



# Marcadores microsatélites para evaluar hipótesis sobre la estructura genética, distribución, y adaptación de la papa cultivada

M. Ghislain<sup>1</sup>, J. Núñez<sup>1</sup>, M.R. Herrera<sup>1</sup>, D.M. Spooner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Aplicada, Divisiones de Recursos Genéticos y de Mejoramiento de Cultivos, Centro Internacional de la Papa, Apartado 1558, Lima 12, Perú,

<sup>2</sup>USDA-ARS, Vegetable Crops Research Unit, Department of Horticulture, University of Wisconsin, 1575 Linden Drive, Madison WI 53706-1590, USA

# Esquema

---

## Kit para la identidad genética en papa

- Marcadores ADN
- Análisis de una población grande y diversa
- Selección de un kit

## Aplicaciones del kit IGP

- Identidad de entradas en conservación en el CIP
- Herramienta útil para Bancos de Germoplasma
- Distribución del kit PGI
- Análisis del acervo genético

**Un nuevo conocimiento ... por refutar?**

# Un kit para identidad genética de la papa?

Distinguir y evaluar la relación de los cultivares de papa  
Observaciones fenotípicas no son confiables,  
dependientes del medio ambiente, del origen de la muestra, del punto de vista ...

Además de RFLP, RAPD y AFLP, hemos desarrollado SSR -simple sequence repeats o microsatélites:

- Altamente reproducibles, técnicamente sencillos, económicos, factible de automatización

# Identificación de microsatélites altamente informativos

156 loci SSR analizados de las bases de datos de secuencias de papa, librerías genómicas, y EST en colaboración con SCRI



Conservación a través de los grupos taxonómicos  
Genotipificación de 931 variedades nativas permitió la identificación de 18 marcadores SSR útiles para la identidad genética de la papa cultivada: kit de Identidad Genética de la Papa (IGP)

# Tipificación "High throughput"

Plataforma para genotipificación de alto rendimiento:

- Sistema Tissue Lyser + kit DNeasy 96 plant
  
- Sistema de Análisis de ADN *LI-COR 4300*



# Kit mejorado de Identidad Genética de la Papa

742 variedades nativas de papa fueron genotipificadas con 51 marcadores SSR

148 marcadores SSR en al menos una de los tres mapas de ligamiento genético de la papa (BCT, PD, PCC1)

Nuevo kit:

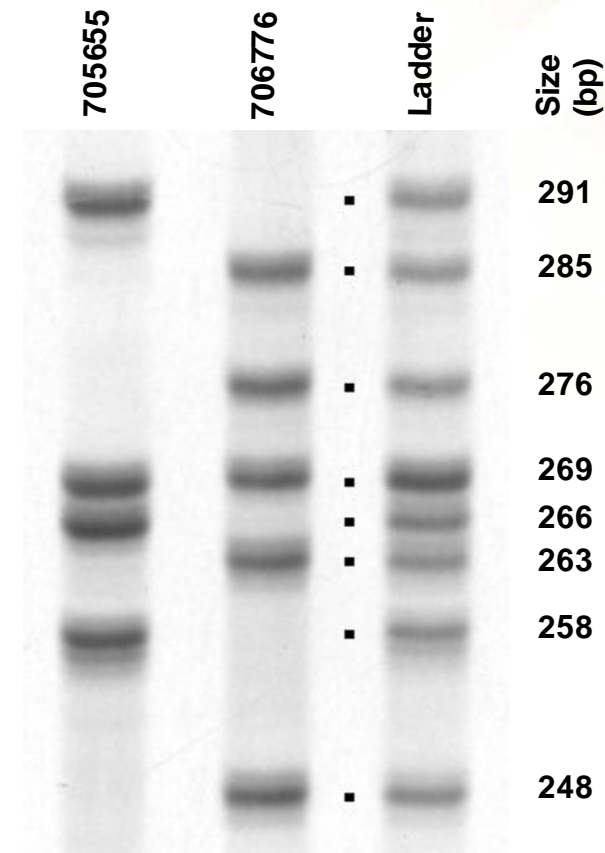
- 24 SSR
- Dos por cromosoma separados por al menos 10 cM,
- Locus único, alto contenido de información polimórfica,
- Amplicones de alta calidad (claridad y reproducibilidad)



# Referencia del tamaño de los fragmentos

Ejemplo para STM5127:

8 alelos bien definidos y espaciados usando una mezcla de sólo 2 genotipos (705655 y 706776)

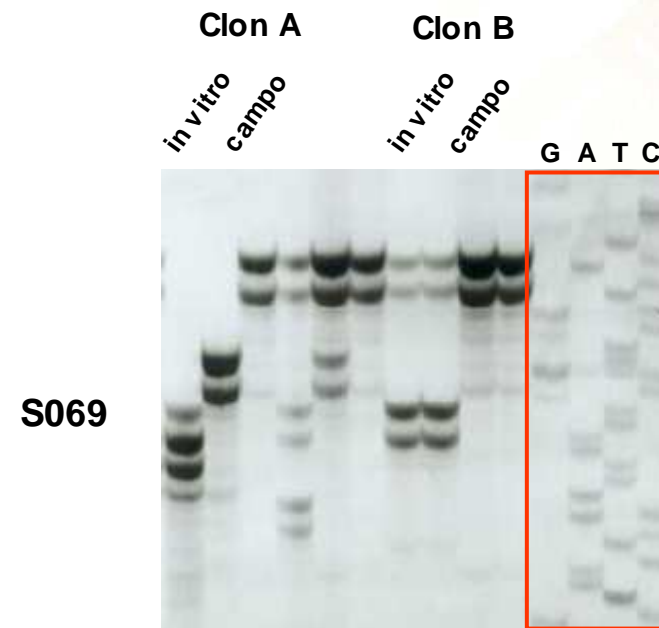




# Aplicaciones del kit IGP

Identificación inconsistencias de genotipo: entre *in vitro* - colección de campo, herbario - *in vitro*, antes y después de limpieza de patógeno, etc

Ahora, una herramienta para el manejo del Banco de germoplasma del CIP



# Herramienta útil para bancos de germoplasma

Comparación Inter Banco de Genes (homologación)- PROINPA, Bolivia (E. Alba)

Catálogo de las papas de Huancavelica



Curso sobre marcadores SSR (ver web de Fortalecimiento de las capacidades)

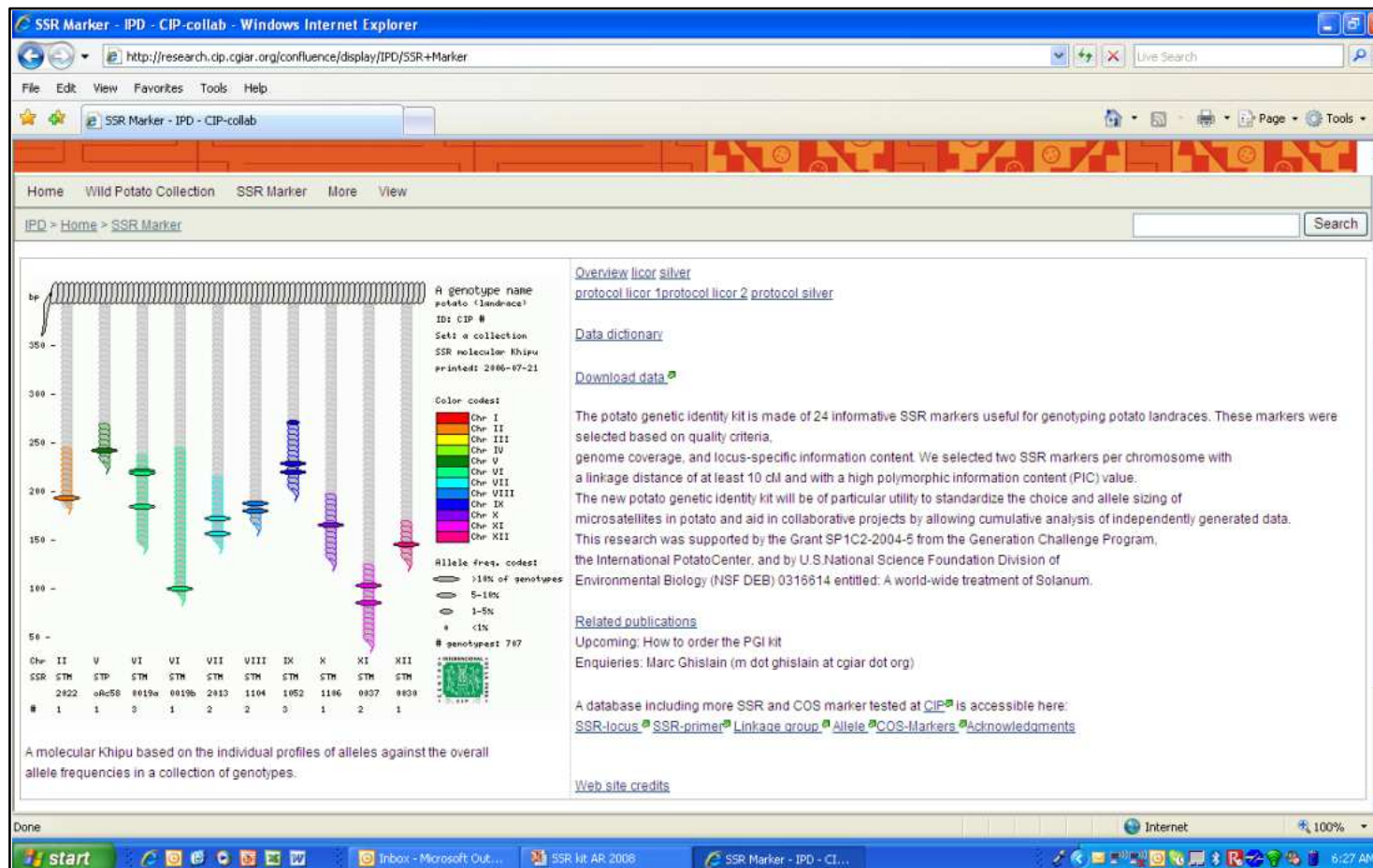
Kit IGP distribuido al INIAP (Ecuador), KARI (Kenya), y pendiente de entrega a PROINPA (Bolivia), para comparar con datos generados en el CIP.

# Una base de datos SSR de la papa cultivada (nativa y mejorada)



([www.generationcp.org](http://www.generationcp.org))

(<http://research.cip.cgiar.org/confluence/display/IPD/SSR+Marker>)

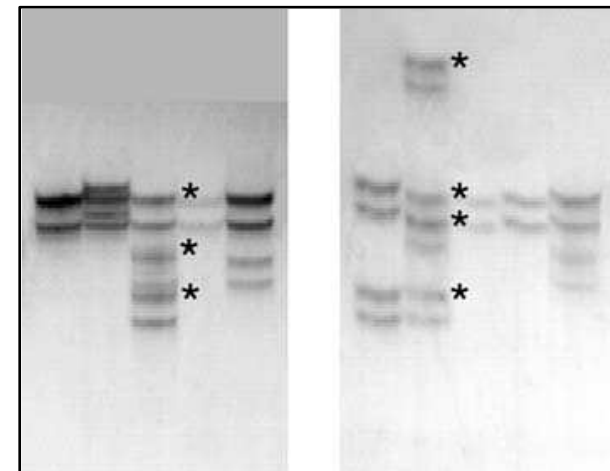


# Análisis del acervo genético

## -caso de *S. phureja*

128 variedades nativas genotipificadas con 22 marcadores SSR:

- 26 no variaron en los 22 marcadores SSR analizados
- 25 excedieron # de alelos SSR (3x o 4x)
- Contaje de cromosomas de 102 entradas confirmó estos resultados (+7 más)
- Por lo tanto, estos marcadores SSR son buenos indicadores de ploidía para papas diploides en el 92% de los casos.



# Análisis del acervo genético

## -caso de la papa nativa

742 variedades nativas de papa de todos los Grupos de Cultivares de *Solanum tuberosum*:

Grupo Andigenum, putativamente tetraploide [251 entradas], Grupo Ajanhuiri, diploide [22], Grupo Chaucha, triploide [151], Grupo Chilotanum, tetraploide [27], Grupo Curtilobum, pentaploide [21], Grupo Juzepczukii, triploide [35], Grupo Phureja, diploide [104], Grupo Stenotomum, diploide [131];

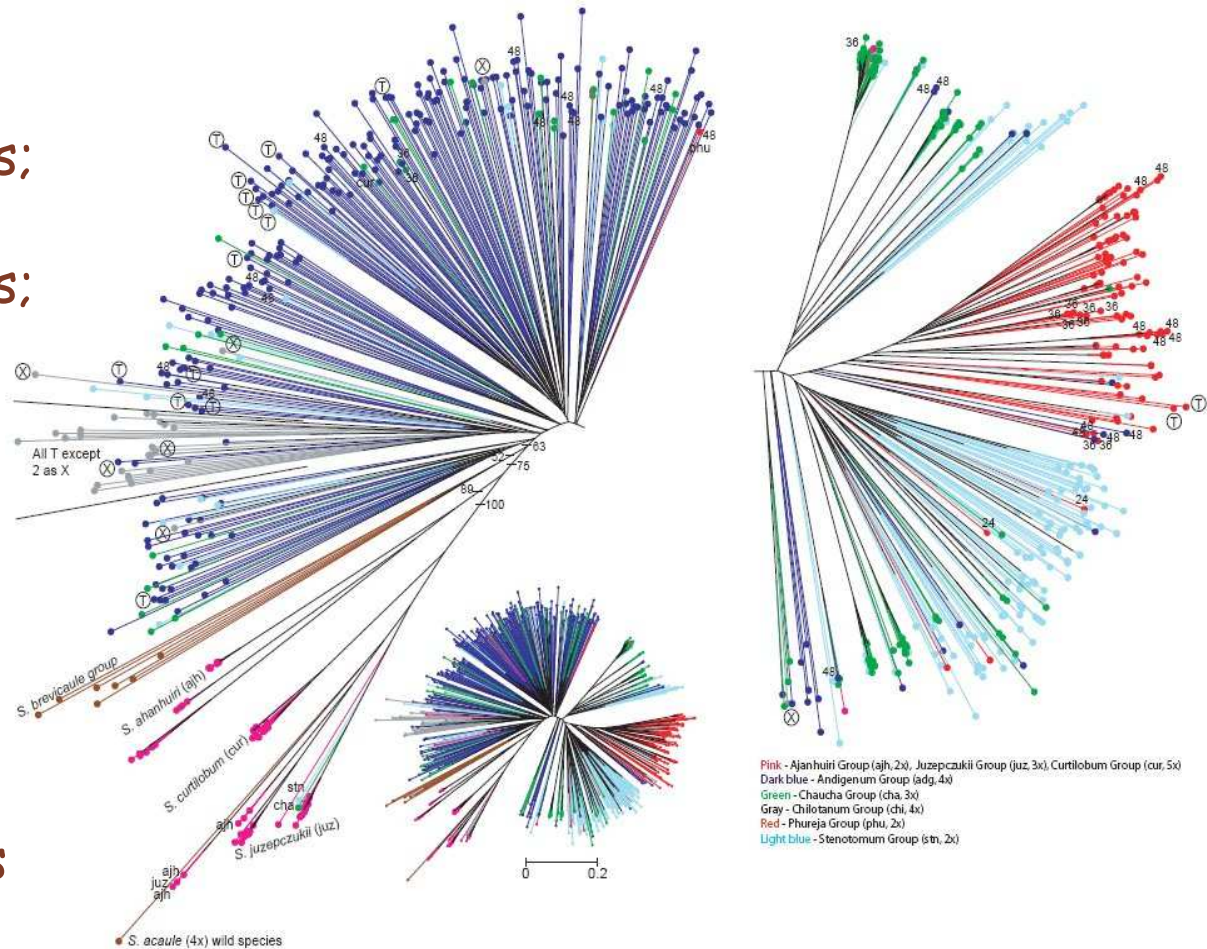
y 8 genotipos de especies silvestres diploides en el norte en el norte del grupo *S. brevicaulle* [750 entradas en total];

Genotipificadas con 50 marcadores microsatélites



# El análisis del agrupamiento genético revela 3 grandes grupos

- 1) diploides y triploides putativos;
- 2) tetraploides y triploides putativos;
- 3) los híbridos de los Grupos Ajanhuiri (diploide), Juzepczukii (triploide), y Curtilobum (pentaploide), se agruparon con las especies silvestres



# Nueva descripción taxonómica de las variedades nativas

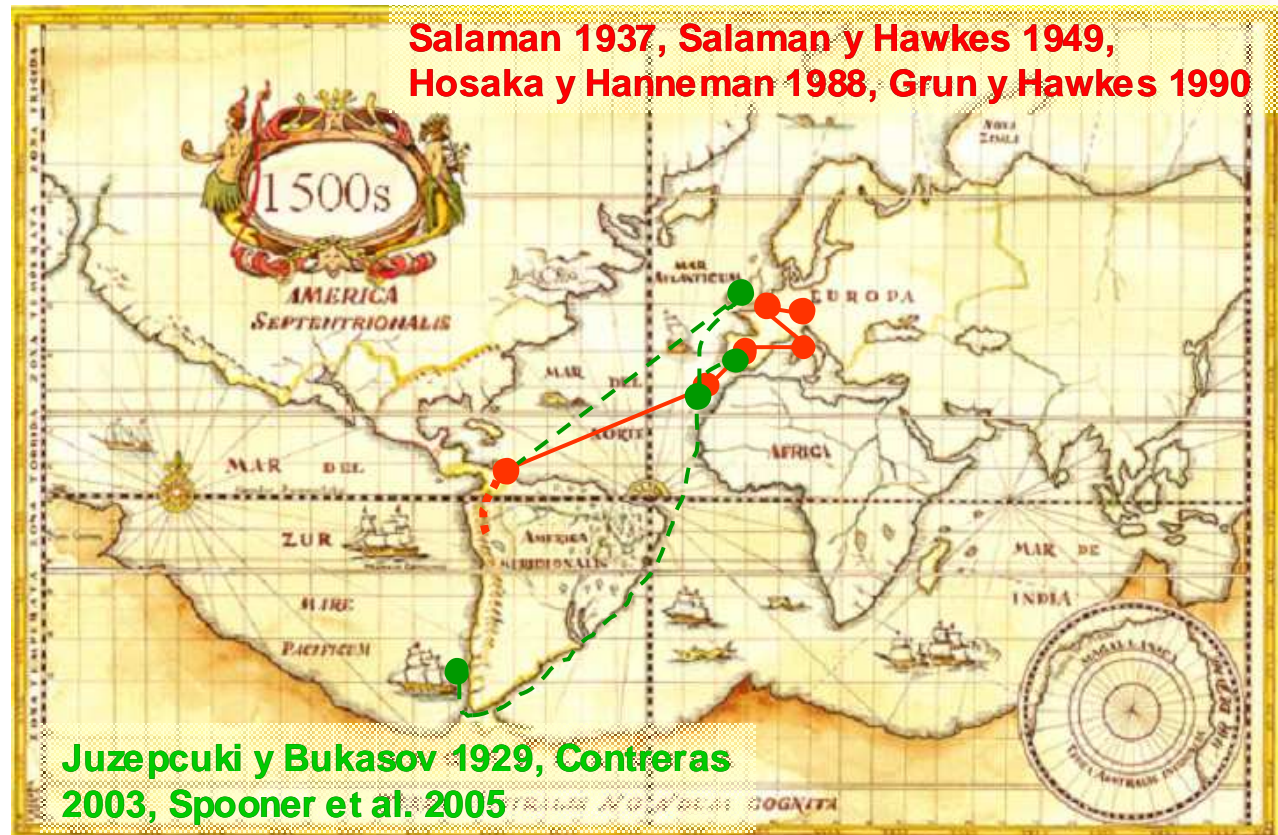
En combinación con estudios recientes de morfología, los datos SSR apoyan una reclasificación de las papas nativas en 4 especies:

- [1] ***S. tuberosum***, con dos Grupos de cultivares (Grupo Andigenum de materiales de los Andes al cual pertenecen diploides, triploides y tetraploides, y el Grupo Chilotanum de la isla Chiloe que son tetraploides);
- [2] ***S. ajanhuiri*** (diploides);
- [3] ***S. juzepczukii*** (triploides);
- [4] ***S. curtilobum*** (pentaploides).

# Distribución de las papas nativas

Esta generalmente aceptado que la papa fue introducida en Europa por España (Islas Canarias) en la segunda parte del siglo XVI a partir de *S. tuberosum* ssp. *andigenum*.

Sin embargo, varios trabajos moleculares sostienen una introducción a partir de *S. tuberosum* ssp. *tuberosum* originaria del sur de Chile (Chiloe).

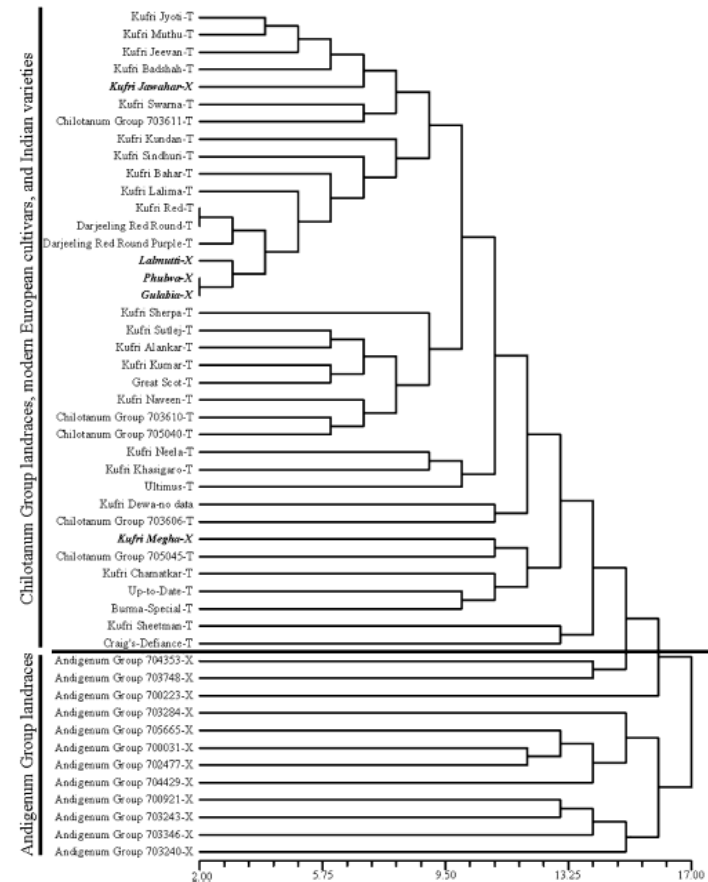




# Distribución de las papas nativas

32 cultivares de la India, algunos de los cuales se cree que algunos son remanentes de las antiguas introducciones de variedades Andígena, 12 variedades nativas del Grupo Andígena, y cinco variedades nativas del Grupo Chilotanum.

Resultados de SSR agrupan a todos los cultivares de la India, incluyendo las supuestas poblaciones remanentes de las variedades nativas del Grupo Andígena, con las variedades nativas del Grupo Chilotanum, y ninguna con las "Andígenas antiguas"



# Antiguas introducciones Europeas en las islas Canarias

19 variedades nativas de las Islas Canarias, 14 variedades nativas del Grupo Andigena, 11 variedades nativas del Grupo Chilotanum, y dos especies silvestres como out-groups

Los resultados del análisis genético confirmaron que las variedades nativas pertenecían a los Grupos Andigena, Chilotanum, y Chaucha

Curiosamente 2 variedades nativas del Grupo Chaucha (triploide) muestran el marcador cloroplastico del Grupo Chilotanum (ninguna de las 150 # Chaucha de los Andes lo poseen)

Por lo tanto, la papa fue introducida al viejo continente por introducciones múltiples desde los Andes y Chile (se demostró que fueron anterior a la gran hambruna de 1840)



# Análisis del acervo genético -caso de la papa cultivada

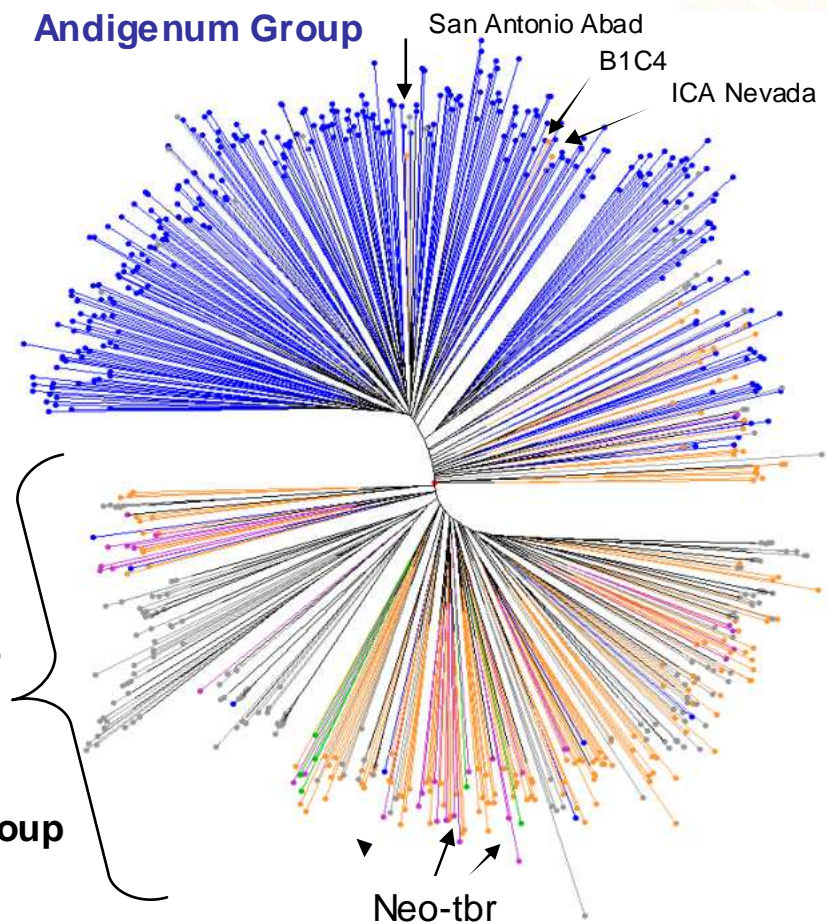
---

688 variedades mejoradas tetraploides fueron analizadas con los 24 SSR:

- 6 Neo-Tuberosum "puros" (Neo-Tbr)
- 33 variedades o líneas de mejoradores desarrolladas a partir de materiales Neo-Tbr;
- 154 variedades o líneas de mejoradores sin materiales Neo-Tbr
- 305 variedades nativas del Grupo Andigenum
- 190 variedades nativas del Grupo Chilotanum.

# Agrupamiento de las papas mejoradas con papas nativas del Grupo Chilotanum

Tanto los materiales Neo-Tbr puros, los derivados como las variedades mejoradas se agrupan con las variedades nativas del Grupo Chilotanum mientras que los materiales resultante de cruzamientos entre Andigenas se agrupan con las variedades nativas del Grupo Andigenum



# Posibles explicaciones del agrupamiento de Neo-Tbr con Chilotanum

---

- Flujo de genes: hibridación no-intencional con variedades mejoradas cultivadas en la proximidad y de huachas ("volunteers") en los experimentos de Simmonds en 1970s
- Error de clasificación: material del experimento de Simmonds proviene de los Andes (300 # de Bol - Perú) pudo haber sido mezclado con material derivado del Grupo Chilotanum



# Implicaciones de la invalidación de la teoría de Neo-Tbr

- La teoría de la adaptación de la papa de día corto a día largo que sustentaba la introducción de variedades nativas del Grupo Andigenum que fueron adaptado y, posteriormente a la gran hambruna del 1840, mejorada con variedades nativas del Grupo Chilotanum, esta refutada
- La base genética de las variedades mejorada (del CIP) sigue siendo estrecha y no ha beneficiado de la diversidad existente en el Grupo Andigena (a excepción de la población B1).

## Un nuevo conocimiento

---

- Las primeras introducciones en Europa fueron muy probablemente del Grupo Andigenum pero en algún momento, y antes del 1840, entraron variedades nativas del Grupo Chilotanum las cuales se adaptaron rápidamente y suplantaron a las Andigenas
- La teoría de la adaptación a los días largos de la papa Andigena queda invalidada por los marcadores SSR
- El mejoramiento genético utilizando Neo-Tbr y Andigena no ha logrado aumentar significativamente la diversidad genética de las variedades mejoradas

## And the artists are ...

Mercedes Ames, Jose Condori, Guillermo Trujillo, Carlos Merino,  
Jose Pignataro, Frank Guzmán,

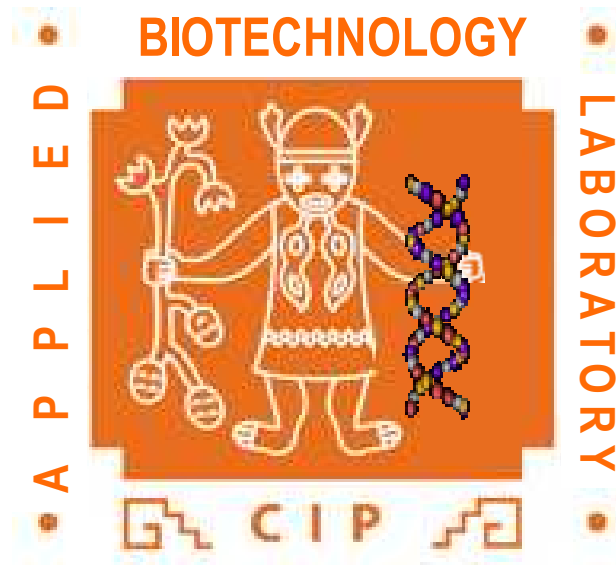
Flor Rodriguez, Jorge Núñez, María del Rosario Herrera, Susan  
Munive,

David M. Spooner, Robbie Waugh, Dan Milbourne, Glenn Bryan,  
Prakash Naik, Sergio Feingold, Jim Lorensen, Reinhard Simon,  
Stef de Haan, Merideth Bonierbale, and Marc Ghislain

... without forgetting our dedicated  
lab technician Luciano Fernandez







*Thank you !!*

