

Selección asistida por marcadores moleculares en el Programa de Mejoramiento Genético de Papa de PROINPA

Julio Gabriel; Silene Veramendi

Fundación PROINPA

E mail: j.gabriel@proinpa.org

Resumen. El año 2013, en el Laboratorio de Biología Molecular y Bioinformática de PROINPA, se genotipó dos poblaciones de papa, con el objetivo de realizar la selección asistida por marcadores moleculares (microsatélites, CAPS y SCAR) y co-localizar con los genes R o genes mayores de resistencia a tizón tardío (*Phytophthora infestans*), verruga (*Synchytrium endobioticum*), al nematodo - quiste (*Globodera pallida* y *G. rostochiensis*) y los virus PVY y PVX. Los resultados mostraron que todos los marcadores aplicados son polimórficos y se han co-localizado con los genes de interés en ambas poblaciones utilizadas en esta investigación. En ambas familias 99268 [tbr x (tbr x sto)] y 99212 [(tbr x tbr) x (phu + gon)], se logró identificar clones resistentes a los factores bióticos evaluados.

Palabras clave: Tizón; Verruga; Virus; Nematodos; Polimórficos; Genes Mayores

Abstract. Molecular markers-assisted selection (MAS) in potato breeding programme from PROINPA. In the year 2013 at the Molecular Biology and Bioinformatics Laboratory of PROINPA, two potato populations were genotyped in order to perform molecular marker-assisted selection (microsatellite, CAPS and SCAR) and co-localize with R genes or mayor genes resistant to late blight (*Phytophthora infestans*), to wart (*Synchytrium endobioticum*), to the nematode - cyst (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) and to viruses PVY and PVX. The results showed that all applied markers are polymorphic and have been co-localized with the genes of interest in both populations used in this research. In both families 99268 [tbr x (tbr x sto)] and 99212 [(tbr tbr x) x (phu + gon)], it was possible to identify clones resistant to biotic factors evaluated.

Keywords: Late blight; Wart; Virus; Nematodes; Polymorphic; Major genes

Introducción

El principal objetivo de un programa de mejoramiento genético es la obtención de nuevas variedades con altos rendimientos, características de calidad y resistencias a estreses bióticos y abióticos (Barone, 2004).

Una variedad moderna de papa requiere de la combinación de 50 o más caracte-

res importantes como es el caso de mayor rendimiento, que es el producto de la combinación de factores morfológicos, fisiológicos y ontogenéticos (Estrada, 2000), adaptación a técnicas de manejo en el campo, como son el aporque, control de malezas y distancia de siembra en la cosecha y en el almacenamiento (Van der Zaag y Burton, 1978), resistencia a los factores adversos, abióticos (heladas, sequía, suelos salinos, etc.) y bióticos (enfermedades, insectos, nema-

todos) y calidad, de acuerdo con los fines para los cuales se destina la papa (sólidos totales, compactación, azúcares reductores, tiempo de cocción, propiedades organolépticas, verdeamiento en almacén, contenido de glicoalcaloides, etc.).

Para disminuir el efecto causado por estos factores se requiere conocer cómo se hereda la resistencia de los caracteres. Cuando la herencia se debe a factores mendelianos simples, se pueden obtener progenies seleccionadas con los caracteres deseados. Esto permite una selección temprana en plántulas para reducir la población en estudio, particularmente en la selección de caracteres bióticos.

Sin embargo, muchos de estos caracteres están controlados por muchos genes (poligenes) y con frecuencia, pocas progenies igualan o superan a los progenitores. En consecuencia, se deben obtener grandes cantidades de plántulas (cientos de miles en muchos casos) para seleccionar una variedad mejorada.

Un programa de mejoramiento genético convencional, desarrolla la evaluación de estas progenies (poblaciones) siguiendo una estrategia piramidal, donde se empieza por una amplia base genética, la misma que se evalúa paso a paso iniciando por el factor más importante, luego los individuos sobrevivientes son evaluados a un segundo factor, y así sucesivamente hasta lograr pocos individuos que contengan en su genoma la mayor cantidad de atributos de resistencia (Estrada, 2000). Este proceso en el mejor de los casos requiere entre 6 a 8 años (Ross, 1986). Al final, sólo unos pocos genotipos serán superiores al promedio de los padres, pero eventual-

mente podrían tener ciertas desventajas en relación con los caracteres típicos de otras variedades (Ross, 1986). Además, estos genotipos deben ser evaluados en diversos ambientes (interacción G x A), para conocer su estabilidad fenotípica y su adaptación.

Por otra parte, se debe realizar evaluaciones participativas con actores de la cadena de valor de la papa (agricultores, procesadores, intermediarios y consumidores finales), quienes son los que definirán si un determinado genotipo será o no una variedad utilizada (Almekinders *et al.*, 2006; Vernooy, 2003; Welzien *et al.*, 2003; Ceccarelli *et al.*, 2009).

Por lo mencionado, se podría indicar que la selección asistida por marcadores moleculares (SAM) sería una herramienta valiosa, porque pone a disposición del mejoramiento genético, de técnicas modernas de la biología molecular que puede contribuir para eliminar el efecto ambiental y garantizar la selección genotípica en vez de la fenotípica y así los genotipos que selecciones en campo tendrían incorporados los genes de interés para los factores restrictivos más importantes (Barone, 2004). Además, estos marcadores moleculares pueden aplicarse en una sola prueba y en corto tiempo y no necesariamente paso a paso como lo hace el mejoramiento convencional, reduciendo así el tiempo y espacio en la selección (Barone, 2004). En Bolivia en un trabajo previo Veramendi *et al.* (2011) validaron siete marcadores moleculares en 20 variedades mejoradas de papa. Estos marcadores fueron asociados a genes/QTLs de resistencia para los virus PVY, PVX, los nematodos (*Globodera pallida* y *G. rostochiensis*), el tizón

(*Phytophthora infestans*) y la verruga (*Synchytrium endobioticum*). Pero también existen muchos ejemplos de SAM en papa en el mundo (Barone, 2004; Sliwka *et al.*, 2010; Tiwari *et al.*, 2013; Ottoman *et al.*, 2009; Colton *et al.*, 2006; Sagredo *et al.*, 2009; Ortega y López-Vizcon, 2012, Oberhagemann *et al.*, 1999).

La presente investigación tuvo como objetivo la aplicación de la selección asistida por marcadores moleculares (SAM) para resistencia a enfermedades en un programa práctico de mejoramiento genético.

Materiales y métodos

Material biológico

En invernadero fueron sembrados en la campaña 2012, dos familias de papa (Cuadro 1) obtenidas en el programa de mejoramiento genético de papa de la Fundación PROINPA en Cochabamba, Bolivia. Antes de la siembra se sumergió la semilla sexual en una solución de ácido giberélico a 1500 ppm, (disolviendo 0.75 g por medio litro de agua destilada esterilizada) por 24 horas, para romper la dormancia y uniformizar la germinación.

Luego de secar la semilla bajo condiciones de ambiente, fueron sembrados 100 semillas/familia, en bandejas de almácigo utilizando un sustrato esterilizado de musgo, arena y tierra en una proporción 2:1:1. Se sembró 100 semillas/familia y se regaron los almácigos tres veces al día. Al mes de la siembra, las plantas fueron trasplantadas a macetas de 500 g de capacidad en sustrato esterilizado para su crecimiento.

Condiciones del experimento

El experimento se implementó en un invernadero y en el laboratorio de Biología Molecular y Bioinformática de la Fundación PROINPA, ubicada a 13 km en la zona de El Paso de la provincia Quillacollo en Cochabamba, a 17° 21' 01.91'' de latitud sud y 66° 15' 44.34'' de longitud Oeste, a una altura de 2613 msnm, una precipitación media anual de 512 mm y una temperatura promedio de 17.4°C.

Genes R de resistencia conocidos

En el Cuadro 2 se describe los genes R de resistencia a tizón (*P. infestans*), nemátodo-quiste (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*), PVY, PVX, verruga (*Synchytrium endobioticum*) e intervalo de marcadores flanqueantes (MF) para cada gen/QTL, recopilados en los 12 cromosomas de la papa.

Extracción de ADN

En invernadero se colectaron folíolos tiernos y sanos de cada planta en ambas poblaciones, debidamente identificadas y refrigeradas a -20°C, que fueron molidas en nitrógeno líquido (-195°C), del que se utilizó 100 mg para el proceso de extracción de ADN genómico, mediante el protocolo de CTAB 2X (hexadecil bromuro de trimetil amonio) (Doyle y Doyle, 1990).

Cuantificación de ácidos nucleicos

La cuantificación de ADN genómico, se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%. Las muestras se migraron durante 45 min en cubetas de electroforesis a una potencia de 70 V (5v/cm) y visualizado a través de un transluminador UV marca Biorad.

La calidad y concentración del ADN genómico extraído, se verificó por comparación de intensidad de las bandas de las muestras con cada una de las bandas del marcador de peso molecular de concentración conocida (10000 bp Eurogentec).

Análisis de marcadores

Se utilizó diferentes marcadores que han sido compendiados en una lista de marcadores potenciales que están ligados y co-localizados con genes mayores para *P. infestans*, *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *S. endobioticum*, PVX y PVY en un mapa referencial de papa (Ritter *et al.*, 2005; 2008; 2009). El Cuadro 3 muestra los marcadores utilizados en la presente investigación.

Condiciones de la PCR

Fue usado unos 15 μ l de mezcla con 15 ng de ADN Molde, 1X de Tampón PCR 10X, 0.2 mM dNTP, 1 pmol/ μ L de cada iniciador y 0,025 U/ μ l de la enzima Tag Polimeraza.

El programa de amplificación fue realizado en un termociclador (modelo PTC-100, MJ Research, Ramsey, Minnesota, USA), que consistió en un tiempo de desnaturalización inicial de 5 minutos del ADN a 94°C, 35 ciclos a 94°C por 1 minuto, temperatura de anillamiento X°C por 45 segundos, y 72°C por 2 minutos, y una extensión final de 7 minutos, según el marcador.

Luego, los productos de amplificación fueron visualizados y cuantificados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.8%, y se aplicó una corriente de 5 V/cm.

Para los marcadores CAPS se realizó análisis PCR y posteriormente se procedió a la digestión del producto de amplificación, utilizando 20 μ l de mezcla conteniendo 5 ng/ μ l de ADN Molde, Buffer ER 10X, BSA 10 μ g/ μ l y 10 μ g/ μ L de la enzima Ddel. Los productos digeridos se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 2% preparado con 2 g de agarosa, 100 ml de TBE 1X. La muestra se preparó con 10 μ l del producto digerido y 2 μ l de tampón de carga. Los geles se visualizaron en un transluminador marca Biorad.

Análisis de alelos

Las huellas genéticas generadas por hibridación o por PCR, son heredadas a la descendencia de acuerdo las leyes mendelianas (Valdez-Moctezuma y Kahl, 2005). Es decir, los marcadores segregantes de cada progenie fueron tratados como un sistema de marcador dominante con un patrón de segregación 1:1 o 3:1 según el modelo de segregación mendeliana (ab x aa), (aa x ab) o (ab x ab), donde el alelo “a” representa la ausencia de la banda (0), y el alelo “b” representa la presencia de fragmentos amplificados (1).

Los geles fueron analizados de forma visual, utilizando una matriz de presencia-ausencia del fragmento amplificado para el *QTA-genotyping* (Gabriel, 2008). La presencia o ausencia de cada marcador segregante de las progenes, se almacenó en archivos con formato EXCEL para su posterior análisis estadístico mediante la prueba de χ^2 .

Cuadro 1. Familias, genealogía y origen del material de papa utilizado para SAM. El Paso, 2012.

Familia	Genealogía		Nro. genotipos
	Madre	Padre	
99268	tbr x (tbr x sto)	tbr	79
99212	tbr x tbr	phu + gon	65

Leyendas: tbr: *Solanum tuberosum*; sto: *S. stoloniferum*; adg: *S. andigena*; phu: *S. phureja*; gon: *S. goniocalyx*.

Cuadro 2. Genes mayores de resistencia a tizón, nematodo-quiste, PVY, PVX y verruga recopilados en los 12 cromosomas

Nº	Cromosoma	Gen R	MF	Factor	Referencia
1	XI	Ryadg	RYSC3	PVY	Gebhardt <i>et al.</i> (2006)
2	V	RGp5- vrnHC	HC	<i>G. pallida</i>	Sattarzadeh <i>et al.</i> (2006)
3	VII	Gro 1-4	Gro1-4	<i>G. rostochiensis</i>	Gebhardt <i>et al.</i> (2006)
4	IX	Rpi-phu 1	GP94	Tizón	Sliwka <i>et al.</i> (2010)
5	XI	Sen1	NL25	Verruga	Bormann (2004)
6	XII	Rx1	CP60	PVX	Bendahmane <i>et al.</i> (1997)

Leyendas: MF=Intervalos de marcadores flanqueantes para cada QTL/gen.

Cuadro 3. Secuencia de los cebadores utilizados para amplificar los correspondientes marcadores para el cribado de QTL/genos conocidos en dos poblaciones de papa

Marcador	Cebador	T° A (°C)	Tamaño (bp)	Protocolo
HC	D: ACACCACCTGTTTGATAAAAACT R: GCCTTACTTCCCCTGCTGAAG	58	276	PCR
Gro1-4	D: TCTTTGGAGATACTGATTCTCA R: CGACCTAAAATGAAAAGCATCT	60	602	PCR
GP 94	D: ATGTATCACAATCACATTCTTGCTC R: TGTAACAACAAGTAGTGTGTC	56	350	PCR
NL-25	D: TAT TGT TAA TCG TTA CTC CCT C R: AGA GTC GTT TTA CCG ACT CC	58	1000	CAPS
RYSC3	D: ATA CAC TCA TCT AAA TTT GAT GG R: AGG ATA TAC GGC ATC ATT TTT CCG A	58	320	SCAR
CP60	D: CAGCCTACCGCGAAAGTGCTTCG R: GCCAACCCACGAGTTTCTCACTGAC	56	350	CAPS

Leyendas: D: cebador directo; R: cebador reverso; T°A: temperatura de anillamiento; bp: pares de bases, PCR: *Polimeraza Chain Reaction* (Reacción en Cadena de la Polimerasa); SCAR: *Sequence Characterized Amplified Region* (Secuencia Caracterizada de la Región Amplificada); CAPS: *Cleaved Amplified Polymorphic Sequency* (Secuencia polimórfica amplificada y cortada).

Resultados y discusión

El marcador HC se co-localizó con el gen RGp5-vmHV de resistencia a *G. pallida* en el cromosoma V a una distancia de 276 bp (Figura 1). De 79 genotipos evaluados en la familia 99268, 66 mostraron la presencia de bandas y en 13 hubo ausencia. En el caso de la familia 99212, de 65 genotipos evaluados, 40 mostraron presencia de bandas y 25 ausencias. El análisis de χ^2 mostró que las bandas observadas se ajustaron a la proporción esperada de 3:1 (Cuadro 4).

El marcador Gro1-4 se co-localizó con el gen Gro1-4 de resistencia a *G. rostochiensis* en el cromosoma VII a una distancia de 602 bp. De los 79 genotipos evaluados en la familia 99268, 16 mostraron presencia de bandas y 63 ausencias. En la familia 99212, de 65 genotipos evaluados, 15 mostraron bandas y 50 ausencias. Ninguna de las familias evaluadas se ajustaron a la proporción esperada 3:1 en la prueba de χ^2 (Cuadro 4).

El marcador CP60 se co-localizó con el gen Rx1 de resistencia al virus PVX, en el cromosoma XII a una distancia de 1000 bp (Figura 2). De los 79 genotipos evaluados en la familia 99268, 35 genotipos mostraron la presencia de bandas y 44 ausencias. En la familia 99212 de 65 genotipos evaluados, 45 mostraron presencia de bandas y 20 ausencias (Cuadro 4).

El marcador RYSC3 se co-localizó con el gen Ryadg de resistencia al virus PVY a una distancia de 320 bp. De los 79 genotipos evaluados en la familia 99268, 69 mostraron la presencia de bandas y 10 ausencias. En la familia

99212 de 65 genotipos evaluados, 52 mostraron la presencia de bandas y 13 ausencias (Cuadro 4). Para ambos virus solo la familia 99269 mostró un ajuste a la proporción esperada 3:1 en la prueba de χ^2 (Cuadro 4).

El marcador NL25 se co-localizó con el gen Sen1 de resistencia a *S. endobioticum*, ubicado en el cromosoma XI a una distancia de 1000 bp (Figura 3). De los 79 genotipos evaluados en la familia 99268, 74 mostraron presencia de bandas y cinco ausencias. En la familia 99212 de 65 genotipos evaluados 61 mostraron la presencia de bandas y cuatro ausencias. La prueba de χ^2 no detectó ajuste a la proporción esperada 3:1 (Cuadro 4).

Finalmente, se observó que el marcador GP94 se co-localizó con el gen Rpi-phu1 de resistencia a *P. infestans* en el cromosoma IX a una distancia de 350 bp. De los 79 genotipos evaluados en la familia 99268, 75 mostraron presencia de bandas y en cuatro ausencias de banda. En la familia 99212, todos los genotipos mostraron la presencia de bandas pero no hubo un ajuste a la proporción esperada (Cuadro 4).

Mosquera *et al.* (2008) realizaron una amplia revisión de la resistencia en papa a patógenos, en cuanto a genes mapeados y clonados, y *loci* de rasgos cuantitativos (QTL) mapeados, en la que resaltan las relaciones entre resistencia cuantitativa y cualitativa en el caso *P. infestans*. El conocimiento logrado permitió generar un mapa funcional sobre el cual se localizan QTLs para resistencia a patógenos. Se han mapeado 20 genes *R* o genes mayores de resistencia a virus, hongos, nematodos y oomicetos, utilizando marcadores moleculares.

Cuadro 4. Determinación del patrón de segregación esperada de los marcadores aplicados en dos familias de papa.

Patógeno	Familia	Marcador	Frecuencia		Segregación	Crom	Prob χ^2	Bandas	
			Presencia (1)	Ausencia (0)				Presencia	Ausencia
G. p.	99269	HC	66	13	3:1	V	0,51 ns	ab, bb=1	aa=0
	99212	HC	40	25	3:1	V	0,62 ns	ab, bb=1	aa=0
G. r.	99269	Gro 1-4	16	63	?	VII	126,28 **	?	?
	99212	Gro 1-4	15	50	?	VII	93,46 **	?	?
PVX	99269	CP60	35	44	?	XII	39,70 **	?	?
	99212	CP60	45	20	3:1	XII	1,15 ns	ab, bb=1	aa=0
PVY	99269	RYSC3	69	10	?	XI	6,42 *	ab, bb=1	aa=0
	99212	RYSC3	52	13	3:1	XI	2,95 ns	ab, bb=1	aa=0
P. i.	99269	GP94	75	4	?	IX	4,33 *	?	?
	99212	GP94	65	0	?	IX	21,67 **	?	?
S. e.	99269	NL25	74	5	?	XI	14,69 **	ab, bb=1	aa=0
	99212	NL25	61	4	?	XI	12,31 **	?	?

Leyendas. ?=Desconocido; Crom=Cromosoma; G.p.=*G. pallida*; G.r.=*G. rostochiensis*; P.i.=*P. infestans*; S.e.=*S. endobioticum*.

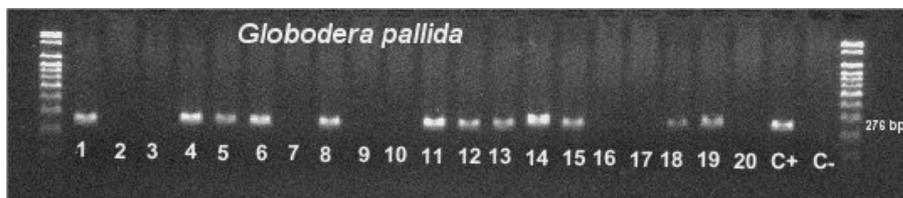


Figura 1. Alelos de resistencia a *Globodera pallida* en la familia 99268 de papa, co-localizado entre el gen RGP5-vmHV y el marcador molecular HC en el cromosoma V a 276 bp.

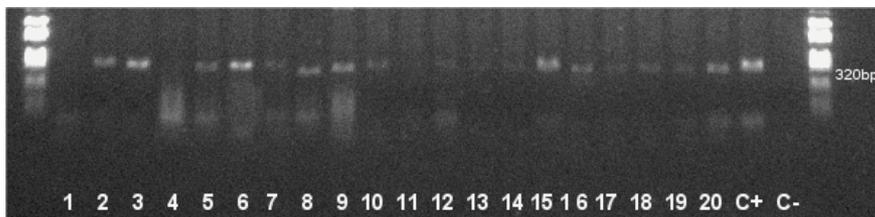


Figura 2. Alelos de resistencia al virus PVY en la familia 99212 de papa, co-localizado entre el marcador RySC3 con el gen Ryadg en el cromosomas XI a 320 bp.

Leyendas: bandas del 1 al 20: genotipos de hermanos completos; C+: Control positivo, C-: Control negativo.

La mayoría de estos genes *R* fueron introducidos de especies silvestres. Catorce de ellos se encuentran en *hot spots* (puntos concentrados) para resistencia y confieren resistencia a varios patógenos.

A la fecha se han identificado cinco *clúster* (grupos) de resistencia. La resistencia monogénica envuelve dos procesos básicos: percepción del ataque del patógeno, seguida de una respuesta para limitar la enfermedad. La percepción implica receptores específicos para cepas patogénicas, que son decodificadas por genes de resistencia. En una planta se encuentra un gran repertorio de genes de resistencia *R*, ubicados en diferentes sitios del genoma (Mosquera *et al.*, 2008).

Estos genes expresan diferentes proteínas que pueden ser agrupadas en varias familias. La mayoría de proteínas *R* contienen repeticiones en grupos, ricas en leucina (LRR). Se plantea la colocación de genes *R* y QTLs en diferentes cromosomas. Una hipótesis señala que los QTLs son variantes alelicas con efecto menos extremo que los genes *R* y una segunda hipótesis plantea que los QTLs de resistencia mapean en regiones del genoma que contienen genes de función conocida involucrados en la respuesta general al ataque de patógenos.

En el presente estudio, se utilizó marcadores moleculares co-localizados con genes *R* de resistencia a los virus PVY, PVX, al nematodo-quiste (*G. pallida*, *G. rostochiensis*), al tizón (*P. infestans*) y la verruga (*S. endobioticum*) que se encuentran en los cromosomas XI, XII, V, VII, VIII, IX y XI (Brigneti *et al.*, 1997, Hämäläinen *et al.*, 1997, Ritter *et al.*, 1991, Barone *et al.*, 1990, Gebhardt *et al.*, 1993).

Los resultados mostraron que los marcadores moleculares utilizados para asociar los genes de resistencia a múltiples factores, podría ser un método eficiente para asociar con los rasgos de resistencia en las dos familias evaluadas, porque permitió eliminar el efecto ambiental. La utilización de los marcadores ligados a los cinco *loci* *R* de resistencia: HC, Gro 1-4, NL25, RYSC3 y CP60 lograron asociarse con los genes de resistencia RGp5-*vrn*HC, Gro 1-4, Sen1, Ryadg y Rx1 respectivamente.

La resistencia al virus PVY, es simple y está gobernada por genes *R* mayores, que le confiere un tipo de resistencia monogénica (Mendoza *et al.*, 1996; Mihovilovich *et al.*, 1998; Fernández - Northcote, 1991). En el presente trabajo se observó que de los 144 genotipos evaluados de ambas familias, 121 mostraron la presencia del alelo de resistencia a PVY, probablemente proveniente de las especies de *S. andigena* (Fernández-Northcote, 1981).

En referencia a la herencia a PVX, se menciona que es monogénica y se han reportado genes dominantes de hipersensibilidad *Nx_{tbr}* y *Nb_{tbr}* que han sido introducidos en diversos cultivares europeos y estadounidenses, especialmente el *Nx_{tbr}* (Ross, 1986). El gen *Nb_{tbr}* ha sido detectado en diversas especies como *S. andigena*, *S. acaule*, *S. vernei*, *S. tuberosum*, *S. sparsipilum*, *S. chacoense*, *S. microdontum*, *S. etuberosum* y *S. pinatisectum* (Rizvi, 1983; Fernández-Northcote, 1991).

En el caso de la verruga (*S. endobioticum*), el gen de resistencia es monogénico y probablemente proveniente de *S. andigena*. Este carácter está gobernado por un gene dominante y fue detectado en el cromosoma XI en una posición

similar al gen Ry_{adg} (Helh *et al.*, 1999) y el gen *Sen1* está ligado a genes homólogos N.

En el caso del nematodo del quiste, el análisis de la resistencia se complica porque estos son caracteres poligénicos gobernados por genes menores de herencia cuantitativa (Ross, 1996). En el presente estudio se observó que 106 genotipos de las 144 evaluadas de ambas familias, mostraron el alelo de resistencia para *G. pallida* y 9 de los 144 genotipos mostraron el alelo de resistencia a *G. rostochiensis*. Lo que indica la complejidad de la resistencia de *G. rostochiensis* respecto de *G. pallida*.

Esta resistencia aparentemente está vinculada a la especie *S. palustre* (antes *S. vernei*) y *S. andigena*, que fueron reportadas como resistentes por Ross (1996) y que fueron utilizadas en las cruzas para obtener las familias evaluadas.

La herencia de la resistencia a tizón (*P. infestans*) es compleja y gobernada por muchos genes (poligénica) tal como indican Wastie (1991) y Ross (1996). Sin embargo, en estudios realizados por Colon *et al.* (1995), observaron resistencia parcial conferida por genes R provenientes de especies silvestres como *Solanum arnezii*, *S. holdelmanni*, *S. leptophyes*, *S. berthaultii* y *S. microdonatum*.

Gabriel *et al.* (2011), encontraron resistencia parcial al tizón conferida por genes menores en cruzas realizadas entre especies silvestres como *S. okeadae*, *S. canacense*, *S. bukasovii*, *S. jameisii* and *S. raphanifolium* con especies cultivadas de *S. phureja* y *S. gonio-calyx*. En el presente estudio, 140 de 144 genotipos mostraron tener la banda

del alelo de resistencia a esta enfermedad, que al parecer corresponde a un gen R de resistencia, aunque esto no fue evidenciado por la prueba de χ^2 .

Conclusiones

- Los marcadores moleculares, utilizados en las dos poblaciones de papa, mostraron polimorfismo. Esto indica que pueden ser útiles para realizar la SAM en diferentes entornos genéticos.
- Los marcadores moleculares microsatélites, CAPS y SCAR, colocalizaron los genes R de resistencia a tizón, verruga, nemátodos y virus, aunque estadísticamente no se ajustaron a la proporción esperada, indicando esto que al parecer existen otros genes R de resistencia.
- Se encontró que las especies *S. palustre* (silvestre) y *S. andigena* (cultivada), son fuentes valiosas de resistencia para nematodos.

Referencias citadas

- Almekinders, C., Herdon, J. (eds.). 2006. Bringing back into breeding. Experiences with participatory plant breeding and challenge for institutionalisation. Agromisa Special 5, Agromisa, Wageningen. pp 125.
- Barone, A., Ritter, E., Schachtschabel, U., Debener, T., Salamini, F., Gebhardt, C. 1990. Localization by restriction fragment length polymorphism mapping in potato of a major dominant gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. Mol Gen Genet 224: 177-182.
- Barone, A. 2004. Molecular markers-assisted selection for potato breeding. Am J of Potato Res. 81: 111-117.

- Bendahmane, A., Kanyuka, K., Baulcombe, D. 1997. High-resolution genetical and physical mapping of the Rx gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. *Theor Appl Genet* 95: 153-162.
- Bormann, C., Rickert, A., Castillo, R., Paal, J., Lübeck, J., Strahwald, J., Buhr, K., Gebhardt, C. 2004. Tagging quantitative trait loci for maturity-corrected late blight resistance in tetraploid potato with PCR-based candidate gene markers. *Mol. Plant Microbe Interactions* 17(10), 1126-1138.
- Brigneti, G., García-Mas, J., Baulcombe, D. 1997. Molecular mapping of the potato virus Y resistance locus Rysto in potato. *Theor Appl Genet* 94: 198-203.
- Ceccarelli, S., Guimarães, E., Weltzien, E. (eds.). 2009. Plant breeding and farmer participation. FAO, Rome, Italy. 671 p.
- Colon, L., Jansen, R., Budding, D. 1995. Partial resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in hybrids progenies of four South American *Solanum* species crosses with diploid *S. tuberosum*. *Theor Appl Genet* 90: 691-698.
- Colton, L., Groza, H., Wielgus, S., Jiang, J. 2006. Marker-Assisted Selection for the Broad-Spectrum Potato Late Blight Resistance Conferred by Gene RB Derived from a Wild Potato Species. *Crop Science* 46:589-594.
- Doyle, J., Doyle, J. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13-15.
- Estrada, N. 2000. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Bill Hardy, Emma Martínez (Ed.) La Paz, Bolivia. 372 p.
- Fernandez-Northcote, E. 1991. Mejoramiento por resistencia a los principales virus de la papa. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 4:1-21.
- Fernández-Northcote, E., Brown, C. 1981. Resistance in diploid *Solanum phureja*, *S. stenotomum*, and *S. berthaultii* intercrosses to potato virus Y. (Abstr.) *Phytopathology* 81:873.
- Gabriel, J. 2008. Aplicación de marcadores moleculares para el cribado de QTLs en diferentes fuentes de resistencia a tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en papa. Tesis Doctoral, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España. 109 p.
- Gabriel, J. 2010. Documento marco: Estrategias y perspectivas del mejoramiento genético de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Bolivia. Fundación PROINPA, Cochabamba, Bolivia. 60 p.
- Gabriel, J., Ruiz de Galarreta, J., Lopez-Pardo, R., Barandalla, L., Alvarado, C., Ritter, E. 2011. Short communication. Introgression of late blight (*Phytophthora infestans* L.) resistance from tuber-bearing *Solanum* wild species into cultivated potato. *Spanish J Agric Res* 9 (1): 193-197.
- Gebhardt, C., Mugniery, D., Ritter, E., Salamini, F., Bonnel, E. 1993. Identification of RFLP markers closely linked to the H1 gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Theor Appl Genet* 85: 541-544.
- Gebhardt, C., Bellin, D., Henselewski, H., Lehmann, W., Schwarzfischer, J., Valkonen, J. 2006. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. *Theor Appl Genet* 112: 1458–1464.
- Hämäläinen, J., Watanabe, K., Valkonen, J., Arihara, A., Plaisted, R., Pehu, E., Miller, L., Slack, S. 1997. Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to potato virus Y. *Theor Appl Genet* 94: 192-197.
- Hehl, R., Faurie, E., Hesselbach, J., Salamini, F., Whitham, S., Baker, B., Gebhardt, C. 1999. TMV resistance gene N homologues are linked to *Synchytrium endobioticum* resistance in potato. *Theor Appl Genet* 98:379–386.
- Mendoza, H., Mihovilovich, E., Saguma, F. 1996. Identification of triplex (YYYY) Potato virus Y (PVY) immune progeni-

- tors derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. Am. Potato J. 73: 13-19.
- Mihovilovich, E., Salazar, L., Saguma, F., Bonierbale, M. 1998. Survey of the durability of extreme resistance to PVY derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. pp. 123-128. In: CIP program report 1997-1998. Lima, Perú.
- Mosquera, T., Fernández, C., Martínez, L., Acuña, A., Cuéllar, D. 2008. Genética de la resistencia de la papa (*Solanum tuberosum*) a patógenos. Estado de arte. Agronomía Colombiana 26(1), 7-15.
- Oberhagemann, P., Chalot-Balandras, C., Bonnel, E., Schäfer-Pregl, R., Wegener, D., Palomino, C., Salamini, F., Gebhardt, C. 1999. A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: Towards marker assisted selection. Mol Breeding 5: 399-415.
- Ortega, F., Lopez-Vizcon, C. 2012. Application of molecular marker-assisted selection (MAS) for disease resistance in a practical potato breeding programme. Potato Res. 2012;55:1-13.
- Ottoman, R., Hane, D., Brown, C., Yilma, S., James, S., Mosley, A., Crosslin, J., Vales, M. 2009. Validation and Implementation of Marker-Assisted Selection (MAS) for PVY Resistance (Ryadg gene) in a Tetraploid Potato Breeding Program. Am. J. Potato Res (2009) 86:304-314.
- Ritter, E., Debener, T., Barone, A., Salamini, F., Gebhardt, C. 1991. RFLP mapping on potato chromosomes of two genes controlling extreme resistance to potato virus X (PVX). Mol Gen Genet 227: 81-85.
- Ritter, E., Lucca, F., Sánchez, I., Ruiz de Galarreta, J., Aragonés, A., Castañón, S., Bryan, G., Waugh, R., Lefebvre, V., Rousselle-Bourgoise, F., Gebhardt, C., van Eck, H., van Os, H., Taco, J., Bakker, J. 2005. Genomic resources in potato and possibilities for exploitation. pp. 55-64. In: Potato in progress (Eds.: Haverkort A. & P. Struik), Wageningen Academic Publishers, Holanda.
- Ritter, E., Ruiz de Galarreta, J., Hernandez, M., Plata, G., Barandalla, L., Lopez, R., Sanchez, I., Gabriel, J. 2009. Utilization of SSR and cDNA markers for screening known QTLs for late blight (*Phytophthora infestans*) resistance in potato. Euphytica 170: 77- 86.
- Ritter, E., Ruiz de Galarreta, J., van Eck, H., Sánchez, I. 2008. Construction of a potato transcriptome map based on the cDNA-AFLP technique. Theor Appl Genet 7 (16): 1003-1013.
- Rizvi, S. 1983. Extreme resistance to potato leafroll virus (PLRV) in seedlings of *Solanum tuberosum* x 5. pinatisectum (EP) with 4X chromosomes. In: Research for the potato in the year 2000. W.J. Hooker (ed). International Potato Center, 1982. Lima, Perú, 162 p.
- Ross, H. 1986. Potato breeding-problems and perspectives. pp. 1-132. In: Horn, W y Röbbelen, G. (eds.). Advances in Plant Breeding 13. Berlín y Hamburgo.
- Sagredo, B., Mathias, M., Barrientos, C., Acuña, I., Kalazich, J., Santos Rojas, J. 2009. Evaluation of a SCAR RYSC3 marker of the Ryadg gene to select resistant genotypes to potato virus Y (PVY) in the INIA potato breeding program. Chilean J Agric RES 69 (3): 305-315.
- Sattarzadeh, A., Achenbach, U., Lübeck, J., Strahwald, J., Tacke, J., Hofferbert, H., Rothsteyn, T., Gebhardt, C. 2006. Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping as basis for developing a PCR-based marker highly diagnostic for potato varieties with high resistance to *Globodera pallida* pathotype Pa 2/3. Mol Breed 18:301-312.
- Sliwka, J., Jakuczun, H., Kamiński, P., Zimnoch, E. 2010. Marker-assisted selection of diploid and tetraploid potatoes carrying Rpi-phu1, a major gene for resistance to *Phytophthora infestans*. J Appl Genet 51(2): 133-140.

gene for resistance to *Phytophthora infestans*. J Appl Genet 51(2): 133–140.

Tiwar, J., Siddappa, S., Singh, B., Kaushik, S., Chakrabart, S., Bhardwaj, V., Chandel, P. 2013. Molecular markers for late blight resistance breeding of potato: an update. Plant Breeding 132: 237–245.

Valdez-Moctezuma, E., Kahl, G. 2005. Hue-llas de ADN en genomas de plantas. Mundi-Prensa, México. Universidad Autónoma de Chapingo. 147 p.

Van der Zaag, D., Burton, W. 1978. Potential yield of the potato crop and its limitation. pp. 23-33. In: Triennial Conf. Eur. Ass. Pot. Res. Warsaw, survey papers.

Veramendi, S., Baldelomar, M., Terán, A., Gabriel, J. 2011. Marcadores moleculares asociados a genes/QTLs de resistencia para factores bióticos en nuevas variedades de papa (*Solanum*

tuberosum L.) de Bolivia. Revista Latinoamericana de la Papa 16 (2): 209 - 232.

Vernooy, R. 2003. Seeds that give: Participatory Plant Breeding, IDRC, Canada. *En línea*. Disponible en: <http://www.google.com.bo/url> Consultado el 25/09/2013.

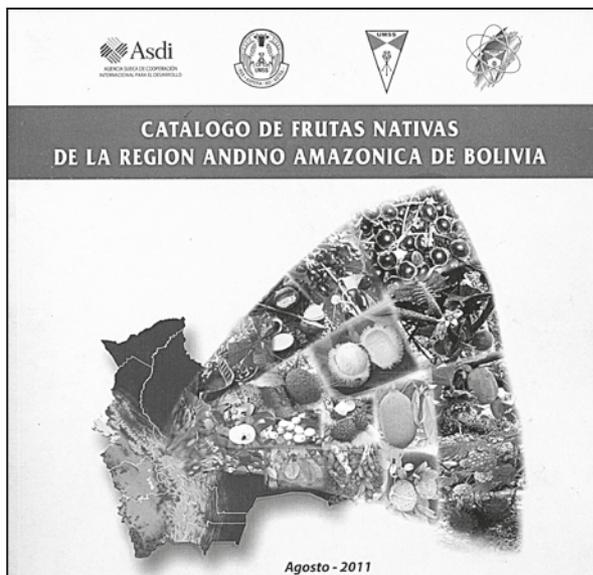
Wastie, R. 1991. Breeding for resistance. In: D. Ingram and P. Williams (eds.). *Phytophthora infestans*, the Cause of Late Blight of Potato. Vol 7. Academic Press, London. pp. 192-224.

Welzien, E., Smith, M., Meitzner, L., Sperling, L. 2003. Technical and institutional issue in participatory plant breeding – from perspectives of formal plat breeding. A global analysis of issue, results, and current experience. PPB Monograph Nro. 1. PRGA Programme, Cali, Colombia.

Trabajo recibido el 28 de febrero de 2014

Trabajo aceptado el 28 de marzo de 2014

PUBLICACIÓN DESTACADA:



Autores: Ramiro Iriarte; Eduardo Mendoza; Juan Villarroel.

Año de publicación: 2011.

Nro. de páginas: 102

Referencias: Depto. de Ingeniería FCAPFyV-UMSS; telf. 4762383 (Cochabamba) e.mendezagarcia@yahoo.es

Valiosa publicación que presenta información sobre *familia, género, nombres comunes, lugar de recolección (altitud, latitud y longitud) usos y descripción botánica* para 99 especies de frutales nativos amazónicos recolectados en Bolivia.