



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL EN GENOTIPOS
DIPLOIDES DE PAPA**

DEISSY KATHERINE JUYÓ ROJAS

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Agronomía
Bogotá, Colombia
2012**

**DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL EN GENOTIPOS
DIPLOIDES DE PAPA**

DEISSY KATHERINE JUYÓ ROJAS

**Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:
Magister en Ciencias Agrarias**

**Directora
Ph.D. Teresa Mosquera Vásquez**

**Codirector
MSc. Andrés Cortes Vera**

**Línea de Investigación
Genética y Fitomejoramiento**

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Agronomía
Bogotá, Colombia
2012**

Dedicatoria

A mi amada hija Anita y a mis padres Luz y Pedro por ser lo más grande que la vida me ha dado, por todo su amor y paciencia a lo largo de esta etapa.

A mi familia por todo su amor, apoyo y comprensión.

A mi profesora Teresa Mosquera que me ha enseñado el valor de luchar como profesional e investigadora.

A todas las mujeres, amigas y compañeras que me han permitido compartir con ellas los más gratos y difíciles momentos.

Contenido

Resumen	1
Introducción	2
Materiales y métodos	5
Material vegetal.....	5
Descripción de las poblaciones:	5
Métodos.....	6
Extracción de ADN	6
Genotipificación	6
Análisis estadístico.....	6
Resultados	9
Genotipificación.....	9
Análisis del polimorfismo de SSRs.....	9
Diversidad genética.....	10
Riqueza alélica	10
Equilibrio Hardy Weinberg (EHW)	11
Desequilibrio de ligamiento	16
Análisis de diferenciación poblacional	17
Análisis de Rst y flujo genético.....	19
Asignación poblacional	20
Discusión	22
Polimorfismo de los SSR y riqueza alélica	22
Análisis de heterocigosidad y diferenciación poblacional	24
Asignación poblacional	26
Conclusiones	27
Perspectivas	27
Agradecimientos	28
Bibliografía	29

Lista de figuras

Figura 1. Estructura poblacional. *Bar-plot* de genotipos de la población de estudio generados por STRUCTURE v. 2.3.3 utilizando el modelo *admixture* y frecuencias alélicas independientes. Las agrupaciones (K poblaciones) son identificadas con colores (poblaciones I, II y III), cada columna representa un genotipo (146 en total) y se divide en segmentos (probabilidades) que indican su origen genético probable. I. Agrupamiento entre genotipos de la población IPK y algunos Col. II. Agrupamiento de las poblaciones de mejoramiento Spm, Cc y Spv. III. Agrupamiento de la mayoría de genotipos de la población Col.....21

Figura 2. Número de agrupamientos con mayor verosimilitud [$\ln P(D)$] para todas las poblaciones de *S. phureja* obtenido mediante el método de Evanno *et al.* (2005). a. Verosimilitud promedio de diez corridas para cada una de las posibles poblaciones K (dos a diez). b. Valor modal de las diferencias de verosimilitud (ΔK) estandarizado con la desviación estándar de los datos. A partir de esta última se puede observar que la mayor probabilidad se encuentra en tres agrupaciones ($K = 3$).....21

Lista de tablas

- Tabla 1.** Condiciones de amplificación de los SSRs Se presentan los datos de temperatura de *annealing* (T_a), concentración de $MgCl_2$, tamaño de fragmento esperado y obtenido (pb) y número de alelos esperados y observados.....8
- Tabla 2.** Índices de diversidad genética relacionados con la riqueza alélica para genotipos diploides de papa.....10
- Tabla 3.** Descripción de alelos encontrados para cada uno de los SSRs y por cada población (naturales y de mejoramiento) de *S. phureja*.....12
- Tabla 4.** Valores de *Fis* para cada loci en cada población de *S. phureja* y el test exacto de equilibrio Hardy-Weinberg (H1: exceso de heterocigotos) de acuerdo con Weir and Cokerham (1984). El *P-value* total a partir de un test global para estimar la significancia de poblaciones en equilibrio Hardy-Weinberg (H1: exceso de heterocigotos) de acuerdo con Rousset and Raymond (1995).....14
- Tabla 5.** Determinación de pares de loci en desequilibrio de ligamiento para las diferentes poblaciones asumiendo un H_0 : independencia de genotipos entre los loci.....17
- Tabla 6.** Análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA) e índices de diversidad F (Weir and Cockerham, 1984).....18
- Tabla 7.** Comparación de índices de diversidad F (Weir and Cockerham, 1984) y heterocigosidad estimada (Nei, 1987) entre poblaciones naturales, de mejoramiento y a nivel general (naturales y de mejoramiento).....19
- Tabla 8.** Valores de *Rst* y flujo genético *Nm* (Slatkin, 1995) para genotipos diploides de *S. phureja*.....20
- Tabla suplementaria 1** Organización e información fenotípica de la población de genotipos diploides de *Solanum phureja*, del programa de mejoramiento de papa de la Universidad Nacional de Colombia. Col. Colección Central Colombiana de *S. phureja*; Spm. Población de mapeo de *S. phureja*; IPK. Banco de germoplasma de Alemania; Cc. Cultivares comerciales y Spv. Población de mejoramiento de *S. phureja* asociada con resistencia a virus.....24
- Tabla suplementaria 2.** Estimación de máxima verosimilitud de la frecuencia de alelos nulos (Dempster *et al*, 1977; Weir, 1996) para los 43 loci y cinco poblaciones de *S. phureja*.....27

Resumen

En Colombia se encuentra un centro de diversidad de *Solanum tuberosum* grupo *Andigenum*, que incluyen genotipos diploides de papa diploides ($2n = 2x = 24$) anteriormente denominados como *Solanum phureja*. Este grupo es utilizado como herramienta en genética molecular, como alimento, como fuente de diversidad y es objeto de estudio en los programas de mejoramiento de papa en Colombia. Estos materiales genéticos son de importancia económica en países andinos. El presente trabajo estudió la diversidad genética y la estructura poblacional de 146 genotipos diploides de papa a partir de las frecuencias alélicas encontradas con el uso de un grupo de 43 microsatélites (SSRs) heterólogos. Los genotipos se encuentran distribuidos entre dos tipos de poblaciones, la primera incluyó poblaciones naturales colectadas en diferentes regiones de los Andes: accesiones de la Colección Central Colombiana de *S. phureja* y accesiones del banco de germoplasma de Alemania; la segunda, poblaciones de mejoramiento provenientes del cruzamiento entre parentales contrastantes: genotipos de una población segregante, cultivares comerciales y genotipos asociados con resistencia a virus. Se realizaron análisis de riqueza alélica, heterocigosidad, diferenciación poblacional (estadísticos F de Weir and Cockerham) y de asignación poblacional, utilizando el algoritmo Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC). Los resultados indicaron que la población de estudio presenta alta diversidad ($H_s = 0,43$), la diferenciación genética se debe a las diferencias entre individuos dentro de las poblaciones ($F_{IT} = 0,98$) y que la posible formación de tres poblaciones *K* (IPK, poblaciones de mejoramiento y la Colección Central Colombiana), solamente pudo ser atribuida a las diferencias de frecuencias alélicas presentes entre las poblaciones naturales y de mejoramiento. La ausencia de estructura genética, principalmente entre las accesiones de la Colección Central Colombiana de *S. phureja*, representa un conocimiento básico para el desarrollo e implementación de metodologías de mejoramiento de precisión como la búsqueda de marcadores moleculares diagnóstico a través del mapeo por asociación. De acuerdo al conocimiento de los autores esta es la primera investigación a nivel colombiano que estudia el acervo gético de *S. phureja* en sus elementos de estructura genético poblacional y se constituye en una fuente de conocimiento para la genética de solanáceas.

Palabras clave: Diversidad genética, estructura poblacional, microsatélites, *Solanum tuberosum* grupo *Andigenum* (*Solanum phureja*), acervo genético.

Abstract

A diversity center for *Solanum tuberosum* group *Andigenum* diploid potato genotypes ($2n = 2x = 24$) formerly known as *Solanum phureja* is located in Colombia. Apart from being a staple food and an income source in the Andean countries, this plant group is object of study in molecular genetics and is a source of diversity for potato breeding programs in Colombia. This work studied the genetic diversity and population structure of 146 diploid potato genotypes from allele frequencies found with the use of a group of 43 heterologous microsatellites (SSRs). The genotypes used are distributed between two types of populations, the first group included natural populations collected in different regions of the Andes: accessions from the Colombian Core Collection of *S. phureja* and accessions of the German germplasm bank (IPK), the second group comprised breeding populations derived from the crossing of contrasting parentals, genotypes of a segregating population, commercial cultivars and genotypes associated with virus resistance. Analyses were performed for allelic richness, heterozygosity, population

differentiation (F statistics, Weir and Cockerham) and population allocation, using the Monte Carlo Markov Chain algorithm (MCMC). The results indicated that the study population has high diversity ($H_s = 0.43$), genetic differentiation is due to differences among individuals within populations ($F_{IT} = 0.98$) and the possible formation of three *K* populations (IPK, breeding populations and the Colombian Core Collection), could only be attributed to differences in allele frequencies between wild and breeding populations. The absence of genetic structure, mainly among the accessions of the *S. phureja* Colombian Core Collection, represents a first step for the development and implementation of methods for precision breeding such as the search for diagnostic molecular markers by means of association mapping. According to the authors' knowledge this is the first research in Colombia that studies the genetic pool of *S. phureja* at the population and genetic structure level and becomes a source of knowledge for genetics in solanaceous species.

Key words: Genetic diversity, population structure, microsatellites, *Solanum tuberosum* group *Andigenum* (*Solanum phureja*), genetic pool.

Introducción

La papa (*Solanum tuberosum*) es considerada el tercer alimento de mayor importancia a nivel mundial después del trigo, y el arroz (FAOSTAT., 2012). La especie de papa más cultivada en el mundo corresponde a *Solanum tuberosum* L. ($2n = 4x = 48$). Esta especie contiene dos grupos de papas cultivadas, el grupo Chilotanum que involucra papas tetraploides desarrolladas en bajas altitudes y el grupo Andigenum que reúne papas con diferentes niveles de ploidía y cultivadas en las montañas andinas (Spooner et al., 2007). Dentro del grupo Andigenum se encuentra un subgrupo de papas primordialmente diploides ($2n = 2x = 24$) y con carencia de dormancia en el tubérculo, de día corto y periodo vegetativo mediano (120 días) anteriormente denominado como especie *Solanum phureja* (Hawkes, 1988) o grupo cultivado “Phureja” (Ghislain et al., 2006).

La inclusión de *S. phureja* dentro del grupo *Andigenum* se dio gracias a los resultados obtenidos a partir de estudios citogenéticos y moleculares (utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites- SSRs) adelantados por Ghislain et al. (2006) y Spooner et al. (2007), quienes demostraron que algunas accesiones de *S. phureja* presentan otros niveles de ploidía (3x y 4x), llevando así al replanteamiento taxonómico de *S. phureja* como especie y considerándola como un grupo de papas dentro de *S. tuberosum*.

S. phureja representa aproximadamente el 10% del total de la papa producida en Colombia (CEVIPAPA, 2008). Gracias a las condiciones agroclimáticas favorables para el desarrollo del cultivo, Colombia se puede considerar como una región con gran potencial para la siembra a gran escala de estos materiales genéticos. Dentro de los programas de mejoramiento de papa y proyectos de investigación a nivel mundial, diversos genotipos de *S. phureja* han sido utilizados como un recurso genético valioso para la introgresión de genes de importancia agronómica a la papa tetraploide (Estrada, 2000; Ghislain et al., 2006; Straadt and Rasmussen, 2003), y a la vez ha sido utilizada como herramienta molecular para comprender las bases genéticas de diversos rasgos de interés agronómico, de ploidía y diversidad tanto en papas diploides como en las de mayor ploidía (3x, 4x, 6x). Por ejemplo, actualmente representa el genoma de referencia de la papa cultivada en el área de genética molecular, el cual fue desarrollado a partir de la secuenciación del genotipo DM1-3 516 R44 (PGSC., 2011). Este genotipo es un doble monohaploide, con un tamaño de genoma de 844 Mb, distribuido en los 12 pares de cromosomas y con cerca del 62% de secuencias ensambladas (425 Mb) que corresponden a regiones altamente repetitivas (PGSC., 2011).

Dentro del grupo de papas cultivadas, *S. phureja* ha sido considerada como un grupo de papas nativas, originadas a partir de *S. stenotomum* (primera papa diploide cultivada) por procesos de selección relacionados con la ausencia de dormancia en el tubérculo, aumento de ciclos productivos por año y adaptación a condiciones climáticas estables y regiones de menor altitud (2000 – 3000 msnm) (Hawkes, 1990; Ghislain *et al.*, 2006; Sukhotu and Hosaka, 2005; Spooner *et al.*, 2010). La diversidad de papa se encuentra al norte y sur del Lago Titicaca en la frontera entre Perú y Bolivia con un amplio rango de diversidad entre los 8° y 20° latitud sur. En el caso de papas diploides como *S. phureja*, su distribución geográfica se presenta desde el oeste de Venezuela hasta el centro de Bolivia y este grupo específicamente posee un centro de diversidad entre el sur de Colombia y el norte de Ecuador (Atlas Mundial de la Papa, 2012; Estrada, 1996).

Estudios moleculares sobre la diversidad en *S. phureja* utilizando la información obtenida por el uso de marcadores tipo RAPD (ADN polimórfico amplificado al azar), han revelado que no existe divergencia geográfica a lo largo de los sitios de colecta en los Andes, desde Colombia hasta el Lago Titicaca y además los análisis moleculares de varianza muestran valores similares de diversidad para las accesiones provenientes de tres regiones diferentes, Colombia, Ecuador y Perú-Bolivia y la no existencia de agrupamiento geográfico (Ghislain *et al.*, 1999 y Ghislain *et al.*, 2006). Esto indica la amplia dispersión de estos genotipos nativos a lo largo de los Andes, debido primordialmente a las migraciones humanas y finalmente porque se trata de un grupo de papas único y homogéneo aislado de los otros tipos de papas cultivadas (Ghislain *et al.*, 1999).

Otros estudios de diversidad y conservación del germoplasma de *S. phureja* realizados con SSRs, también indican que para el establecimiento de colecciones o bancos de germoplasma en papa, el uso de 24 SSRs que posean un alto nivel de resolución y de polimorfismo y una distribución uniforme en los 12 grupos de ligamiento de la especie (10 cM de distancia genética entre marcadores y por lo menos dos marcadores por grupo de ligamiento), permitiría identificar potenciales duplicados entre genotipos nativos de bancos de germoplasma, caracterizar genotípicamente líneas y cultivares avanzados de los programas de mejoramiento (Feingold *et al.*, 2005).

En Colombia desde 1934 se inició la colecta de diversos genotipos de papa con el fin de conformar la Colección Central Colombiana de papa. En 1945 se registró oficialmente el clon 1 correspondiente al genotipo de *S. phureja* denominado como *Solimán*. Hacia el año 2006 esta colección conservada por CORPOICA, contaba con 2.985 genotipos de papa entre cultivados y silvestres, de los cuales cerca de 120 genotipos corresponden a *S. phureja* colectados principalmente en los departamentos de Nariño, Cauca, Cundinamarca y Boyacá. En 1996, una réplica de los genotipos de *S. phureja* fue entregada a la Universidad Nacional de Colombia, con el fin de hacer parte del recurso genético y de la colección de trabajo del Programa de Mejoramiento de Papa de la universidad.

Los genotipos de esta colección de *S. phureja* han sido estudiados por i) resistencia a plagas y enfermedades (Ballesteros *et al.*, 2010; Cadena y Naranjo, 2000), ii) diversidad y características morfológicas (Martin *et al.*, 2000; Guarín, 1997), iii) calidad del tubérculo a nivel nutricional y de procesamiento (Rodríguez, 2005; Ocampo, 2003) y iv) mapeo de QTL para resistencia a gota (Mosquera, 2007). Por ejemplo, Cadena y Naranjo (2000) reportaron que 12 genotipos son resistentes al ataque del insecto *Tecia solanivora*; Guarín (1997) reportó los altos niveles de fertilidad del polen de 84 genotipos y su corta viabilidad (20 – 25 días). En el caso de la resistencia a enfermedades, se reportó la posible presencia de un gen *R* que controla resistencia a *Phytophthora infestans* (Ballesteros *et al.*, 2010) agente causal de la gota, principal enfermedad del cultivo de papa a nivel mundial y Mosquera (2007), mapeó un QTL mayor para resistencia en el cromosoma IV.

Algunos estudios de diversidad morfológica en una colección de genotipos de *S. phureja* han mostrado: i) la formación de ocho grupos entre 25 genotipos redondos amarillos de *S. phureja* agrupados por diversos niveles de dormancia y grados de coloración en el tubérculo, con la posible presencia de duplicados en un 24% de esta muestra (Escallón, 1997); (ii) la variabilidad

en diferentes genotipos pertenecientes a este grupo de papas. En este último estudio, las características que explicaron la mayor variabilidad están relacionadas con el color y forma del tubérculo y la flor, es posible que esta variabilidad sea explicada por la alta variabilidad genética dentro de la colección o el efecto ambiental sobre algunas características evaluadas Martín *et al.* (2000); iii), en, Moreno *et al.*, (2009) presentaron una descripción morfológica de papas nativas colombianas del grupo Phureja denominadas como Algodona, Borrega Amarilla y Blanca, Puenda, Ratona, Uva y Yema de Huevo donde se indica la diversidad de formas en el tubérculo entre redonda, elíptica y oblonga, diversidad a nivel de flor y del número de foliolos; iv) en un análisis de componentes principales desarrollado por Ocampo (2003), para evaluar el carácter de precocidad en la colección de *S. phureja*, se determinó que la variable de mayor peso para cuantificar diversidad en esta característica es el número de días a inicio de formación de tubérculo (NDIT), el cual oscila entre los 21 y 66 días después de emergencia correspondiente a los genotipos Col3 y Col27 respectivamente estos autores también señalaron la formación de 11 grupos según diferentes niveles de precocidad.

La Colección Central Colombiana de *S. phureja* dentro del programa de mejoramiento de papa ha sido recurso genético base para el desarrollo de cinco cultivares comerciales, incluyendo el cultivar más consumido a nivel nacional denominado como “Criolla Colombia” (Rodríguez *et al.*, 2009). Además, algunos genotipos contrastantes por su nivel de resistencia al ataque del patógeno *P. infestans* (Col122.29, Tomilla, Col150.9 y Col118.7), fueron empleados para la construcción de la población que se usó para generar el primer mapa de ligamiento genético (Mosquera, 2007). Otras accesiones diploides de la Colección Central Colombiana se han usado en los últimos años para generar poblaciones de hermanos completos e identificar genotipos con altos niveles de rendimiento y resistencia al virus del amarillamiento de las venas (PYVV).

A partir del estudio de mapeo por asociación realizado por Gebhardt *et al.* (2004) en papas tetraploides (*S. tuberosum*), de los resultados de la metodología de mapeo por asociación en trabajo con humanos (Stranger *et al.*, 2011) y de los avances en maíz (Riedelsheimer *et al.*, 2012; Kump *et al.*, 2011) se ha intensificado la investigación empleando como estrategia el mapeo por asociación, ya que abre la posibilidad de desarrollar marcadores moleculares diagnóstico, explotando la diversidad alélica existente en el genoma. Esta metodología no requiere la construcción de poblaciones contrastantes (Zhu *et al.*, 2008), pero demanda tener conocimiento de la estructura poblacional de los genotipos empleados en el análisis, para evitar asociaciones falsas.

Colombia es el principal productor, exportador y consumidor de papas diploides en el mundo (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2009), y los programas de mejoramiento de la Universidad Nacional y Corpoica, se enfocan en la obtención de nuevos cultivares a través de hibridación y selección de clones élites. A la fecha no se reporta ningún estudio sobre análisis de estructura genético poblacional para la Colección Central de *S. phureja*, que es considerada un recurso genético valioso para Colombia. El estudio de la estructura poblacional es básico para realizar estudios empleando la metodología de mapeo por asociación para cualquier rasgo de interés. Esta metodología se fundamenta en el conocimiento de las relaciones genéticas entre los diferentes genotipos de una colección de individuos, de tal modo que la diversidad que ofrece el recurso genético pueda ser mejor aprovechada, facilitando y promoviendo su uso en los programas de mejoramiento genético para la selección de progenitores y de progenies.

Esta investigación estudia por primera vez, desde el punto de vista genético, la riqueza alélica, heterocigosidad, diferenciación y asignación poblacional de la Colección Central Colombiana, en los genotipos de *S. phureja* y aporta conocimiento básico en la investigación de solanáceas.

El objetivo del presente estudio fue caracterizar genéticamente la colección de *S. phureja* con la que cuenta Colombia, con marcadores SSRs y determinar su diversidad genética y estructura poblacional, en la perspectiva de generar bases para desarrollar mapeo de asociación.

Materiales y métodos

La metodología empleada para determinar la diversidad genética y estructura poblacional de los genotipos diploides de *S. phureja*, partió del análisis de las frecuencias alélicas obtenidas a partir de marcadores SSRs específicos para papa (caracterización genética), con las cuales se determinó: i) el polimorfismo, la riqueza alélica, el equilibrio Hardy-Weinberg, el desequilibrio de ligamiento y la heterocigosidad dentro de las diferentes poblaciones estudiadas, ii) los estadísticos de diferenciación poblacional (F de Weir and Cockerham, 1984) y iii) la asignación poblacional de los individuos a unas posibles poblaciones (*K*).

Material vegetal

La población de estudio estuvo compuesta por 146 genotipos que se agrupan en dos principales grupos denominados como poblaciones naturales y de mejoramiento (Tabla suplementaria 1). Las poblaciones naturales reúnen accesiones que fueron colectadas en diferentes regiones geográficas de los Andes (Colombia, Perú y Bolivia) y que pertenecen a los bancos de germoplasma de *S. phureja* de Colombia y Alemania; mientras que las poblaciones de mejoramiento corresponden a poblaciones generadas a partir de cruzamientos entre parentales contrastantes y que han sido desarrolladas como poblaciones experimentales o dentro del Programa de Mejoramiento para la generación de nuevos cultivares.

Descripción de las poblaciones:

1. Poblaciones naturales

a. 97 accesiones de la Colección Central Colombiana de *S. phureja*, pertenecientes a la colección de trabajo de la Universidad Nacional de Colombia, denominadas (**Col**), las cuales fueron colectadas en los diferentes departamentos productores de papa en el país, en su gran mayoría provienen de la zona sur de Colombia.

b. 13 accesiones diploides (**IPK**, - “a”), del Banco de Germoplasma de Alemania (Leibniz-Institut fuer PflanzengenetikundKulturpflanzenforschung – IPK), suministradas por el Dr. Klaus J. Dehmer, los cuales corresponden a materiales colectados por el CIP en Colombia, Perú y Bolivia, y materiales del programa de mejoramiento.

2. Poblaciones de mejoramiento

a. 22 genotipos (**Spm** – *S. phureja* población segregante) pertenecientes a la población F1 segregante de 125 individuos (hermanos completos), desarrollada para la construcción del mapa genético de *S. phureja* (Mosquera, 2007). El parental femenino de esta población es 48A.3 (Col122.29 x Tomilla 1), susceptible a *P. infestans* y el parental masculino 2A.4, (Col150.9 x Col118.7) resistente. Los 22 genotipos fueron seleccionados según el grado de extrema resistencia y extrema susceptibilidad determinado en un estudio previo desarrollado por Mosquera (2007).

b. Cinco genotipos correspondientes a los cultivares comerciales (**Cc**) desarrollados por el Grupo de Investigación en Papa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia. Criolla Colombia (CrCol), Criolla Guaneña (CrGÑ), Criolla Latina (CrLat), Criolla Paisa (CrPSE1) y Criolla Galeras (CrGL).

c. Nueve genotipos (hermanos completos) de la familia **8004 (Spv – *S. phureja*** con resistencia a virus), provenientes del cruzamiento entre Criolla Guaneña x Criolla Galeras. Estos genotipos hacen parte del proyecto de investigación “Desarrollo de clones promisorios de papa a nivel diploide *S. phureja* con resistencia a *P. infestans*, *PYVV* (*Potato Yellow Vein Virus*) y alto valor agronómico”, desarrollados con el objetivo de seleccionar nuevos cultivares mejorados.

Métodos

Extracción de ADN

Para el desarrollo de la investigación la extracción del ADN se realizó con el kit DNeasy Plant Mini Kit de QIAGEN. La cuantificación del ADN se realizó por medio de comparación con la concentración de ADN conocido (Fago λ) visualizado en geles de agarosa al 1% y tinción con bromuro de etidio. Adicionalmente, se realizó una segunda cuantificación con Nanodrop 2000 de Thermo para verificar la calidad y concentración del ADN. Finalmente, la concentración del ADN se ajustó a una concentración de $20 \text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$.

Genotipificación

La población de estudio fue genotipificada con un grupo de 43 SSRs desarrollados por Feingold *et al.*, 2005; Ghislain *et al.*, 2004; Milbourne *et al.*, 1998. Los SSRs fueron estandarizados según las condiciones de amplificación, temperatura de *annealing* ($T^{\circ}a$) y concentración de MgCl_2 , utilizando como muestra ADN [$20 \text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$] de cuatro genotipos de la población de estudio (Col3, Col16, Col36 y a-21495). El producto de amplificación para estos marcadores fue analizado en geles de poliacrilamida al 6% y visualizado por la metodología de tinción en plata estandarizada para papa por Feingold *et al.* (2005); o en geles pre-elaborados Sepradex® de ElchromScientific, según los protocolos del grupo de investigación *Potato Genome Analysis del Max Planck Institute for Plant Breeding Research* (2011).

Los parámetros que se tuvieron en cuenta para la selección de los 43 SSRs y para caracterizar las poblaciones de estudio fueron: SSRs que i) no estuvieran ligados genéticamente, ii) se distribuyeran en los 12 grupos de ligamiento de papa, iii) coincidieran en pares de bases (pb) con tamaños de fragmentos reportados (Ghislain *et al.*, 2009; Feingold *et al.*, 2005; Ghislain *et al.*, 2004; Milbourne *et al.*, 1998) y iv) óptimas condiciones de amplificación y resolución.

El tamaño de los alelos obtenidos como resultado de la caracterización genética de la población de estudio con los 43 SSRs seleccionados, fueron anotados en una matriz de doble entrada para genotipos diploides. En los casos donde no se logró una amplificación exitosa, se realizaron dos comprobaciones de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para garantizar la amplificación y si finalmente no amplificaba, el dato faltante se codificó como “-9”.

Análisis estadístico

Se realizó la estimación del grado de polimorfismo de cada microsatélite a través de todas las poblaciones, mediante el cálculo del índice de contenido polimórfico (PIC), el cual expresa el grado de polimorfismo que es capaz de detectar un determinado marcador molecular (Powell *et al.*, 1996). Para el cálculo de este índice se utilizó el software Powermarker v. 3.25 (Liu and Muse, 2005), y se presentó el número de alelos y tamaño de alelos detectados con los SSRs dentro de cada una de las poblaciones.

La diversidad genética se analizó, desde el punto de vista de la riqueza alélica, mediante el cálculo por población del número total de alelos detectados (N_t), el número de alelos promedio por locus (N_a), el número de alelos efectivos (A_e), el índice de Shannon-Weaver (I) y los alelos privados por población, utilizando el software GenAlex v.6.4 (Peakall and Smouse, 2006). Con el mismo software, se estimaron las frecuencias de alelos nulos por marcador, implementando el algoritmo EM (Esperanza y Maximización) para encontrar la estimación de máxima verosimilitud de frecuencia de alelos nulos (Dempster *et al.*, 1977; Weir, 1996). Además, se determinaron los alelos raros (alelos con frecuencias menores a 0,01, - Kimura, 1983) y los alelos privados (alelos exclusivos de una población, pueden estar en frecuencias bajas o altas - Kalinowski, 2004) detectados por los SSRs en cada una de las poblaciones.

El desvío del equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó mediante el test exacto (H_1 : exceso de heterocigotos) del programa GENEPOP v.4.0.10 (Raymond and Rousset 1995) de acuerdo con Weir and Cokerham (1984) aplicando el procedimiento de Cadenas de Markov (MC) (Guo and Thompson, 1992) con 1.000 dememorizaciones, 100 lotes y 1.000 iteraciones por lote para determinar las probabilidades. El *P-value* total se calculó a partir de un test global para estimar la significancia de poblaciones en equilibrio Hardy-Weinberg (H_1 : exceso de heterocigotos) de acuerdo con Rousset and Raymond (1995) usando el mismo software y los parámetros del algoritmo.

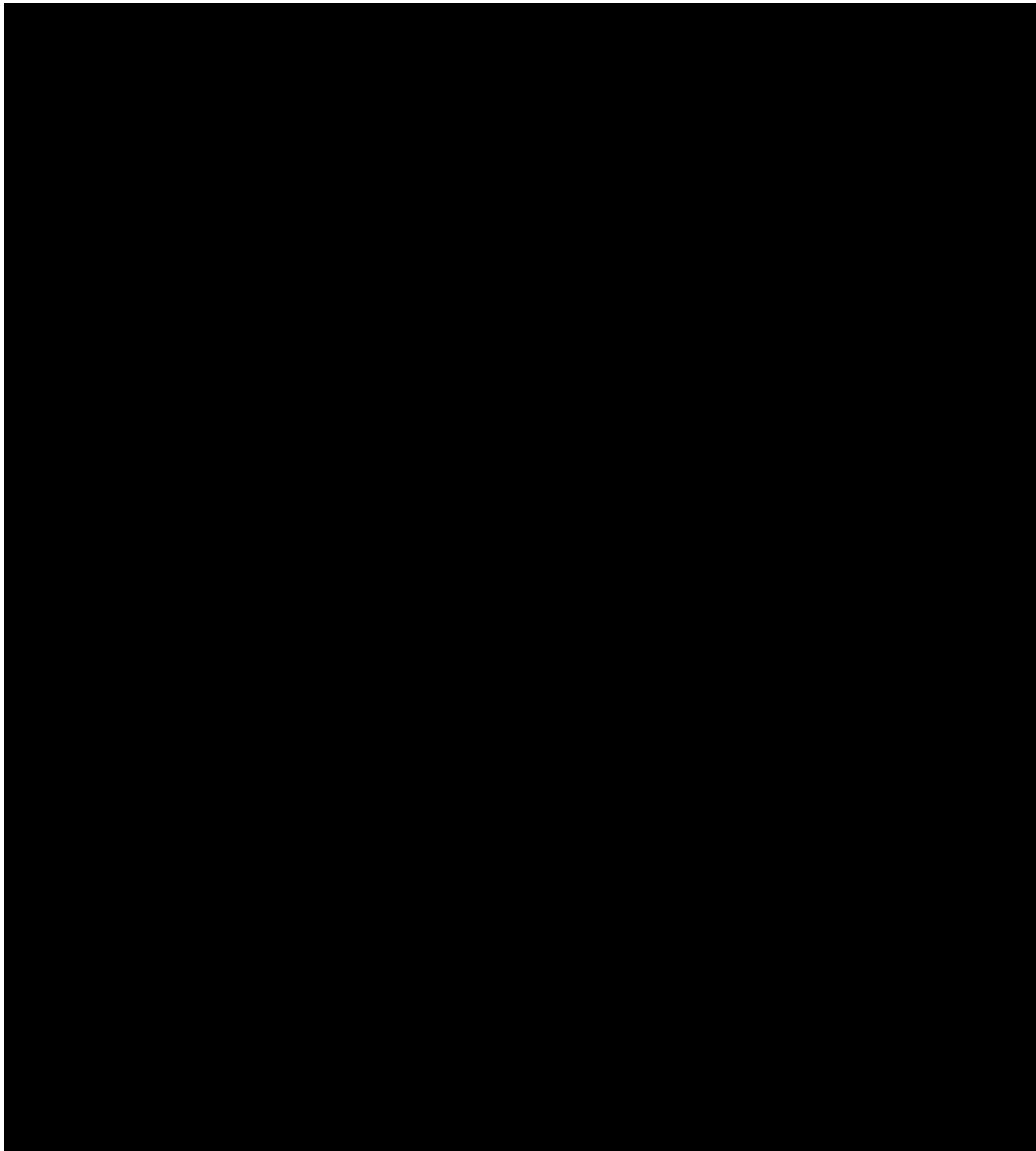
A través del estadístico G se evaluaron las desviaciones del desequilibrio de ligamiento para probar la hipótesis de independencia de genotipos entre los loci. Para ello se empleó el programa GENEPOP v.4.0.10 y el procedimiento MC (*Markov Chain*) con 1.000 dememorizaciones, 100 lotes y 1.000 iteraciones por lote para determinar las probabilidades.

Estimadores de heterocigosidad de Nei (1973), tales como, H_o = Heterocigosis observada, H_s = Heterocigosis esperada en las poblaciones, H_t = Diversidad génica total, H_t' = Diversidad génica total más diversidad entre poblaciones DDT = Diversidad génica entre las poblaciones, Dst' = Diversidad génica entre las poblaciones corregida para el número de poblaciones, Gst = Índice de subdivisión poblacional, Gst' = Índice de subdivisión poblacional corregida por el número de poblaciones, fueron calculados para las cinco poblaciones en general como para las poblaciones naturales y de mejoramiento con el programa FSTAT v.2.9.3. (Goudet, 1995).

Los coeficientes de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST}), coeficiente de endogamia de poblaciones (F_{IS}), y coeficiente de endogamia total (F_{IT}) (Excoffier *et al.*, 1992) y las respectivas probabilidades, fueron calculados para las cinco poblaciones estudiadas (generales) y entre las poblaciones naturales y de mejoramiento a través de un análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA) basado sobre 1.023 permutaciones, evaluando la hipótesis nula de uniformidad genética entre pares de poblaciones utilizando el programa ARLEQUIN v.3.11. (Schneider *et al.*, 2000).

Un cálculo complementario a la estimación del índice de diversidad F_{st} , fue la estimación del análogo de este índice R_{st} , calculado entre parejas de poblaciones y asumiendo un modelo de mutación por pasos (SMM), el cual refleja con mayor precisión el patrón de mutación de los microsatélites (Balloux and Lugon-Moulin, 2002). Este índice fue estimado con el software ARLEQUIN v.3.11 y los niveles de significancia fueron calculados con 1.023 permutaciones.

Tabla 4. Condiciones de amplificación de los SSRs Se presentan los datos de temperatura de *annealing* (T_a), concentración de $MgCl_2$, tamaño de fragmento esperado y obtenido (pb) y número de alelos esperados y observados.



Posterior al cálculo de R_{st} se estimó el flujo genético entre parejas de poblaciones de poblaciones, a partir de la tasa de migración efectiva por generación (Slatkin, 1995). Para calcular este valor se toma en cuenta que existe una relación de equilibrio entre la migración y la deriva, donde $F_{ST}=1/(2M+1)$. Así, el número absoluto de migrantes intercambiados entre dos poblaciones (M) se puede estimar por $M = (1 - F_{st}) / (2 F_{st})$. Igualmente se obtuvo una estimación del flujo génico entre las cinco poblaciones con el método de los alelos privados (Slatkin 1985; Barton and Slatkin, 1986) usando el software GENEPOP v.4.0.10.

Finalmente, se realizó un análisis de asignación de los individuos a su población por medio de un modelamiento bayesiano utilizando el software Structure v.2.3 (Pritchard *et al.*, 2000). Este programa permite realizar inferencias sobre la estructura poblacional a partir de las frecuencias

alélicas de diversos loci, que puedan compartir un conjunto de genotipos y de esta forma asignarlos probabilísticamente a una población K o a más de dos poblaciones (K agrupaciones) si ellos se encuentran mezclados. El procedimiento utiliza una serie MCMC (Cadena de Markov Monte Carlo) después de un periodo de *burn-in* o de pre-simulación de los procesos iniciales de corrida hasta alcanzar un nivel óptimo de convergencia entre el número de iteraciones y el logaritmo de la asignación probabilística.

Los parámetros utilizados para Structure fueron, i) el modelo ancestral “*admixture*” con frecuencias alélicas independientes ($\lambda = 1$). Este modelo asume que los genotipos estuvieron mezclados ancestralmente y que reflejan la proporción genómica heredada de sus ancestros en cada una de las K poblaciones. ii) se asumieron dos valores de diferenciación poblacional (F_{st}) en la estimación de correlaciones entre las frecuencias genéticas, el primero arrojado por el software equivalente a 0,01 y el segundo de 0,089 determinado por el AMOVA calculado previamente en este estudio y iii) los análisis se realizaron para un número de subgrupos K que van desde dos a diez con diez repeticiones independientes para cada K y con un total de 305.000 iteraciones de las cuales las primeras 5.000 fueron considerados como periodo de *burn-in*.

En el caso en que no se presentará un estabilización en el número de poblaciones formadas K , que representen la posible estructura poblacional se consideró el uso de la metodología del número de agrupamientos más probable de Evanno *et al.* (2005), la cual considera la variación generada por el error de muestreo, calculando el valor absoluto de diferencia de verosimilitud entre la posibilidad de una población con la posibilidad siguiente y estandarizándolo con la desviación estándar de los datos. De esta forma, se puede obtener el máximo valor de verosimilitud que presenta el menor valor de error debido al muestreo. Todos los parámetros para el desarrollo de esta metodología fueron calculados a partir del logaritmo de la probabilidad o valor máximo de verosimilitud ($\ln [P(D)]$) producidos por Structure.

Resultados

Genotipificación

En la tabla 1 se presentan las condiciones de amplificación para los 43 SSRs seleccionados. En el caso de las modificaciones a nivel de Ta solamente se realizaron cambios en ± 1 °C o 2 °C de la Ta reportada (Ghislain *et al.*, 2009; Feingold *et al.*, 2005; Ghislain *et al.*, 2004; Milbourne *et al.*, 1998). Para la concentración de $MgCl_2$ se incluyeron modificaciones que variaron de 1,0 a máximo 3,0 mM. El tamaño de los fragmentos obtenidos para la gran mayoría de los marcadores evaluados coincidió o tuvo valores cercanos al rango esperado y solamente cinco SSRs (STI002, STI022, STM1064, STM0025 y STM2005) se apartaron del tamaño de fragmento esperado.

Análisis del polimorfismo de SSRs

De los 43 SSRs seleccionados, 42 fueron polimórficos y únicamente el marcador STM1064 fue monomórfico. Los valores de PIC (Índice de Contenido Polimórfico) se encontraron en un rango entre 0,020 (STI020) a 0,801 (STI046) con un promedio de 0,458. Entre las poblaciones, los marcadores que presentaron el mayor número de alelos fueron STI023 en la población Col (11 alelos), STI021 para IPK (nueve alelos), STI046 en la población Spm (siete alelos), en el caso de la población Cc los marcadores STI023, STI017, STM0025, STM0030 y STG0003

(cuatro alelos) y para la población Spv los marcadores STI029 y STM0025 (seis alelos) (tabla 1 y 3). Entre las cinco poblaciones estudiadas únicamente el marcador STM0025 fue en común uno de los marcadores más polimórficos tanto en las poblaciones naturales como en las poblaciones mejoradas.

Tabla 5. Índices de diversidad genética relacionados con la riqueza alélica para genotipos diploides de papa.

Población	N	Na _T	Na	Ae	I	No. Alelos Privados
Poblaciones naturales						
Col	97	222	5,163	2,486	0,962	1,256
DE	0,00	0,00	0,339	0,177	0,077	0,203
IPK	13	195	4,535	2,915	1,130	0,907
DE	0,00	0,00	0,289	0,197	0,070	0,159
Media		209	4,849	2,701	1,046	1,081
Poblaciones de mejoramiento						
Spm	22	114	2,651	1,804	0,617	0,000
DE	0,00	0,00	0,205	0,103	0,064	0,000
Cc	5	88	2,047	1,694	0,489	0,000
DE	0,00	0,00	0,152	0,118	0,068	0,000
Spv	9	102	2,372	1,753	0,528	0,093
DE	0,00	0,00	0,202	0,151	0,072	0,045
Media		101	2,357	1,750	0,545	0,031
Media General		144	3,353	2,131	0,745	0,451

N = Tamaño de población

Ae = Número de alelos efectivos

Na_T = Número de alelos totales por población

I = Índice de Shannon

Na = Número de alelos diferentes con una frecuencia > 5%

DE = Desviación estándar

Diversidad genética

Riqueza alélica

En la tabla 2 se presentan los valores asociados con riqueza alélica. El número total de alelos (Na_T) analizados para las cinco poblaciones fue de 222 para Col, 195 para IPK, 114 para Spm, 88 en Cc y 102 en Spv. El número de alelos promedio por locus (Na) en las poblaciones naturales fue de 5,163 (DE = 0,339) en la población Col, 4,535 (DE = 0,289) en IPK, y para las poblaciones de mejoramiento fue 2,651 (DE = 0,205) en Spm, 2,047 (DE = 0,152) para Cc y 2,372 (DE = 0,202) en Spv. El número de alelos efectivos por locus (Ae) dentro de las poblaciones naturales fue mayor para la población IPK (2,915 DE=0,197) comparada con la población Col (2,486 DE 0,177). Entre las poblaciones de mejoramiento el rango de Ae estuvo entre 1,804 (Spm, DE = 0,103) a 1,694 (Cc, DE = 0,118). El Índice de Shannon-Weaver que permite establecer la relación entre la frecuencia de un determinado alelo y el número de individuos en cada población en términos de riqueza y uniformidad de su distribución, osciló en un rango entre 0,489 (DE = 0,068) para la población Cc y 1,130 (DE = 0,070) para la población IPK (tabla 2).

La presencia de alelos raros (tabla 3) se evidenció en 22 SSRs de la población Col (ej. STI031, STM1049, STI020, STI002, STI032) y en un SSR de la población IPK (alelo 128pb en el

marcador STI043). En el caso de la población Col, los marcadores STI031 y STI023 presentaron el mayor número alelos de este tipo (tres alelos). El número promedio de alelos privados para la población Col fue 1,256 (DE=0,203) distribuidos en 21 SSRs (ej. STI029, STM1053, STG0010, STM1052, STI046, entre otros), en IPK fue de 0,907 (DE=0,159) entre 16 SSRs (ej. STI043, STG0022, STI049, STI015, STI033, entre otros) y en Spv 0,093 (DE=0,045) solamente se presentó para en el marcador STM1016 (alelo 239) (tabla 2 y 3). Entre las poblaciones naturales los SSRs STI029, STG0018, STI015, STI0003 y STM1052 presentaron alelos privados para las dos poblaciones (Col y IPK), convirtiéndose de esta forma en posibles marcadores que detectan un mayor número de alelos privados y por ende de polimorfismo. En el caso de las poblaciones de mejoramiento Spm y Cc no se presentaron alelos privados.

En la tabla suplementaria 2 se observa la frecuencia de alelos nulos detectados mediante el algoritmo EM (Dempster *et al.*, 1997) para los 43 SSRs en las cinco poblaciones estudiadas. Se ha determinado que cuando la frecuencia de un alelo nulo es $>0,2$ significa que la probabilidad de exclusión puede ser mucho más alta que si solo se analizara sin la presencia de alelos nulos, en ese sentido el marcador debería ser descartado del análisis genético. En el presente estudio la presencia de alelos nulos a través de los 43 SSRs estuvo en un rango de 0,006 (STI0003) a 0,506 (STM1016). De acuerdo con el algoritmo EM, este último marcador fue el único que presentó valores de frecuencia superiores a 0,2 entre las cinco poblaciones estudiadas, pero al ser el único marcador que mostró alelos privados para la población Spv, se continuó considerando este marcador para los demás análisis de diversidad y de estructura genética

En las poblaciones la frecuencia promedio de alelos nulos fue de 0,1152 para Col, 0,1905 en IPK, 0,0813 en Spm, 0,0513 en Cc y 0,0628 para Spv. Durante el desarrollo de las diferentes amplificaciones de los 43 SSRs, se obtuvo amplificación exitosa en todos los genotipos analizados, y en aquellos genotipos donde no se logró amplificación se realizaron hasta dos pruebas adicionales con el fin de descartar que fueran fallas en la reacción o por la concentración y calidad del ADN. Por lo tanto, con los resultados obtenidos de bajas frecuencias de alelos nulos por marcador en cada población se puede inferir: i) que en ninguna de las poblaciones la presencia de alelos nulos tenga aportes importantes en la exclusión de heterocigotos asumiendo que son homocigotos y ii) la presencia de alelos nulos en algunos genotipos puede deberse realmente a mutaciones en la zona de secuencia flanqueante donde unen los SSRs y no a fallas metodológicas del proceso de amplificación.

Equilibrio Hardy Weinberg (EHW)

Los resultados de un test exacto para determinar el EHW, indicaron que los marcadores STM5114 ($P=0,0071$), STM0025 ($P=0,0000$) y StwaX2 ($P=0,0000$) estuvieron en desequilibrio HW, por un exceso significativo de heterocigotos (tabla 4). Para el marcador STM1064 no se presentó el valor de P , debido a que este marcador fue monomórfico. Los restantes 39 SSRs presentaron valores de P que oscilaron en un rango de 0,7226 – 1,000, indicando el EHW para estos marcadores.

Tabla 6. Descripción de alelos encontrados para cada uno de los SSRs y por cada población (naturales y de mejoramiento) de *S. phureja*

Número	Marcador	Cromosoma	PIC	Poblaciones naturales		Poblaciones de mejoramiento		
				Col (N=97)		Spm (N=22)	Cc (N=5)	Spv (N=9)
				Colección Central	Banco germoplasma Alemania	F1: 48A3 (R) x 2A4 (S)	Cultivares Comerciales	F1: Criolla Guaneña x Criolla Galeras
1	STI043	I	0,451	3 (130,134,136)	4 (128*, 130,134,136)	3 (130,134,136)	3 (130,134,136)	3 (130,134,136)
2	STI031	I	0,645	9 (110*,120*,128,134,137, 140,143,146*,156*)	4 (128,137,140,143)	4 (128,134,137,143)	1 (143)	2 (140,143)
3	STM1049	I	0,151	5 (168,175,178,190,200*)	4 (168,175,178,190)	2 (175,178)	1 (175)	1 (175)
4	STI029	II	0,767	8 (125,129,135,140*,145, 148*,150,154)	7 (122*,125,129,135, 145,154,166)	3 (135,145,166)	2 (135,145)	6 (129,135,145,150, 154,166)
5	STM5114	II	0,695	5 (275,285,290,295,300)	4 (285,295,300,310)	5 (275,285,295,300, 310)	3 (285,300,310)	5 (275,285,295,300,310)
6	STM1064	II	0	1 (190)	1 (190)	1 (190)	1 (190)	1 (190)
7	STM1008	II, IV, IX	0,428	5 (132,136,140,142,148)	3 (132,136,148)	3 (132,140,148)	3 (132,142,148)	2 (132,148)
8	STG0018	III	0,544	5 (125*,128,130,133,139)	6 (128,130,133,139, 142*,148*)	4 (125,128,133,139)	3 (128,133,139)	2 (128,133)
9	STM1053	III	0,471	4 (164,168,174,184*)	2 (168,174)	2 (168,174)	2 (168,174)	2 (168,174)
10	STG0022	III	0,108	4 (123,131,135,139*)	4 (123,127*,131,135)	1 (131)	1 (131)	2 (131,135)
11	STG0010	III	0,580	5 (156,158,160,162,164*)	3 (156,158,160)	4 (156,158,160,162)	3 (156,158,160)	4 (156,158,160,162)
12	STI020	IV	0,02	2 (192,113*)	1 (110)	1 (110)	1 (110)	2 (110,118*)
13	STI026	IV	0,693	6 (170,180,190,200, 210,220*)	4 (180,190,200,210)	3 (170,190,200)	1 (190)	2 (180,190)
14	STI002	IV	0,083	4 (110,118,120,123)	4 (110,118,120,123)	1 (118)	1 (118)	1 (118)
15	STPoAC58	V	0,683	5 (215,220,225,230,235)	5 (215,220,225, 230, 235)	4 (215,220,225,230)	2 (220,230)	2 (220,230)
16	STI049	V	0,510	4 (130,137,147,157)	7 (127*,130,137,140,147, 157,160*)	4 (130,137,140,147)	2 (137,147)	2 (147,157)
17	STI032	V	0,135	3 (115,121,124)	4 (115,121,124,127*)	1 (124)	1 (124)	1 (124)
18	STG0009	V	0,369	3 (152,154,158)	3 (152,154,158)	2 (152,158)	2 (152,158)	2 (152,154)
19	STI021	VI	0,715	6 (96,100,102,106,108,110)	9 (96,98*,100,102,106,108,110, 112*,114*)	3 (94,100,110)	2 (94,100)	3 (94,100,110)
20	STI015	VI	0,718	7 (160,224,232*,240,254, 260,270*)	7 (200*,210*,224,240,254, 260,264*)	3 (224,240,260)	2 (224,260)	1 (240)
21	STI0033	VII	0,269	4 (105,115,133,135)	5 (105,115,120*,125,135)	2 (115,135)	1 (115)	2 (115,125)
22	STI022	VIII	0,552	4 (106*,112,116*,118)	2 (112,118)	2 (112,118)	2 (112,118)	2 (112,118)

Tabla 3. Continuación

Número	Marcador	Cromosoma	PIC	Poblaciones naturales		Poblaciones de mejoramiento			
				Col (N=97)	IPK (N=13)	Spm (N=22)	Cc (N=5)	Spv (N=9)	
				Colectión Central	Banco germoplasma Alemania	F1: 48A3 (R) x 2A4 (S)	Cultivares Comerciales	F1: Criolla Guañeña x Criolla Galeras	
23	STI003	VIII	0,433	5 (120*,125*,135,145,155)	3 (135,145,155)	2 (145,155)	2 (145,155)	2 (145,155)	
24	STM1104	VIII	0,694	7 (165,168,174,177,189*, 192*,195*)	4 (165,168,174,177)	4 (165,168,174,177)	1 (177)	1 (177)	
25	STI0003	VIII	0,393	3 (133*,145,154)	4 (145,151*,154,157)	2 (145,154)	2 (145,154)	2 (145,154)	
26	StwaX2	VIII	0,434	3 (228,236,256)	3 (228,236,256)	2 (228,236)	2 (228,236)	2 (228,236)	
27	STM1016	VIII	0,657	4 (242,248,251,257)	4 (242,248,251,257)	3 (242,251,257)	3 (242,251,257)	4 (239*,242,248,257)	
28	STGBSS	VIII	0,714	6 (132* ,135,138,141*, 144,147)	4 (135,138,144,147)	3 (132,135,147)	2 (135,147)	2 (135,147)	
29	STM1052	IX	0,104	3 (210, 218* ,227)	5 (210,227,235*,250*,263*)	1 (227)	1 (227)	1 (227)	
30	STG0025	X	0,365	2 (220,230)	2 (220,230)	2 (220,230)	2 (220,230)	2 (220,230)	
31	STI023	X	0,77	11 (140*,145*,155,160*,165*, 169*,170,175,180* ,185,195)	5 (155,170,175,185,195)	3 (155,175,185)	4 (155,175,185,195)	4 (155,175,185,195)	
32	STI028	XI	0,133	3 (180,187,195)	4 (165*,180,187,195)	1 (195)	2 (187,195)	2 (187,195)	
33	STI046	XI	0,801	9 (165*, 167* ,170,175,185, 195,200,210*,215*)	7 (170,175,178,185,188, 192,195)	7 (175,178,185,188,192, 195,200)	3 (188,192,195)	4 (175,188,192,195)	
34	STM0025	XI	0,747	7 (124,134,136,244,248, 252,258)	8 (124,132*,134,136,244, 248,252,258)	5 (134,136,244,252,258)	4 (136,244,252,258)	6 (134,136,240,244, 248,258)	
35	STM2005	XI	0,176	3 (146,164,188)	3 (146,164,188)	1 (164)	1 (164)	1 (164)	
36	STI017	XI	0,469	3 (135,150,155)	3 (135,150,155)	2 (135,155)	4 (125,135,150,155)	4 (125,135,150,155)	
37	STI0030	XII	0,562	3 (99,102, 105*)	2 (99,102)	2 (99,102)	1 (102)	2 (99,102)	
38	STM5121	XII	0,501	3 (297,300,306)	3 (297,300,306)	3 (297,300,306)	1 (297)	2 (297,306)	
39	STM0030	XII	0,698	9 (125*,131,133,135,139, 147,155,160,163)	5 (131,135,139,147,163)	2 (131,135)	4 (133,147,155,160)	3 (131,135,147)	
40	STG0003	XII	0,505	4 (117,121,125,127)	4 (117,119*,121,131)	2 (117,121)	4 (117,121,125,127)	2 (117,121)	
41	STI054	XII	0,39	2 (149,159)	3 (149,159,165*)	2 (149,159)	2 (149,159)	2 (149,159)	
42	STI037	0,055	4 (142 ,149,155*, 165)	1 (149)	1 (149)	1 (149)	2 (149,165)	1 (149)	
43	STM3023b	0,370	3 (177,179,187)	5 (177,179,187,191*,197)	2 (177,187)	2 (177)	1 (177)	1 (177)	
Rango de alelos encontrados				1 - 11		1 - 7		1 - 4	
Rango de tamaños alélicos				96 - 270		94 - 310		94 - 310	

Negrita. Alelos raros (frecuencia < 0,01)

* Alelos privados (únicos) en cada población

Marcador más polimórfico por población

Tabla 4. Valores de *Fis* para cada loci en cada población de *S. phureja* y el test exacto de equilibrio Hardy-Weinberg (H1: exceso de heterocigotos) de acuerdo con Weir and Cokerham (1984). El *P-value* total a partir de un test global para estimar la significancia de poblaciones en equilibrio Hardy-Weinberg (H1: exceso de heterocigotos) de acuerdo con Rousset and Raymond (1995).

Marcador	Col			IPK			Spm			Cc			Spv		
	Fis	DE	P	Fis	DE	P	Fis	DE	P	Fis	DE	P	Fis	DE	P
STI043	0,324	0,000	0,9984	0,263	0,001	0,9964	0,105	0,005	0,7476	-0,067	0,004	0,8897	-0,600	0,001	0,0112
STI031	-0,086	0,000	1,0000	0,363	0,003	0,9659	0,185	0,003	0,9685	-	-	-	-	-	-
STM1049	0,329	0,000	1,0000	0,302	0,008	0,5914	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STI029	0,512	0,000	1,0000	0,547	0,000	1,0000	0,339	0,004	0,8294	0,667	0,000	1,0000	0,097	0,010	0,8222
STM5114	-0,185	0,002	0,0134	0,229	0,001	0,9893	-0,547	0,000	0,0003 *	-0,667	0,004	0,1270	-0,309	0,005	0,0873
STM1064	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STM1008	0,059	0,001	0,9992	0,520	0,003	0,9458	-0,380	0,001	0,0108	-0,667	0,004	0,1278	-0,455	0,002	0,2920
STG0018	-0,215	0,004	0,9846	0,266	0,002	0,9943	-0,258	0,005	0,0816	-0,482	0,003	0,2033	-0,333	0,002	0,4682
STM1053	0,481	0,000	1,0000	0,442	0,000	0,9981	-0,235	0,002	0,3591	-	-	-	-	-	-
STG0022	-0,017	0,009	0,9165	0,415	0,003	0,9871	-	-	-	-	-	-	1,000	0,000	1,0000
STG0010	0,336	0,001	0,9938	0,277	0,003	0,9112	0,178	0,007	0,6867	0,714	0,000	1,0000	0,415	0,001	0,9966
STI020	-0,005	0,000	0,9941	1,000	0,000	1,0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STI026	0,115	0,000	1,0000	0,407	0,004	0,9475	0,417	0,005	0,6103	-	-	-	1,000	0,000	1,0000
STI002	0,564	0,000	1,0000	0,549	0,004	0,9617	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STP0AC58	0,173	0,000	1,0000	0,474	0,002	0,9885	0,846	0,000	1,0000	-	-	-	-	-	-
STI049	0,272	0,000	1,0000	0,209	0,007	0,9730	-0,596	0,000	0,0000 *	-1,000	0,002	0,1297	-	-	-
STI032	0,565	0,000	1,0000	0,481	0,002	0,9851	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STG0009	-0,077	0,000	0,9990	0,657	0,000	1,0000	-0,500	0,001	0,0259	-	-	-	1,000	0,000	1,0000
STI021	0,625	0,000	1,0000	0,281	0,008	0,9869	0,000	0,014	0,6502	-0,333	0,002	0,6653	-0,333	0,003	0,1523
STI015	0,373	0,000	1,0000	0,273	0,004	0,9802	-0,057	0,002	0,9810	-0,143	0,002	0,8869	-	-	-
STI0033	-0,096	0,000	1,0000	0,318	0,004	0,9614	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STI022	0,239	0,000	0,9997	0,644	0,000	1,0000	0,288	0,001	0,9666	-0,333	0,002	0,6660	-0,067	0,001	0,9372
STI003	0,335	0,000	0,9993	0,487	0,001	0,9980	0,911	0,000	1,0000	1,000	0,000	1,0000	0,636	0,000	1,0000

Tabla 4. Continuación

Marcador	Col			IPK			Spm			Cc			Spv		
	Fis	DE	P	Fis	DE	P	Fis	DE	P	Fis	DE	P	Fis	DE	P
STM1104	0,777	0,000	1,0000	0,881	0,000	1,0000	1,000	0,000	1,0000	-	-	-	-	-	-
STI0003	-0,208	0,001	0,9949	-0,255	0,008	0,2072	-0,313	0,002	0,1860	-	-	-	-0,111	0,002	0,6536
StwaX2	-0,344	0,000	0,0000 *	-0,237	0,004	0,8914	-0,448	0,001	0,0463	-0,600	0,002	0,3839	-0,067	0,001	0,9427
STM1016	0,809	0,000	1,0000	0,690	0,000	0,9999	0,759	0,000	1,0000	0,733	0,000	1,0000	0,860	0,000	1,0000
STGBSS	0,910	0,000	1,0000	0,351	0,003	0,9621	-0,075	0,001	0,9826	-0,600	0,002	0,3778	-0,067	0,001	0,9425
STM1052	0,199	0,000	0,9991	0,000	0,013	0,7189	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STG0025	-0,099	0,001	0,9957	-0,519	0,002	0,0970	0,784	0,000	1,0000	-	-	-	-1,000	0,001	0,0106
STI023	0,290	0,000	1,0000	0,636	0,000	1,0000	0,823	0,000	1,0000	0,172	0,005	0,8533	0,458	0,002	0,9931
STI028	-0,035	0,006	0,7917	0,040	0,004	0,9582	-	-	-	-	-	-	-0,143	0,002	0,8193
STI046	0,288	0,000	0,9995	0,273	0,003	0,9899	0,144	0,014	0,7884	-0,667	0,004	0,1347	0,314	0,003	0,9787
STM0025	-0,298	0,000	0,0000 *	-0,177	0,011	0,1106	-0,347	0,001	0,0011 *	-0,482	0,005	0,1296	-0,210	0,010	0,1778
STM2005	-0,011	0,009	0,5153	0,155	0,003	0,9730	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STI017	-0,640	0,001	0,9960	-0,333	0,003	0,1393	-0,750	0,008	0,6132	0,000	0,006	0,6867	-0,011	0,008	0,6316
STI0030	0,010	0,001	0,9967	0,111	0,002	0,8377	-0,256	0,002	0,0528	-0,600	0,002	0,3809	-0,116	0,003	0,9017
STM5121	-0,005	0,001	0,9902	0,890	0,000	1,0000	0,234	0,001	0,9894	-	-	-	-0,778	0,001	0,0537
STM0030	0,334	0,000	1,0000	0,811	0,000	1,0000	-0,500	0,001	0,0243	-0,429	0,005	0,1247	0,632	0,001	0,9972
STG0003	-0,216	0,002	0,9887	0,071	0,003	0,9718	0,113	0,003	0,8446	-0,250	0,006	0,3969	-0,778	0,001	0,0537
STI054	-0,959	0,000	0,0000 *	0,192	0,001	0,9960	-1,000	0,000	0,0000 *	-1,000	0,002	0,1262	-0,455	0,002	0,2906
STI037	0,511	0,001	0,9983	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
STM3023b	-0,278	0,001	0,9892	-0,143	0,014	0,5630	-0,680	0,000	0,0014	-	-	-	-	-	-
TOTAL TEST	<i>P</i> = 1,0000			<i>P</i> = 1,0000			<i>P</i> = 0,9999			<i>P</i> = 0,0190**			<i>P</i> = 0,9792		
GLOBAL	DE=0,0000			DE=0,0000			DE=0,0000			DE=0,0007			DE=0,0012		

P= Probabilidad

* Valor de significancia después de la corrección por Bonferroni (*P* < 0,0012)

DE=Desviación estandar

** Valor de significancia (*P* < 0,05)

- = Marcadores monomorficos para esa población

De forma global cuatro poblaciones estudiadas estuvieron en EHW y fueron, i. Col ($P=1,0000$ $DE=0,0000$) donde los únicos SSRs que estuvieron en desequilibrio HW fueron STI054, STM0025 y StwaX2; ii. IPK ($P=1,0000$ $DE=0,0000$) en esta población ningún marcador mostró desequilibrio HW significativo; iii. Spm ($P=0,9999$ $DE=0,0000$), en esta población nueve marcadores estuvieron significativamente en desequilibrio HW (STM1008, STM5114, STI054, STI049, STM3023b, STM0025, STM0030, StwaX2 y STG0009), después de la corrección por Bonferroni solamente STM5114, STI054, STI049 y STM0025 presentaron exceso de heterocigotos; iv. Spv ($P=0,9792$ $DE=0,0012$), en esta población solo dos SSRs estuvieron en desequilibrio HW (STI043 y STG0025) y al aplicar la corrección por Bonferroni esta significancia desapareció (tabla 4). La población Cc fue la única que se encontró en desequilibrio HW ($P=0,0190$ $DE=0,0007$), en esta población 16 SSRs evaluados fueron homocigotos y únicamente dos SSRs presentaron un exceso significativo de heterocigotos (STI043 y STG0025), eliminándose esta significancia después de la corrección de Bonferroni.

Desequilibrio de ligamiento

El análisis de desequilibrio de ligamiento (DL) por población indicó que en tres de las poblaciones estudiadas (Col, IPK y Spm) se presentaron marcadores en DL significativo después de la corrección de Bonferroni. En la población Col, 64 (7%) comparaciones de marcadores (marcador uno vs. marcador dos) se encontraron en DL significativo ($P = 0,000000-0,000990$) de un total de 903 comparaciones entre locus; en esta población los marcadores que se encontraron con un mayor número de loci en DL (siete – ocho) fueron, STGBSS, STI029, STM1104 y STG0018 (tabla 5a).

En la población IPK únicamente seis pares (0,66%) de marcadores se encontraron en DL distribuidos en diferentes grupos de ligamiento y con un rango de probabilidad que varió de 0,000000 a 0,000130 (tabla 5b). En la población de mejoramiento Spm, tres pares de marcadores estuvieron en DL con valores de probabilidad de 0,000000 (tabla 5c). En general dentro de las poblaciones Col e IPK la pareja de SSRs, STI0033-STI054, se encontró en DL para las dos poblaciones y entre las poblaciones Col y Spm las parejas STM1016-STM0025, STI003-STI0003 y STwaX2-STGBSS coincidieron al encontrarse en DL.

Los marcadores STG0003, STG0025, STI0030, STM1016, STM2005, StwaX2, STM0025, STM0030, STGBSS, STG0018, STM2005 y STM1053 (resaltados en la tabla 6) son SSRs reportados por la *Sol Genomics Network* de la Universidad de Cornell (Bombarely *et al.*, 2010) como marcadores asociados por posición dentro de un grupo de ligamiento y algunos QTL (*Quantitative Trait Locus*) que controlan la resistencia a *Phytophthora infestans* agente causal de la principal enfermedad de la papa a nivel mundial conocida como gota (*late blight*).

Tabla 5. Determinación de pares de loci en desequilibrio de ligamiento para las diferentes poblaciones asumiendo un Ho: independencia de genotipos entre los loci.

a. Marcadores en DL dentro de la población Col									
No.	Marcador 1	Marcador 2	P-Value	DE	No.	Marcador 1	Marcador 2	P-Value	DE
1	STI031 [†] (I)	STM1104 [†]	0.000330	0.000330	4	STGBSS [†] (VIII)	STG0018	0.000430	0.000316
		STM5114	0.000000	0.000000			STM1104 [†]	0.000000	0.000000
		STI015 [†]	0.000000	0.000000			STI023	0.000000	0.000000
		STI003	0.000000	0.000000			STI021 [†]	0.000000	0.000000
		STI002	0.000000	0.000000			STM0025 [†]	0.000000	0.000000
		STI028	0.000000	0.000000			STM1016	0.000000	0.000000
		STM1008	0.000000	0.000000			StwaX2 [†]	0.000000	0.000000 **
2	STG0018 [†] (III)	STG0003	0.000000	0.000000	5	STM1104 [†] (VIII)	STG0022	0.000000	0.000000
		STG0025	0.000750	0.000512			STM1016	0.000000	0.000000
		STI0030	0.000200	0.000200			STM0025 [†]	0.000000	0.000000
		STM1016	0.000990	0.000710			STM0030	0.000000	0.000000
		STM2005	0.000000	0.000000			StwaX2 [†]	0.000000	0.000000
3	STI029 [†] (II)	StwaX2 [†]	0.000600	0.000286	6	STI023 [†] (X)	STI015 [†]	0.000000	0.000000
		STI026	0.000000	0.000000			STI021 [†]	0.000000	0.000000
		STPoAC58 [†]	0.000000	0.000000			STI046	0.000000	0.000000
		STI021 [†]	0.000000	0.000000			STM1053	0.000820	0.000820
		STI022	0.000000	0.000000			STPoAC58 [†]	0.000000	0.000000
		STI046	0.000000	0.000000			STI015 [†]	0.000000	0.000000
		STI049	0.000000	0.000000					
STI043	0.000000	0.000000							

b. Marcadores en DL dentro de la población IPK				c. Marcadores en DL dentro de la población Spm					
No.	Marcador 1	Marcador 2	P-Value	DE	No.	Marcador 1	Marcador 2	P-Value	DE
1	STI0033 (VII)	STI054	0.000000	0.000000 *	1	STM1016 (VIII)	STM0025	0.000000	0.000000 **
2	STI015 (VI)	STM0030	0.000680	0.000572	2	STI003 (VII)	STI0003	0.000000	0.000000 **
3	STI031 [†] (I)	STM1049	0.000340	0.000179	3	StwaX2 (VIII)	STGBSS	0.000000	0.000000 **
4	STM1008 (II)	STI003	0.000690	0.000351					
5	STM1049 [†] (I)	STI017 [†]	0.000340	0.000330					
6	STM1052 (IX)	STM2005	0.000130	0.000130					

* Parejas de locus que se encuentra en DL entre las poblaciones Col e IPK ($P < 0,0012$)

** Parejas de locus que se encuentra en DL entre las poblaciones Col y Spm ($P < 0,0012$)

† Locus que se encuentra en DL con mas de dos locus dentro de la misma población

Negrita: SSRs posiblemente asociados con resistencia a *Phytophthora infestans*

DE = Desviación estandar

Análisis de diferenciación poblacional

Con el AMOVA calculado para las cinco poblaciones (AMOVA general) se encontró que todas las pruebas de diferenciación para los diferentes niveles jerárquicos fueron significativas, no

detectándose diferencias estadísticas dentro y entre las poblaciones de *S. phureja* estudiadas. La mayor parte de la varianza estimada para las cinco poblaciones fue encontrada entre individuos dentro de poblaciones (89,15%, $F_{IT} = 0,98113$, $P=0,00000$), luego entre poblaciones (8,97%, $F_{ST}=0,08966$, $P= 0,00525$) y finalmente dentro de individuos (1,89%, $F_{IS}=0,97928$, $P= 0,00000$) (tabla 6).

Tabla 6. Análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA) e índices de diversidad F (Weir and Cockerham, 1984).

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Índices de fijación	P-valor
Entre poblaciones (F_{ST})	4	9107994,78	39073,70	8,97	0,08966	0,00525*
Entre individuos dentro de poblaciones (F_{IT})	141	110718826,8	388509,1108	89,15	0,98113	0,00000*
Dentro individuos (F_{IS})	146	1200366	8221,68493	1,89	0,97928	0,00000*
Total	291	121027187,6	43580,49203			

gl : Grados de libertad

* $P \leq 0,05$

Los coeficientes de diferenciación genética calculados entre las poblaciones naturales y de mejoramiento fueron significativos y son presentados en la tabla 7. Las poblaciones de mejoramiento presentaron los valores de F_{IS} más bajo ($F_{IS} = -0,03306$, $P = 0,01271^*$), indicando que poseen un mayor número de individuos heterocigotos dentro de cada población, bajo el supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg, lo cual era de esperarse al ser poblaciones construidas entre padres contrastantes como es el caso de Spm y Spv. En las poblaciones naturales el valor de F_{IS} fue de 0,17115 ($P = 0,00000^*$), indicando un posible mayor número de homocigotos dentro de las poblaciones Col e IPK. Es posible que la frecuencia promedio de alelos nulos encontrada en las poblaciones Col e IPK (0,1152 y 0,1905 respectivamente) a pesar de no ser tan alta explique en cierta proporción la deficiencia de heterocigotos observada en estas poblaciones naturales.

En cuanto a la diferenciación genética entre individuos dentro de poblaciones (F_{IT}), nuevamente las poblaciones de mejoramiento presentaron el valor más bajo ($F_{IT} = 0,16732$, $P = 0,00391^*$) lo que sugiere una menor pérdida de heterocigotos entre estas poblaciones comparado con el de las poblaciones naturales ($F_{IT} = 0,25103$, $P = 0,00000^*$).

A nivel general las cinco poblaciones presentaron una diferenciación genética moderada ($F_{ST} = 0,08966$, $P = 0,00525^*$), siendo específica esta tendencia entre las poblaciones naturales ($F_{ST} = 0,09636$, $P = 0,00000^*$) y relativamente más alta entre las poblaciones de mejoramiento ($F_{ST} = 0,19397$, $P = 0,00000^*$). La moderada diferenciación genética presentada entre las cinco poblaciones y el porcentaje de variación encontrado entre individuos dentro de las poblaciones (89,15%) puede ser explicado al origen biológico de cada una de estas poblaciones, ya que se encuentran genotipos que crecieron en condiciones naturales (Col e IPK) y genotipos provenientes de cruces entre parentales contrastantes (Spm y Spv) que a excepción de la población Cc, constituyen poblaciones F1 de hermanos completos.

Tabla 7. Comparación de índices de diversidad F (Weir and Cockerham, 1984) y heterocigosidad estimada (Nei, 1987) entre poblaciones naturales, de mejoramiento y a nivel general (naturales y de mejoramiento).

Poblaciones	F _{IS}	F _{ST}	F _{IT}	H _o	H _s	H _t	D _{st}	D _{st'}	H _{t'}	G _{st}	G _{st'}	G _{is}
Natural	0,17115	0,09636	0,25103	0,424	0,555	0,582	0,026	0,053	0,608	0,045	0,087	0,237
<i>P</i>	0,00000*	0,00000*	0,00000*									
Mejoramiento	-0,03306	0,19397	0,16732	0,365	0,342	0,395	0,054	0,080	0,422	0,135	0,190	-0,069
<i>P</i>	0,01271*	0,00000*	0,00391*									
General	0,97928	0,08966	0,98113	0,389	0,431	0,496	0,065	0,082	0,513	0,132	0,159	0,098
<i>P</i>	0,00000*	0,00525*	0,00000*									

F_{IS}: Coeficiente de endogamia dentro de poblaciones

F_{ST}: Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones

F_{IT}: Coeficiente de endogamia total.

H_o: Heterocigosis observada

H_s: Heterocigosis esperada en las poblaciones

H_t: Diversidad genética total

H_{t'}: Diversidad genética total más diversidad entre poblaciones

D_{st}: Diversidad genética entre las poblaciones

D_{st'}: D_{st} corregida para el número de poblaciones

G_{st}: Índice de subdivisión poblacional

G_{st'}: G_{st} corregida por el número de poblaciones

* $P \leq 0,05$

La distribución de parámetros de diversidad genética en promedio para los 43 SSRs dentro de las poblaciones naturales, de mejoramiento y a nivel general (cinco poblaciones) se presenta en la tabla 7. La diversidad genética total (H_t) entre las cinco poblaciones fue de 0,496, siendo mayor entre las poblaciones naturales (H_t = 0,582) comparada con la diversidad entre las poblaciones de mejoramiento (H_t = 0,395). La diversidad genética dentro de las poblaciones (H_s – heterocigosis esperada en las poblaciones) siguió la misma tendencia que la H_t, siendo mayor para las poblaciones naturales (H_s = 0,555). El índice de diferenciación subpoblacional para alelos múltiples, G_{st} general (G_{st} = 0,132), indicó que sólo un 13% del total de la diversidad genética detectada fue explicada por las diferencias entre poblaciones. En el caso de las poblaciones naturales el G_{st} fue más bajo que el determinado para las poblaciones de mejoramiento (0,045 y 0,135 respectivamente). Tanto los valores de G_{st} como los de G_{is} (0,237 – poblaciones naturales, -0,069 en poblaciones de mejoramiento y 0,098 general) fueron coincidentes con los valores determinados para F_{ST} y F_{IS}.

Análisis de R_{st} y flujo genético

Los valores obtenidos por el estadístico de diferenciación poblacional R_{st} calculado entre pares de poblaciones para los 43 SSRs analizados, oscilaron entre -0,03417 y 0,23635, con un promedio general equivalente a 0,073024 (tabla 8). Este valor aunque menor que el obtenido mediante los estadísticos F_{st} y G_{st} (0,089 y 0,132 respectivamente, tabla 7) siguen mostrando una heterogeneidad genética relativamente moderada entre las cinco poblaciones de *S. phureja*. Con el estadístico R_{st}, los marcadores revelaron diferencias estadísticamente significativas solamente entre tres pares de poblaciones después de la corrección por Bonferroni ($P \leq 0,01$; H_o: uniformidad entre poblaciones), Col-IPK (R_{st} = 0,23635, $P = 0,0000$), IPK-Spm (R_{st} = 0,23316, $P = 0,0000$) y IPK-

Spv ($R_{st} = 0,04505$, $P = 0,0152$), indicando la diferenciación entre las poblaciones naturales Col e IPK y entre esta última y las poblaciones de mejoramiento.

Las estimas de flujo genético (Nm) por el método de tasa de migración efectiva por generación (Slatkin, 1995) a partir de R_{st} , mostró valores entre un rango de 1,616 a 317,669 con un promedio de $N_m = 53,953$. Teniendo en cuenta que solo tres parejas de poblaciones presentaron diferencias significativas en a nivel del R_{st} (tabla 8), el Nm promedio entre estas tres comparaciones fue de 2,082. Con el método de alelos privados (Slatkin 1985) a partir del F_{st} , se obtuvo un Nm después de la corrección por tamaño equivalente a 1,6361 (tamaño promedio por población = 29,1905; frecuencia media de alelos privados $p(1) = 0,0535$).

Tabla 8. Valores de R_{st} y flujo genético Nm (Slatkin, 1995) para genotipos diploides de *S. phureja*.

Población 1	Población 2	R_{st}	P - valor	Nm**
Col	IPK	0,23635	0.00000 \pm 0.0000 *	1,61554
Col	Spm	0,00888	0.57658 \pm 0.0364	55,83642
Col	Cc	-0,03417	0.72973 \pm 0.0497	infinito
Col	Spv	0,00157	0.69369 \pm 0.0490	317,65973
IPK	Spm	0,23316	0.00000 \pm 0.0000 *	1,64447
IPK	Cc	0,09677	0.35135 \pm 0.0212	4,66704
IPK	Spv	0,14344	0.04505 \pm 0.0152 *	2,98587
Spm	Cc	-0,01636	0.52252 \pm 0.0572	infinito
Spm	Spv	0,04732	0.39640 \pm 0.0454	10,06548
Cc	Spv	0,01328	0.32432 \pm 0.0411	37,14959

* Valores significativos ($P \leq 0,05$)

** Flujo genético ($N_m=M$) calculado a partir de R_{st}

Asignación poblacional

La asignación de individuos a una población K específica, realizada con Structure mostró los mismos resultados asumiendo dos valores de diferenciación entre poblaciones F_{st} (0,001 y 0,089) y un modelo “*admixture*” para inferir que cada individuo representa alguna fracción de su genoma en cada una de las K poblaciones, es decir que los genotipos pudieran haber estado mezclados ancestralmente por lo que cada individuo ha heredado alguna fracción del genoma de sus ancestros en la población K (figura 1). En los dos análisis que se efectuaron con los diferentes valores de F_{st} , se presentó un continuo aumento de la bondad de ajuste estadístico, $\ln [P(D)]$, en comparación con el número de poblaciones K , es decir que aunque hubo convergencia entre el número de iteraciones y el número posibles de K , no se logró una estabilidad en la determinación del número de poblaciones K después de la asignación probabilística. Por lo tanto, para determinar el K óptimo que represente la estructura poblacional de los genotipos diploides de *S. phureja* se estableció la metodología de Evanno *et al.* (2005), determinando que un ΔK (diferencial de K) presentó un punto de inflexión (máxima verosimilitud) en $K=3$ (figura 2).

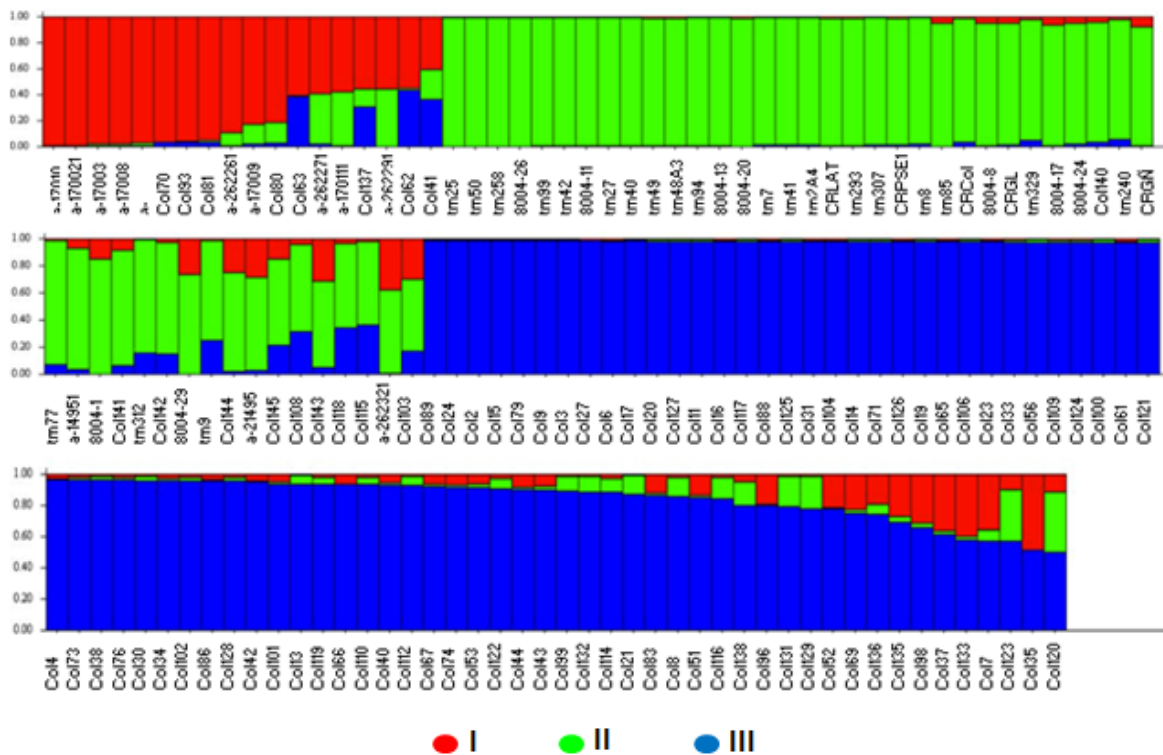


Figura 3. Estructura poblacional. *Bar-plot* de genotipos de la población de estudio generados por STRUCTURE v. 2.3.3 utilizando el modelo *admixture* y frecuencias alélicas independientes. Las agrupaciones (K poblaciones) son identificadas con colores (poblaciones I, II y III), cada columna representa un genotipo (146 en total) y se divide en segmentos (probabilidades) que indican su origen genético probable. I. Agrupamiento entre genotipos de la población IPK y algunos Col. II. Agrupamiento de las poblaciones de mejoramiento Spm, Cc y Spv. III. Agrupamiento de la mayoría de genotipos de la población Col.

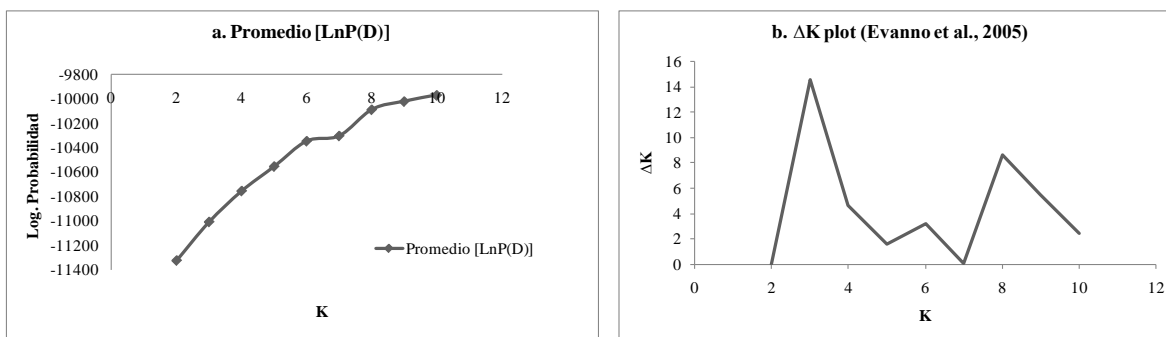


Figura 4. Número de agrupamientos con mayor verosimilitud [LnP(D)] para todas las poblaciones de *S. phureja* obtenido mediante el método de Evanno *et al.* (2005). a. Verosimilitud promedio de diez corridas para cada una de las posibles poblaciones K (dos a diez). b. Valor modal de las diferencias de verosimilitud (ΔK) estandarizado con la desviación estándar de los datos. A partir de esta última se puede observar que la mayor probabilidad se encuentra en tres agrupaciones ($K = 3$).

Considerando las tres poblaciones ($K=3$) se observó que en la población I (rojo) constituida por 18 genotipos en total, se encuentran asignados diez genotipos de la población IPK (identificados con la letra “a”, figura 1) con ocho de la población Col (p.ej. Col70, Col8, Col 63, Col41), algunos de estos genotipos como Col 41 y Col62 presentaron la probabilidad de pertenecer a más de una población, es decir a parte de pertenecer al grupo I, estos genotipos tienen en promedio una probabilidad del 40% de ser asignados a los grupos II y III indicando que en algún grado comparten información genética con los individuos de los otros grupos. En el grupo II se encuentra constituido por 49 genotipos, distribuidos entre los 22 genotipos de la población Spm, cinco de la población Cc, nueve de la población Spv, tres de la población IPK y nueve genotipos de la población Col. En este caso, tanto los genotipos de la población IPK como los Col, presentan en promedio un 40% de pertenecer a dos o tres poblaciones. Finalmente, el grupo III compuesto por 79 genotipos, reúne en su totalidad genotipos de la población Col, donde los últimos 25 (figura 1) presentan una probabilidad de pertenecer a otro grupo la cual varía desde un 10% al 40%.

Discusión

Polimorfismo de los SSR y riqueza alélica

Los valores promedios de información polimórfica de los SSRs evaluados en las cinco poblaciones de estudio de esta investigación ($PIC = 0,465$), indican que son marcadores medianamente informativos según la clasificación de Botstein *et al.*, (1980). Estudios previos de SSRs donde se incluyen genotipos diploides de *S. tuberosum* muestran valores de PIC en un rango de 0,000 – 0,641 (Ghislain *et al.*, 2006) y 0,250 – 0,892 (Ghislain *et al.*, 2009); por lo tanto nuestros resultados de PIC se encuentran dentro del rango esperado comparado con investigaciones previas. Ghislain *et al.* (2009) indican que para *S. tuberosum* un el uso de SSRs que presenten altos valores de PIC ($> 0,5$), es el más apropiado para la caracterización genética de una población. En caso que los valores de PIC sean menores a 0,5, sería necesario aumentar el número de marcadores.

Es posible que los valores de PIC medianamente informativos de nuestra investigación se vean influenciados por dos aspectos: i) El análisis conjunto del polimorfismo de una población en el que se incluyen tanto poblaciones naturales como de mejoramiento. Es de esperarse que las poblaciones de mejoramiento presenten una reducción de la diversidad, o cuello de botella, debido a un proceso de selección artificial. Pero se ha observado que en poblaciones de mejoramiento o comerciales europeas de papas tetraploides los valores de PIC aproximadamente de 0,66 (D’hoop *et al.*, 2010) se asemejan a los valores obtenidos en poblaciones naturales de papa tetraploide de la región Andina (Ghislain *et al.*, 2009). Este comportamiento ha sido explicado, gracias a la alta heterocigosidad que posee la papa la cual posiblemente evita que en las papas de mejoramiento se pierda en alto grado su diversidad genética (D’hoop *et al.*, 2010). ii) El hecho de que nuestro estudio incluye exclusivamente genotipos diploides y al comparar los valores de PIC de SSRs con los estudios donde se incluye genotipos tetraploides (Ghislain *et al.*, 2009), el factor poliploide de estos genotipos permita encontrar un mayor número de formas alélicas.

Los resultados relacionados con el número de alelos y su frecuencia, obtenidos con el uso de SSRs entre poblaciones naturales y de mejoramiento de *S. phureja* (tabla 2), indican la reducción en el número de alelos (cuatro aproximadamente) dentro de las poblaciones de mejoramiento en comparación con las naturales. Es decir, se presentó una reducción en el polimorfismo de algunos

marcadores (p.ej. STM1052, STM3023b) al ser evaluados dentro de las poblaciones de mejoramiento, contribuyendo a la reducción en el PIC general. Por lo tanto, si se desea encontrar un mayor número de polimorfismos en poblaciones de mejoramiento de *S. phureja*, sería necesario aumentar el número de marcadores que evidencien mayor polimorfismo (Ghislain *et al.*, 2009). Por ejemplo, en poblaciones de mejoramiento de *S. tuberosum* de Europa, se ha utilizado un grupo de 53 SSRs (D'hoop *et al.*, 2010) seleccionados a partir de las mismas fuentes bibliográficas que se utilizaron para este estudio (Ghislain *et al.*, 2009; Feingold *et al.*, 2005; Ghislain *et al.*, 2004; Milbourne *et al.*, 1998). Así mismo, para poblaciones de mejoramiento se ha implementado el uso complementario de marcadores moleculares tipo AFLPs (D'hoop *et al.*, 2010) o RAPDs (Ghislain *et al.*, 1999) con los que se puede analizar un mayor número de loci polimórficos para este tipo de poblaciones.

Entre las poblaciones naturales los 43 SSRs evaluados permitieron identificar un mayor número de alelos polimórficos por loci (1 – 11 alelos en Col y 1-9 en IPK, tabla 2) y a la vez observar tanto alelos raros como privados dentro de estas poblaciones comparados con las poblaciones de mejoramiento, donde la presencia de este tipo de alelos solamente ocurrió en la población Spv (un alelo privado). La coincidencia entre los tamaños de fragmentos observados y el reportado en la literatura (Ghislain *et al.*, 2009; Feingold *et al.*, 2005; Ghislain *et al.*, 2004; Milbourne *et al.*, 1998) al igual que el número de alelos encontrados por SSRs dentro de las poblaciones naturales, indican que el grupo de los 43 SSRs seleccionados en este estudio serían de gran utilidad para análisis de diversidad, conservación y estructura poblacional de bancos de germoplasma de papas diploides de *S. tuberosum* grupo Adigenum.

Se ha descrito que en el caso de papa un grupo de 24 SSRs que posea un alto nivel de resolución y de polimorfismo y una distribución uniforme en los 12 grupos de ligamiento de la especie (10 cM de distancia genética entre marcadores y por lo menos dos marcadores por grupo de ligamiento), permitiría identificar potenciales duplicados entre genotipos nativos de bancos de germoplasma, caracterizar genéticamente líneas y cultivares avanzados de los programas de mejoramiento específicos para papas del grupo *Chilotanum* (Feingold *et al.*, 2005), papas que han pasado un proceso similar de selección y domesticación al de *S. phureja*, a nivel de su adaptación ecogeográfica (p.ej adaptación a condiciones diferentes de temperatura) (Spooner *et al.*, 2010) y selección humana hacia características como la ausencia de dormancia, características del tubérculo entre otras (Hawkes 1990; Ghislain *et al.*, 2006; Sukhotu and Hosaka 2005).

Además de los valores de polimorfismo y de riqueza alélica de los resultados indican que entre los SSRs analizados la proporción significativa de loci en DL fue baja, confirmando nuevamente la utilidad que tiene este grupo de SSRs para los análisis de diversidad y estructura poblacional que se realizaron posteriormente en esta investigación y por otro lado, elucidar que el efecto de la deriva genética en nuestras poblaciones fue bajo. En papa tetraploide se ha reportado que el decaimiento del DL ocurre aproximadamente entre 0,3 (Gebhardt *et al.*, 2004) y 5 cM (D'hoop *et al.*, 2010), por lo tanto el uso de poblaciones que presentaron un alto flujo genético (como se determinó en esta investigación- tabla 8) que posiblemente garantiza un mayor número de recombinaciones genéticas posibles y los factores de selección de los 43 SSRs, como su distribución uniforme en los 12 grupos de ligamiento de papa y su distanciamiento genético, fueron posiblemente los principales factores

que evidenciaron la baja presencia de bloques de ligamiento genético entre los loci analizados en el presente estudio.

Si bien algunos marcadores ubicados en diversos grupos de ligamiento, presentaron DL significativo dentro de las poblaciones Col, IPK y Spm (p.ej STGBSS y STWaX2 – tabla 5) y a la vez es posible que estén asociados con condiciones de resistencia a *P. infestans* (Bombarely *et al.*, 2010; Meyer *et al.*, 2005) o que exista algún efecto de deriva genética asociada a este rasgo de interés agronómico, que esté generando la ocurrencia de DL entre ellos. Estos SSRs podrían ser empleados dentro de un programa de selección asistida por marcadores en papa, donde primero sería necesario validar su funcionalidad partiendo por ejemplo de: i) un análisis más detallado de su ubicación genética y física dentro del genoma de *S. phureja*, es decir mapearlos en una población diploide papas y ii) analizar el patrón de bandeo o de la secuencia que amplifican, en cuanto a su grado de asociación con resistencia o susceptibilidad al ataque del patógeno.

Análisis de heterocigosidad y diferenciación poblacional

Los valores de heterocigosidad media esperada o de diversidad genética para todos los loci en todas las poblaciones estudiadas correspondió a $H_s = 0,43$, considerándose como un valor relativamente alto de diversidad para poblaciones de papas diploides si se compara con los valores de heterocigosidad reportada para *S. tuberosum* grupo Andigenum ($H = 0,54$) (Sukhotu and Hosaka, 2005) donde se incluyen para estos análisis poblacionales genotipos que son diploides, triploides y tetraploides. Estos resultados sugieren que la población de papas diploides del presente estudio, representa y reúne fuertemente la diversidad genética para este grupo de papas que se distribuye desde el oeste de Venezuela hasta el centro de Bolivia, confirmando su condición de colección central.

A la fecha esta investigación se constituye en el primer análisis de diversidad genética poblacional en el que se compara la diversidad entre poblaciones naturales (nativas) y de mejoramiento para papas diploides del grupo Andigenum. Como era de esperarse las poblaciones naturales (Col y IPK) frente a las poblaciones de mejoramiento (Spm, Cc y Spv) presentaron valores más altos de diversidad, $H_s = 0,55$ y $0,33$ respectivamente (tabla 7). Aunque la diversidad entre poblaciones naturales y de mejoramiento se redujo en un 20% aproximadamente, debido posiblemente a los procesos de selección artificial y teniendo en cuenta que algunos de los SSRs empleados en este estudio dentro de las poblaciones naturales no fueron tan polimórficos como en las poblaciones naturales, se puede inferir que en un primer paso de selección artificial como ocurrió para las poblaciones Spm y Spv (F1), la pérdida de diversidad genética no es tan representativa y por lo tanto la aplicación de programas de mejoramiento de papa utilizando estos genotipos puede ser intensificada. Esta característica de la conservación de diversidad genética entre papas nativas y de mejoramiento ya había sido considerada con anterioridad para papas tetraploides, atribuyéndose el fenómeno a la alta heterocigosidad de la papa (D'hoop *et al.*, 2010).

La condición de alogamia (incluida la hibridación intervarietal) y la alta heterocigosidad han sido características que contribuyen a la diversidad genética extrema y probablemente son factores importantes que han posibilitado la pervivencia de la papa (Spooner *et al.*, 2010). Esta alta diversidad ha sido explicada gracias a la evolución filogenética y las fuerzas evolutivas de

selección, migración, mutación, hibridación, poliploidización e introgresión presente en la papa cultivada y sus parientes silvestres (Egúsqüiza, 1987). Dentro de papas tetraploides del grupo *Andigenum*, se ha manifestado que la diversidad genética inicial de este grupo se debe principalmente a la diversificación genómica de su especie silvestre ancestral, conocida como *S. stenotomun* (diploide), la cual se ha modificado gracias a la poliploidización sexual, a la hibridación introgresiva e intervarietal y a la dispersión a grandes distancias de los tubérculos-semilla (Sukotu and Osaka, 2005; Spooner *et al.*, 2007).

Los valores de equilibrio HW (EHW) establecidos en este estudio muestran que cuatro de las cinco poblaciones estudiadas se encuentran en equilibrio (Col, IPK, Spm y Spv), evento que puede ser explicado desde los siguientes aspectos: i) En el caso de las poblaciones Col e IPK se esperaba que por ser poblaciones naturales no estuvieran en equilibrio, pero como se mencionó en el párrafo anterior la hibridación intervarietal en papa es muy alta, factor que podría garantizar un alto grado de cruzabilidad al azar o panmixia. El cruzamiento genético entre papas diploides x diploides o diploides x tetraploides ha sido un factor característico de las papas diploides de Sur América y contribuye a la diversidad genética de esta especie, a la introgresión y transferencia genética, al igual que a la reducción del genoma (reducción de gametas) (Watanabe and Peloquin, 1989, 1991; Matsubayashi, 1991) ii) La presencia de alelos nulos en estas poblaciones fue muy baja y no hubo coincidencia entre los valores de frecuencia promedio de alelos nulos entre poblaciones y entre SSRs (tabla suplementaria 2) iii) Se esperaba que la selección artificial o antropogénica por la que han pasado algunos de los genotipos de este estudio (p.ej. incremento en la variabilidad y el gigantismo de los órganos de interés, cambios en el hábito de crecimiento, hábitat y formas de cultivo (Spooner and Hetterscheid, 2005, Rodríguez, 2009), ejerciera un mayor efecto sobre la disminución de su diversidad genética, pero nuevamente la condición de alogamia de la especie, la propagación clonal (semilla-tubérculo), la alta heterocigosidad, la ausencia de DL en la mayoría de los loci evaluados, e incluso la preferencia de consumo de papas tetraploides y no diploides, son factores que evidencian que el proceso de selección en los genotipos diploides estudiados no contribuye a la desviación del EHW. En resumen la principal causa de que las poblaciones naturales que se encontraron en EHW, corresponde a la panmixia que pueden presentar estas poblaciones.

En las poblaciones de mejoramiento en EHW significativo (Spm y Spv), la fuerza que pueda estar reflejando el mantenimiento de las frecuencias alélicas en la F1 a que corresponden estas poblaciones, puede deberse a que se utilizaron padres altamente contrastantes para su generación y por otro lado a que en las poblaciones F1 de papa se pueda encontrar toda la heterocigosidad genética posible (1:2:1), a partir de este tipo de cruces.

El AMOVA (tabla 6) indicó que la mayor parte de la variación genética total observada fue atribuible a los individuos entre poblaciones (Fit = 0,98 y porcentaje de variación = 89,15%). Este comportamiento se puede explicar gracias al alto flujo genético que se encontró dentro de las poblaciones (Nm en promedio de 1,6 a 53,953 tabla 8), la condición de alogamia de la especie y posiblemente a la presencia del sistema de alelos de rechazo *S* que generan incompatibilidad gametofítica lo cual puede contribuir a la disminución de la capacidad de fecundación de las plantas (Clark, 1993). Dentro del género *Solanum* este último fenómeno ha sido bien documentado y es la principal causa de autoincompatibilidad entre los individuos de las diferentes especies del género (Richman *et al.*, 1995) incluyendo a *S. phureja* (Abdalla and Hermsen, 1971; Cipar *et al.*, 1964).

Tanto el valor de F_{st} (0,089; $P < 0,05$ – tabla 7) como el porcentaje de variación entre las cinco poblaciones (8,97% - tabla 6) mostrados por el AMOVA, indican que existe un moderado nivel de diferenciación poblacional y por lo tanto es un indicio de una pequeña subestructura entre las poblaciones analizadas, posiblemente debido a que se estudiaron poblaciones naturales y poblaciones de mejoramiento, donde estas últimas evidencian un mayor grado de diferenciación genética ($F_{st} = 0,19$; $P < 0,05$ – tabla 7) comparado con el de las naturales ($F_{st} = 0,096$; $P < 0,05$ – tabla 7). Esta subdivisión era de esperarse gracias a que son poblaciones de hermanos completos (Spm y Spv) o medios (Cc) provenientes de cruces entre parentales contrastantes.

Los valores significativos de R_{st} ($P < 0,05$) indican que existe diferenciación poblacional entre las dos poblaciones naturales Col – IPK ($R_{st} = 0,236$), IPK – Spm ($R_{st} = 0,233$) e IPK – Spv ($R_{st} = 0,143$). La población IPK incluye genotipos diploides provenientes de algunos países andinos (Colombia, Perú, Bolivia) y accesiones dihaploides (170021 – 170111) generadas en Alemania, por lo tanto la diferenciación que presenta esta población frente a las otras tres poblaciones se deba únicamente a la presencia de los genotipos dihaploides e incluso la mayoría de estos genotipos conforman en gran proporción una de las poblaciones determinadas en el modelamiento bayesiano (figura 1).

Asignación poblacional

Los análisis de asignación poblacional por modelamiento bayesiano realizados con los diversos valores de diferenciación poblacional ($F_{st} = 0,00$ y 0,089), mostraron la misma asignación poblacional para los diferentes individuos entre tres diferentes K poblaciones. Es de esperar que exista una marcada estructura entre los genotipos provenientes de cruces entre parentales contrastantes como los Spm, Cc y Spv (poblaciones de mejoramiento), la población natural Col que reúne solamente genotipos de Colombia y por último, accesiones de la población IPK donde se concentran genotipos dihaploides y provenientes de otros países (figura 1). Por lo tanto, la estructura que presentan los 146 genotipos de la población de estudio, solamente están indicando una diferenciación debido a que se incluyen poblaciones construidas o de mejoramiento y poblaciones naturales. A la fecha los estudios de estructura poblacional en papa no han identificado algún tipo de estructura para sus poblaciones de estudio (Gebhardt *et al.*, 2004; D'hoop *et al.*, 2010), proponiendo el uso de estas poblaciones para metodologías de mejoramiento como el mapeo por asociación.

Aunque la mayoría de las accesiones de la población Col (Colección Central Colombiana de *S. phureja*) empleadas en esta investigación no poseen datos de pasaporte (tabla suplementaria 1), se esperaba que sí existiera diferenciación poblacional, la cual permitiera inferir o elucidar algún tipo de agrupamiento con respecto a la ubicación geográfica de los pocos materiales que poseen datos de pasaporte dentro de esta población, como es el caso de las accesiones provenientes de la sierra El Cocuy. Sin embargo, como se observa en la asignación poblacional (figura 1), la población Col no presenta ningún tipo de sub-estructura y solamente algunos genotipos poseen bajas probabilidades de pertenecer a las otras dos poblaciones (mezcla de genomas) agrupándose incluso con los genotipos que provienen de otros países como Perú, Bolivia o con las líneas dihaploides de

Alemania (población natural IPK). La falta de asociación directa entre el origen geográfico (países Andinos - Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela y Bolivia) y las relaciones genéticas que determinen estructura genético poblacional en *S. phureja* ya había sido documentado por Ghislain *et al.* (1999; 2006), determinando que se trata de un grupo relativamente homogéneo distribuido a lo largo de los Andes.

Conclusiones

El grupo de SSRs seleccionado permitió caracterizar genéticamente la población estudiada en términos de frecuencias alélicas, el polimorfismo y la riqueza alélica, lo cual llevo a establecer la diversidad genética y la estructura poblacional.

Los resultados encontrados indicaron que la población de estudio presenta una alta diversidad genética, debida posiblemente al alto flujo genético en las poblaciones de estudio y a la diferenciación entre individuos dentro de las poblaciones.

La posible subestructura poblacional encontrada en esta investigación solo pudo ser atribuida a la división entre poblaciones naturales y de mejoramiento, es decir entre poblaciones nativas que han mantenido su identidad genética y poblaciones que han pasado por procesos de selección artificial generadas a partir de cruzamientos contrastantes.

Esta investigación estudia por primera vez en Colombia el acervo genético de *S. phureja* empleando técnicas moleculares y análisis de genética de poblaciones. La Colección Central de Colombia del grupo Phureja, presenta una alta diversidad genética y no presenta estructura poblacional, lo que la ubica en un plano privilegiado para adelantar estudios de mejoramiento molecular y a partir de ella desarrollar marcadores moleculares asociados a diferentes rasgos de interés que puedan ser utilizados en los programas de mejoramiento del país, tanto a nivel de pre-mejoramiento como de selección de progenies. Este conocimiento se suma y enriquece el conocimiento mundial y da valor agregado a la Colección Central Colombiana grupo Phureja.

Perspectivas

Al no presentarse estructura poblacional en ninguna de las poblaciones naturales estudiadas, se puede indicar que las accesiones de estas poblaciones, pueden ser empleadas en la búsqueda de marcadores moleculares diagnóstico para diferentes rasgos de interés en papa, empleando la metodología de mapeo por asociación o en los programas de mejoramiento genético para la selección de progenitores en la fase de pre-mejoramiento y selección de progenies. Este es un horizonte de largo aliento para Colombia, con unas bases científicas sólidas que con una investigación sistmática permitiría el desarrollo de marcadores moleculares diagnóstico para diferentes rasgos.

Para verificar o complementar la información obtenida en este estudio es importante realizar análisis sobre i) el efecto que ha ejercido la selección artificial o antropogénica sobre las

poblaciones naturales de *S. phureja*, ii) el índice de diferenciación Rho (un análogo de Fst y Rst específico para SSRs) y iii) la estructura poblacional a partir de otras metodologías (p.ej. análisis por distancia o similitud genética).

Para conocer las ventajas que ofrecen los diferentes genotipos de la población de estudio dentro de los programas de mejoramiento es necesario realizar una caracterización morfológica actualizada de las diferentes variaciones que pueden presentar estos genotipos que permita complementar los resultados genéticos.

De acuerdo con los resultados la población diploide de *S. phureja* mantenida en Colombia posee una alta diversidad genética. Sin embargo, los continuos cambios en la demanda así como en los factores bióticos, abióticos y culturales obligan a continuar con la caracterización genética y fenotípica de estos genotipos y con la colecta sistemática de accesiones que aporten a la preservación de la diversidad genética de la papa.

Agradecimientos

A la Dra. Christiane Gebhardt, del grupo de investigación *Potato Genome Analysis* del *Max Planck Institute for Plant Breeding Research* en Alemania, por el apoyo científico y el desarrollo de algunos análisis en su laboratorio.

Dr. Klaus J. Dehmer, curador del Bundeszentrale *ex-situ* Genbanklandwirtschaftlicher und gärtnerischer Kulturpflanzen. Leibniz-Institut fuer Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), por el suministro de genotipos de *S. phureja*.

Al apoyo científico de: la Dra. Elena Brochero (Universidad Nacional de Colombia), Dr. Agim Ballvora (Universidad de Bonn - Alemania) y al investigador Álvaro Soler (Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT). Este proyecto se realizó con la financiación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, proyecto "Identificación de marcadores moleculares asociados a resistencia a *Phytophthora infestans* mediante estudio de asociación rasgo-marcador en *Solanum phureja*" (2008S72170-6187).

Bibliografía

Abdalla M. and Hermesen J. (1971). A two-loci system of gametophytic incompatibility in *Solanum phureja* and *S. stenotomum*. *Euphytica* 20 (3): 345-350.

Atlas Mundial de la Papa. 2012. Red Electrónica de la Papa, Red de papa. Centro Internacional de la Papa. En: <http://redepapa.org/2010/01/29/atlas-mundial-de-la-papa/>, consultado en mayo de 2012.

Balloux F. and Lugon-Moulin N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11: 155-165.

Barton N. and Slatkin M. (1986). A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity* 56: 409-416.

Bombarely A., Merchante C., Csukasi F., Cruz-Rus E., Caballero J., Medina-Escobar N., Blanco-Portales R., Botella M., Muñoz-Blanco J., Sanchez-Sevilla J., Valpuesta V. (2010). The Sol Genomics Network (solgenomics.net): growing tomatoes using Perl. *Nucleic Acids Research*. 1-7. En: <http://solgenomics.net/cview/>, consultado en mayo 2011.

Cadena M. y Naranjo A. (2000). Caracterización morfológica y evaluación de la respuesta al ataque de la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) en genotipos de la colección colombiana de *Solanum phureja*. Tesis - Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia – Bogotá.

CEVIPAPA – Centro Virtual de Investigación de la Cadena Agroalimentaria de la Papa. (2008). Año internacional de la papa. Diario Económico Portafolio. Bogotá.

Cipar M., Peloquin S., Hougas R. (1964). Inheritance of incompatibility in hybrids between *Solanum tuberosum* haploids and diploid species. *Euphytica* 13 (2): 163-172.

Clark A. (1993). Evolutionary inferences from molecular characterization of self-incompatibility alleles. In: Takahata, N. and Clark, A. G. (eds) *Mechanisms of Molecular Evolution*, pp. 79—108. Sinauer Associates.

P.G.S.C - Potato Genome Sequencing Consortium. (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature* 475:189-195.

Dempster A., Laird N., Rubin D. (1977). Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 39: 1-38.

D'hoop B., Paulo M., Kowitzanich K., Sengers M., Visser R., van Eck H., van Eeuwijk F. (2010). Population structure and linkage disequilibrium unravelled in tetraploid potato. *Theoretical and Applied Genetics* 121:1151-1170.

Escallón E. (1997). Caracterización morfológica y evaluación preliminar por rendimiento y resistencia a *P. infestans* de 25 genotipos redondos amarillos de *Solanum phureja*, Juez. et Buk, en dos localidades. Tesis - Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620

Excoffier L., Smouse P., Quattro J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.

Estrada N. (2000) La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa Centro de Información para el desarrollo, La paz-Bolivia.

Estrada N. 1996. Los recursos genéticos en el mejoramiento de la papa en los países andinos. pp. 1-14. En: Papas colombianas con el mejor entorno ambiental. UNIPAPA-ICA-CORPOICA. Comunicaciones y Asociados Ltda., Bogotá. 272 p.

FAOSTAT. (2012). Dirección de estadística FAO. En: <http://www.faostat.fao.org> (Ed.), consultado en mayo 2012

Feingold S., Lloyd J., Norero N., Bonierbale M., Lorezen J. (2005). Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 111 (3):456-466.

Gebhardt C., Ballvora A., Walkemeier B., Oberhagemann P., Schüller K. (2004). Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding* 13: 93–102.

Ghislain M., Núñez J., del-Rosario M., Pinatero J., Guzman F., Bonierbale M., Spooner D. (2009). Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Molecular Breeding* 23:377-388.

Ghislain M., Andrade D., Rodríguez F., Hijmans R., Spooner D. (2006). Genetic analysis of the cultivated potato *Solanum tuberosum* L. Phureja Group using RAPDs and nuclear SSRs. *Theoretical and Applied Genetics* 113 (8):1515-1527.

Ghislain M., Spooner D., Rodríguez F., Villamon F., Núñez J., Vásquez C., Waugh R., Bonierbale M. (2004). Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSR) for genotyping of cultivated potato. *Theoretical and Applied Genetics* 108:881-890.

Ghislain M.D., Fazardo Z.D., Huaman Z., Hismans R.H. (1999). Marker assisted sampling of the cultivated Andean Potato (*Solanum phureja*) collection using RAPD markers. *Genetic Resources Crop Evolution* 46: 547-555.

Goudet J. (1995). FSTAT. A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86(6): 485-486.

Guarín S. (1997). Evaluación de la fertilidad, viabilidad y presencia de gametas no reducidas en 84 genotipos de la Colección Central Colombiana, C.C.C., de *Solanum phureja* Juz et Buk. Tesis - Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia – Bogotá.

- Guo S. and Thompson E.A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361–372.
- Hawkes J.G. (1988). The evolution of cultivated potatoes and their tuber-bearing wild relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution* 36:189-208.
- Hawkes J.G. (1990). *The potato: Evolution, biodiversity, and genetic resources*. Belhaven Press, London.
- Kalinowski S. (2004) Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation Genetics* 5: 539–543.
- Kimura M. (1983). Rare variant alleles in the light of the neutral theory. *Molecular Biology Evolution* 1:84-93.
- Kump K., Bradbury P., Wisser R., Buckler E., Belcher A., Oropeza-Rosas M., Zwonitzer J., Kresovich S., McMullen M., Ware D., Balint-Kurti P., Holland J. 2011. Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics* 43: 163–168.
- Liu K. and Muse S.V. (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*. 21:2128-2129.
- Matsubayashi M. (1991). Phylogenetic relationships in the potato and its related species. Book: *Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution*. Part B. pp. 93-118
- Martin A., Bonilla D., Ligarreto G. Fajardo D. (2000). Identificación y análisis de la variabilidad morfológica de 59 cultivares de papa criolla (*Solanum phureja* Juz. et Buk.). *Agronomía Colombiana*. 17 (1-3): 49-60
- Milbourne D., Meyer R.C., Collins A.J., Ramsay L.D., Gebhardt C., Waugh R. (1998). Isolation, characterization and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Molecular and General Genetics* 259:233-245.
- Meyer S., Nagel A., Gebhardt C. (2005). PoMaMo—a comprehensive database for potato genome data. *Nucleic Acids Research* 33: 666-670.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2009). Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la papa en Colombia con énfasis en papa criolla. En: <http://www.sioc.gov.co/documentosP.aspx>, consultado en septiembre de 2012.
- Moreno J., Cerón M., Valbuena R. (2009). *Papas nativas colombianas. Catálogo de 60 variedades*. Corpoica. 68 p.
- Mosquera T. (2007). Análisis genético y molecular de la resistencia cuantitativa a tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en *Solanum phureja*. Tesis – Doctor en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 155 p.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York

- Nei M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 70:3321-3323
- Ocampo M. (2003). Evaluación por los parámetros de precocidad de la colección central colombiana para clones de *Solanum phureja* en condiciones de páramo.
- Peakall R. and Smouse P. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6.
- PGSC - Potato Genome Sequencing Consortium. (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. Nature. 475:189-195.
- Potato Genome Analysis of Max Planck Institute for Plant Breeding Research. (2011). Laboratory protocols. Documentos internos.
- Powell W., Machray G., Provan J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. Trends Plant Science 1: 215-222.
- Pritchard J., Stephens M., Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 155: 945–959.
- Quiros C., Ortega R., Van Raamsdonk L., Herrera M., Cisneros P., Schmidt E., Brush S. (1992). Increase of potato genetic resources in their center of diversity: the role of natural outcrossing and selection by the Andean farmer. Genetics Resources Crop Evolution 39:107-113.
- Raymond M. and Rousset F. (1995) GENEPOP Version 1.2: Population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal Heredity 86:248–249.
- Richman A., Teh-Hui K., Schaeffer S., Uyenoyama M. (1995). S-allele sequence diversity in natural populations of *Solanum carolinense* (Horsenettle). Heredity 75: 405-15.
- Riedelsheimer C., Lisec J., Czedik-Eysenberg A., Sulpicec R., Flisc A., Griedera C., Altmann T., Stitt M., Willmitzer L., Melchinger A. (2012). Genome-wide association mapping of leaf metabolic profiles for dissecting complex traits in maize. Proceedings of the National Academy of Sciences 109(23): 8872-8877.
- Rodríguez L., Núñez C., Estrada N. (2009). Criolla latina, Criolla Paisa y Criolla Colombia, nuevos cultivares de papa criolla para el departamento de Antioquia (Colombia). Agronomía Colombiana. 27(3): 287-301.
- Rodríguez C. (2005). Heredabilidad y evaluación del contenido de proteínas totales de la colección de papa criolla (*Solanum phureja* Juz et Bulk) de la Universidad Nacional de Colombia. Tesis - Magister en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Rodríguez L. (2009). Teorías sobre la clasificación taxonómica de las papas cultivadas (*Solanum* L. sect. Petota Dumort.). Una revisión. Agronomía Colombiana 27(3): 305-312.
- Schneider S., Roessli D., Excoffier L. (2000). Arlequin ver. 2.000: software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.

- Slatkin M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Slatkin M. (1985). Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39: 53-65.
- Spooner D.M., Gavrilenko T., Jansky S.H., Ovchinnikova A., Krylova E., Knapp S., Simon R. (2010) Ecogeography of ploidy variation in cultivated potato (*Solanum* sect. *Petota*). *American Journal of Botanic* 97: 2049-2060.
- Spooner D.M., Núñez J., Trujillo G., del Rosario Herrera M., Guzman F., Ghislain M. (2007). Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 19398-19403.
- Spooner, D. and Hetterscheid W. (2005). Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. pp. 285-307. En: Motley, T.J., N. Serena y H. Cross (eds.). *Darwin's harvest: new approaches to the origins, evolution, y conservation of crops*. Columbia University Press, NY.
- Straadt I. and Rasmussen O. (2003). AFLP analysis of *Solanum phureja* DNA introgressed into potato dihaploids. *Plant Breeding* 122:352-356.
- Stranger B., Stahl E., Raj T. (2011). Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics. *Genetics* 187(2): 367-383.
- Sukhotu T. and Hosaka K. (2005). Origin and evolution of Andigena potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. *Genome* 49: 636-647.
- Watanabe K. and Peloquin S. (1989). Occurrence of 2n pollen and *ps* gene frequencies in cultivated groups and their related wild species in the tuber-bearing *Solanum*. *Theoretical Applied Genetics* 78:329-336.
- Watanabe K. and Peloquin S. (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. *Theoretical Applied Genetics* 82:621-626.
- Weir, B. (1996). *Genetic Data Analysis II*. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates, Inc. 445 p.
- Weir B. and Cockerham C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Zhu C., Gore M., Buckler E. and Yu J. (2008). Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome* 1: 5-20.

Tabla suplementaria 2 Organización e información fenotípica de la población de genotipos diploides de *Solanum phureja*, del programa de mejoramiento de papa de la Universidad Nacional de Colombia. Col. Colección Central Colombiana de *S. phureja*; Spm. Población de mapeo de *S. phureja*; IPK. Banco de germoplasma de Alemania; Cc. Cultivares comerciales y Spv. Población de mejoramiento de *S. phureja* asociada con resistencia a virus.

Número	Genotipo	Poblacion	Nivel de resistencia a <i>Phytophthora infestans</i>	Ploidía	Información del genotipo
1	Col2	Col	Resistente	Diploide	Colecta
2	Col3	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
3	Col4	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
4	Col6	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
5	Col7	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
6	Col8	Col	Resistente	Diploide	Colecta
7	Col9	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
8	Col11	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
9	Col13	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
10	Col14	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
11	Col15	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
12	Col16	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
13	Col17	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
14	Col19	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
15	Col20	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
16	Col21	Col	Resistente	Diploide	Colecta
17	Col23	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
18	Col24	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
19	Col27	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
20	Col30	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
21	Col31	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
22	Col33	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
23	Col34	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
24	Col35	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
25	Col37	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
26	Col38	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
27	Col40	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
28	Col41	Col	Resistente	Diploide	Colecta
29	Col42	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
30	Col43	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
31	Col44	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
32	Col51	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
33	Col52	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
34	Col53	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
35	Col56	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
36	Col61	Col	Resistente	Diploide	Colecta
37	Col62	Col	Resistente	Diploide	Colecta
38	Col63	Col	Resistente	Diploide	Colecta
39	Col65	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
40	Col66	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
41	Col67	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
42	Col69	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
43	Col70	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
44	Col71	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
45	Col73	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
46	Col74	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
47	Col76	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
48	Col79	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
49	Col80	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
50	Col81	Col	Sin dato	Diploide	Colecta

Tabla suplementaria 1 Continuación

Número	Genotipo	Poblacion	Nivel de resistencia a <i>Phytophthora infestans</i>	Ploidía	Información del genotipo
51	Col83	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
52	Col86	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
53	Col88	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
54	Col89	Col	Resistente	Diploide	Colecta
55	Col93	Col	Sin dato	Diploide	Colecta
56	Col96	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
57	Col98	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
58	Col99	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
59	Col100	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
60	Col101	Col	Resistente	Diploide	Colecta
61	Col102	Col	Resistente	Diploide	Colecta
62	Col103	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
63	Col104	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
64	Col106	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
65	Col108	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
66	Col109	Col	Susceptible	Diploide	Colecta
67	Col110	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
68	Col112	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
69	Col114	Col	Intermedia	Diploide	Reintroducción del Banco de semillas de Wisconsin
70	Col115	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
71	Col116	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
72	Col117	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
73	Col118	Col	Resistente	Diploide	Reintroducción del Banco de semillas de Wisconsin
74	Col119	Col	Intermedia	Diploide	Mambra-A, procedencia Ipiales
75	Col120	Col	Intermedia	Diploide	Mambra-B, procedencia Ipiales
76	Col121	Col	Resistente	Diploide	Tornilla - Ipiales
77	Col122	Col	Intermedia	Diploide	Res-A
78	Col123	Col	Intermedia	Diploide	Res-A
79	Col124	Col	Intermedia	Diploide	El Cocuy
80	Col125	Col	Susceptible	Diploide	El Cocuy
81	Col126	Col	Resistente	Diploide	El Cocuy
82	Col127	Col	Intermedia	Diploide	El Cocuy
83	Col128	Col	Intermedia	Diploide	El Cocuy
84	Col129	Col	Sin dato	Diploide	El Cocuy
85	Col131	Col	Susceptible	Diploide	El Cocuy
86	Col132	Col	Intermedia	Diploide	El Cocuy
87	Col133	Col	Resistente	Diploide	El Cocuy
88	Col135	Col	Intermedia	Diploide	Colecta
89	Col136	Col	Resistente	Diploide	Colecta - Fedepapa 1993
90	Col137	Col	Intermedia	Diploide	Colecta - Fedepapa 1993
91	Col138	Col	Intermedia	Diploide	Colecta - Fedepapa 1993
92	Col140	Col	Resistente	Diploide	Colecta - Fedepapa 1993
93	Col141	Col	Sin dato	Diploide	Colecta - Fedepapa 1993
94	Col142	Col	Intermedia	Diploide	CPC 979.1:
95	Col143	Col	Intermedia	Diploide	OCH 1372.1:
96	Col144	Col	Resistente	Diploide	Criolla Colombia
97	Col145	Col	Resistente	Diploide	510 CIP - CCC81
98	tm7	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
99	tm8	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
100	tm9	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3

Tabla suplementaria 1 Continuación

Número	Genotipo	Poblacion	Nivel de resistencia a <i>Phytophthora infestans</i>	Ploidía	Información del genotipo
101	tm25	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
102	tm27	Spm	Sin dato	Diploide	tm2A4 x tm48A3
103	tm40	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
104	tm41	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
105	tm42	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
106	tm49	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
107	tm50	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
108	tm77	Spm	Resistente	Diploide	tm2A4 x tm48A3
109	tm85	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
110	tm94	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
111	tm99	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
112	tm240	Spm	Resistente	Diploide	tm2A4 x tm48A3
113	tm258	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
114	tm293	Spm	Susceptible	Diploide	tm2A4 x tm48A3
115	tm307	Spm	Resistente	Diploide	tm2A4 x tm48A3
116	tm312	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
117	tm329	Spm	Intermedia	Diploide	tm2A4 x tm48A3
118	tm2A4	Spm	Susceptible	Diploide	Col150.9 x Col118.7
119	tm48A3	Spm	Intermedia	Diploide	Col122.29 x Tomilla 1
120	a-14951	IPK	Intermedia	Diploide	Sin dato
121	a-170021	IPK	Sin dato	Dihaploide	Variedad - 6.037 022/Pa2
122	a-17003	IPK	Intermedia	Dihaploide	Variedad - 6.057 002-91N
123	a-17008	IPK	Intermedia	Dihaploide	Variedad - 6.177 014-92
124	a-17009	IPK	Intermedia	Dihaploide	Variedad - 6.255 007-88N
125	a-17010	IPK	Sin dato	Dihaploide	Variedad - 6.661 027-83
126	a-170111	IPK	Resistente	Dihaploide	Variedad - 81.26/27
127	a-21495	IPK	Intermedia	Diploide	Sin dato
128	a-2622011	IPK	Intermedia	Diploide	Sin dato
129	a-262261	IPK	Intermedia	Diploide	Chaucha roja - Colombia
130	a-262271	IPK	Resistente	Diploide	Alka Pinu - Bolivia
131	a-262291	IPK	Sin dato	Diploide	Per001 - Perú
132	a-262321	IPK	Intermedia	Diploide	Conga - Colombia
133	CRCol	Cc	Resistente	Diploide	Clon 1. Selección clonal
134	CRGL	Cc	Intermedia	Diploide	<i>Solanum phureja</i> (var. Criolla Colombia) x <i>Solanum tuberosum</i> spp. Andigenum (var. Parda pastusa)
135	CRGÑ	Cc	Intermedia	Diploide	<i>Solanum goniocalyx</i> (var. Amarilla Tumbay) x <i>Solanum phureja</i> (var. Criolla Colombia)
136	CRLAT	Cc	Sin dato	Diploide	<i>Solanum phureja</i> (var. Criolla Colombia) x <i>Solanum tuberosum</i> spp. Andigenum (var. Parda pastusa)
137	CRPSE1	Cc	Sin dato	Diploide	<i>Solanum goniocalyx</i> (var. Amarilla Tumbay) x <i>Solanum phureja</i> (var. Criolla Colombia)
138	8004-1	Spv	Sin dato	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
139	8004-11	Spv	Intermedia	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
140	8004-13	Spv	Intermedia	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
141	8004-17	Spv	Intermedia	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
142	8004-20	Spv	Intermedia	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
143	8004-24	Spv	Resistente	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
144	8004-26	Spv	Resistente	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
145	8004-29	Spv	Sin dato	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras
146	8004-8	Spv	Sin dato	Diploide	Criolla Guaneña x Criolla Galeras

Tabla suplementaria 2. Estimación de máxima verosimilitud de la frecuencia de alelos nulos (Dempster *et al*, 1977; Weir, 1996) para los 43 loci y cinco poblaciones de *S. phureja*.

Marcador	Col (N=97)	IPK (N=13)	Spm (N=22)	Cc (N=5)	Spv (N=9)	Promedio marcador
	Colección Central	Banco germoplasma Alemania	F1: 48A3 (R) x 2A4 (S)	Cultivares Comerciales	F1: Criolla Guaneña x Criolla Galeras	
STI043	0,103	0,186	0,015	0,000	0,000	0,061
STI031	0,048	0,388	0,081	-	0,000	0,129
STM1049	0,096	0,000	0,000	-	-	0,032
STI029	0,226	0,283	0,054	0,200	0,009	0,154
STM1008	0,115	0,439	0,000	0,000	0,000	0,111
STM5114	0,000	0,166	0,000	0,000	0,000	0,033
STI020	0,000	0,277	-	-	0,000	0,092
STI026	0,117	0,449	0,000	-	-	0,189
STPoAC58	0,112	0,182	0,227	0,000	0,000	0,104
STI021	0,234	0,167	0,000	0,000	0,000	0,080
STI015	0,199	0,105	0,101	0,000	-	0,101
STI0033	0,052	0,123	0,000	-	0,000	0,044
STI022	0,098	0,366	0,089	0,000	0,000	0,111
STI003	0,119	0,248	0,300	0,269	0,161	0,219
STI002	0,206	0,444	-	-	-	0,325
STM1064	-	-	-	-	-	-
STG0025	0,042	0,000	0,175	0,000	0,000	0,043
STI023	0,157	0,380	0,279	0,016	0,145	0,195
STI028	0,000	0,138	-	0,000	0,000	0,035
STI046	0,109	0,175	0,008	0,000	0,116	0,082
STI017	0,018	0,000	0,046	0,000	0,000	0,013
STI054	0,000	0,181	0,000	0,000	0,000	0,036
STI037	0,182	-	-	-	0,000	0,091
STI049	0,158	0,214	0,000	0,000	0,000	0,074
STM3023b	0,025	0,000	0,000	-	-	0,008
STM1053	0,173	0,240	0,000	-	0,000	0,103
STM5121	0,074	0,383	0,107	-	0,000	0,141
STM1104	0,318	0,337	0,432	-	-	0,362
STG0010	0,113	0,091	0,020	0,236	0,244	0,141
STM1016	0,530	0,389	0,394	0,663	0,554	0,506*
STM0025	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006
STI0030	0,208	0,024	0,224	0,000	0,213	0,134
STM0030	0,162	0,445	0,000	0,000	0,202	0,162
STI032	0,193	0,144	-	-	-	0,168
STM1052	0,053	0,000	0,213	-	-	0,089
STI0003	0,029	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006
StwaX2	0,000	0,098	0,000	0,000	0,000	0,020
STM2005	0,000	0,171	-	-	-	0,086
STG0018	0,020	0,113	0,000	0,000	0,000	0,027
STGBSS	0,421	0,122	0,049	0,000	0,000	0,118
STG0022	0,000	0,115	-	-	0,213	0,110
STG0003	0,022	0,068	0,030	0,000	0,000	0,024
STG0009	0,077	0,158	0,000	0,000	0,213	0,090
Promedio población	0,1152	0,1905	0,0813	0,0513	0,0628	