



Revista Fitotecnia Mexicana

ISSN: 0187-7380

revfitotecniamex@gmail.com

Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.

México

Onamu, Rose; Legaria-Solano, J. Porfirio; Sahagún-Castellanos, Jaime; Rodríguez-de-la-O, J. Luís; Pérez-Nieto, Joel

DIVERSIDAD GENÉTICA ENTRE VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)  
CULTIVADAS EN MÉXICO

Revista Fitotecnia Mexicana, vol. 38, núm. 1, 2015, pp. 7-15

Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.

Chapingo, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61035375003>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## DIVERSIDAD GENÉTICA ENTRE VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) CULTIVADAS EN MÉXICO

## GENETIC DIVERSITY AMONG VARIETIES OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.) CULTIVATED IN MÉXICO

Rose Onamu, J. Porfirio Legaria-Solano\*, Jaime Sahagún-Castellanos,  
J. Luís Rodríguez-de-la-O y Joel Pérez-Nieto

Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Km 38.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Chapingo, Texcoco, Estado de México. Tel: 01(595)952-1500.

\*Autor para correspondencia (legarias.juan@yahoo.com)

### RESUMEN

En México hay gran diversidad de papas (*Solanum tuberosum* L.), pero este rico recurso genético no se utiliza como debiera debido a la escasa información genética existente. Un análisis de datos consenso de RAPD e ISSR se utilizó para estudiar la diversidad genética y estructura poblacional en quince cultivares de papa (9 mejorados de Europa, Estados Unidos de América y México, y 6 criollos mexicanos) sembrados en México. Las amplificaciones con 5 iniciadores decámeros al azar y 5 iniciadores ISSR generaron 138 bandas de las que 116 (84.4 %) fueron polimórficas. El coeficiente de similitud más alto (0.89) se detectó entre los cultivares Fianna y Armada. En contraste, el coeficiente de similitud más bajo (0.55) se obtuvo entre Tollocan y Cambray Rosa Morelos. El alto nivel de diferenciación genética entre cultivares ( $G_{ST} = 0.71$ ) y bajos valores de flujo genético ( $N_m = 0.19$ ) a través de todos los loci indicaron que el nivel de divergencia genética entre los 15 cultivares es alta. El análisis de varianza molecular reveló una contribución significativa de las diferencias entre regiones, entre cultivares, entre y dentro de las poblaciones, a la diversidad genética total de los cultivares estudiados.

**Palabras clave:** *Solanum tuberosum*, RAPD, ISSR, diversidad genética, estructura de poblaciones.

### SUMMARY

In Mexico exist big diversity of potatoes (*Solanum tuberosum* L.), but this genetic resource is not utilized due to limited genetic information. RAPD and ISSR consensus data analysis was used to study the genetic diversity and population structure in fifteen potato cultivars (9 improved from Europe, United States of America and Mexico, and 6 Mexican landraces) grown in Mexico. Amplification with 5 decamer random primers and 5 ISSR primers generated 138 markers of which 116 (84.4 %) were polymorphic. The highest coefficient of similarity was demonstrated between Fianna and Armada cultivars which had a value of 0.89. In contrast, the lowest coefficient of similarity was obtained between Tollocan and Cambray Rosa Morelos cultivars with a value of 0.55. The high level of cultivar differentiation ( $G_{ST} = 0.71$ ) and low level of gene flow ( $N_m = 0.19$ ) across all loci reflected that the level of genetic divergence among the fifteen cultivars was high. The molecular variance analysis revealed significant contribution of differences among regions, among type of cultivar, among populations and within populations to the total genetic diversity of potato cultivars studied.

**Index words:** *Solanum tuberosum*, RAPD, ISSR, genetic diversity, population structure.

### INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial (Gopal y Khurana, 2006). Ocupa el cuarto lugar en producción para consumo humano, al ser superado solamente por trigo (*Triticum aestivum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y maíz (*Zea mays* L.). Clasificaciones recientes reconocen alrededor de 100 especies silvestres y cuatro cultivadas (que incluyen a *Solanum tuberosum*) (Ovchinnikova *et al.*, 2011). En México la papa se cultiva anualmente en una superficie de 64,000 ha, con una producción de 1.7 millones de toneladas y un rendimiento promedio de 27 t ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT, 2007). La papa se cultiva principalmente en los Estados de Chihuahua, Coahuila, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nuevo León, Sinaloa, Sonora y Zacatecas (SAGARPA, 2010).

Si bien México no es centro de origen de la papa, el país cuenta con amplia diversidad de germoplasma. Las variedades de papa cultivadas en México se diferencian en tres grupos: genotipos provenientes de Europa, de Estados Unidos de América, y los mejorados por organismos nacionales como el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El primer grupo representa 50 % de las variedades cultivadas (Alpha), el segundo 38 % y el último alrededor de 8 %. Los centros principales de diversidad y producción de papas criollas en México son las zonas aledañas a los volcanes Nevado de Toluca y al Pico de Orizaba (Ugent, 1968).

Los cultivares europeos han sido fuertemente seleccionados para características deseables, de modo que son menos diversos comparados con el "pool" genético de Estados Unidos de América y probablemente con el de México, especialmente las variedades criollas. En México existen fuertes

diferencias entre los tipos de papa que cultivan diferentes agricultores. En el norte del país existen grandes unidades de producción donde predominan estándares tecnológicos avanzados, mientras que en el centro y sur predominan pequeñas unidades que disponen de pocos recursos.

Sólo 23 % de la tierra dedicada a la siembra de la papa se cultiva con semilla certificada, que se compra por productores a gran escala. Los pequeños productores casi no utilizan semilla certificada o material limpio. La mayoría de los productores pequeños utilizan semilla de la cosecha anterior o compran tubérculos destinados al mercado en fresco por los grandes productores. Los pequeños productores o intermedios siembran cultivares nativos coloridos que no tienen un sistema de distribución comercial formal (Qaim, 1998). Las papas cultivadas se propagan como clones para mantener su pureza, pero la diversidad genética se mantiene mediante cruza amplias y el desarrollo de nuevos cultivares.

Si bien existe gran diversidad de papas en México, este rico recurso genético no se utiliza como debiera debido a la escasa información genética existente y al aislamiento sexual resultante de incompatibilidad entre especies 1EBN en México y especies 2EBN y 4EBN de Suramérica (Jansky y Hamernik, 2009). El conocimiento de la diversidad genética del germoplasma y los patrones de estructura poblacional entre materiales a mejorar y entre cultivares es importante para el desarrollo de estrategias adecuadas de conservación, para el mejoramiento genético y para la utilización de las plantas cultivadas.

Información previa acerca de la diversidad genética ha sido obtenida con marcadores morfológicos (Hijmans y Spooner, 2001) e isoenzimas (Douches y Ludlam, 1991). Estas técnicas aunque han sido útiles, presentan algunas limitantes como el ser altamente influenciadas por las condiciones ambientales y el bajo número de marcadores que presentan (Semagn *et al.*, 2006). El desarrollo de marcadores más simples, más económicos y más fáciles de obtener, basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han mejorado en gran medida la información genética disponible (Powell *et al.*, 1995). Tales marcadores incluyen a los RAPD (polimorfismos en el ADN amplificados al azar) e ISSR (inter-secuencias simples repetidas) utilizadas extensivamente para caracterizar genotipos de papa (Orona-Castro *et al.*, 2006; Yasmin *et al.*, 2006).

Los RAPD e ISSR han llegado a ser populares en estudios de poblaciones de plantas (Nybom y Bartish, 2000). En el presente estudio se caracterizó la diversidad genética dentro y entre cultivares de papa mediante el uso de datos consensos de marcadores RAPD e ISSR, para maximizar la generación de datos genéticos más confiables.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Quince cultivares de papa importantes y ampliamente sembrados en México se obtuvieron en varios estados de la República Mexicana de fuentes de semilla certificada, del Banco de Germoplasma del Departamento de Fitotecnica de la Universidad Autónoma Chapingo y de productores locales (Cuadro 1). Se tomaron secciones de cinco tubérculos seleccionados al azar por cultivar para tener un total de 75 individuos para su análisis. Las muestras incluyeron nueve cultivares mejorados y seis variedades criollas.

### Purificación del ADN

La purificación del ADN se hizo de acuerdo con el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983) con algunas modificaciones. Secciones de tubérculos de 0.3 g se maceraron en nitrógeno líquido hasta obtener un polvo muy fino. La muestra se colocó en un microtubo (Eppendorf) de 1.5 mL que contenía 600 µL de amortiguador de extracción (20 mL Tris-HCl 1 M, pH 8.0; 20 mL EDTA 0.5 M, pH 8.0; 20 mL NaCl 5 M; 35 µL β-mercaptoetanol; 40 mL dodecil sulfato de sodio 20 %) y se incubó a 65 °C por 10 min, con inversión ocasional de los tubos.

Después a cada tubo se adicionó 200 µL de acetato de potasio 5M, se mezcló por inversión y se incubó en hielo por 30 min. Se centrifugó a 8000  $\times$  g durante 10 min a temperatura ambiente, y el sobrenadante se transfirió a otro tubo que contenía 700 µL de isopropanol frío (-20 °C). Se mezcló por inversión e incubó a -20 °C por 30 min y se centrifugó por 5 min a 8000  $\times$  g a temperatura ambiente. El sobrenadante se eliminó, se recobró el precipitado y se disolvió en 200 µL de solución para diluir (Tris-HCl 50 mM, EDTA-Na<sub>2</sub> 10 mM, pH 8.0). Para eliminar el ARN se añadió 2 µL de ARNasa A y se incubó a 37 °C por 1 h. Después se adicionó 20 µL de acetato de sodio 3M más 200 µL de isopropanol, se mezcló por inversión y se dejó precipitar a -20 °C por 2 h. Se centrifugó a 8000  $\times$  g por 5 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se eliminó y el precipitado se lavó con 300 µL de etanol a 70 %. La pastilla se secó y se disolvió en amortiguador TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA-Na<sub>2</sub> 1 mM, pH 8.0) a 4 °C. La concentración del ADN se cuantificó con un espectrofotómetro Genesys 10 uv Scanning® (Thermo Scientific, USA) y se verificó la calidad mediante electroforesis en un gel de agarosa al 0.8 % (w/v). El ADN obtenido se utilizó en posteriores reacciones de PCR.

### Condiciones de reacción para RAPD

Cinco iniciadores RAPD de las series A y D Operon® (Operon Technologies Inc. Alameda, CA, USA) se seleccionaron de

**Cuadro 1. Lista de cultivares, su origen y tipo, utilizados en el presente estudio.**

Abreviación	Detalles	Origen	Tipo
CRM	Cambray Rosa Morelos	México	Variedad criolla
CE	Criolla Edo Mex	México	Variedad criolla
AGE	Alfa	Europa	Cultivar mejorado
ATL	Atlantic	USA	Cultivar mejorado
ARM	Armada	Europa	Cultivar mejorado
FIO	Fianna	Europa	Cultivar mejorado
MOTE	Montserrat	Europa	Cultivar mejorado
MDL	Mondial	Europa	Cultivar mejorado
GIG	Gigant	Europa	Cultivar mejorado
CBLANC	Cambray Blanca Edo Mex	México	Variedad criolla
TOLL	Tollocan	México	Cultivar mejorado
MOCH	Mochis	México	Cultivar mejorado
CAMB RD	Cambray Rosa DF	México	Variedad criolla
CRIO BP	Criolla Blanca Puebla	México	Variedad criolla
PAPA CHIC	Papa Chica	México	Variedad criolla

un total de 25 (Cuadro 2). Las reacciones de PCR se hicieron en un termociclador Techne® TC-512, USA. La mezcla de reacción se realizó en un volumen de 25 µL, que incluyó 4.2 µL de agua doble destilada estéril, 10 µL de dNTPs (500 µM), 2.5 µL de amortiguador 10X (Tris-HCl 750 mM, pH 8.8; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 200 mM; Tween 20 a 1 % (v/v)); 1.0 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 3.0 µL de iniciador a una concentración de 10 pM; 0.3 µL de enzima Taq ADN polimerasa a una concentración de 5U µL<sup>-1</sup>; y 4.0 µL de ADN genómico a una concentración de 10 ng µL<sup>-1</sup>.

Las condiciones de reacción fueron: un ciclo a 94 °C, 2 min; 38 ciclos [a 94 °C por 30 s, a 40 °C por 30 s, y a 72 °C por 90 s]; con una extensión de 72 °C por 2 min. Los fragmentos amplificados se separaron por electroforesis en un gel de agarosa a 1.2 % (p/v) con amortiguador TAE (40 mM Tris-acetato, pH 7.6; 1 mM Na<sub>2</sub> EDTA), por 1 h a 120 V. Los geles se tiñeron en bromuro de etidio (0.5 mg mL<sup>-1</sup>) por 15 min; el exceso de colorante se eliminó mediante lavado del gel con agua destilada por 5 min y se documentó bajo luz UV. Las reacciones de amplificación se repitieron al menos dos veces.

#### Condiciones de reacción para ISSR

Para las reacciones ISSR se usaron 5 iniciadores de un total de 10 probados (Cuadro 2). Las reacciones de amplificación se hicieron en un volumen y con reactivos semejantes a los RAPD excepto para las condiciones de reacción: 94 °C por 5 min, 35 ciclos a 94 °C por 30 s, temperatura específica de alineamiento por 45 s y 72 °C por 2 min y

un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min. La temperatura de alineamiento estuvo en un rango de 40 a 58 °C y los ciclos se redujeron a 30. Los fragmentos amplificados se separaron por electroforesis en geles de agarosa a 1.5 % (p/v) con amortiguador TAE (40 mM Tris-acetato, pH 7.6; 1 mM Na<sub>2</sub> EDTA), por 1 h a 120 V. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (0.5 mg mL<sup>-1</sup>) por 15 min y el exceso de colorante se eliminó mediante enjuagues en agua destilada por 15 min y documentados bajo luz UV. Las reacciones de amplificación se repitieron al menos dos veces.

#### Análisis de los datos

Todos los geles fueron evaluados para visualizar y registrar el número de bandas mono y polimórficas. Esta evaluación se llevó a cabo en forma cuidadosa e independiente por dos miembros del laboratorio. Bandas difusas o dudosas no fueron consideradas para el análisis. Se asumió que bandas del mismo peso molecular en diferentes individuos son idénticas. La presencia de una banda se indicó con un uno (1) y la ausencia con un cero (0).

Los datos se analizaron con los paquetes estadísticos NTSYS-pc versión 2.1 (Rohlf, 2000) y POPGEN32 (Yeh *et al.*, 1999). El dendrograma de relaciones entre las variedades se construyó usando coeficientes de similitud de Jaccard (1908) y el método de agrupamiento UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages). Para estimar parámetros de polimorfismo a nivel de poblaciones con la matriz de datos de presencia/ausencia se usó el programa POPGEN32. Los parámetros genéticos

**Cuadro 2. Lista de iniciadores RAPD e ISSR, secuencias 5'-3', productos amplificados y polimorfismo detectado.**

Iniciador	Secuencia (5'-3')	Prod. Amp.	Polimorfismo (%)
<b>RAPD</b>			
A02	TGC CGA GCT G	9	77.70
A05	AGG GGT CTT G	13	92.30
D10	GGT CTA CAC C	11	90.90
D11	AGC GCC ATT G	18	94.40
D02	GGA CCC AAC C	16	87.50
<b>ISSR</b>			
P1	GAG CAA CAA CAA CAA CAA	14	57.10
P2	CTG AGA GAG AGA GAG AGA G	15	80.00
P3	AGA GAG AGA GAG AGA GTG	14	92.80
P4	ATG ATG ATG ATG ATG	14	78.60
P5	AGA GAG AGA GAG AGA G	14	92.80
<b>Promedio</b>		13.80	84.41

Prod. Amp. = producto amplificado.

evaluados al nivel de poblaciones fueron el porcentaje de loci polimórficos (P), el número de alelos por locus (Na), el número efectivo de alelos por locus (Ne), el índice de Shannon (I) y el índice de diversidad genética de Nei (1973) (H). Además, se calculó el coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones ( $G_{ST}$ ), el número de individuos migrantes (Nm) y el índice de identidad genética de Nei.

Para describir la estructura genética y la variabilidad entre las poblaciones se realizó un análisis de varianza molecular no-paramétrica (AMOVA, por sus siglas en inglés), mediante el programa GenAlEx 6.2 (Peakall y Smouse, 2006) con 999 permutaciones, donde los componentes de varianza se dividieron entre individuos, dentro de poblaciones, entre poblaciones dentro de regiones y entre regiones o grupos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Patrones de iniciadores

Diez iniciadores (5 RAPD y 5 ISSR) se utilizaron para amplificar el ADN de cinco individuos de cada una de las 15 variedades de papa cultivadas en México (Cuadros 1 y 2). Se estudiaron 138 loci. El número promedio de bandas revelado por un iniciador dado fue de 13.8, que osciló entre 9 y 18 (Cuadro 2). El análisis de las variedades basado en RAPD e ISSR permitió estimar la similitud genética y las diferencias existentes dentro y entre los genotipos estudiados.

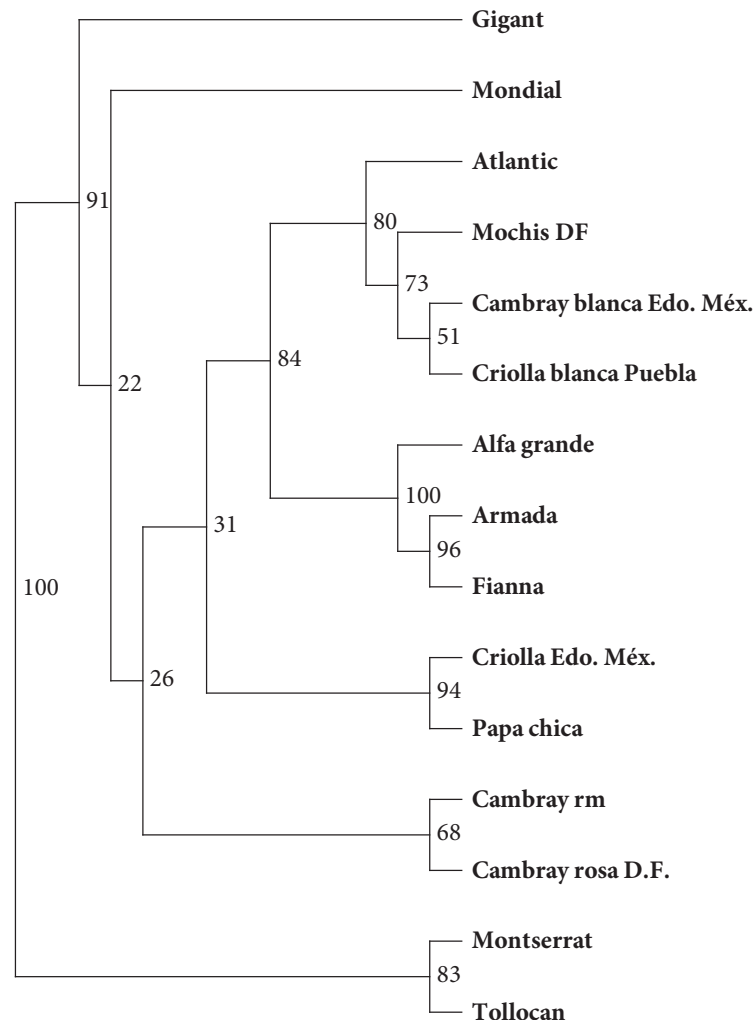
### Análisis de agrupamientos

El análisis de grupos con el coeficiente de similitud de Jaccard separó a los cultivares en seis grupos diferentes

(Figura 1). El primer grupo lo formaron las variedades Tollocan y Montserrat, y fue el más divergente del resto de los cultivares. Gigant formó el segundo grupo, Mondial el tercero, Cambray Rosa Morelos y Cambray Rosa DF constituyeron el cuarto grupo, mientras que Criolla Edo Mex y Papa Chica formaron el quinto. El sexto grupo se integró con el resto de los cultivares, y se dividió en dos subgrupos: el primero consistió de cultivares europeos (Alfa, Armada y Fianna), y el segundo subgrupo se formó con el cultivar mexicano mejorado Mochis, variedades criollas con tubérculos de piel blanca (Cambray Blanca Edo Mex y Criolla Blanca Puebla) y Atlantic de Estados Unidos de América.

El uso de datos consenso de RAPD e ISSR diferenció con éxito a los cultivares de papa sembrados en México. Sin embargo, el análisis no agrupó completamente a los materiales con base en su origen geográfico, posiblemente debido a algún grado de introgresión de germoplasma europeo y de Estados Unidos de América con el mexicano. Algunas características como el color de piel de los tubérculos fueron claramente agrupadas en grupos separados. Esto se demuestra al observar que las variedades criollas con piel de tubérculo color rojo, como Cambray Rosa Morelos, Cambray Rosa DF, Criolla Edo Mex y Papa Chica, se ubican en un grupo separado de los cultivares y variedades criollas que tienen tubérculos con color de piel blanca.

El coeficiente de similitud de Jaccard osciló entre 0.55 y 0.89 (Cuadro 3). Orona-Castro *et al.* (2006) demostraron la existencia de diversidad genética entre cultivares de papa sembrados en México mediante marcadores RAPD y SSR. Estos investigadores obtuvieron coeficientes de similitud en un rango de 0.52 a 0.87 y 0.60 a 0.90 para RAPD y SSR, respectivamente. De igual manera, Rocha *et al.* (2010)



**Figura 1. Dendrograma de similitudes entre 15 cultivares de papa, obtenido mediante coeficientes de similitud de Jaccard (1908). Ver detalles de los cultivares en Cuadro 1.**

reportaron diversidad genética presente entre cultivares de papa de Estados Unidos de América y europeos crecidos en Brasil con coeficientes de similitud en un intervalo de 0.50 a 0.73 y de 0.46 a 0.72, con el uso de marcadores RAPD y SSR, respectivamente.

Si bien algunos cultivares europeos agruparon con los genotipos Fianna, Armada y Alfa, lo que indica alta similitud entre los mismos, no se puede ignorar la existencia de algún grado de diversidad genética en el “pool” europeo debido a que el resto de los cultivares formó parte de otros grupos diferentes (Gigant, Montserrat y Mondial) (Figura 1). Entre las variedades criollas de México existe diversidad genética, lo que quedó demostrado porque los cultivares con tubérculos con cubiertas blancas formaron grupos separados en relación a los cultivares con tubérculos con color de piel

roja (Figura 1).

Ispizua *et al.* (2007) reportaron alta (0.55) diversidad genética entre variedades criollas del noroeste de Argentina mediante marcadores SSR. Tollocan, un cultivar mejorado mexicano y Montserrat de Europa fueron los más divergentes del resto de cultivares sembrados en México, con un valor de remuestreo igual a 100 (Figura 1). Estos dos cultivares podrían ser utilizados individualmente como progenitores en programas de mejoramiento. El coeficiente de similitud más alto se obtuvo entre Fianna y Armada con un valor de 0.89 (Cuadro 3).

Bornet *et al.* (2002) y Rousselle *et al.* (1996) reportaron alta similitud entre cultivares europeos debido a que han sido mejorados fuertemente y tienden a mostrar variabilidad



**Cuadro 3. Valores de similitud genética entre cultivares de papa según el coeficiente de Jaccard (1908) con marcadores RAPD e ISSR.**

Cultivares	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1														
2	0.67	1													
3	0.64	0.74	1												
4	0.65	0.74	0.77	1											
5	0.63	0.71	0.84	0.77	1										
6	0.62	0.68	0.83	0.74	0.89	1									
7	0.56	0.61	0.59	0.61	0.6	0.59	1								
8	0.58	0.63	0.64	0.68	0.68	0.66	0.59	1							
9	0.63	0.62	0.67	0.67	0.64	0.65	0.57	0.64	1						
10	0.63	0.71	0.74	0.78	0.75	0.74	0.57	0.66	0.68	1					
11	0.55	0.62	0.61	0.62	0.59	0.58	0.64	0.57	0.55	0.6	1				
12	0.65	0.68	0.68	0.77	0.7	0.71	0.61	0.67	0.64	0.82	0.61	1			
13	0.7	0.68	0.64	0.68	0.66	0.64	0.6	0.62	0.63	0.7	0.63	0.73	1		
14	0.65	0.68	0.71	0.79	0.71	0.71	0.6	0.66	0.67	0.83	0.58	0.8	0.68	1	
15	0.61	0.77	0.64	0.66	0.63	0.62	0.6	0.62	0.59	0.64	0.6	0.67	0.67	0.66	1

1 = Cambray Rosa Morelos; 2 = Criolla Edo Mex; 3 = Alfa; 4 = Atlantic; 5 = Armada; 6 = Fianna; 7 = Montserrat; 8 = Mondial; 9 = Gigant; 10 = Cambray Blanca Edo Mex; 11 = Tollocan; 12 = Mochis; 13 = Cambray Rosa DF; 14 = Criolla Blanca Puebla; 15 = Papa Chica.

genética baja. Lunga'ho *et al.* (2011) reportaron variabilidad genética baja entre accesiones de papa europeas comparadas con accesiones de Suramérica procedentes del Centro Internacional de la Papa (CIP) en Kenya. En contraste, un coeficiente de similitud bajo se obtuvo entre Tollocan y Cambray Rosa Morelos con un valor de 0.55. (Cuadro 3). Como Tollocan es un cultivar mejorado mexicano mientras que Cambray Rosa Morelos es una variedad criolla, esto puede explicar la amplia diferencia detectada entre ellos. Estos resultados demuestran la existencia de amplia variabilidad genética dentro del “pool” genético mexicano.

### Diversidad genética y diferenciación

El porcentaje de loci polimórficos (P) entre los cultivares fue de 86.2 %. El coeficiente de diferenciación genética entre los cultivares fue alto ( $G_{ST} = 0.71$ ), e indica que aproximadamente 71 % de la variación detectada puede atribuirse a diferencias entre los cultivares. El resto (29 %) representa diversidad genética dentro de cultivares, principalmente en criollos. Con base en el coeficiente de diferenciación genética total entre los cultivares ( $G_{ST}$ ), el nivel de flujo génico estimado ( $Nm$ ) fue de 0.19; este valor indica que hay menos de un individuo migrante por generación entre las poblaciones, lo que también explica el alto nivel de diferenciación. En cuanto al número de alelos por locus ( $N_a$ ) y al número efectivo de alelos por locus ( $N_e$ ), el cultivar Atlantic superó a los demás cultivares con valores de 1.31 y 1.20, respectivamente.

Las actividades humanas, la adaptación a zonas agroeco-

lógicas, la distribución, colonización, sistema de apareamiento, tamaño de las poblaciones y el método de propagación afectan el nivel de diversidad genética entre y dentro de poblaciones (Sun y Wong, 2001). La diversidad genética dentro de los cultivares de papa fue baja, probablemente debido al énfasis en mantener la pureza genética dentro y entre los cultivares mediante propagación vegetativa (clonal) y programas de certificación de semillas. Estos resultados están de acuerdo con los reportados por Yasmin *et al.* (2006), con el uso de marcadores tipo RAPD estos investigadores detectaron diversidad genética baja dentro de variedades clonales de papa cultivados en Bangladesh.

### Análisis AMOVA

El análisis de varianza molecular (AMOVA) hecho mediante agrupamiento jerárquico con base en origen, poblaciones, e individuos dentro de poblaciones, reveló diferencias genéticas significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre los tres grupos utilizados en este estudio (Cuadro 4). Una contribución de 7 % en la variabilidad genética total se puede atribuir a diferencias entre los grupos. La variación atribuida a diferencias entre los grupos puede acreditarse a los Grupos 1 y 3 relacionados con “pool” genéticos europeos y mexicanos, respectivamente (Cuadro 4). La contribución más alta a la variabilidad genética total (62 %) puede atribuirse a diferencias entre poblaciones dentro de grupos, y el Grupo 2 de Estados Unidos de América fue el que más contribuyó (Cuadro 4). Los individuos dentro de las poblaciones contribuyeron con 31 % de la variación genética total. Estos resultados sugieren que los “pool” genéticos europeos y

**Cuadro 4. Análisis de varianza molecular (AMOVA) realizado para 75 individuos del Grupo 1 Europa, Grupo 2 Estados Unidos de América y Grupo 3 México, con cinco marcadores RAPD y cinco ISSR.**

Fuente de variación	Df	SS	Componente de varianza	% Variación total	Valor P <sup>x</sup>
<b>Grupo 1 vs. Grupo 2 vs. Grupo 3</b>	2	197.40	1.38	7	***
Entre poblaciones dentro de grupos	12	841.15	12.72	62	***
Individuos dentro de poblaciones	60	388.00	6.46	31	***
<b>Grupo 1 vs. Grupo 2</b>	1	56.69	0.00	0	NS
Entre poblaciones dentro de grupos	5	333.93	12.00	64	***
<b>Grupo 1 vs. Grupo 3</b>	1	148.48	2.28	11	***
Entre poblaciones dentro de grupos	12	841.15	12.76	60	***
Individuos dentro de poblaciones	56	351.20	6.27	29	***
<b>Grupo 2 vs. Grupo 3</b>	1	53.93	0.00	0	ns
Entre poblaciones dentro de grupos	7	507.22	13.18	67	***
Individuos dentro de poblaciones	36	236.00	6.55	33	***

Df = grados de libertad; SS = suma de cuadrados; P<sup>x</sup> = probabilidad; ns = no significativo; \* = 0.05; \*\* = 0.01; \*\*\* = 0.001. Ver detalles de los grupos en Cuadro 1.

mexicanos pueden ser de utilidad para proveer materiales superiores a los programas de mejoramiento genético.

Esfahani *et al.* (2009) reportaron baja (5 %) pero significativa ( $P \leq 0.002$ ) variabilidad genética atribuida a materiales de papa de origen americano y europeo cultivados en Irán. Estos mismos autores reportaron que la mayoría de la variabilidad genética puede acreditarse a la que hay entre poblaciones. En contraste, Fu *et al.* (2009) demostraron la existencia de una reducida base genética en el germoplasma de papa de Canadá. Estos resultados realzan la importancia que tiene el analizar la estructura de las poblaciones para guiarse en la selección de materiales para el mejoramiento genético. Nosotros inferimos de estos estudios de que la mayor parte de la diversidad genética en los genotipos de papa se encuentra dentro de las regiones y no entre ellas.

El análisis de la diversidad genética AMOVA reveló diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre los tipos de cultivar. Estas diferencias contribuyeron con 6 % de variabilidad genética total (Cuadro 5). Las variedades criollas mexicanas mostraron un nivel relativamente alto (71 %) de diversidad genética entre los cultivares, en comparación con los cultivares mejorados (64 %). Estos resultados sugieren que hay un alto nivel de diversidad genética entre las variedades criollas mexicanas que puede explotarse.

La diversidad genética dentro de las poblaciones mexicanas fue de solo 29 %. Probablemente las variedades criollas seleccionadas para este estudio pertenecen a las más comúnmente cultivadas por los agricultores locales, de modo que han sido sometidas a un proceso de selección a través de años que las ha hecho genéticamente más uniformes. Alternativamente, ello puede apuntar también a pérdida de genotipos debido a estrés biótico o abiótico, a actividades

humanas, reemplazo por otros cultivos, migración de agricultores a otras zonas u otros factores.

Según Ispizua *et al.* (2007), existe 55.5 y 44.4 % de diversidad genética dentro y entre variedades criollas de papa cultivadas en el noroeste de Argentina. Los cultivares mejorados de Europa fueron significativamente diferentes de los cultivares mejorados y variedades criollas mexicanos. El único cultivar de Estados Unidos de América incluido en el presente estudio no fue significativamente diferente de los cultivares europeos y mexicanos (Cuadro 5). Tanto los cultivares mexicanos como los europeos han influido en gran proporción en la variabilidad genética atribuida al tipo de cultivar.

Debido a su rica diversidad, las variedades criollas necesitan conservarse y explotarse. La conservación *ex situ* podría ser una buena opción dado que en este estudio se encontró baja diversidad dentro de los genotipos, como proponen Han *et al.* (2007). La papa comercial se propaga en forma vegetativa (clonal) y cuando se distribuye a través de los sistemas de certificación formales se pone énfasis en la pureza del cultivar o semilla. Si bien aquí hemos reportado bajos niveles de variabilidad genética dentro de los cultivares estudiados, los niveles indicados pueden considerarse elevados si se toma en cuenta la pureza que deben guardar los cultivares mejorados clonalmente propagados.

## CONCLUSIONES

El uso de datos consenso basados en marcadores RAPD e ISSR reveló con éxito un alto nivel de diferenciación genética entre las poblaciones de papa estudiadas. La mayor parte de la variabilidad genética puede atribuirse a diferencias entre los cultivares de papa dentro



**Cuadro 5. Análisis de varianza molecular (AMOVA) realizado para 75 individuos del Grupo 1 Cultivares mejorados de Europa, Grupo 2 Cultivares mejorados de Estados Unidos de América, Grupo 3 Cultivares mejorados de México, y Grupo 4 Variedades criollas de México mediante cinco marcadores RAPD y cinco ISSR.**

Fuente de variación	Df	SS	Componente de varianza	% Variación total	Valor P <sup>x</sup>
<b>Grupos 1+2+3 vs. Grupo 4</b>	1	112.90	1.15	6	***
Entre cultivares dentro de grupos	13	925.65	12.94	63	***
Individuos dentro de cultivares	60	388.00	6.46	31	***
<b>Cultivares mejorados</b>					
Entre cultivares dentro de grupos	8	545.15	12.23	64	***
<b>Variedades criollas de México</b>					
Entre cultivares dentro de grupos	5	380.50	14.07	71	***
Individuos dentro de cultivares	24	137.20	5.71	29	na
<b>Grupo 1 vs. G. 2 vs. G. 3 vs. G. 4</b>	3	261.32	1.00	5	***
Entre cultivares dentro de grupos	11	777.23	12.83	63	***
Individuos dentro de cultivares	60	388.00	6.46	32	***
<b>Grupo 1 vs. Grupo 2</b>	1	56.69	0.00	0	ns
Entre cultivares dentro de grupos	5	333.93	12.00	64	***
<b>Grupo 1 vs. Grupo 3</b>	1	97.11	2.06	10	***
Entre cultivares dentro de grupos	6	396.73	11.88	58	***
<b>Grupo 1 vs. Grupo 4</b>	1	140.45	2.30	11	***
Entre cultivares dentro de grupos	10	714.43	13.08	61	***
Individuos dentro de cultivares	48	289.20	6.02	28	***
<b>Grupo 2 vs. Grupo 3</b>	1	54.00	0.00	0	ns
Entre cultivares dentro de grupos	1	62.80	10.91	57	**
<b>Grupo 2 vs. Grupo 4</b>	1	55.32	0.00	0	ns
Entre cultivares dentro de grupos	5	380.50	13.97	69	***
Individuos dentro de cultivares	28	174.00	6.21	31	***
<b>Grupo 3 vs. Grupo 4</b>	1	63.92	0.00	0	ns
Entre cultivares dentro de grupos	6	443.30	13.53	68	***
Individuos dentro de cultivares	32	199.20	6.22	32	***

Df = grados de libertad; SS = suma de cuadrados. P<sup>x</sup> = probabilidad; na = no disponible; ns = no significativo; \* = 0.05; \*\* = 0.01; \*\*\* = 0.001; Ver detalles sobre los grupos en Cuadro 1.

de las regiones. El tipo de cultivar contribuyó en forma significativa a la variabilidad genética total. El “pool” genético mexicano fue significativamente diferente del “pool” genético europeo, y ambos “pools” contribuyeron en forma significativa a la variabilidad total relacionada con el tipo de cultivar. Las variedades criollas mexicanas constituyen una fuente rica de diversidad genética y contribuyen significativamente a la variabilidad genética entre cultivares que hay en el país.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor Lozoya Saldaña del Departamento de Fitoecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, México, por proporcionar algunos materiales de papa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bornet B., F. Goragner, G. Joly and M. Branchard (2002) Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Genome* 45:481-484.
- Dellaporta S. L., J. Wood and J. B. Hicks (1983) A plant DNA mini preparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.
- Douches D. S. and K. Ludlam (1991) Electrophoretic characterization of North American potato cultivars. *American Potato Journal* 68:767-780.
- Esfahani S. T., B. Shiran and B. Gholamreza (2009) AFLP markers for the assessment of genetic diversity in European and North American potato varieties cultivated in Iran. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 9:75-86.
- FAOSTAT (2007) Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database. 13 Feb. 2007. Available at: <http://faostat.fao.org/site/336/default.aspx>. (Enero 2014).
- Fu Y. B., G. W. Peterson, K. W. Richards, T. R. Tarm and J. E. Percy (2009) Genetic diversity of Canadian and exotic potato

- germplasm revealed by SSR markers. *American Journal of Potato Research* 86:38-48.
- Gopal J. and S. M. P. Khurana (2006)** Handbook of Potato Production, Improvement and Postharvest Management. The Haworth Press, Inc. 10 Alice Street, Binghamton, NY. pp:1-60.
- Hijmans R. J. and D. M. Spooner (2001)** Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany* 88:2101-2112.
- Han Y. C., C. Z. Teng, S. Zhong, M. Q. Zhou, Z. L. Hu and Y. C. Song (2007)** Genetic variation and clonal diversity in populations of *Nelumbo nucifera* (Nelumbonaceae) in Central China detected by ISSR markers. *Aquatic Botany* 86:69-75.
- Ispizua V. N., I. R. Guma, F. Sergio and A. M. Clausen (2007)** Genetic diversity of potato landraces from North western Argentina assessed with simple sequence repeats (SSRs). *Genetic Resources and Crop Evolution* 54:1833-1848.
- Jaccard P. (1908)** Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 44:223-70.
- Jansky S. and A. Hamernik (2009)** The introgression of 2x 1EBN *Solanum* species into the cultivated potato using *Solanum verrucosum* as a bridge. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56:1107-1115.
- Lunga'ho C., N. G. Cheminingua, B. F. Yong, S. I. Shibairo and M. J. Hutchinson (2011)** Genetic diversity of Kenyan potato germplasm revealed by SSR markers. *American Journal of Potato Research* 88:424-434.
- Nei M. (1973)** Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 70:3321-3323.
- Nybom H. and I. V. Bartish (2000)** Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3:93-114.
- Orona-Castro F., V. Pecina-Quintero, A. Rocha-Peña, M. A. Cadena-Hinojosa, O. O. Martínez-de-la-Vega y I. H. Almeyda-León (2006)** Caracterización molecular de genotipos comerciales y elite de papa. *Agricultura Técnica en México* 2:171-180.
- Ovchinnikova A., E. Krylova, T. Gavrilenko, T. Smekalova, M. Zhuk, S. Knapp and D. M. Spooner (2011)** Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section petota: Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnaean Society* 165:107-155.
- Peakall R. and P. E. Smouse (2006)** GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288-295.
- Powell W., C. Orozco-Castillo, K. J. Chalmers, J. Provanand and R. Waugh (1995)** Polymerase chain reaction-based assays for the characterization of plant genetic resources. *Electrophoresis* 16:1726-1730.
- Qaim M. (1998)** Transgenic Virus Resistant Potatoes in Mexico: Potential Socioeconomic Implications of North-South Biotechnology Transfer. ISAAA Briefs No. 7. ISAAA: Ithaca, NY. 48 p.
- Rocha E. A., L. V. Paiva, H. H. de-Carvalho and C. T. Guimaraes (2010)** Molecular characterization and genetic diversity of potato cultivars using SSR and RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 10:204-210.
- Rohlf F. J. (2000)** Programme NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 2.1. Exeter Software, New York.
- Rousselle P., Y. Robert and J. C. Crosnier (1996)** La Pomme de Terre. INRA édition, France (ITPT, ITCF). 224 p.
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2010)** Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Cultivo de Papa. México, D. F. pp:550-563.
- Semagn K., Å. Bjørnstad and M. N. Ndjondjop (2006)** An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology* 5:2540-2568.
- Sun M. and K. C. Wong (2001)** Genetic structure of three orchid species with contrasting breeding systems using RAPD and allozyme markers. *American Journal of Botany* 88:2180-2188.
- Ugent D. (1968)** The potato in Mexico: Geography and primitive culture. *Economic Botany* 22:108-123.
- Yasmin S., M. S. Islam, M. Kondoker, M. Nasiruddin and S. Alam (2006)** Molecular characterization of potato germplasm by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Biotechnology* 5:27-31.
- Yeh F. C., R. C. Yai and T. Boyle (1999)** Popgene Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetics Analysis. Quick User Guide. Edmonton, Alberta, Canada. 28 p.