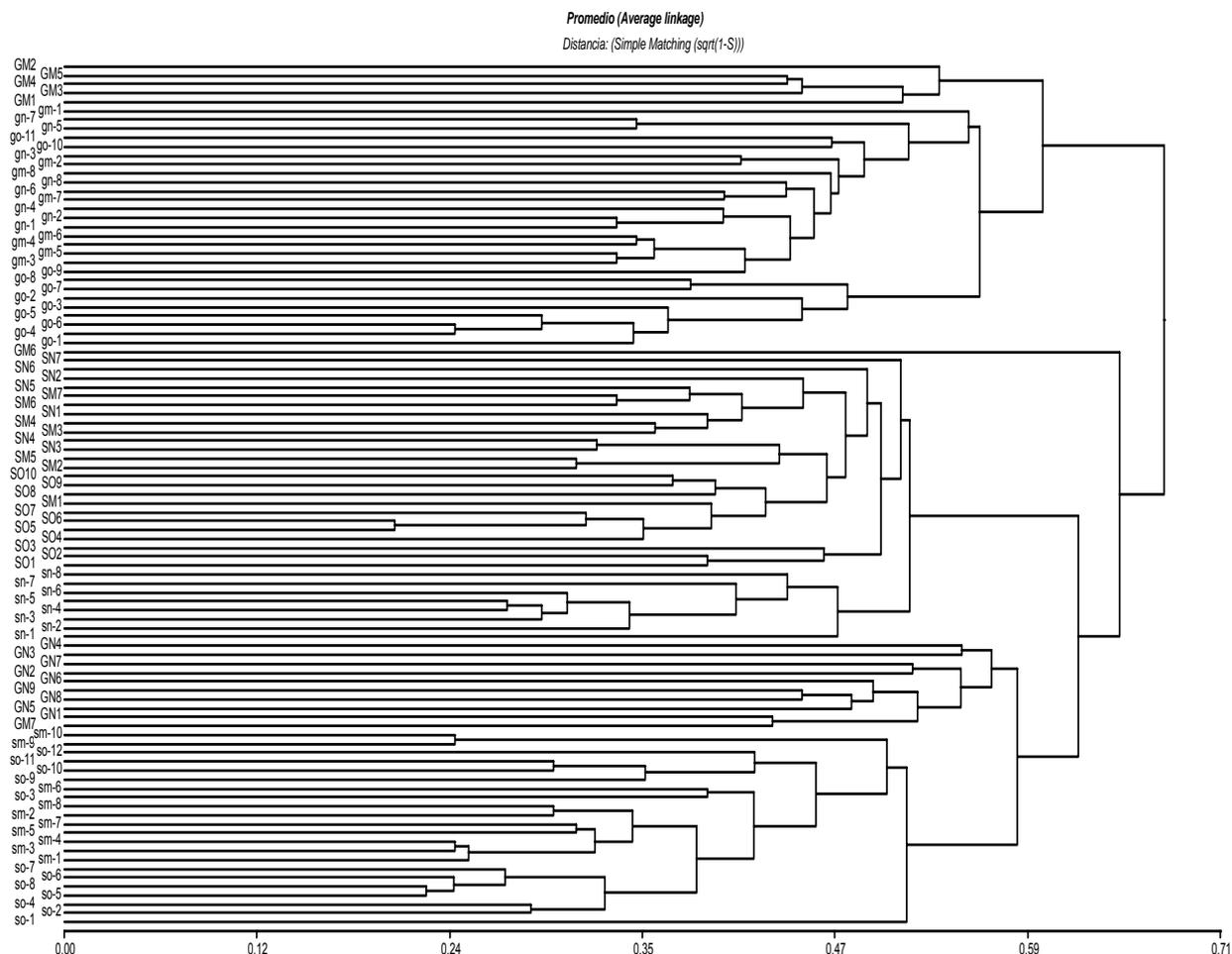
(c)



Nota: ACP=análisis de coordenadas principales; SM=coeficiente de apareamiento simple

En el fenograma de la Figura 11 se observan varios conjuntos de plantas, (a) uno formado por las plantas de spg de Cuesta del Obispo de la colección original (so) y su regeneración (sm), que se agruparon a una distancia de 0,51; (b) otro conjunto que comprendió plantas de grl de El Rodeo de la nueva colección (GN) que incluyó una sola planta de regeneración de la colección original de grl de ese sitio, GM7, que se agruparon a una distancia de 0,57, (c) un tercer conjunto constituido por plantas de spg de Cuesta del Obispo de la nueva colección (sn) junto a plantas de spg de Peña Agujereada de la colección original (SO), regeneración (SM) y nueva colección (SN) que se agruparon a una distancia de 0,51 (d) otro conjunto que incluyó las plantas de grl de Las Cuevas de la colección original (go), regeneración (gm) y nueva colección (gn) que se agruparon a una distancia de 0,56 y (e) un último conjunto de plantas de grl de La Poma de regeneración (GM) (excepto GM7) que se agruparon a una distancia de 0,53. Estos cinco conjuntos se relacionaron entre si: (a) y (b) se agruparon a una distancia de 0,58, el conjunto de plantas (c) se agrupó con los anteriores (a y b) a una distancia de 0,62 y a estos se asoció la planta GM6 a una distancia de 0,65; los conjuntos de plantas (d) y (e) se agruparon a una distancia de 0,60. El agrupamiento de todas las plantas se produjo a una distancia de 0,69. El coeficiente de correlación cofenética fue de 0,9.

Figura 11: Fenograma de datos de marcadores AFLP basada en UPGMA del coeficiente de distancia de apareamiento simple para las plantas de las introducciones de *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi* de introducciones original, de regeneración y nueva colección del NOA.



Análisis de la varianza molecular (AMOVA)

En el Tabla 8 se presenta el análisis de la varianza molecular donde se observa que los porcentajes de variación fueron de 22,33%, 28,31 y 49,37 para las fuentes de variación entre especies, entre introducciones (original, regeneración y nueva) dentro de especies y dentro de introducciones (plantas), respectivamente.

Tabla 8: Análisis molecular de la varianza (AMOVA) con datos de marcadores AFLP para plantas de las introducciones *Solanum spegazzinii* y *S. gourlayi*

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación
Entre especies	1	369.098	5,99 Va**	22,33
Entre introducciones dentro de especies	9	718.298	7,60 Vb**	28,31
Dentro de introducciones	86	1139.923	13,25 Vc**	49,37
Total	96	2227.320	26,842	

DISCUSIÓN

Los resultados de ACP y agrupamiento reflejaron una alta variabilidad y diversidad genética para marcadores moleculares AFLP en las poblaciones estudiadas de spg y grl 2x. La variabilidad que desplegaron las plantas en los ACP y los agrupamientos que se derivaron de los patrones electroforéticos para cada especie a través de las introducciones fueron sorprendentes en cuanto a la dispersión en el espacio. Además, se observó gran solapamiento o superposición entre plantas de diferente origen de cada introducción (colección original, regeneración y nueva colección) y falta de consistencia en el patrón de la dispersión de las plantas entre los diferentes orígenes, ya que algunas plantas de las colecciones originales se aproximaron a sus regeneraciones realizadas en el Banco de Germoplasma (Figura 2a) y en otras mostraron mayor aproximación a plantas de las nuevas colecciones realizada décadas después en los mismos sitios (Figura 3a). No obstante en ambos casos se entremezclaron plantas de diferentes orígenes como sucedió con las plantas so9, so10, so11 y so12 de las colecciones de spg de Cuesta del Obispo y las plantas sm (Figura 2a y 2b). Más evidente, fueron los valores de las plantas SM3, SM4, SM6 y SM7 de las colecciones de Peña Agujereada que se presentaron más próximas a plantas de la nueva colección (SN), mientras que otras plantas de regeneración como SM1, SM2 fueron más próximas a las plantas de las colecciones originales (Figura 4a). Para las introducciones de grl de Las Cuevas, las plantas go9, go10 y go11 se ubicaron fuera de su grupo entre plantas del grupo conformado por 1ra regeneración y nueva colección (Figura 8a). Estos resultados concuerdan con lo informado por del Río *et al.* (1997a) quienes determinaron cambios en la diversidad genética de RAPDs en *S. jamesii* y *S. fendleri* entre material de colecciones originales y el de nuevas colecciones realizadas en los mismos sitios luego de varias décadas. No obstante, las conclusiones del presente estudio difieren de las conclusiones del Río *et al.* (1997b), quienes consideraron que no se habían originado cambios en la diversidad genética luego de la multiplicación sexual en el banco de germoplasma a partir de la colección original, ya que en el presente trabajo se observa, por ejemplo en las plantas de grl de Las Cuevas una mayor relación entre las plantas de regeneración con las plantas de la nueva colección que entre las de regeneración con las primeras. Esto puede deberse a que los resultados del presente trabajo se sustentan en el uso de marcadores AFLP, que son más sensible que los marcadores RAPD (Powell *et al.*, 1996), y en que la estimación de variabilidad genética dentro de las introducciones se realizó con varias

plantas de cada una de ellas y no con un pool de ADN de varias plantas como única muestra de cada población como lo hicieron los autores previamente mencionados. El estudio de una muestra o de una planta no permitiría una adecuada estimación de la variabilidad *per se* de cada introducción ni una medida de la dispersión o extensión de la misma.

En la clasificación botánica de la papa se realizaron diferentes propuestas que fueron bastante divergentes (Correll, 1962; Hawkes y Hjerting, 1969; Hawkes, 1990), lo que evidencia las dificultades para establecer un criterio para su tratamiento. Hawkes (1990) en el tratamiento taxonómico describió 19 series que agruparon las especies de papa, Miller y Spooner (1999) revisaron con marcadores moleculares los 30 taxa del complejo *S. brevicaule* y determinaron que la mayoría de las especies no fueron reconocidas por estudios morfológicos ni moleculares, y argumentaron que se debería al reticulado extenso entre las especies descritas indicando como artificial la separación de la mayoría de los taxa. Spooner y Sytsma (1992) sólo reconocieron cuatro taxa en este complejo o aún como informó Jacobs *et al.* (2008) que existe una falta de estructura filogenética en este grupo.

Las especies grl y spg utilizadas en este trabajo son reconocidas en el complejo *S. brevicaule*, y presentaron una extensa superposición de datos moleculares sin una clara evidencia de separación entre ellas dado que en los análisis realizados no mostraron consistencia en el agrupamiento según taxa. En el presente trabajo, si bien puede especularse en una mayor consistencia en el agrupamiento de plantas de grl, las plantas de spg mostraron una gran superposición. Además, la separación entre ambas especies fue aparente ya que los primeros agrupamientos se detectaron a una distancia de 0,5 para las plantas de spg y plantas de grl 2x entre sí; y en una distancia de 0,69 se unieron todas las plantas de spg y grl 2x indicando escasa separación (Figura 11) entre estos grupos. Kardolus *et al.* (1998) describieron conflictos similares en el análisis interspecífico con AFLPs cuando incluyeron varias especies de papa y, de estas, algunas estuvieron representadas por más de una planta por introducción. Estos autores encontraron que una planta de *S. microdontum* se agrupaba entre plantas de la serie *Megistacroloba*, y adjudicaron este hecho a que el patrón de AFLP representado en este estudio por una sola planta extraída de una población variable no era una muestra representativa de la variabilidad presente de tal población.

Por otra parte el AMOVA muestra que de la variabilidad genética total, la atribuida a las plantas dentro de cada introducción es elevada (49,37%) en contraste con las otras fuentes de variación; en forma similar, Jacobs *et al.* (2008) han especulado que este hecho podría deberse a la situación biológica real de una falta de estructura en las papas silvestres, como informaron para la sección *Petota*.

Dado los resultados obtenidos en los cruzamientos intraespecíficos descritos en el Capítulo 2, que ponen en evidencia que el comportamiento reproductivo de las poblaciones estudiadas no es el esperable de acuerdo a su ubicación taxonómica, se desestimó presentar los parámetros de frecuencia génica (análisis realizado con *software* para marcadores moleculares dominantes POPGENE versión 1.32) por considerarse que su tratamiento era forzado.

Por otra parte, en un reciente viaje de colección en el NOA, como se describe en el Capítulo 1, Erazzú *et al.* (2008) registraron una extensa superposición de especies en numerosos sitios de colección, y describieron especies simpátricas de *vrn* y *spg* en Quebrada de Escoipe, *grl 2x*, *acl* y *adg* en La Poma, *grl 4x* e *ifd* en Quebrada Jueya, *grl 4x* y *adg* en Quebrada de Lipán. Paralelamente, las barreras internas a la hibridación en las especies tuberosas de *Solanum* son incompletas (Camadro *et al.*, 2004) por lo que es posible la formación de híbridos interespecíficos, como *S. x rechei* (Clausen y Spooner, 1998) y *S. x ruiz-lealii* Brücher (Raimondi *et al.*, 2005), introgresión y flujo génico, habiéndose determinado, en otros casos, alta variabilidad morfológica en varias especies (Spooner y van den Berg, 1992; Raimondi *et al.*, 2005; Bedogni y Camadro, 2007). También se han reportado inesperadas disfunciones reproductivas en cruzamientos dirigidos realizados entre y dentro de introducciones en varias especies, tales como baja producción de semilla, numerosos sitios de incompatibilidad polen-estilo/estigma (Erazzú *et al.*, 1999, Raimondi *et al.*, 2003; Erazzú y Camadro, 2008) y colapso del endosperma (Masuelli y Camadro, 1997).

Mediante cruzamientos controlados *spg* x *grl 2x* y recíprocos (ver Capítulo 2), y aunque la mayoría de las combinaciones genotípicas presentaron reacciones de incompatibilidad (Erazzú y Camadro, 2008), se produjeron híbridos interespecíficos con un promedio de 37% y 16% del total de combinaciones genotípicas, respectivamente. Estas evidencias, sumadas a otras informadas en la literatura en los últimos 40 años, condujeron a Masuelli *et al.* (2009) a la especulación de que la

hibridación interespecífica homoploide puede inducir cambios genéticos y epigenéticos que pueden tener un rol evolutivo en las papas silvestres (Marfil *et al.*, 2006).

Es sabido que para un análisis de caracterización molecular de germoplasma es importante el tipo y cantidad de marcadores escogidos así como que existe competencia entre los recursos disponibles; sin embargo, resulta crucial considerar un número mínimo de plantas e introducciones a incluir en el estudio de cada especie para poder disponer de un patrón de medida que permita determinar la extensión de la variabilidad genética o dispersión de los valores individuales en las poblaciones. Sólo de este modo, se pueden realizar especulaciones –con bases fundadas- sobre relaciones taxonómicas, lo que en general, no se observa en la literatura sobre papa. La opinión de Ugent (1970) sobre el problema de asignación de especímenes a determinados taxa debido a que “la hibridación y subsecuente flujo génico entre y dentro de los niveles de ploidía resultan en patrones de variación extremadamente complicados”, la idea de Camadro *et al.* (2004) de que el concepto de especie biológica no es apropiado para dichas especies y los resultados de este trabajo indican que deberían revisarse las relaciones taxonómicas del grupo a luz de estos conceptos.

CONCLUSIONES

1. Las poblaciones de las especies silvestres spg y grl, esta última con sus dos citotipos 2x y 4x:

- (a) persisten en los ambientes naturales del NOA donde fueron coleccionadas hace más de 20 años, a pesar de que los ambientes ecológicos presentan importantes alteraciones antrópicas.
- (b) presentan una extensa superposición con otras especies silvestres y cultivadas de papa en sus hábitats naturales.
- (c) presentan barreras precigóticas y, posiblemente, poscigóticas a la hibridación, bi- y/o unilaterales.
- (d) Si las barreras son incompletas, es posible la hibridación, el flujo génico y la introgresión en la naturaleza y en cruzamientos controlados en el proceso de mejoramiento genético.
- (e) aparentemente, estarían constituidas por plantas de origen híbrido interespecífico dada la escasa o nula producción de semilla en cruzamientos intra-poblacionales y la superposición para marcadores moleculares AFLP.
- (f) presentan barreras precigóticas y, posiblemente, poscigóticas a la hibridación con la papa común, que pueden ser incompletas de modo que es posible obtener híbridos mediante las manipulaciones apropiadas.

2. Las plantas del citotipo 4x de grl coleccionadas conjuntamente con plantas del citotipo 2x pueden ser el resultado de procesos de poliploidización a través del funcionamiento de gametos $2n$, ya que la producción de este tipo de gametos es relativamente frecuente en las especies tuberosas de *Solanum*. En tal caso, la poliploidización sexual podría haber sido bilateral, por funcionamiento de polen y de oóferas $2n$ en cruzamientos entre plantas del citotipo 2x de grl que crecían espontáneamente en ese sitio de colección o unilateral, por funcionamiento de polen u oóferas $2n$ de plantas 2x de grl en cruzamientos con plantas de otra especie simpátrica tetraploide, sorteándose, de este modo, la barrera del endosperma.

3. Las plantas de grl 4x compatibles en el nivel polen-pistilo con la papa común, pueden usarse en cruzamientos directos para ampliar la base genética de esta especie cultivada.

4. Las poblaciones naturales de spg y grl se reproducen, prioritariamente, por semilla dado que las plantas muestreadas (colecciones originales y nuevas) presentaron patrones diferentes de bandas electroforéticas para los marcadores moleculares AFLP.

5. Los resultados ponen en evidencia la necesidad de realizar estudios genéticos y moleculares con un número representativo de plantas a nivel poblacional de estas y otras especies nativas, para incrementar el entendimiento de la estructura genética y las relaciones taxonómicas entre las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDALLA, M.M.F.; HERMSEN, J.G.Th. 1972. Unilateral incompatibility: hypotheses, its debate and implications for plant breeding. *Euphytica* 21: 32-47.
- ALEXANDER, M.P. 1980. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. *Stain Tech.* 55: 13-18.
- BAMBERG, J.B.; del RÍO, A.H. 2004. Genetic heterogeneity estimated by RAPD polymorphism of four tuber-bearing potato species differing by breeding system. *Amer. J. of Potato Res.* 81: 377-383.
- BAMBERG, J.B.; MARTIN M.W.; SCHARTNER J.J.; SPOONER, D.M. 1996. Inventory of tuber-bearing *Solanum* species. *Catalog of Potato Germplasm-1996*. NRSP-6, Sturgeon Bay, WI. 215p.
- BAMBERG, J.B.; del RÍO, A.H.; HUAMÁN, Z.; VEGA, S.; MARTIN, M.; SALAS, A.; PAVEK, J.; KIRU, S.; FERNÁNDEZ, C.; SPOONER, D.M. 2003. A decade of collecting and research on wild potatoes of the Southwest USA. *Am. J. Potato Res.* 80: 159-172.
- BATES, L.S.; DEYOE, C.W. 1973. Wide hybridization and cereal improvement. *Econ. Bot.* 27: 401-412.
- BEDOJNI, M.C.; CAMADRO, E.L. 2007. Caracterización molecular de la especie silvestre diploide de papa *Solanum kurtzianum* Bitt. et Wittm mediante microsatélites. 34 Congreso Argentino de Genética, (Pergamino, 2007, set. 23-26) SAG, Sociedad Argentina de Genética, Buenos Aires. p S-161.
- BERTONATTI, C.; CORCUERA, J. 2000. Situación ambiental Argentina 2000. Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires, Argentina. 439 p.
- BIANCHI, A. 1996. Temperaturas medias estimadas para la región del Noroeste de Argentina. SAGPyA-INTA EEA Salta, Argentina. 12 p.
- BIANCHI, R.; YAÑEZ, E. 1992. Las precipitaciones en el Noroeste Argentino. 2da. ed., INTA EEA Salta, Argentina. 325 p.
- BROWN, A.; MARTÍNEZ ORTIZ, U.; ACERBI, M.; CORCUERA, J. 2005. La situación ambiental Argentina 2005. Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires, Argentina. 399 p.
- BURKART, R.; BÁRBARO, N.; SÁNCHEZ, R.O.; GÓMEZ, D.A. 1999. Ecorregiones de la Argentina, APN, PRODIA, Buenos Aires, Argentina. 321 p.
- CABRERA, A.L. 1994. Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería: Regiones fitogeográficas Argentinas. Tomo II, ed. ACME SACL, Buenos Aires, Argentina. 85 p.
- CABRERA, A.L.; WILLINK, A. 1980. Biogeografía de América Latina: Monografía 13, Serie Biología, OEA. 2ª ed. Washington D. C., EEUU. 122 p.

- CACACE, J.E.; HUARTE, M.A.; MONTI, M.C. 1994. Evaluation of potato cooking quality in Argentina. *Am. Potato J.* 71: 145-153.
- CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. 1994. Staining nucleic acids with silver: an alternative to radioisotopic and fluorescent labeling. *Promega Notes* 45: 13-18.
- CAMADRO, E.L.; PELOQUIN, S.J. 1980. The occurrence and frequency of $2n$ pollen in three diploid *Solanums* from Northwest Argentina. *Theor. Appl. Genet.* 56: 11-15.
- CAMADRO, E.L.; PELOQUIN, S.J. 1981. Cross-incompatibility between two sympatric polyploidy *Solanum* species. *Theor. Appl. Genet.* 60:65-70.
- CAMADRO, E.L.; CARPUTO, D.; PELOQUIN, S.J. 2004. Substitutes for genome differentiation in tuber-bearing *Solanum*: interspecific pollen-pistil incompatibility, nuclear-cytoplasmic male sterility, and endosperm. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1369-1376.
- CLAUSEN, A.M.; CASTAÑO, M. del C. 1998. Catálogo del material del herbario BAL. *Solanum* sect. Petota. Balcarce, Argentina. INTA. 71 p.
- CLAUSEN, A.M.; OKADA, K.A. 1987. The subspecies of *Solanum gourlayi* Hawkes. *Phytologia* 62: 165–170.
- CLAUSEN, A.M.; SPOONER, D.M. 1998. Molecular support for the hybrid origin of the wild potato species *Solanum x rechei* (*Solanum* sect. Petota). *Crop. Sci.* 38: 858-865.
- CLAUSEN, A.M.; COLOVITA, 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. *Genet. Res. Crop. Evol.* 52: 1099-1109.
- COLEMAN, L.C. 1938. Preparation of leucobasic fuchsin for use in the feulgen reaction. *Stain Technol.* 13: 123–124.
- CORRELL, D. 1962. The potato and its wild relatives. Texas Research Foundation, Renner. Texas, USA. 606 p.
- DAVIES, C.S.; OTTMAN, M.J.; PELOQUIN, S.J. 2002. Can germplasm resources be used to increase the ascorbic acid content of stored potatoes? *Am. J. Potato Res.* 79: 295-299.
- De JONG, H.; TAI, G.C.C. 1977. Analysis of $4x-2x$ hybrids in cultivated potatoes. *Potato Res.* 20:111-121.
- del RÍO, A.H.; BAMBERG, J.B. 2002. Lack of association between genetic and geographic origin characteristics for the wild potato *Solanum sucrensis* Hawkes. *Amer. J. of Potato Res.* 79: 335-338.
- del RÍO, A.H.; BAMBERG, J.B. 2003. The effect of genebank seed increase on the genetics of recently collected potato (*Solanum*) germplasm. *Amer. J. of Potato Res.* 80: 215-218.

- del RÍO, A.H.; BAMBERG, J.B.; HUAMAN, Z. 1997a. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene Banks. 1 Effects of seed increase. *Theor. Appl. Genet.* 95: 191-198.
- del RÍO, A.H.; BAMBERG, J.B.; HUAMAN, Z.; SALAS, A.; VEGA, S.E. 1997b. Assessing changes in the genetic diversity of potato gene Banks. 2 *In situ* vs *ex situ*. *Theor. Appl. Genet.* 95: 199-204.
- DELLAPORTA, S.; WOOD, J.; HICKS, J.B. 1983. A plant DNA miniprep: version II, *Plant. Mol. Biol. Rept.* 1: 19-21.
- den NIJS, T.P.M.; PELOQUIN, S.J. 1977. 2n gametes in potato species and their function in sexual polyploidization. *Euphytica* 26: 585-600.
- DE WET, J.M.J. 1968. Diploid-tetraploid-haploid cycles and the origin of variability in *Dichanthium* agamospecies. *Evolution* 22: 394-397.
- DIONE, L.A. 1958. 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid as an aid to seed production when widely separated *Solanum* species. *Nature* 181: 361.
- DUMAS, C.; KNOX, R.B.; McCONCHIE, C.A.; RUSSELL, S.D. 1984. Emerging physiological concepts in fertilization. *What's New in Plant Physiology* 15(5): 17-20.
- ERAZZÚ, L.E.; CAMADRO, E.L.; CLAUSEN, A.M. 1999. Pollen-style compatibility relations in natural populations of the wild diploid potato species *Solanum spigazzinii* Bitt. *Euphytica* 105: 219-227.
- ERAZZÚ, L.E.; CAMADRO, E.L. 2008. Barreras a la hibridación intra- e inter-específica en las especies de papa *Solanum spigazzinii* bitt., *S. gourlayi* hawkes y *S. tuberosum* ssp. *tuberosum*. 37 Congreso Argentino de Genética (2008, set. 21-24 Tandil). SAG, Sociedad Argentina de Genética, Buenos Aires J. B. A. G.: pp 165-166.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics* 131: 479-491.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online* 1:47-50.
- FRANKEL, O.H.; HAWKES, J.G. 1975. *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge University Press, New York. 492 p.
- GRANT, V. 1971. *Plant speciation*. New York and London. Columbia University Press. 435 p.
- GRUN, P.; AUBERTIN, M. 1966. The inheritance and expression of unilateral incompatibility in *Solanum*. *Heredity* 21:131-138.
- GRUN, P.; AUBERTIN, M.; RADLOW, A. 1962. Multiple differentiation of plasmons of diploid species of *Solanum*. *Genetics* 47: 1321-1333.

- HANNEMAN, R.E. Jr. 1989. The potato germoplasm resource. *Am. Potato J.* 66: 655-667.
- HAWKES, J. G. 1962. Introgression in certain wild potato species. *Euphytica* 11: 26-35.
- HAWKES, J.G. 1990. The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press, London. 259 p.
- HAWKES, J.G.; HJERTING, J.P. 1969 The potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay. A biosystematic study. Oxford University Press, London. 525 p.
- HAYES, R.J.; THILL, C.A. 2002. Introgression of cold (4°C) chipping from 2x (2 Endosperm Balance Number) potato species into 4x (4EBN) cultivated potato using sexual polyploidization. *Am. J. Potato Res.* 79: 421-431.
- HIJMANS, R.J.; SPOONER, D.M. 2001 Geographic distribution of wild potato species. *Am. J. Bot.* 88: 2101-2112.
- HIJMANS, R.J.; SCHREUDER, M.; DE LA CRUZ, J.; GUARINO, L. 1999. Using GIS to check co-ordinates of germplasm accessions. *Genet. Res. Crop. Evol.* 46: 291-296.
- HIJMANS, R.J.; GARRETT, K.A.; HUAMÁN, Z.; ZHANG, D.P.; SCHREUDER, M. BONIERBALE, M. 2000. Assessing the geographic representativeness of genebank collections: the case of Bolivian wild potatoes. *Conserv. Biol.* 14: 1755-1765.
- HOGENBOOM, N.G. 1973. A model for incongruity in intimate partner relationships. *Euphytica* 22: 219-233.
- HOSAKA, K.; SPOONER, D.M. 1992. RFLP analysis of the wild potato species, *Solanum acaule* Bitter (*Solanum* sect. *Petota*). *Theor. Appl. Genet.* 84: 851-858.
- HUAMÁN, Z.; HOEKSTRA, R.; BAMBERG, J.B. 2000. The inter-genebank potato database and the dimensions of available wild potato germplasm. *Am. J. Potato Res.* 77: 353-362.
- InfoStat (2008). InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. [en línea]. <<http://www.infostat.com>> [consulta: 06 febrero 2009]
- ISPIZÚA, V.N. 1994. *Solanum spegazzinii* Bitt: variabilidad intraespecífica y su relación con especies afines. Trabajo de Graduación Ing. Agr., FCA, UNMdP, Balcarce, Argentina. 48 p.
- ISPIZÚA, V.N.; CAMADRO, E.L.; CLAUSEN, A.M. 1999. Pre-zygotic breeding barriers between the wild diploid potato species *Solanum maglia* and *S. kurtzianum* from Argentina. *Genet. Res. Crop. Evol.* 46: 243-249.
- ISPIZÚA, V.N.; CAMADRO, E.L.; CLAUSEN, A.M. 2002. Barreras post-cigóticas a la hibridación entre las especies tuberosas *Solanum maglia* y *Solanum kurtzianum*. 30 Congreso Argentino de Genética. 4 Jornadas Argentino Uruguayas de Genética. (2001, set 16-19, Mar del Plata).[en línea].<<http://www.inta.gov.ar/balcarce>

/info/documentos/agric/hortic/papa/mej/solanum.htm> [consulta octubre 2008].

ISTA. (International Seed Testing Association. 2003. International rules for seed testing. Basserdof, CH- Switzerland. 435 p.

JACOBS, M.M.J.; van den BERG, R.G.; VLEESHOUWERS, V.G.A.A.; VISSER, M.; MANK, R.; SENGERS, M.; HOEKSTRA, R.; VOSMAN, B. 2008. AFLP analysis reveals a lack of phylogenetic structure within *Solanum* section *Petota*. BMC Evol. Biol. 8: 145.

JANSKY, S.H.; PELOQUIN, S.J. 2006. Advantages of wild diploid *Solanum* species over cultivated diploid relatives in potato breeding programs. Genet. Res. Crop Evol. 56: 669-674.

JOHNSTON, S.A.; HANNEMAN, R.E. 1980. Support of the Endosperm Balance Number hypothesis utilizing some tuber-bearing *Solanum* species. Am. Potato J. 57: 7-14.

JOHNSTON, S.A.; Den NIJS, T.P.M.; PELOQUIN, S.J.; HANNEMAN, R.E. 1980. The significance of the genetic balance to endosperm development in interspecific crosses. Theor. Appl. Genet. 56: 5-9.

KARDOLUS, J.R.; VAN ECK, H.J.; van den BERG, R.G. 1998. The potential of AFLPs in biosystematics: a first application in *Solanum* taxonomy (Solanaceae). Pl. Syst. Evol. 210: 87-103.

LEUE, E.F.; PELOQUIN, S.J. 1980. Selection for 2n gametes and tuberization in *Solanum chacoense*. Am. Potato J. 57: 189-195.

LYNCH, D.R.; KAWCHUK, L.M.; CHEN, Q.; KOKKO, M. 2003. Resistance to *Fusarium sambucinum* in wild and cultivated *Solanum* species. Am. J. Potato Res. 66: 353-358.

MARFIL, C.F.; MASUELLI, R.W.; DAVISON, J.; COMAI, L. 2006. Genomic instability in *Solanum tuberosum* × *Solanum kurtzianum* interspecific hybrids. Genome 49: 104-113.

MARKS, G.E. 1966. The origin and significance of intraspecific polyploidy: experimental evidence from *Solanum chacoense*. Evolution 20: 552-557.

MARSHALL, D.R.; BROWN, A.H.D. 1975. Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: Frankel and J. G. Hawkes ed. Genetic resources for today and tomorrow. Cambridge University Press, New York. pp 53-80.

MARTIN, F.W. 1958. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. Stain tech. 34: 125-128.

MASUELLI, R.W. 1992. Examinación de la teoría del número de balance del endosperma (NBE) en especies tuberosas silvestres de *Solanum*. FCA, UNMdP, Balcarce, Argentina. 93 p.

- MASUELLI, R.W.; CAMADRO, E.L. 1997. Crossability relationship among wild potato species with different ploidies and Endosperm Balance Numbers (EBN). *Euphytica* 94: 227-235.
- MASUELLI, R.W.; CAMADRO, E.L.; ERAZZÚ, L.E.; BEDOGNI, C.; MARFIL, C. 2009. Homoploid hybridization in the origin and evolution of wild diploid potato species. *Plant Syst. Evol.* 277: 143-151.
- MATSUBAYASHI, M. 1991. Phylogenetic relationships in the potato and its related species. In: T. Tsuchiya and P. K. Gupta ed. *Chromosome engineering in plants. Genetics, breeding, evolution, Part B.* Elsevier, Amsterdam, pp 93–118.
- MAXTED, N.; FORD-LLOYD, B.V.; HAWKES, J.G. 1997. Complementary conservation strategies. In: N. Maxted, B.V. Ford-Lloyd, and J.C. Hawkes ed. *Plant genetics resources conservation.* Chapman & Hall, London, pp 15-39.
- McGREGOR, C.E.; VAN TREUREN, R.; HOEKSTRA, R. 2002. Analysis of the wild germplasm of the series *Acaulia* with AFLPs: implications for ex situ conservation. *Theor. Appl. Genet.* 104: 146-156.
- MENDIBURU, A.O.; PELOQUIN, S.J. 1977. The significance of 2n gametes in potato breeding. *Theor. Appl. Genet.* 49: 53-61.
- MENDIBURU, A.O.; PELOQUIN, S.J.; MOK, D.W.S. 1974. Potato breeding with haploids and 2n gametes. In: Kasha KJ ed. *Haploids in higher plants.* Guelph Univ Press, Guelph, Ont. pp 249-258.
- MILLER, J.T.; SPOONER, D.M. 1999. Collapse of species boundaries in the wild potato *Solanum brevicaule* complex (Solanaceae, S. sect. *Petota*): molecular data. *Plant. Syst. Evol.* 214: 103-130.
- MOK, D.W.S.; PELOQUIN, S.J. 1975. Breeding value of 2n pollen (diplandroids) in tetraploid x diploid crosses in potato. *Theor. Appl. Genet.* 46: 307–314.
- OKADA, K.A.; CLAUSEN, A.M. 1982. Natural hybridization between *Solanum acaule* Bitt. and *S. megistacrolobum* Bitt. in the province of Jujuy, Argentina. *Euphytica* 31: 817-835.
- OLTMANS, S.M.; NOVY, R.G. 2002. Identification of potato (*Solanum tuberosum* L.) haploid x wild species hybrids with the capacity to cold-chip. *Am. J. Potato Res.* 79: 263-268.
- PANDLEY, K.K. 1962. Interspecific incompatibility in *Solanum* species. *Amer. J. Bot.* 49: 874-882.
- POWELL, W.; MORGANTE, M.; ANDRE, A.; HANAFEY, M.; VOGEL, J.; TINGER, S.; RAFALSKI, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2: 225-238.
- PREUSS, D. 2002. Sexual signaling on a cellular level: lessons from plant reproduction. *Mol. Biol. Cell.* 13: 1803–1805.

- QUINN, A.A.; MOK, D.W.S.; PELOQUIN, S.J. 1974. Distribution and significance of diplandroids among the diploid *Solanum*. *Am. Potato J.* 51: 16-21.
- RABINOWITZ, D.; LINDER, C.R.; ORTEGA, R.; BEGAZO, D.; MURGUÍA, H.; DOUCHES, D.S.; QUIRÓS, C.F. 1990. High levels of interspecific hybridization between *Solanum sparsipillum* and *S. stenotomum* in experimental plots in the Andes. *Am. Potato J.* 67: 73-81.
- RAIMONDI, J.P.; SALA, R.G.; CAMADRO, E.L. 2003. Crossability relationships among the wild diploid potato species *Solanum kurtzianum*, *S. chacoense* and *S. ruiz-lealii* from Argentina. *Euphytica* 132: 287-295.
- RAIMONDI, J.P.; PERALTA, I.E.; MASUELLI, R.W.; FEINGOLD, S.; CAMADRO, E.L. 2005. Examination of the hybrid origin of the wild potato *Solanum ruiz-lealii* Brücher. *Plant. Syst. Evol.* 253: 33-51.
- ROSS, H. 1986. Potato breeding – problems and perspectives. *Advances in plant breeding*, Supplement 13. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg. 132 p.
- ROUPPE VAN DER VOORT, J.; WOLTERS, P.; FOLKERTSMA, R.; HUTTEN, R.; VAN ZANDVOORT, P.; VINKE, H.; KANYUKA, K.; BENDAHMANE, A.; JACOBSEN, E.; JANSSEN, R.; BAKKER, J. 1997. Mapping of the cyst nematode resistance locus *Gpa2* in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 95: 874-880.
- ROUSSELLE-BOURGEOIS, F.; MUGNIERY, D. 1995. Screening tuber-bearing *Solanum* spp. for resistance to *Globodera rostochiensis* Ro1 Woll. and *G. pallida* Pa2/3 stone. *Potato Res.* 38: 241-249.
- SALA, C.A. 1993. Incompatibilidad cruzada entre cinco especies tuberosas de *Solanum* (Solanaceae) *Darwiniana* 32: 15-25.
- SANTINI, M.; CAMADRO, E.L.; MARCELLÁN, O.N.; ERAZZÚ, L.E. 2000. Agronomic characterization of diploid hybrid families derived from crosses between haploids of the common potato and three wild Argentinian tuber-bearing species. *Am. J. Potato Res.* 77: 211-218.
- SANTINI, V.E.; MENDIBURU, A.O.; OKADA, K.A.; MONTI, M.C. 1976. Crossability of *Solanum* progeny. *Am. Potato J.* 53: 371-372.
- SIMMONDS, N.W. 1963. Abbreviations of potato names. *Europ. Potato J.* 6: 186-190.
- SOKAL, R.R.; MICHENER, C.D. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationship. En: Bramardi S. J. 2000. Estrategias para el análisis de datos en la caracterización de recursos fitogenéticos. Tesis Doctoral. Univ Politecnica de Valencia, España. 390 p.
- SPOONER, D.M.; SYTSMA, K.J. 1992. Reexamination of serie relationships of Mexican and Central American wild potatoes (*Solanum* sect. *Petota*): Evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *Syst. Bot.* 17: 432-448.

- SPOONER, D.M.; Van den BERG, R.G. 1992. An analysis of recent taxonomic concepts in wild potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). *Genet. Res. Crop Evol.* 39: 23-37.
- SPOONER, D.M.; HOEKSTRA, R.; van den BERG, R.G.; MARTINEZ, V. 1998. *Solanum* sect. *Petota* in Guatemala: taxonomy and genetic resources. *Am. J. Potato Res.* 75: 3-17.
- STEBBINS, G.L. 1950. *Variation and evolution in plants*. Columbia University Press, New York and London. 643 p.
- STELLY, D.M.; PELOQUIN, S.J. 1985. Screening for 2n female gametophytes, female fertility, and 2x X 4x crossability in potatoes (*Solanum* spp). *Am. Pot. J.* 62: 519-529.
- STELLY, D.M.; PELOQUIN, S.J.; PALMER, R.G.; CRANE, C.F. 1984. Mayer's hemalum-methyl salicylate: a stain technique for observations within whole ovules. *Stain Tech.* 59(3): 155-161.
- STONE, S.L.; GORING, D.R. 2001. The molecular biology of self-incompatibility systems in flowering plants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 67: 93-114.
- SUMMERS, D.; GRUN, P. 1981. Reproductive isolation barriers to gene exchange between *Solanum chacoense* and *S. commersonii* (Solanaceae). *Amer. J. Bot.* 68: 1240-1248.
- UGENT, D. 1970. The potato. What is the botanical origin of this important crop plant, and how did it first become domesticated? *Science* 170: 1161-1166.
- Van den BERG, R.G.; BRYAN, G.J.; del RÍO, A. 2002. Reduction of species in the wild potato *Solanum* section *Petota* series *Longipedicellata*: AFLP, RAPD and chloroplast SSR data *Theor. Appl. Genet.* 105: 1109-1114.
- Van den BERG, R.G.; MILLER, J.T.; UGARTE, M.L.; KARDOLUS, J.V.; NIENHUIS, J.; SPOONER, D.M. 1998. Collapse of morphological species in the wild potato *Solanum brevicaulle* complex (*Solanaceae*: sect. *Petota*). *Amer. J. Bot.* 85: 92-109.
- VORANO, A.E.; VARGAS GIL, J. 2002. Evaluación de la situación actual de los procesos de desertificación de la Puna Salto-Jujeña. *Soluciones alternativas*. INTA-EEA Salta. 108 p.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.
- WATANABE, K.; PELOQUIN, S.J. 1989. Occurrence of 2n pollen and ps gene frequencies in cultivated groups and their related wild species in tuber-bearing *Solanums*. *Theor. Appl. Genet.* 78: 329-336.
- WATANABE, K.; PELOQUIN, S.J. 1991. The occurrence and frequency of 2n pollen in 2x, 4x, and 6x wild, tuber-bearing *Solanum* species from Mexico, and Central and South America. *Theor. Appl. Genet.* 82: 621-626.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18: 7213-7218.

WILLIAMS, E.G.; KNOX, R.B.; ROUSE, J.L. 1982. Pollination sub-systems distinguished by pollen arrest after incompatible interspecific crosses in *Rhododendron* (Ericaceae) *J. Cell Sci.* 53: 255-277.

WILLIAMS, J.K.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.