

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Análisis de asociación en rasgos de rendimiento, tamaño y calidad fisicoquímica del fruto en uchuva (*Physalis peruviana* L.)

Francy Liliana García Arias

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de posgrado
Bogotá - Colombia
2017

Análisis de asociación en rasgos de rendimiento, tamaño y calidad físicoquímica del fruto en uchuva (*Physalis peruviana* L.)

Francy Liliana García Arias

Tesis o trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias

Director:

M. Sc. Víctor Manuel Núñez Zarantes

Codirectora:

Ph.D. María Isabel Chacón Sánchez

Línea de Investigación:

Genética y fitomejoramiento

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de posgrado
Bogotá - Colombia
2017

*Dedico este trabajo a Dios, ya que él me ha dado la
fortaleza de continuar a pesar de las adversidades.*

*A mis padres, por brindarme su apoyo incondicional y
sus consejos para hacer de mí una mejor persona.*

*A mi novio por sus palabras y confianza en todo
momento.*

Agradecimientos

Quiero expresar mi agradecimiento por la colaboración, paciencia y apoyo durante la construcción de este documento:

A los docentes de la Maestría en ciencias agrarias, por compartir sus conocimientos y aportar en el desarrollo de este trabajo.

A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA por su apoyo financiero y técnico.

A mi director Víctor Núñez Zarantes y codirectora María Isabel Chacón por su orientación en el desarrollo de este trabajo y corrección en la elaboración de este documento.

Al profesor Jorge Arguelles por su orientación en el análisis de datos fenotípicos.

A Jaime Osorio por su orientación en el análisis de datos moleculares.

A mis compañeros y amigos Viviana Franco, Erika Sánchez, Paola Delgadillo, Sara Liberato y Jhon Berdugo que de una u otra manera contribuyeron en el logro de mis objetivos.

A todos gracias de corazón.

Resumen

Las características de rendimiento y calidad del fruto en uchuva (*Physalis peruviana* L.) son de gran importancia dado que determinan la clase mercado e influyen en la rentabilidad del cultivo. Por ende, al conocer y entender las bases genéticas de estos atributos es posible facilitar a los mejoradores el desarrollo de variedades con características superiores mediante la identificación de marcadores asociados a estas características. Para esto, se establecieron 100 accesiones de la colección de uchuva en el C.I. Tibaitatá de Corpoica y se evaluaron durante ocho cosechas teniendo en cuenta variables de rendimiento, tamaño y calidad de fruto. A partir de esta información, se identificaron cuatro agrupamientos diferenciados principalmente por el tamaño, forma y firmeza del fruto, del cual se destacan siete accesiones con una producción mayor a 7000 g/planta con un porcentaje de fruto rajado inferior al 4% y peso de fruto con cáliz mayor a 5,42 g. Paralelamente, se realizó la genotipificación por secuenciación (GBS) en las mismas accesiones, identificándose 27.982, 36.142 y 30.344 SNPs basados en los transcriptomas foliar y radicular de uchuva, y el genoma de referencia de tomate, respectivamente. El análisis de ancestría genética y análisis de componentes principales mostraron la conformación de dos poblaciones correspondientes al material silvestre y cultivado con un índice de diferenciación (F_{ST}) de 0,028. El análisis de asociación identificó cuatro marcadores asociados a variables de rendimiento, 12 marcadores asociados a tamaño de fruto y nueve marcadores asociados a calidad de fruta; adicionalmente, es de destacar que seis marcadores se encontraron asociados tanto a peso como a tamaño de fruto y un marcador estuvo asociado a producción, peso y tamaño de fruto. Estos resultados sugieren que hay regiones importantes en la regulación de rasgos de rendimiento y tamaño de fruto en uchuva, y cuyos marcadores asociados podrían ser usados en selección asistida por marcadores o análisis de gen candidato previa su confirmación funcional en otras accesiones y ambientes.

Palabras clave: *Physalis peruviana*, mapeo por asociación, polimorfismo en un solo nucleótido, calidad de fruto.

Abstract

The characteristics of yield and fruit quality in Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) are of great importance because determine the market class and influence the profitability of the crop. Thus, by knowing and understanding the genetic basis of these attributes, it is possible help the breeders to develop varieties with superior characteristics by identifying markers associated to them. To reach this goal, 100 accessions of the Cape gooseberry work collection, were established in the C.I. Tibaitatá at Corpoica and evaluated for eight harvests taking into account accession yield performance, fruit size and quality. From this information, four groups were identified mostly by size, shape and firmness of the fruit, and seven outstanding accessions performed having a production higher than 7000 g/plant, with a lower rate of cracked fruit of 4% and a fruit weight greater than 5,42g. In parallel, genotyping by sequencing (GBS) was performed in the same accessions, identifying 27.982, 36.142 and 30.344 SNPs based on foliar and root transcriptome of Cape gooseberry, and the tomato genome reference, respectively. Ancestry and principal components analysis indicated two populations: wild and cultivated populations with an index of differentiation (F_{ST}) of 0.028. In the association analysis, four markers associated with yield, 12 markers associated with fruit size and nine markers associated with fruit quality, were identified. Additionally, it should be noted that six markers were associated with both weight and fruit size, while one marker was associated with production, weight and fruit size. These results suggest that there are key regions in regulating yield and fruit size in Cape gooseberry and these markers could be used in marker-assisted selection or candidate gene analysis prior functional confirmation in other accessions and environments.

Keywords: *Physalis peruviana*, association mapping, Single-nucleotide polymorphism, fruit quality.

Contenido

Resumen.....	I
Abstract	II
Lista de figuras	III
Lista de tablas	V
Introducción	1
Objetivos	3
1. Capítulo 1. Caracterización de rasgos de rendimiento, tamaño y calidad físicoquímica del fruto en una colección de trabajo de P. peruviana L.	5
1.1 Estado del arte.....	5
1.1.1 Familia Solanaceae	5
1.1.2 Género Physalis.....	6
1.1.3 Physalis peruviana L. – Uchuva.....	6
1.1.4 Caracterización morfoagronómica y mejoramiento en uchuva	10
1.2 Materiales y métodos.....	12
1.2.1 Material vegetal.....	12
1.2.2 Ubicación del experimento y diseño experimental	13
1.2.3 Manejo agronómico	13
1.2.4 Evaluación fenotípica de la colección de trabajo	14
□ Evaluación de rendimiento.....	14
□ Evaluación de tamaño y forma del fruto.....	15
□ Evaluación de calidad físicoquímica	16
1.2.5 Análisis de datos.....	17
1.3 Resultados y discusión	18
1.3.1 Selección, multiplicación y siembra de material vegetal	18
1.3.2 Evaluación fenotípica.....	18
□ Evaluación de rendimiento.....	19
□ Evaluación de tamaño y forma del fruto.....	24
□ Evaluación de calidad de fruto.....	29
1.3.3 Análisis de correlación entre variables.....	32

1.3.4	Análisis de componentes principales y conglomerados	34
1.4	Conclusiones.....	39
2.	Capítulo 2. Análisis de asociación de atributos de rendimiento, calidad físicoquímica y tamaño de fruto en la colección de trabajo de P. peruviana	40
2.1	Estado del arte	40
2.1.1	Marcador molecular de ADN	40
2.1.2	Marcadores tipo SNPs.....	41
2.1.3	Genotipificación por secuenciación (GBS)	42
2.1.4	Mapeo genético.....	43
2.1.5	Mapeo por asociación	44
2.1.6	QTLs de rendimiento, tamaño y forma de fruto en tomate	45
2.1.7	Modelo estadístico para análisis de asociación en plantas	46
	<input type="checkbox"/> Estructura poblacional.....	47
	<input type="checkbox"/> Parentesco	47
	<input type="checkbox"/> Desequilibrio de ligamiento	47
2.1.8	Estado del conocimiento del genoma de la uchuva	48
2.2	Materiales y métodos	50
2.2.1	Extracción y genotipificación de SNPs	50
2.2.2	Análisis de variabilidad, estructura poblacional y desequilibrio de ligamiento.....	50
2.2.3	Análisis de asociación genotipo-fenotipo	51
2.2.4	Anotación funcional	51
2.3	Resultados y discusión.....	53
2.3.1	Extracción de ADN y secuenciación.....	53
2.3.2	Variabilidad genética	54
2.3.3	Estructura poblacional y agrupamiento neighbor-joining.....	55
2.3.4	Análisis de desequilibrio de ligamiento.....	60
2.3.5	Análisis de asociación	61
	<input type="checkbox"/> Normalidad de las variables	61
	<input type="checkbox"/> Parentesco y estructura poblacional	62
2.3.6	Asociación genotipo-fenotipo	64
2.4	Conclusiones.....	72
3.	Conclusiones y recomendaciones	73
3.1	Conclusiones.....	73
3.2	Recomendaciones.....	74
Anexos	75
	Anexo A. Colección de trabajo P. peruviana	75
	Anexo B. Matriz de correlación entre las variables analizadas en la colección de trabajo de uchuva.....	78
Bibliografía	79

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1 Procedencia de las accesiones de uchuva.....	12
Figura 1-2 Tabla de color del fruto y cáliz de uchuva de la NTC 4580 de Icontec (1999)	15
Figura 1-3 Aplicación del software Tomato Analyzer para la medición de variables geométricas en el fruto de uchuva.....	16
Figura 1-4 Accesiones de uchuva en multiplicación, endurecimiento y posterior siembra en campo para evaluación de calidad de fruto.....	18
Figura 1-5 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a la producción	20
Figura 1-6 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto al número de frutos.....	21
Figura 1-7 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto al peso de fruta categoría 3.....	22
Figura 1-8 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto al peso de fruto con cáliz y peso de fruto sin cáliz.....	23
Figura 1-9 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a perímetro y área del fruto.....	25
Figura 1-10 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a ancho máximo y ancho en la parte media del fruto	26
Figura 1-11 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a largo máximo y largo en la parte media del fruto	27
Figura 1-12 Formas de fruto en uchuva basado en la sección longitudinal del fruto	28
Figura 1-13 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a porcentaje de fruta rajada	30
Figura 1-14 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a firmeza del fruto	31
Figura 1-15 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a contenido de sólidos solubles totales	32
Figura 1-16 Dendograma de agrupamiento de 100 accesiones de uchuva teniendo en cuenta variables de los componentes de rendimiento, tamaño, forma y calidad de fruto.....	38
Figura 2-1 Métodos de alto rendimiento para identificación de SNPs	43

Figura 2-2 Digestión enzimática <i>HindIII</i> del ADN de algunas muestras representativas de la colección de uchuva en gel de agarosa al 1%	53
Figura 2-3 Calidad de las bases de las lecturas de Illumina para GBS en la colección de trabajo de uchuva	54
Figura 2-4 Análisis de la estructura poblacional de cien accesiones de uchuva mediante el software ADMIXTURE a partir de marcadores SNP	56
Figura 2-5 Representación gráfica de los tres primeros componentes principales usando como referencia el genoma de tomate	58
Figura 2-6 Dendograma Neighbor-Joining basado en la distancia genética de Nei de la colección de trabajo de <i>P. peruviana</i>	59
Figura 2-7 Matriz de desequilibrio de ligamiento en una porción de marcadores que mapearon en una región del cromosoma 5 del genoma de tomate	60
Figura 2-8 Grafico de distribución y cuantil-cuantil de las variables normales según el test de Shapiro Wilk.....	61
Figura 2-9 Grafico de distribución y cuantil-cuantil de datos originales y transformados de las variables no normales según el test de Shapiro Wilk.....	62
Figura 2-10 Variación en 13 características de rendimiento, calidad y dimensión de fruto en la colección de trabajo de uchuva.	63
Figura 2-11 Distribución de los valores de parentesco entre parejas de la colección de trabajo	64
Figura 2-12 Análisis de mapeo por asociación en características de rendimiento	65
Figura 2-13 Análisis de mapeo por asociación en características de tamaño de fruto	66
Figura 2-14 Análisis de mapeo por asociación en características de calidad de fruto	68

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1 Eficiencia relativa del diseño en lattice para cada una de las variables evaluadas	19
Tabla 1-2 Análisis de varianza en 100 accesiones de uchuva respecto a las variables de rendimiento.....	19
Tabla 1-3 Medias de centralización y dispersión de los caracteres de rendimiento en la colección de trabajo de uchuva.....	20
Tabla 1-4 Análisis de varianza en 100 accesiones de uchuva respecto a las variables de dimensión y forma de fruto	24
Tabla 1-5 Estadísticos de las variables de dimensión y forma del fruto en la colección de trabajo de uchuva	25
Tabla 1-6 Análisis de varianza en 100 accesiones de uchuva respecto a las variables de calidad de fruto	29
Tabla 1-7 Medias de centralización y dispersión de los caracteres de calidad de fruto en la colección de trabajo de uchuva.....	29
Tabla 1-8 Matriz de correlación de Eigenvalues y contribución de las variables a los cuatro primeros componentes	35
Tabla 2-1 Índices de diversidad genética para los marcadores filtrados usando como referencia el transcriptoma de uchuva y genoma de referencia de tomate.....	54
Tabla 2-2 Resumen de los marcadores asociados con variables de rendimiento, calidad fisicoquímica y tamaño de fruto en la colección de trabajo de uchuva	70

Introducción

La uchuva "*Physalis peruviana*" es una especie frutícola que pertenece a familia de las Solanáceas y es originaria de los Andes Peruanos. Esta especie se caracteriza por poseer un fruto azucarado con altos contenidos de vitamina A, C y vitaminas de complejo B, hierro y fósforo (Ligarreto *et al.*, 2005). De igual manera, los extractos de la planta han mostrado actividad antioxidante, antiinflamatoria y antihepatotóxica (Wu *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2009), así como efecto antiproliferativo en células de hepatoma (Wu *et al.*, 2005).

Adicionalmente, la uchuva es uno de los frutales de mayor importancia económica para Colombia después del banano y el plátano, y posee el 90% de la producción mundial (BTC, 2015; Bonilla *et al.*, 2009) con 13.260 toneladas provenientes principalmente de los departamentos de Boyacá, Antioquia y Cundinamarca, y exportó más de 5.400 ton a destinos como los Países Bajos, Alemania, Bélgica y Canadá, en 2014 (Agronet, 2015), siendo así el productor-exportador más grande e importante.

No obstante en los últimos años, el rendimiento de los cultivos de uchuva en el país ha disminuido de 13,76 ton/ha en 2010 a 9,81 ton/ha en 2014 (Agronet, 2015) y la calidad de fruta no es suficiente encontrándose que cerca del 15% de la producción no cumple con los estándares de tamaño y calidad requeridos para la exportación (Valdenegro *et al.*, 2013) y entre el 20 y 45% de la fruta cosechada se descarta por problemas de rajado (Fischer, 2005; Rojas *et al.*, 2012) disminuyendo notablemente el volumen de fruta exportable.

Entre las causas del rajado de fruto se encuentra el desbalance hídrico de la planta y las deficiencias nutricionales. En el primer caso, el inicio del rajado en el fruto puede presentarse después de un cambio súbito de periodo seco o carencia en el suministro de agua a un periodo muy húmedo, lo que reduce la fuerza extensible de la epidermis del fruto (Torres *et al.*, 2004); mientras que en el segundo caso, el rajado de fruto puede incrementarse entre 5,5 y 13% por ausencia de calcio y boro, dado que inciden en la síntesis y calidad de las membranas del fruto (Cooman *et al.*, 2005).

Sin embargo, no se cuenta con información del efecto varietal y la arquitectura genética de estas características en uchuva a pesar de su importancia en la generación y selección de nuevas variedades. En contraste, el avance en la

generación de nuevos materiales de uchuva se ha venido realizando mediante técnicas convencionales (Lagos *et al.*, 2007), las cuales pueden requerir entre 7 y 10 años desde el primer cruzamiento hasta obtener la variedad comercial (Dutfield, 2007). Por lo tanto, este proceso podría ser más eficiente empleando marcadores moleculares o QTLs (Quantitative Trait Loci) asociados a atributos de interés agronómico y calidad de fruta. En este punto, el mapeo por asociación busca identificar variantes funcionales específicas ligadas a diferencias fenotípicas en determinada característica de tal manera que se puede detectar los polimorfismos en la secuencia de ADN responsables del cambio fenotípico (Oraguzie *et al.*, 2007). Este enfoque se basa en el desequilibrio de ligamiento (LD) entre el marcador genético y los genes que controlan el fenotipo de interés, explotando los diferentes eventos de recombinación acumulados durante muchas generaciones en una muestra de una población natural (Flint-García *et al.*, 2003).

No obstante, en función de identificar las variantes alélicas se requiere marcadores de alta cobertura como los polimorfismos en un solo nucleótido o SNPs (por sus siglas en inglés, *Single Nucleotide Polymorphism*) (Seeb *et al.*, 2011). Los SNPs son uno de los marcadores más empleados para estudios de diversidad, estructura poblacional y mapeo por asociación (Seeb *et al.*, 2011). Por ende, se han desarrollado varias tecnologías para la genotipificación de SNPs dentro de las que se destaca la genotipificación por secuenciación (GBS). Esta técnica se basa en la reducción de la complejidad del genoma a través de enzimas de restricción sensibles a la metilación (Elshire *et al.*, 2011), haciendo posible la búsqueda de importantes regiones del genoma que pueden ser inaccesibles con otras tecnologías; además, puede ser empleada en especies con grandes genomas, alta diversidad y sin genoma de referencia (Poland y Rife, 2012) como es el caso.

En uchuva, sólo se ha reportado un estudio de asociación y se enfocó en la identificación de marcadores asociados con la respuesta ante *Fusarium oxysporum*, el agente causal del marchitamiento vascular, en condiciones de invernadero. Al respecto, Osorio-Guarín *et al.*, (2016) identificaron accesiones promisorias con fenotipos de resistencia y dieciséis marcadores SNPs involucrados en la respuesta de resistencia/defensa a patógenos tomando como referencia el genoma de tomate, mientras que al comparar con el genoma de papa se identificaron doce marcadores asociados (Osorio-Guarín *et al.*, 2016).




El presente estudio se centró en caracterizar los rasgos de rendimiento, tamaño y calidad fisicoquímica del fruto en un panel de 100 accesiones de uchuva establecidas en el centro de investigación Tibaitatá de Corpoica ubicado en el municipio de Mosquera Cundinamarca, e identificar asociaciones entre marcadores SNPs identificados por la técnica GBS y los rasgos fenotípicos como base para futuros estudios de selección asistida por marcadores (MAS) u otros métodos moleculares que aporten a los programas de mejoramiento de la especie.

Objetivos

General

Investigar la relación entre marcadores SNPs y características de rendimiento, tamaño del fruto y calidad fisicoquímica, en una colección de trabajo de uchuva *Physalis peruviana* L., mediante la estrategia de mapeo por asociación.

Específicos

-  Evaluar el rendimiento, el tamaño y la calidad fisicoquímica del fruto en la colección de trabajo de uchuva.
-  Determinar la variabilidad genética y estructura poblacional en la colección de trabajo de uchuva utilizando marcadores SNPs.
-  Identificar marcadores SNPs asociados a las características de rendimiento, tamaño y calidad fisicoquímica del fruto en la colección de trabajo de uchuva.

1. Capítulo 1. Caracterización de rasgos de rendimiento, tamaño y calidad fisicoquímica del fruto en una colección de trabajo de *P. peruviana* L.

1.1 Estado del arte

1.1.1 Familia Solanaceae

La familia Solanaceae comprende más de 3000 especies, muchas de las cuales se desarrollaron en las regiones amazónicas y Andinas de América del Sur, en hábitats que varían drásticamente e incluyen desde selvas tropicales hasta desiertos, con precipitación nula hasta de 3 metros cúbicos al año. Su centro de diversidad se encuentra cerca al Ecuador y por lo tanto no fue alterada por las épocas glaciales, acumulando una importante variación genética adaptativa para nichos ecológicos extremos (Solgenomics.net, 2016).

Dentro de esta familia se encuentran especies de gran importancia económica y alimenticia, entre las que se encuentra la papa *Solanum tuberosum* L.; el jitomate *Solanum esculentum* L.; la berenjena *Solanum melongena* L.; el chile *Capsicum* spp.; el tomate de hoja, *Physalis* spp.; entre otras. Asimismo, se incluyen especies de uso industrial como el tabaco *Nicotiana tabacum* L.; ornamentales como petunia, *Petunia* spp., floripondio, *Brugmansia* spp., copa de oro, *Cyphomandra* spp. y huelle de noche, *Cestrum nocturnum* L.; y algunas especies con uso medicinal como *Cestrum* spp., *Datura stramonium* L., *Nicandra physaloides* Gaertn., *Physalis* spp. y *Atropa belladonna* L. (D'Arcy, 1991 citado por Vargas *et al.*, 2003).

Los cultivos de Solanáceas han sido sometidos a selección humana intensiva, lo cual permite su uso como modelos para estudiar la interfaz evolutiva entre plantas y personas. El modo antiguo de la evolución de las solanáceas, junto con un nivel excepcionalmente alto de conservación de la organización del genoma en los niveles macro y micro hacen de la familia un modelo para explorar la base de la diversidad fenotípica y la adaptación a los entornos naturales y agrícolas. Algunas solanáceas son consideradas importantes modelos en biología; éstos incluyen el tomate en el área de maduración de la fruta y defensa de las plantas, el tabaco en defensa de la planta, y la petunia en la biología de la antocianina (Solgenomics.net, 2016).

1.1.2 Género *Physalis*

El género *Physalis* es considerado cosmopolita y está conformado por alrededor de 90 especies en su mayoría de tipo herbáceo o semi-leñoso. *Physalis* tiene su centro de diversidad en México con más de 70 especies, 46 de las cuales son endémicas (Martínez, 1998; Vargas *et al.*, 2001). Este género predominantemente americano, se distribuye en Estados Unidos, Centroamérica, América del sur, las Antillas y México (Martínez, 1998). El género incluye diferentes especies con interés nutricional, nutracéutico y comercial, dentro de las que se encuentran *P. philadelphica* Lam., *P. ixocarpa* Brot., *P. pruinosa* L., *P. longifolia* Nutt. y *P. peruviana* L., siendo esta última de especial interés comercial en Colombia (D'Arcy, 1991 y Martínez, 1998 Citado por Vargas *et al.*, 2003).

1.1.3 *Physalis peruviana* L. – Uchuva

La uchuva (*Physalis peruviana*) es la especie más conocida del género *Physalis* y se caracteriza por tener un fruto azucarado con altos contenidos de vitaminas A y C, hierro y fósforo (Ligarreto *et al.*, 2005).

Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Physalis peruviana* L. es la siguiente:

Taxonomía	
Rango	Nombre científico
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Physalis</i>
Especie	<i>Physalis peruviana</i> L.

Fuente: The PLANTS Database (USDA, 2015).

Nombres comunes: En Colombia los nombres comunes son: "hierbabuena" (Cundinamarca), "uchuva" (Cundinamarca), "uchuvo" (Cundinamarca-Boyacá), "uvilla" (Huila), "vejigón" (Huila, Tolima), "tomate" (Magdalena) (Ligarreto *et al.*, 2005). Capulí, guinda serrana, aguaymanto, tomatillo, uvilla (Perú); capulí o motojobobo embolsado (Bolivia); cereza de judas, topo-topo (Venezuela); uvilla (Ecuador); cereza del Perú (México) entre otros (Lagos *et al.*, 2001).

Morfología de la planta

La uchuva es una planta perenne, herbácea, arbustiva, fuertemente ramificada y con crecimiento indeterminado (García, 2003; Ligarreto *et al.*, 2005). Presenta hojas simples y alternas; flores amarillas solitarias, pedunculadas y hermafroditas, y puede ser polinizada por insectos, por el viento o por autopolinización. El cáliz, al comienzo del desarrollo del fruto es pequeño y crece hasta formar una estructura similar a una vejiga de unos 5 cm el cual encierra completamente el fruto, al madurar adquiere una textura apergaminada y su color se vuelve pajizo. El fruto es una baya jugosa en forma de globo u ovoide de color amarillo-naranja en su madurez, con un diámetro entre 1,25 y 2,5 cm, que pesan alrededor de 4 a 10 g y contienen de 100 a 300 semillas (Ligarreto *et al.*, 2005).

Origen y distribución

Esta especie es originaria de los Andes específicamente de Perú, aunque se tiene indicios de que proviene de Brasil y fue aclimatada en los altiplanos Peruanos. La especie se distribuye en zonas tropicales, subtropicales e incluso templados entre los 1.500 y 3.000 msnm (Villamizar *et al.*, 1993) y en Colombia se encuentra distribuida en la región andina, como planta silvestre y sólo desde hace algunos años se viene manejando con fines comerciales (García, 2003).

Ventajas nutricionales y medicinales

El fruto de la uchuva constituye una fuente importante de vitaminas, principalmente de vitaminas del complejo B (tiamina y niacina) y provitamina A especialmente β -caroteno por que se cataloga como un fruto carotenógeno; cuenta con altos contenidos de fósforo y hierro y bajos contenidos de calcio. Además, es rico en azúcares constituidos principalmente por sacarosa con un contenido de unas 2,5 veces mayor que el de glucosa y fructosa. Los frutos maduros contienen entre 13 y 15 °Brix y almacenan un buen contenido de ácidos (Fischer y Lüdders, 1997). En diferentes regiones de Colombia, al fruto se le atribuyen propiedades medicinales como purificar la sangre, disminuir la albumina de los riñones, fortificar el nervio óptico, limpiar las cataratas y aliviar las afecciones de garganta (CCI, 2002).

Requerimientos ecofisiológicos de la planta

De acuerdo a Fischer *et al.*, (2000), en Colombia la uchuva crece en sitios entre 1800 y 2800 msnm, con una temperatura promedio anual entre los 13 y 18°C. Si la temperatura es muy alta se perjudica la floración y fructificación por una senescencia anticipada, mientras que en temperaturas entre los 22 y 29 °C, el crecimiento longitudinal de las ramas hace que el número de frutos aumente.

Las precipitaciones deben oscilar entre 1.000 y 2.000 mm bien distribuidos a lo largo del año con una humedad relativa del 70 al 80%. Una alta precipitación durante la

época de cosecha deteriora el fruto y el encharcamiento por pocas horas produce la muerte del sistema radicular, por lo cual se recomiendan suelos de tipo arcillo-arenoso con buen drenaje y enriquecidos con materia orgánica en zonas de alta humedad (Fischer *et al.*, 2000).

Ecotipos cultivados en Colombia

En el país se cultivan tres ecotipos: Kenia, Sudáfrica, y Colombia, y cuyos nombres se derivan del país de procedencia. La introducción de los dos ecotipos africanos (Kenia y Sudáfrica) se dio a finales de la década de los ochenta y desde entonces se han encontrado notables diferencias entre los mismos.

El ecotipo 'Kenia' se caracteriza por tener longitudes del tallo, de las ramas laterales y del área foliar y tamaño de la hoja menores que los de 'Sudáfrica' y 'Colombia', y el ecotipo originario de Colombia muestra un crecimiento del tallo, de las ramas y foliar muy similar a los originarios de Sudáfrica.

El ecotipo keniano produce el mayor rendimiento por planta; mientras el colombiano, el mayor número de frutos por planta. Los frutos y cálices del ecotipo sudafricano son achatados, mientras los originarios de Kenia son alargados, y los frutos originarios de Colombia son globosos. Los frutos del ecotipo 'Kenia' presentan el índice de semilla más bajo, derivado de un mayor peso fresco de fruto y menor número de semillas por fruto; esto le confiere una ventaja a este ecotipo en el procesamiento agroindustrial, en el que se requieren frutas de mayor tamaño y menor número de semillas, lo que permite alcanzar un mayor rendimiento de la parte comestible. El ecotipo 'Sudáfrica' muestra frutos con mayor cantidad de semillas, lo que indica que puede ser útil en futuros programas de fitomejoramiento y en producción de plántulas. Finalmente, el ecotipo 'Kenia' presenta mayor homogeneidad en el peso de las semillas, mientras el ecotipo 'Colombia' es el que presenta mayor variabilidad; esto podría verse reflejado en la capacidad germinativa de cada ecotipo (Peña *et al.*, 2010). En cuanto a contenido de azúcares, el ecotipo Colombia presenta un mayor contenido de azúcares y mejor coloración que los otros ecotipos (Almanza y Fischer, 1993)

Producción nacional y exportación

A pesar de que se cultivan varios ecotipos en el país, el ecotipo Colombia caracterizado por tener una mejor coloración y mayor contenido de azúcares en el fruto, tiene mayor demanda en los mercados internacionales, contribuyendo a que Colombia sea uno de los principales productores a nivel mundial (Bonilla *et al.*, 2009; BTC, 2015), donde también sobresalen países como Sudáfrica, Kenia, Brasil y Argentina, y otros países como Chile, Australia y Nueva Zelanda, que están iniciando su producción (Cedeño y Montenegro, 2004).

El cultivo de la uchuva ha crecido durante los últimos años, pasando de 6 hectáreas cosechadas en 1993 a 1084 hectáreas en el año 2009, y un posterior descenso a 744 hectáreas cultivadas en el 2011, esto atribuido principalmente a problemas fitosanitarios causados por la marchitez vascular; no obstante, para los años 2012, 2013 y 2014 se registró un incremento en el área sembrada a 758, 880 y 932 ha, respectivamente. La producción reportada para el año 2014 estuvo por encima de las 13.000 toneladas y un rendimiento de 9,8 ton/ha exponiendo un incremento significativo si se compara con los datos reportados para el año 1993 en el cual se reportó una producción de 4 toneladas y un rendimiento de 0,7 ton/ha. Esta importante producción se concentró en el departamento de Boyacá con un 46,2%, seguido por Antioquia con un 21,4% y Cundinamarca con un 17% (Agronet, 2015).

El mercado internacional del fruto de la uchuva en fresco presentó un desarrollo notable en la última década, y para el año 2008, fue el producto más exportado por Colombia al mundo al concentrar el 75,2% del mercado de frutas exóticas, seguido por el banano bocadillo, el tomate de árbol, la granadilla y la pitahaya. Para el año 2014 y 2015, estas exportaciones estuvieron representadas en un total de 30 y 24 millones de dólares, respectivamente y los principales consumidores fueron Países Bajos (3.237 ton), Alemania (1.667 ton), Bélgica (548 ton), Canadá (116 ton) y con menor volumen países como Brasil, Estados Unidos, Panamá, Reino Unido, España, entre otros (Agronet, 2015).

Limitantes en el cultivo

Una de las principales limitantes que afectan al cultivo de la uchuva en Colombia son las enfermedades producidas por hongos; responsables de las mayores pérdidas de la producción. Entre las enfermedades más frecuentes se encuentran: la mancha gris (*Cercospora* sp.), muerte descendente (*Phoma* sp.), mancha negra de las hojas (*Alternaria* sp.), moho gris (*Botrytis* sp.) y marchitez vascular (*Fusarium oxysporum*). Esta última, ha causado pérdidas hasta del 100% del cultivo y su presencia se ha confirmado en los principales centros de producción del país (Rodríguez *et al.*, 2011a)

Por otro lado, el rajado del fruto se ha convertido en una importante limitante que genera grandes pérdidas en producción y principalmente en comercialización donde cerca del 20% de fruta es descartada debido a este motivo y en casos más severos hasta del 45% (Fischer y Lüdders, 1997). La baya de uchuva tiene predisposición al cuarteamiento debido al rápido crecimiento o en ocasiones a su sobremadurez, y puede atribuirse no sólo a factores nutricionales e hídricos, sino también puede deberse a un factor genético como ocurre en tomate (Cooman *et al.*, 2005).

De acuerdo al mercado, los requerimientos de calidad como tamaño de fruto pueden variar. En Colombia se aplica la Norma Técnica Colombiana NTC 4580 para este producto la cual menciona los requisitos básicos que debe cumplir la fruta,

pero en general para exportación o mercados nacionales especializados el fruto debe tener un calibre B (1,5 cm) o superior a 2 cm de diámetro, por lo que los frutos pequeños deben eliminarse, así como sólidos solubles totales mínimo de 14°Brix (ICONTEC, 1999), requisitos que en muchas ocasiones no se cumplen en totalidad destinando estos frutos al mercado nacional.

1.1.4 Caracterización morfoagronómica y mejoramiento en uchuva

Los avances en investigación en la especie han permitido consolidar información de las colecciones con base en procesos de caracterización y evaluación de germoplasma, incluyendo variables morfológicas y agronómicas. En el caso de la uchuva, se han realizado una serie de caracterizaciones fenotípicas empleando descriptores de forma, tamaño y peso de fruto en accesiones procedentes de Ecuador y Colombia (Pulgarín, 1989) y basados en descriptores cualitativos como presencia de antocianina en las nervaduras, pubescencia en el estilo, color de la corola y de sus manchas, color del fruto inmaduro y forma del cáliz evaluados en accesiones de *P. philadelfica* y *P. peruviana* donde se encontró alta variabilidad en estas características (Arbeláez y Mora, 1990).

Lagos *et al.*, (2003) realizaron la caracterización morfológica en 50 accesiones utilizando 28 características cualitativas y 20 cuantitativas y encontraron que las variables cualitativas como color de tallo, hábito de crecimiento, tipo de ramificación, borde de la hoja, ápice de la hoja, color de la baya inmadura, forma de la semilla y color de la semilla, fueron las que presentaron mayor variación. Variables como antesis, viabilidad polínica, germinación polínica de la uchuva también han sido evaluadas (Lagos *et al.*, 2008; Grisales *et al.*, 2010). En estos estudios se encontró que la apertura floral de la uchuva se observa a los 37 días de desarrollo del primordio floral entre las 7:00 y 10:30 horas y la madurez del polen se alcanzó dos días antes de la antesis, mientras que el estigma fue receptivo una vez ocurrió la apertura floral (Lagos *et al.*, 2008). Asimismo, se encontró la uchuva posee polinización cruzada natural del 54% (Lagos *et al.*, 2008) y la viabilidad del polen oscila entre 54,12 y 98,82%; mientras que la germinación polínica fluctúa entre 3,70 y 53,06% (Grisales *et al.*, 2010).

De igual manera, se han estudiado y reportado diferencias en caracteres relacionados con el fruto como forma, peso con y sin cáliz, grados Brix y diámetro polar y ecuatorial, acidez titulable, contenido de sólidos solubles, entre otros (Madriñan, 2010; Herrera *et al.*, 2011; Mendoza *et al.*, 2012) en diferentes accesiones de uchuva. Peña *et al.*, (2010) caracterizaron los ecotipos 'Colombia', 'Kenia' y 'Sudáfrica', siendo éstos los materiales más cultivados en el país y se encontraron importantes relaciones entre el peso fresco de fruto y el peso de semillas por fruto en el ecotipo 'Colombia', y relación del peso del fruto con el número de semillas/fruto aunque esta fue menor.

Por otro lado, con fines de mejoramiento en uchuva se han desarrollado protocolos para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de la especie (Barriga *et al.*, 2008),

así como el cultivo de anteras con el fin de obtener líneas doble haploide en busca de homogeneidad genética y fenotípica (Suescún *et al.*, 2011). Asimismo, se han realizado cruzamientos dirigidos con el fin de mejorar la productividad, calidad de la fruta y evidenciar caracteres superiores como respuesta a la heterosis (Leiva-Brondo *et al.*, 2001) y conocer la aptitud combinatoria de los materiales de uchuva (Lagos *et al.*, 2007)




1.2 Materiales y métodos

1.2.1 Material vegetal

La colección de trabajo para esta investigación se seleccionó a partir del banco de germoplasma de uchuva administrado por Corpoica, en el que se encuentran accesiones provenientes de diferentes departamentos de Colombia y otros países como Ecuador, Sur África, Nepal, Dinamarca y Francia (Figura 1-1).

Un total de 100 accesiones de uchuva fueron seleccionadas como colección de trabajo donde se incluyeron accesiones silvestres, cultivadas y provenientes de cultivo *in vitro* de anteras. Además, cerca del 80% de las accesiones fueron previamente evaluadas por su respuesta ante el hongo *F. oxysporum*, causante de la marchitez vascular en condiciones de invernadero (Osorio-Guarín *et al.*, 2016).

Estos materiales fueron escogidos teniendo en cuenta los siguientes criterios:

-  Existencia de datos de pasaporte
-  Información previa de calidad de fruto
-  Existencia de la accesión en condiciones *in vitro*

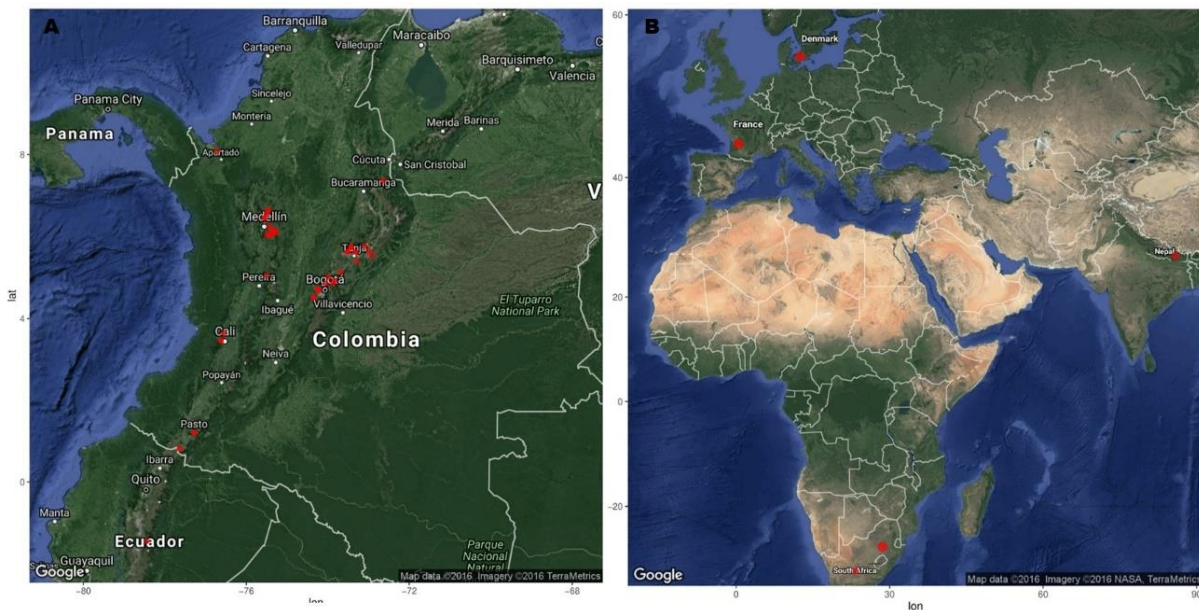


Figura 1-1 Procedencia de las accesiones de uchuva
A. Distribución de accesiones en Colombia y Ecuador. **B.** Distribución de accesiones en Europa, Asia y África.

Cada accesión fue multiplicada *in vitro* durante cuatro ciclos con el fin de obtener el material suficiente para llevar a campo, tener reservas para la extracción de tejido foliar y contar con clones en la caracterización fenotípica y genotípica. La

multiplicación se inició a partir de material conservado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de Corpoica, del cual se realizaron subcultivos cada cuatro semanas en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con 0,1 mg de ácido giberélico. El pH del medio se ajustó a 5,8 y se esterilizó a 20 PSI y 121 °C durante 20 minutos. Los cultivos se incubaron en cuartos de crecimiento a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y un fotoperiodo 16 horas luz.

Las plántulas regeneradas se trasladaron a cámara húmeda y se sembraron en bandejas plásticas de 48 alveolos con turba canadiense como sustrato. Inmediatamente después de la siembra, las plantas se cubrieron con plástico de polietileno para mantener la humedad relativa y evitar la muerte por deshidratación. Al cabo de una semana, el plástico fue retirado gradualmente hasta que las plantas se adaptaron totalmente a las condiciones de invernadero de baja humedad relativa. Las plantas endurecidas se trasladaron al sitio definitivo donde se aclimataron durante una semana bajo polisombra 50% y una semana más a plena exposición solar.

1.2.2 Ubicación del experimento y diseño experimental

El presente trabajo se realizó en la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica Tibaitatá, ubicada en el Km 14 vía Mosquera Cundinamarca y como sitio de siembra se seleccionó el lote 11 (latitud: $4^{\circ} 40' 55,5''$ N y longitud: $74^{\circ} 12' 12,4''$ W) (Figura 1-1) ubicado a una altitud de 2554 msnm, precipitación media anual de 600 mm, humedad relativa de 73%, temperatura media de 14°C y suelo de textura franco arenosa.

El ensayo se realizó bajo un diseño en lattice triple 10X10 con tres repeticiones. Cada repetición estuvo conformada por 10 bloques incompletos aleatorizados, que a su vez contenían 10 tratamientos y cada tratamiento estuvo conformado por una parcela con tres plantas.

1.2.3 Manejo agronómico

Preparación del terreno: esta consistió en el guadañado y dos pasos de rastra. El hoyado se realizó a una distancia de 2 metros entre plantas y 2 metros entre surcos. El trasplante se llevó a cabo los días 20, 21 de agosto, 4 y 9 de septiembre de 2014 cuando las plantas alcanzaron 20 cm de altura. Al inicio del ensayo, los riegos fueron suministrados de forma manual y posteriormente se implementó el sistema de riego por goteo.

Fertilización: con el trasplante se proporcionó 500 gr de lombricompost y las posteriores aplicaciones se realizaron de acuerdo a las recomendaciones del análisis de suelo. Un mes después de la siembra se aplicó 80 g/planta de 10-20-20, y posteriormente cada tres meses se aplicó 100 g/planta del mismo fertilizante con 50 g/planta de KCl (Cloruro de potasio) y DAP (Fosfato Diamónico). La

aplicación de elementos menores con el fertilizante CRECER 500® se realizó cada dos meses hasta el sexto mes.

Poda y tutorado: en la poda de formación, se eliminaron brotes de la base del tallo hasta los 40 cm de altura dejando dos ramas principales, y en la poda de mantenimiento, se eliminaron ramas viejas y secas. Se empleó el sistema de tutorado en “V” para facilitar la aireación y el manejo del cultivo, empleando varas de eucalipto y alambre calibre 10.

Plagas y enfermedades: el manejo de plagas y enfermedades se realizó conforme se presentaron en el cultivo y se aplicaron plaguicidas recomendados.

Las cosechas se realizaron de manera semanal, comenzando el día 16 de Junio y se extendieron hasta el 4 Agosto de 2015, para un total de 8 semanas de cosecha.

1.2.4 Evaluación fenotípica de la colección de trabajo

Evaluación de rendimiento

Producción acumulada (*Prod*): se determinó la producción semanal en gramos por planta y posteriormente se acumuló por genotipo al final de la evaluación.

Número de frutos (*NumF*): se determinó el número de frutos semanal por planta y posteriormente se acumuló por genotipo y repetición al final de la evaluación.

Producción de fruta en estado maduración categoría 3 (*FMad3*): La categoría 3 de maduración corresponde al estado óptimo de cosecha y exportación donde el cáliz presenta una coloración verde amarilla y por lo general el fruto está totalmente amarillo (Galvis *et al.*, 2005). Para la cuantificación de esta variable se realizó la selección de frutos en estado de maduración 3 siguiendo la tabla de color de fruto y cáliz de uchuva (Figura 1-2) con base en la Norma Técnica Colombiana 4580 (ICONTEC, 1999), sin eliminar fruta rajada. Posteriormente, se pesó la producción semanal en gramos por planta y se acumuló por genotipo al final de la evaluación.

Peso de fruto: se tomaron cinco frutos en estado de maduración 3 de cada parcela y se pesaron con cáliz (**PFC**) y sin cáliz (**PFS**) en una balanza analítica Mettler Toledo, con una precisión de 0,1 g y desviación de 0,01 g. Posteriormente se determinó el peso en gramos de cada fruto.

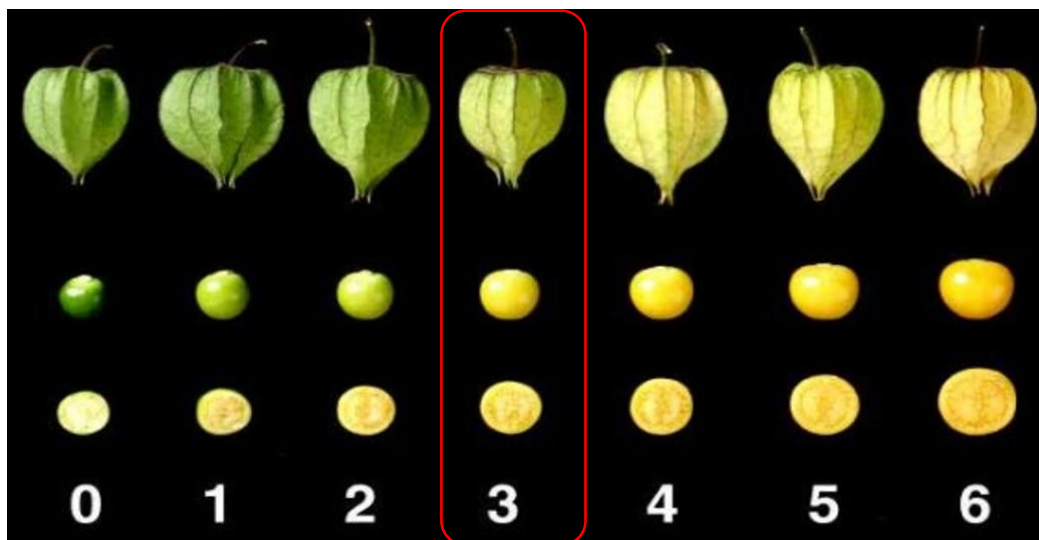


Figura 1-2 Tabla de color del fruto y cáliz de uchuva de la NTC 4580 de Icontec (1999)

Evaluación de tamaño y forma del fruto

Para la evaluación de fruto fue necesaria la digitalización de tres frutos por repetición de cada genotipo durante dos cosechas. Para esto, los frutos se cortaron cuidadosamente de manera longitudinal y se digitalizaron empleando el escáner Hewlet Packard® C9866A en fondo negro con una resolución de 200 ppp en formato JPEG. A partir de estas imágenes, se realizó el análisis empleando el software *Tomato Analyzer v3.0* el cual identifica automáticamente los frutos en una imagen escaneada y los mide en puntos (píxeles) por pulgada (ppp-dpi), medición que luego es transformada en cm o mm (Rodríguez *et al.*, 2010). Para este estudio se tuvieron en cuenta mediciones básicas, terminación distal, índice de forma y asimetría (Figura 1-3), que tiene en cuenta las siguientes variables:

Mediciones básicas

Perímetro (*Per*): longitud del perímetro en cm

Área (*Area*): área del fruto en cm²

Ancho en la parte media del fruto (*AnchoMF*): ancho medido en la altura media del fruto en cm

Ancho máximo (*AnchoMax*): distancia máxima horizontal del fruto en cm

Longitud en la parte media del fruto (*LongMF*): altura medida en la mitad del ancho del fruto en cm

Longitud máxima (*LongMax*): distancia vertical máxima del fruto en cm

Terminación distal:

Área de hendidura distal (*AreaHendD*): La relación entre el área de la hendidura distal (delimitada por los puntos salientes distales, DSL y Dslr) y el área total de la fruta, multiplicado por 10.

Índice de forma

Índice de forma externa I (*FSI*): relación entre la altura máxima y el ancho máximo del fruto

Índice de forma externa II (*FSII*): relación entre la altura en la parte media del fruto y el ancho en la parte media del fruto

Asimetría

Ovoide (*Ovoid*): si el área del fruto es más grande encima de la altura media que por debajo de esta.

Obovoide (*Obovoid*): si el área del fruto es más grande por debajo de la altura media que por encima de esta (Rodríguez *et al.*, 2010).

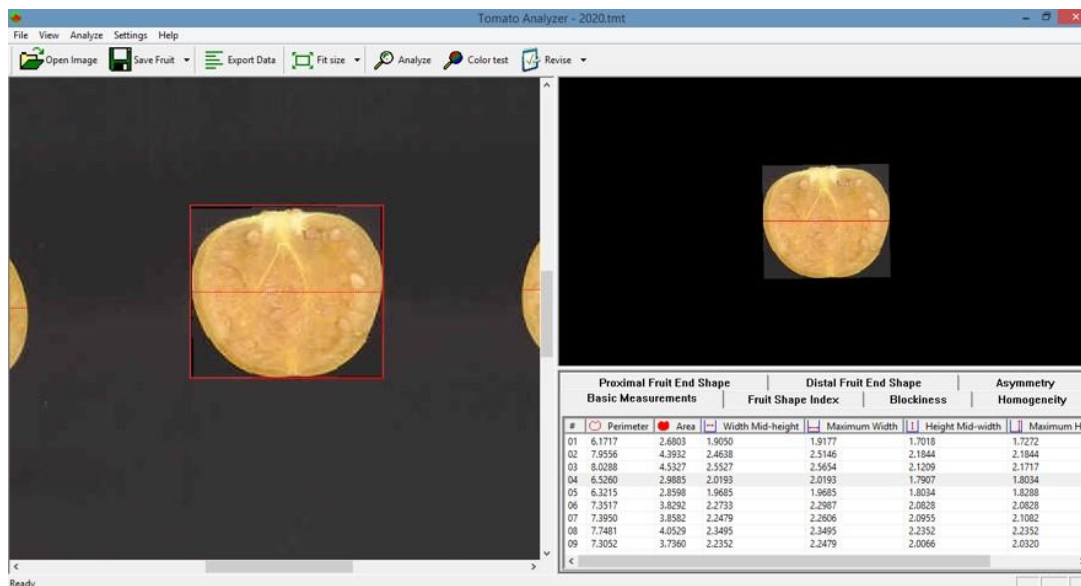


Figura 1-3 Aplicación del software Tomato Analyzer para la medición de variables geométricas en el fruto de uchuva

Evaluación de calidad fisicoquímica

Porcentaje de rajado (*Raj*): esta variable se determinó calculando el porcentaje de frutos rajados en relación con el peso total de frutos en estado de maduración 3 por genotipo en cada repetición.

Firmeza (*FirmF*): se realizó la medición en lb-f a tres frutos por parcela en cada repetición empleando un texturómetro marca Chatillon TDC200 con una precisión de 0,125 lb-f y una punta de 5 mm de diámetro a una velocidad de carga constante de 1 mm/s.

Contenido de sólidos solubles totales (SST): se extrajo el jugo libre de pulpa a partir de tres frutos por parcela y se midió en °Brix utilizando un refractómetro óptico digital marca ATAGO PAL-1 con una precisión de 0,2 °Brix.

La variable “Firmeza” se midió durante seis semanas mientras que las variables de rendimiento y calidad se midieron durante ocho semanas a partir del 10 de Agosto de 2015.

1.2.5 Análisis de datos

Los datos fenotípicos fueron sujetos a análisis de varianza (ANOVA) y se determinó la media, desviación estándar, valor máximo, valor mínimo y coeficiente de variación en cada variable empleando el software SAS v9.1.3.

El Análisis de Componentes Principales (PCA) se realizó con las diecisiete características cuantitativas y se seleccionaron aquellos componentes cuyo valor fuera $\geq 1,0$. Con base en los resultados, se realizó el Análisis de Clasificación Jerárquica (conglomerados) teniendo en cuenta los criterios de Ward (Morineau, 1984), empleando el software SAS v9.1.3 (Statistical Analysis System Inc., Cary NC).

1.3 Resultados y discusión

1.3.1 Selección, multiplicación y siembra de material vegetal

Se multiplicaron en condiciones *in vitro* 100 accesiones (Anexo A), las cuales presentaron buen desarrollo durante su cultivo. Estas accesiones se endurecieron en cámara húmeda durante dos semanas en invernadero y se aclimataron durante una semana más en condiciones de campo (Figura 1-4A; Figura 1-4B). Previo a la siembra, se seleccionaron y marcaron las plantas de cada una de las accesiones teniendo como criterio un buen desarrollo radicular y foliar, que garantizara su adecuado desarrollo en el sitio definitivo (Figura 1-4C). La fertilización se realizó de acuerdo a las recomendaciones del análisis del suelo para un adecuado desarrollo de la planta. En la figura 1-4D, se muestra el cultivo a los tres meses después del trasplante.



Figura 1-4 Acciones de uchuva en multiplicación, endurecimiento y posterior siembra en campo para evaluación de calidad de fruto

A. Colección de trabajo de uchuva en condiciones *in vitro*, **B.** Plantas en endurecimiento bajo cámara húmeda, **C.** Establecimiento en campo – Lote 11 C.I. Tibaitatá, **D.** Cultivo tres meses después del trasplante.

1.3.2 Evaluación fenotípica

Con el análisis de datos, se identificó una eficiencia del diseño en lattice que osciló entre 0,85% y 6,40% en las variables de los tres componentes evaluados. Las variables *FSII*, *PFC* y *FSI* presentaron mayor eficiencia del diseño con 4,99, 5,14 y 6,40%, respectivamente; mientras que en las variables *Peri*, *LongMax* y *LongMF* no se encontró eficiencia del diseño (Tabla 1-1).

Tabla 1-1 Eficiencia relativa del diseño en lattice para cada una de las variables evaluadas

Variable	Abrev.	EDL	Variable	Abrev.	EDL
Rendimiento			Tamaño y forma de fruto		
Producción acumulada (g/planta)	<i>Prod</i>	103.69	Perímetro (cm)	<i>Peri</i>	97.60
Número de Frutos (N°)	<i>NumF</i>	102.82	Área (cm ²)	<i>Área</i>	100.02
Fruta en estado mad3 (gramos)	<i>FMad3</i>	100.85	Ancho máximo (cm)	<i>AnchoMax</i>	100.07
Peso de Fruto con cáliz (gramos)	<i>PFC</i>	105.14	Ancho en la parte media del fruto (cm)	<i>AnchoMF</i>	100.18
Peso de Fruto sin cáliz (gramos)	<i>PFS</i>	102.99	Longitud máxima (cm)	<i>LongMax</i>	98.70
			Longitud en la parte media del fruto (cm)	<i>LongMF</i>	99.14
Calidad de fruto			Área hendidura distal (cm ²)	<i>AreaHendD</i>	100.00
Porcentaje de Rajado (%)	<i>Raj</i>	101.20	Índice de forma I	<i>FSI</i>	106.40
Firmeza (lb-f)	<i>FirmF</i>	100.03	Índice de forma II	<i>FSII</i>	104.99
Sólidos Solubles Totales (°brix)	<i>SST</i>	100.52	Obovoide	<i>Obovoid</i>	100.20
			Ovoide	<i>Ovoid</i>	100.23

Abrev: Abreviatura; EDL: Eficiencia relativa del diseño en lattice

Evaluación de rendimiento

El análisis de varianza (ANOVA) presentó diferencias significativas ($P < 0,001$; $P < 0,0001$) en los bloques y en los tratamientos para todas las variables de rendimiento (Tabla 1-2). Estos resultados son similares a lo reportado por Herrera *et al.* (2011) quienes obtuvieron diferencias significativas en una colección de trabajo de uchuva para las variables de producción, número de frutos por planta y peso de fruto con cáliz.

Tabla 1-2 Análisis de varianza en 100 accesiones de uchuva respecto a las variables de rendimiento

Fuente de variación	Cuadrados medios (entre grupos) Bloques	Cuadrados medios (dentro de grupos) Tratamientos
<i>Prod</i>	14450419,5***	1113325,7***
<i>NumF</i>	575128,1***	26941,3***
<i>FMad3</i>	721294,4***	218490,1***
<i>PFC</i>	6,4***	9,3***
<i>PFS</i>	1,8**	6,72***

ns no significativo; ** Significativo a nivel 0,001; ***Significativo a nivel 0,0001

El 61% de la colección de trabajo presentó una producción acumulada entre 2500 y 5500 g/planta (Figura 1-5A). Las accesiones 09U033_1 y 09U277_5 presentaron la mayor producción con 7565,51 y 8304,51 g/planta, respectivamente, superando a las accesiones 14U426-2 y 14U424_2 que corresponden a los ecotipos de Kenia y Colombia, con 4966,08 y 4070,37 g/planta, respectivamente (Tabla 1-3; Figura 1-5B), las cuales corresponden a materiales cultivados y empleados como referencia en este estudio. Estos resultados son similares a los reportados por Angulo (2005) quien encontró una producción semanal de 900 g/planta a libre exposición; mientras que Martínez *et al.* (2008) encontraron valores entre 1884 y 2649 g/planta durante 135 días después del trasplante (ddt) en 9 cosechas, siendo valores más bajos a los encontrados en este estudio. De igual manera, Herrera *et al.* (2011) reportaron una producción total que fluctuó entre 1,12 Kg y 12,08 Kg; resultados menores a

los reportados en este estudio, si se tiene en cuenta que la producción se evaluó durante 4 meses.

Tabla 1-3 Medias de centralización y dispersión de los caracteres de rendimiento en la colección de trabajo de uchuva

Variable	Abrev.	Media	DE	Mín	Máx	CV
Producción (g/planta)	<i>Prod</i>	3863,45	1827,56	22,44	8304,51	47,45
Número de Frutos (Nº/planta)	<i>NumF</i>	685,25	284,29	81,94	1471,79	46,18
Fruta en estado mad3 (g/planta)	<i>FMad3</i>	1600,54	809,61	13,08	3490,14	44,12
Peso de Fruto con cáliz (g/fruto)	<i>PFC</i>	5,75	1,76	0,26	10,69	9,63
Peso de Fruto sin cáliz (g/fruto)	<i>PFS</i>	4,73	1,50	0,15	9,24	10,54

(Abrev: Abreviatura; DE: desviación estándar; Mín: Mínimo; Máx: Máximo; CV: Coeficiente de variación)

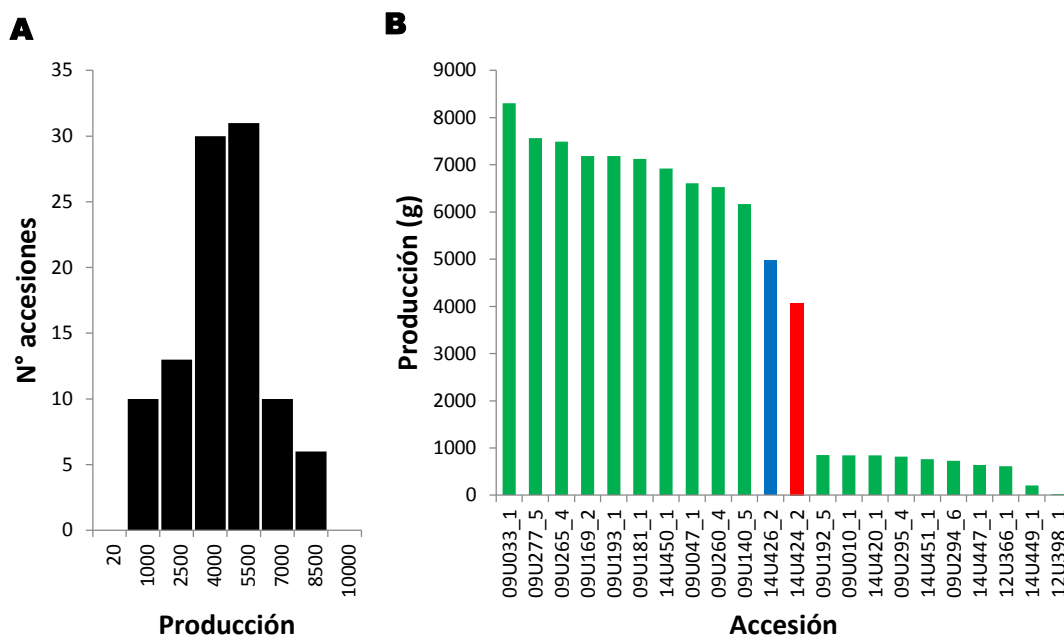


Figura 1-5 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a la producción **A.** Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

En contraste, la accesión 12U398_1 presentó la más baja producción con 22,44g, seguido por las accesiones 14U449_1, 09U294-6, 12U366-1, 09U295_4, 14U447_1 y 14U425_1 (Figura 1-5A). Estas accesiones provienen de cultivo de anteras y producen pocos frutos con pesos que oscilan entre 0,15 y 0,26 g, a excepción de la accesión 14U449_1 que aunque también proviene de cultivo de anteras produce frutos de un mayor peso y tamaño pero en menor cantidad. Estos resultados pueden deberse a diferencias en ploidía, dado que las accesiones 12U398_1, 09U294_6, 12U366_1, 14U447_1, 14U425_1 y 09U295_4, cuentan con una dotación cromosómica $n=24$ y corresponden a accesiones haploides según un estudio simultáneo realizado por Liberato *et al.* (Sin publicar). No obstante, estas accesiones pueden ser de interés en elaboraciones culinarias dado su tamaño de fruto y ausencia de semilla.

En cuanto al número de frutos, el 40% de las accesiones produjeron entre 500 y 750 frutos (Tabla 1-3; Figura 1-6A) y los genotipos 09U033_1 y 09U277_5 produjeron la mayor cantidad de frutos con 1471 y 1460, respectivamente, (Figura 1-6B) superando a los ecotipos Colombia y Kenia con 739 y 665 frutos, respectivamente; estos resultados son más altos a los reportados por Fisher *et al.* (2007) y a Martínez *et al.* (2008), quienes mencionan la producción de hasta 349 frutos por planta durante 135 días después del trasplante y de 380 frutos en un cultivo de 12 meses en campo abierto en Boyacá. Asimismo, Álvarez-Herrera *et al.* (2015) reportaron una producción entre 116 a 259 frutos con diferentes láminas de riego durante ocho cosechas quincenales, siendo esta una producción menor a la reportada en este estudio. En contraste, las accesiones 14U449_1, 12U398_1 y 14U451_1 produjeron menos de 200 frutos en total y presentaron una producción entre 22,44 y 765 gr; esto atribuido principalmente a la ploidía de los materiales.

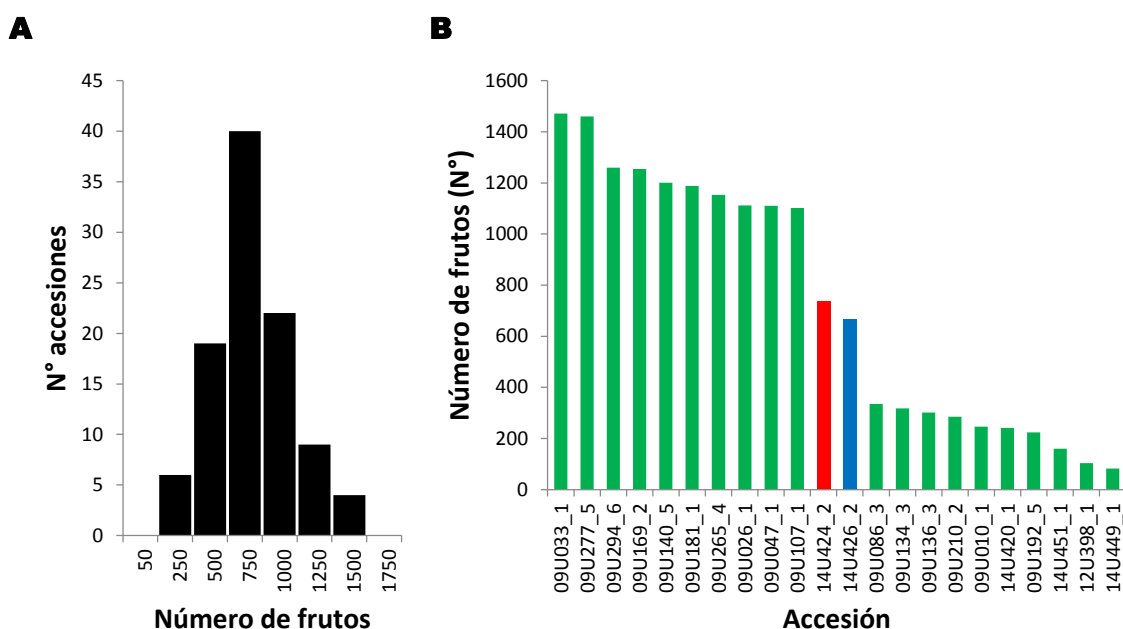


Figura 1-6 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto al número de frutos **A.** Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

Con relación al peso de fruta categoría 3, el 58% de las accesiones produjo entre 1200 y 2400 g/planta con una media general de 1600,54 g/planta (Tabla 1-3; Figura 1-7A). Las accesiones 14U426_1, 09U193_1, 09U277_5, 14U450_1 y 09U033_1 produjeron la mayor cantidad de fruta de esta categoría con una producción por encima de 3000 gr/planta la cual corresponde al 71, 48, 45, 46 y 37% del total de la fruta producida por estas accesiones, respectivamente. Los ecotipos Kenia y Colombia produjeron menor cantidad comparados con las anteriores accesiones, con 1950 y 1000g que representa el 39 y 24% del total de fruta producida, respectivamente (Figura 1-7B). En contraste, las accesiones 12U398_1, 09U294_6, 12U366_1, 09U295_4, 14U447_1 y 14U425_1 presentaron la menor peso de *FMad3* que osciló entre 13 y 110 g/planta lo cual representa menos del 10% de su

producción total; este resultado corresponde a lo esperado ya que estos frutos son de muy bajo peso. Asimismo, las accesiones 14U449_1, 14U420_1, 14U422_1 y 14U451_1 presentaron una baja producción *FMad3* inferior a 400 g/planta que representa el 73, 32, 15 y 49% de la producción total, respectivamente.

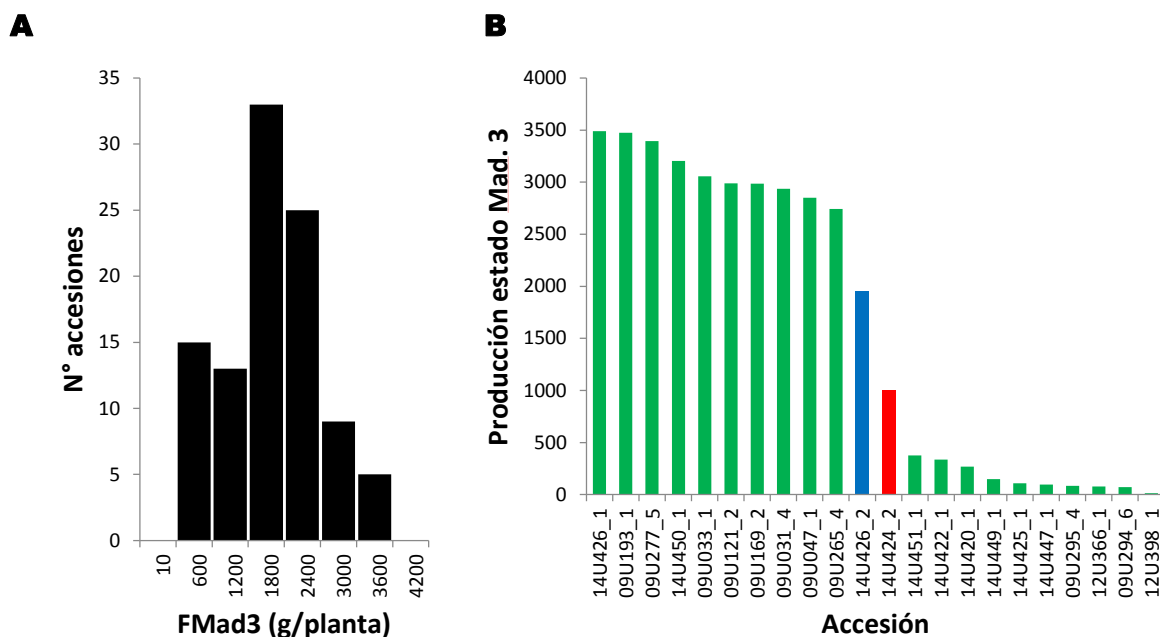


Figura 1-7 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto al peso de fruta categoría 3

A. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

Respecto al *PFC*, el 47% de las accesiones presentó peso de fruto con cáliz entre 6,0 y 7,5 g/fruto, mientras que el 56% de las accesiones presentó un peso de fruto sin cáliz (*PFS*) entre 4,5 y 6,0 g/fruto (Figura 1-8A; Figura 1-8C). Las accesiones 09U134-3, 14U426-1 y 14U426-2 (ecotipo Kenia) presentaron el mayor peso de fruto con valores entre 7,79 y 10,69 g/fruto para peso de fruto con cáliz y entre 6,56 g y 9,24 g/fruto en frutos sin cáliz (Figura 1-8B; Figura 1-8D). Estos resultados son similares a los reportados por Martínez *et al.* (2008) y Fischer (2005) quienes mencionan que el peso de fruto promedio en uchuva esta entre 6 y 10 g. Adicionalmente, la accesión del ecotipo Colombia 14U424-2 presentó en promedio 5,67 g/fruto con cáliz y 4,62 g/fruto sin cáliz, peso de fruto menor al obtenido en el ecotipo Kenia tal como se ha reportado por Miranda (2005), Fisher *et al.* (2007) y Quevedo *et al.* (2015) quienes mencionan un peso de fruto de 6,5 y 6,8 g/fruto para los ecotipos Kenia y Sudáfrica y 4,1 a 5,34 g/fruto para el ecotipo Colombia.

En contraste, las accesiones haploides presentaron los frutos más pequeños que oscilaron entre 0,26 y 1,06 g, explicado principalmente por la ploidía de estos materiales. Asimismo, las accesiones 14U449_1, 09U010_1, 14U420_1,

09U192_5, 09U131_3, 14U422_1 y 14U423_1 también presentaron bajo peso de fruto que osciló entre 2,29 y 3,95g.

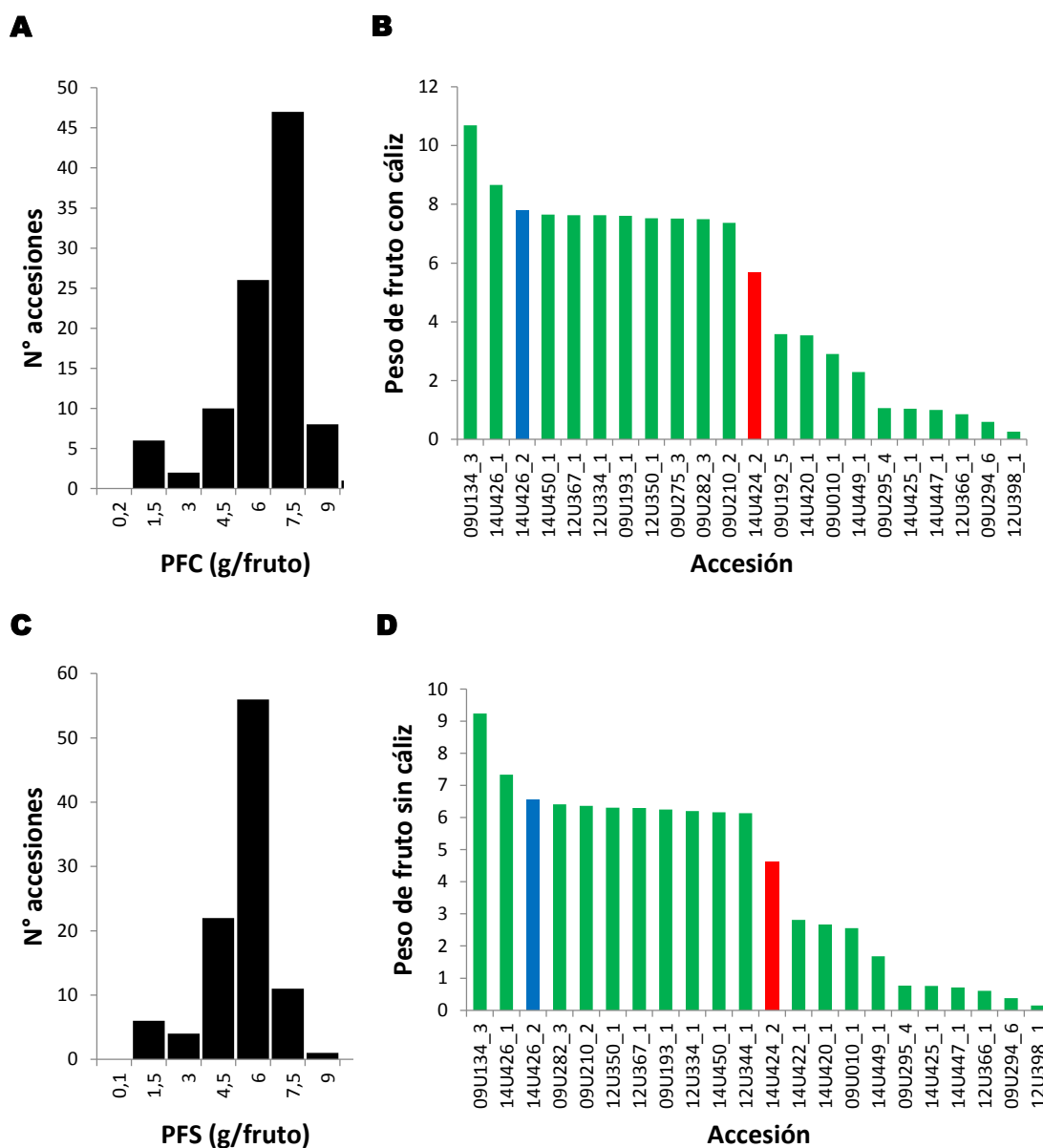


Figura 1-8 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto al peso de fruto con cáliz y peso de fruto sin cáliz

A-C. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B-D.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

Los coeficientes de variación de los caracteres de rendimiento oscilaron entre 9,63 y 47,45% (Tabla 1-3); indicando que estas características presentaron amplia variabilidad en la colección de estudio y que podría ser útil en los programas de mejoramiento de la especie. Los mayores coeficientes de variación se presentaron

en las variables *Prod*, *NumF* y *FMad3* en menor proporción en *PFC* y *PFS*; resultados similares a Herrera *et al.* (2011) quienes reportan coeficientes de variación de 41,15% en producción, 38,91% en número de frutos y 19,45% en peso de fruto con cáliz en una colección de trabajo de uchuva.

Evaluación de tamaño y forma del fruto

Los atributos geométricos de *Peri*, *Area*, *AnchoMax*, *AnchoMF*, *LongMax* y *LongMF*, presentaron diferencias significativas en los bloques ($P < 0,0001$); sin embargo las variables *AreaHendD*, *FSI*, *FSII*, *Obovoid* y *Ovoid* no presentaron diferencias significativas en los bloques atribuido posiblemente a que estas variables no se ven afectadas por los bloques y sugiere un alto componente genético. En cuanto a los tratamientos (Accesiones), todas las variables presentaron diferencias significativas (Tabla 1-4).

El 61% de las accesiones presentaron un perímetro de fruto entre 6,5 y 7,5 cm; mientras que el 47% de las accesiones presentaron un área de fruto entre 3,5 y 4,5 cm² (Figura 1-9A; Figura 1-9C; Tabla 1-5). Las accesiones 09U134_3 y 09U282_3 presentaron los mayores valores en estas variables con un perímetro de 8,9 y 8,0cm, respectivamente y una área de 5,2 y 4,4cm², respectivamente; mientras que las accesiones Kenia y Colombia presentaron valores más bajos con un perímetro de fruto de 8,0 y 7,3 cm y área del fruto de 4,4 y 3,7 cm², respectivamente. En contraste, las accesiones haploides (12U398_1, 09U294_6, 12U366_1, 09U295_4, 14U447_1 y 14U425_1) presentaron un perímetro inferior a 5 cm y área menor a 1,16 cm², seguido por las accesiones 14U422_1, 09U131_3 y 09U192_5 con perímetro inferior a 6cm y un área menor a 2,5 cm² (Tabla 1-5; Figura 1-9B; Figura 1-9D).

Tabla 1-4 Análisis de varianza en 100 accesiones de uchuva respecto a las variables de dimensión y forma de fruto

Fuente de variación	Cuadrados medios (entre grupos) Bloques	Cuadrados medios (dentro de grupos) Tratamientos
<i>Peri</i>	2,1***	2,7***
Área	1,3***	1,94***
<i>AnchoMax</i>	0,14***	0,27***
<i>AnchoMF</i>	0,1***	0,27***
<i>LongMax</i>	0,11***	0,25***
<i>LongMF</i>	0,11***	0,28***
<i>AreaHendD</i>	0,0000003 ^{ns}	0,004***
<i>FSI</i>	0,0005 ^{ns}	0,007***
<i>FSII</i>	0,0007 ^{ns}	0,01***
<i>Obovoid</i>	0,0001 ^{ns}	0,004***
<i>Ovoid</i>	0,0002 ^{ns}	0,006***

^{ns} no significativo; ** Significativo a nivel 0,001; ***Significativo a nivel 0,0001

Tabla 1-5 Estadísticos de las variables de dimensión y forma del fruto en la colección de trabajo de uchuva

Variable	Abreviatura	Media	DE	CV	Mín	Máx
Perímetro (cm)	<i>Peri</i>	6,85	0,96	5,42	2,98	8,87
Área (cm ²)	<i>Área</i>	3,28	0,80	9,75	0,55	5,20
Ancho máximo (cm)	<i>AnchoMax</i>	2,07	0,30	5,56	0,96	2,81
Ancho en la parte media del fruto (cm)	<i>AnchoMF</i>	2,06	0,30	5,54	0,93	2,78
Longitud máxima (cm)	<i>LongMax</i>	1,93	0,28	4,50	0,76	2,3
Longitud en la parte media del fruto (cm)	<i>LongMF</i>	1,90	0,30	4,51	0,63	2,25
Área hendadura distal (cm ²)	<i>AreaHendD</i>	0,0092	0,03	42,65	0	0,18
Índice de forma I	<i>FSI</i>	0,93	0,05	3,17	0,70	1,06
Índice de forma II	<i>FSII</i>	0,92	0,06	3,56	0,68	1,06
Obovoide	<i>Obovoid</i>	0,0093	0,04	71,34	0	0,18
Ovoide	<i>Ovoid</i>	0,15	0,04	9,51	0	0,21

DE: desviación estándar; CV: Coeficiente de variación; Mín: Mínimo; Máx: Máximo

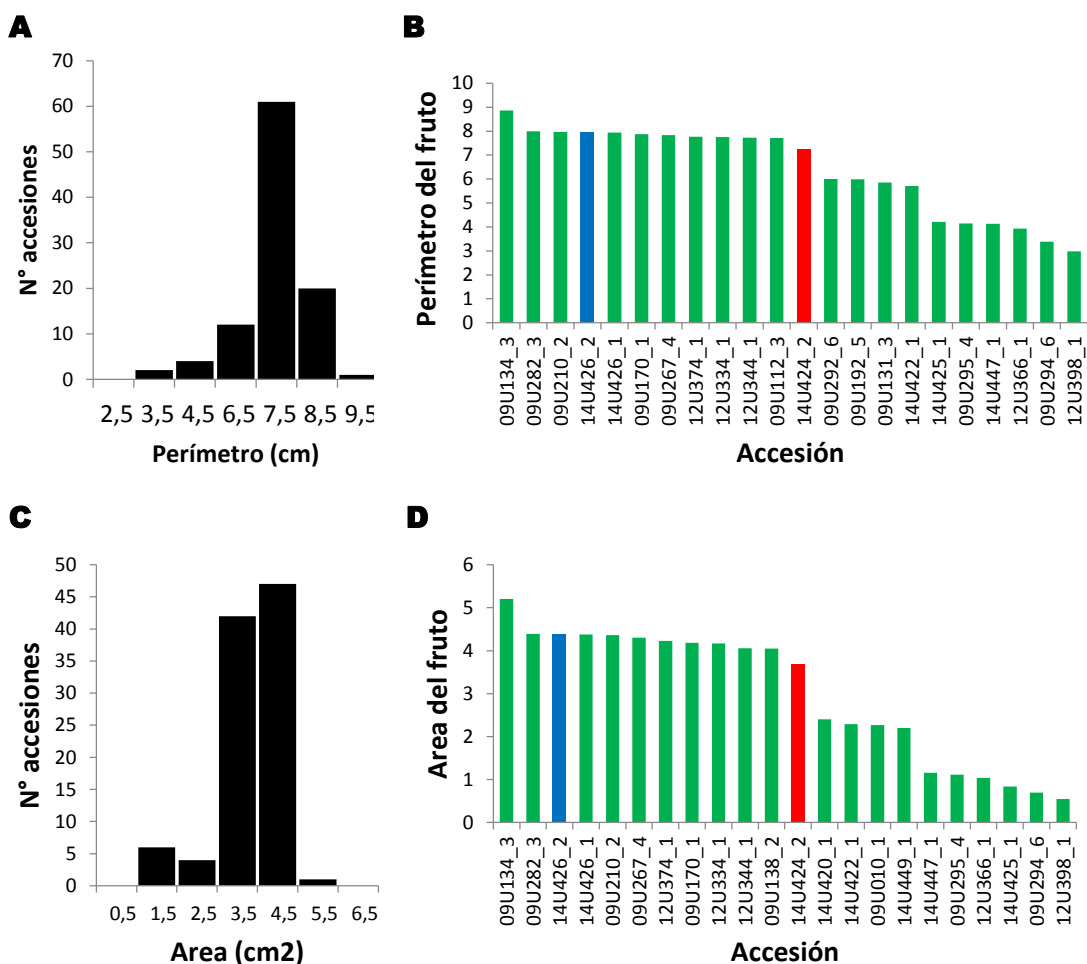


Figura 1-9 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a perímetro y área del fruto

A-C. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B-D.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

El 67% de las accesiones presentaron un ancho máximo del fruto (*AnchoMax*) entre 2,1 y 2,5 cm, pero solo el 63% de las accesiones presentaron un ancho en la parte media del fruto entre estos rangos (Figura 1-10A; Figura 1-10C). Las accesiones 09U134-3 y 09U282_3 nuevamente sobresalieron en estas variables con un *AnchoMax* de 2,81 y 2,47cm y *AnchoMF* de 2,78 y 2,44cm, respectivamente; mientras que las accesiones haploides (12U398_1, 09U294_6, 12U366_1, 09U295_4, 14U447_1 y 14U425_1) presentaron un *AnchoMax* y *AnchoMF* inferior de 1,29cm, seguido por las accesiones 09U010_1, 14U422_1, 09U030_1 y 09U131_3 con valores inferiores a 1,8 cm (Tabla 1-5; Figura 1-10B; Figura 1-10D).

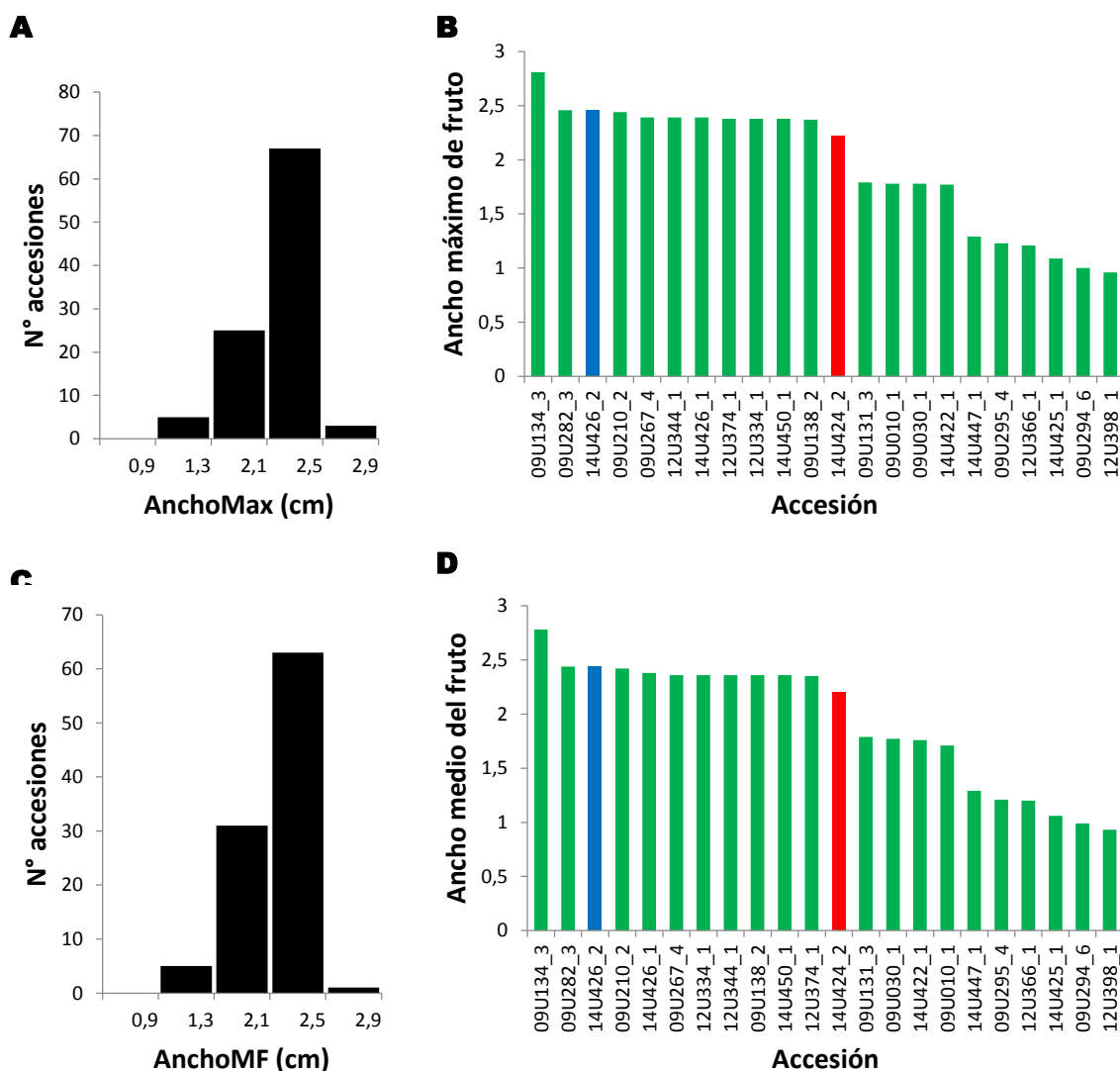


Figura 1-10 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a ancho máximo y ancho en la parte media del fruto

A-C. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B-D.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

En la variable largo máximo y largo en la parte media del fruto, el 74% de las accesiones presentaron entre 1,8 y 2,2 cm (Figura 1-11 A; Figura 1-11C). Las accesiones 09U134_3 y 14U426_1 presentaron los mayores valores en estas variables con una *LongMax* de 2,3 y 2,28cm y *LongMF* de 2,24 y 2,25cm, respectivamente; mientras que las accesiones haploides (12U398_1, 09U294_6, 12U366_1, 09U295_4, 14U447_1 y 14U425_1) presentaron un *LongMax* inferior 1cm y *LongMF* inferior 1,2cm, seguido por las accesiones 14U449_1, 14U422_1, 09U010_1, 14U420_1 y 14U448_1 con valores inferiores a 1,7cm (Tabla 1-5; Figura 1-14B; Figura 1-14D).

El área de hendidura distal (*AreaHendD*) osciló entre 0 y 0,18cm² y presentó una media de 0,0092cm² con una desviación de 0,03. Este rasgo sólo se encontró en las accesiones haploides (12U398_1, 09U294_6, 12U366_1, 09U295_4, 14U447_1 y 14U425_1) y en la accesión 14U449_1 pero de manera superficial. Las primeras accesiones tienen entre 0,13 a 0,17 cm² de hendidura distal mientras que la accesión 14U449_1 tiene en promedio 0,04 cm² (Tabla 1-5).

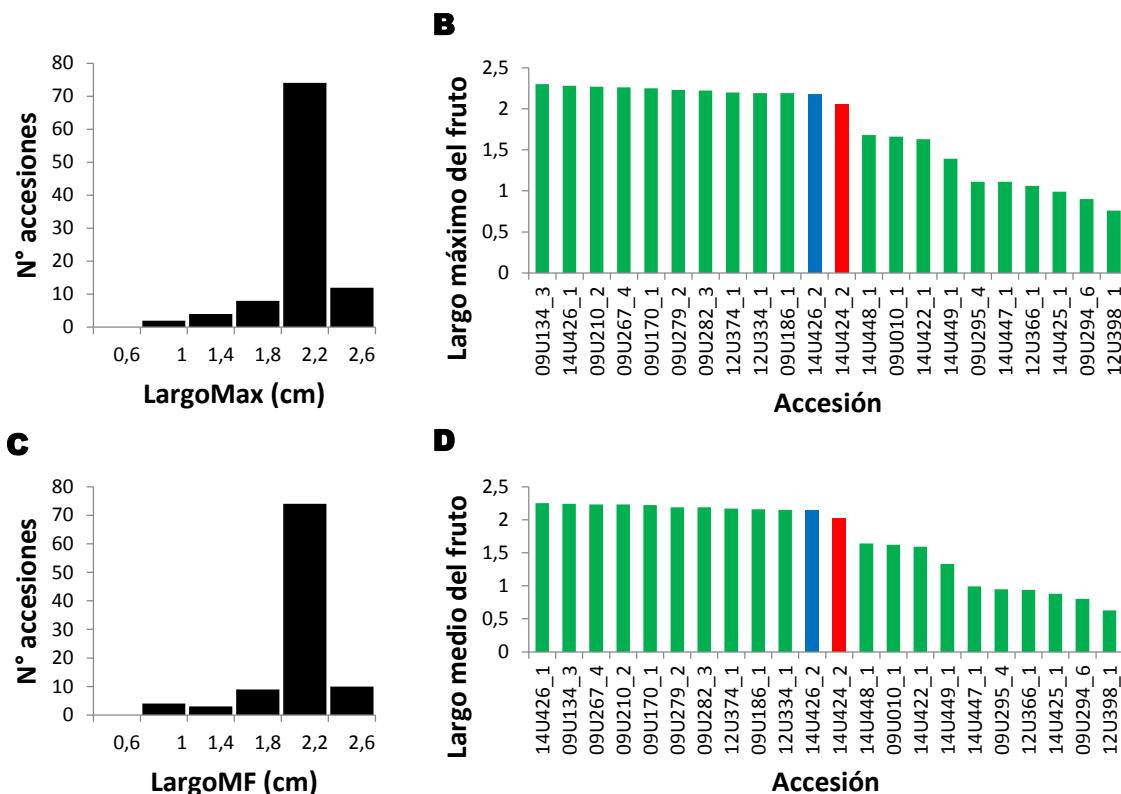


Figura 1-11 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a largo máximo y largo en la parte media del fruto

A-C. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B-D.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

En cuanto a la forma, el índice de forma I y II, oscilaron entre 0,7 y 1,06, y entre 0,68 y 1,06, respectivamente, con una media de 0,93 y 0,92, en cada caso. Aquellos frutos con *FSI* e *FSII* similares cercanos a 1,0 corresponden a frutos redondos y aquellos frutos con *FSI* e *FSII* superior o inferior a 1,0 indican que los frutos pueden presentar forma ovoide u obovoide. Las variables *Obovoid* y *Ovoid*, permiten determinar la simetría de los frutos facilitando su clasificación; en el caso de la variable *Obovoid* osciló entre 0 y 0,18, mientras que *Ovoid* osciló entre 0 y 0,21 (Tabla 1-5).

El mayor coeficiente de variación se presentó en *Obovoid* (71,34%) y *AreaHendD* (42,65%) mientras que las demás variables presentaron coeficientes de variación inferiores al 10%; sugiriendo una alta variabilidad en la terminación distal del fruto.

En la colección de trabajo bajo estudio se identificaron tres formas de fruto en uchuva: oblata, obcordada y ovoide, las cuales fueron fácilmente detectables y separables (Figura 1-12). No obstante, se observó que la forma ovoide es la más frecuente mientras que la forma oblata presentó la menor frecuencia. El 93% de la colección de trabajo presentó forma ovoide, seguido por la forma obcordada con el 6% y la forma oblata solo con el 1%. Estos resultados son pioneros en la caracterización de la forma del fruto en uchuva aunque algunos autores han mencionado información acerca de este tema (Ligarreto *et al.*, 2005; Madriñan *et al.*, 2011).

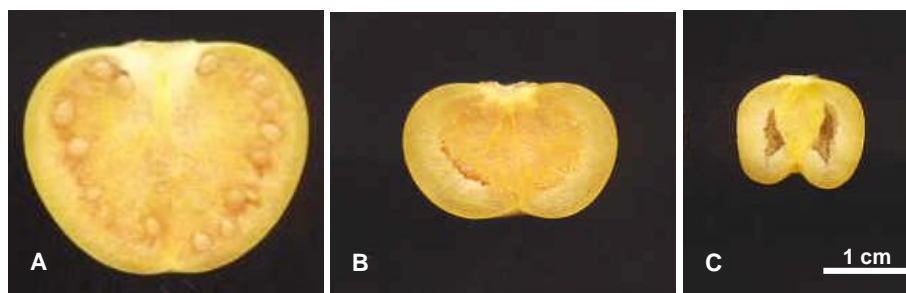


Figura 1-12 Formas de fruto en uchuva basado en la sección longitudinal del fruto
A. Fruto ovoide (Accesión 14U424_2), B. Fruto oblato (Accesión 14U449_1), C. Fruto obcordado (Accesión 12U366_1).

La forma oblata se encontró únicamente en la accesión 14U449_1 y se caracteriza por presentar mayor ancho que largo, un índice de forma (*FSI-FSII*) menor a 0,8; mientras que en la forma obcordada se encontró en los genotipos haploides: 14U425_1, 12U366_1, 14U447_1, 09U295_4, 09U294_6 y 12U398_1 con una hendidura distal marcada, un *FSII* inferior a 0,85 y valores superiores a 0,13 en la variable *obovoid*. La forma ovoide presentó un índice de forma *FSII* superior a 0,85 y valores superiores a 0,12 en la variable *Ovoid*.

Las formas de fruto oblata y obcordada se encontraron únicamente en las accesiones derivadas de cultivo de anteras, sugiriendo que esta técnica permite la generación de nuevos fenotipos debido a la expresión de características recesivas y a la variación en el nivel de ploidía de las plantas regeneradas. En este punto y

de acuerdo a un estudio simultáneo de esta colección de trabajo, se encontró que las accesiones 14U425_1, 12U366_1, 14U447_1, 09U295_4, 09U294_6 y 12U398_1 cuentan con 24 cromosomas y fueron identificadas como material haploide mientras que la accesión 14U449_1 tiene más de 60 cromosomas (Liberato *et al.*, sin publicar), lo cual podrá explicar su fenotipo.

Evaluación de calidad de fruto

Las variables *Raj* y *FirmF* no presentaron diferencias significativas en los bloques, mientras que *SST* presentó diferencias significativas ($P < 0,0001$). En cuanto a los tratamientos, todas las variables presentaron diferencias significativas atribuidas principalmente a causas genéticas (Tabla 1-6).

El 84% de las accesiones presentaron menos del 10% de fruta rajada (Figura 1-9A). Las accesiones 14U426_1, 09U280_3, 09U187_4, 09U169_2, 09U138_2, 09U131_3, 09U090_4, 09U086_3, 09U043_1 y 09U026_1 presentaron un porcentaje de rajado inferior al 0,5% (Tabla 1-7; Figura 1-13B), lo que sugiere que los frutos de estas accesiones poseen una mayor estabilidad y rigidez en la pared y membrana celular (Marschner, 2002) y esto puede aumentar la resistencia al rajado (Brown *et al.*, 1996). Asimismo, las accesiones Kenia y Colombia presentaron bajo porcentaje de rajado con 0,6 y 1,4%, respectivamente. Por el contrario, las accesiones 14U447_1, 14U451_1, 12U398_1 y 14U448_1 derivadas de cultivo de anteras presentaron un porcentaje de fruto rajado superior al 40%, posiblemente porque el parénquima de algunos frutos de uchuva no es totalmente compacto y presenta numerosas “lagunas” (Valencia, 1985) que facilitan el daño físico. Sin embargo, no todas las accesiones derivadas de cultivo de anteras presentaron alto porcentaje de rajado de fruto; pero es posible que algunas de estas accesiones presenten una mayor predisposición al rajado atribuido a causas genéticas. Los resultados reportados en este estudio, son más altos a lo reportado por Cooman *et al.* (2005) quienes mencionan que los exportadores pueden llegar a perder cerca del 20% de la fruta por esta causa, y a los resultados reportados por Herrera *et al.* (2011) quienes reportan un 20,16% de fruto rajado en 54 accesiones de uchuva evaluadas.

Tabla 1-6 Análisis de varianza en 100 accesiones de uchuva respecto a las variables de calidad de fruto

Fuente de variación	Cuadrados medios (entre grupos) Bloques	Cuadrados medios (dentro de grupos) Tratamientos
<i>Raj</i>	11,89 ^{ns}	345.3 ^{***}
<i>FirmF</i>	0,02 ^{ns}	0,2 ^{***}
<i>SST</i>	9,5 ^{***}	1,5 ^{***}

^{ns} no significativo; ** Significativo a nivel 0,001; ***Significativo a nivel 0,0001

Tabla 1-7 Medias de centralización y dispersión de los caracteres de calidad de fruto en la colección de trabajo de uchuva

Variable	Abrev.	Media	DE	Mín	Máx	CV
Porcentaje de Rajado (%)	<i>Raj</i>	6,34	11,05	0	59,27	88,66
Firmeza (lb-f)	<i>FirmF</i>	1,67	0,26	0,69	2,23	7,53
Sólidos Solubles Totales (°brix)	<i>SST</i>	14,85	0,71	13,12	17,27	3,47

(Abrev: Abreviatura; DE: desviación estándar; Mín: Mínimo; Máx: Máximo; CV: Coeficiente de variación)

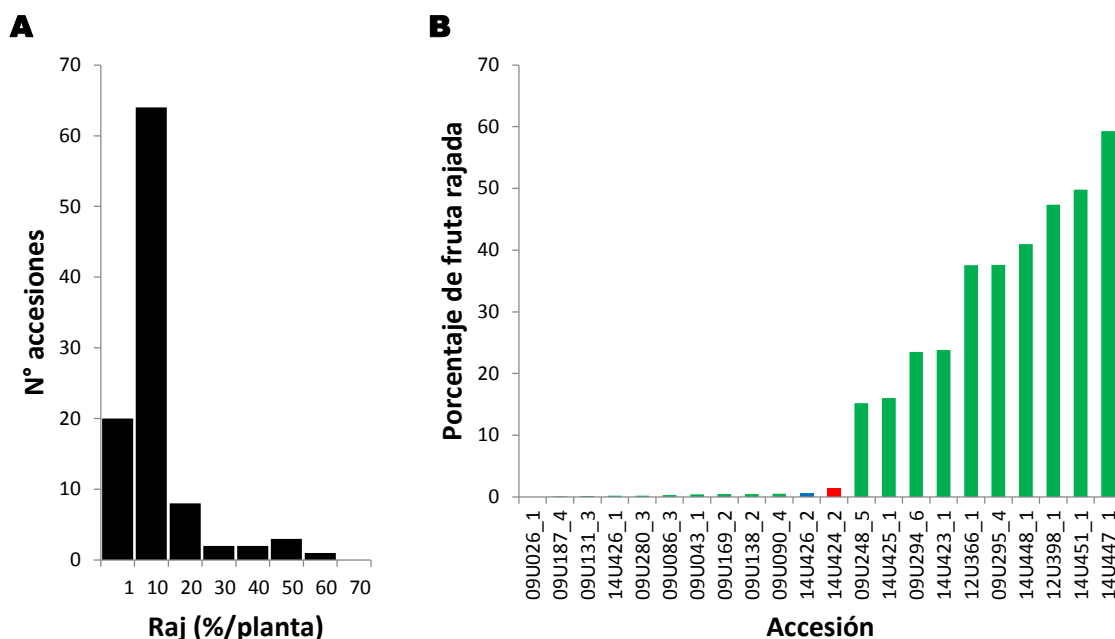


Figura 1-13 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a porcentaje de fruta rajada

A. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

El 53% de las accesiones tuvo una firmeza de fruto entre 1,7 y 2,0 lb-f (Figura 1-14A). Las accesiones 09U131_3, 09U107_1, 09U169_2, 12U367_1, 09U216_4 y 09U112_3 mostraron una firmeza superior a 2 lb-f, mientras que los ecotipos Colombia y Kenia presentaron una firmeza de 1,7 (Tabla 1-7; Figura 1-14B). Estos resultados son mayores a los reportados por Ciro y Osorio (2008) quienes reportan una firmeza entre 2,71 y 5,39N equivalentes a 0,61 y 1,21 lb-F en frutos pintones y verdes de uchuva, respectivamente. Adicionalmente, estos resultados sugieren que los genotipos con mayor firmeza pueden tener una mayor vida útil y soportar el proceso de cosecha, almacenaje, empaque y transporte sin daños drásticos.

Por el contrario, las accesiones haploides (12U398_1, 09U295_4, 14U447_1, 12U366_1, 09U294_6 y 14U425_1) presentaron una firmeza inferior a 1,2 lb-f y mayor porcentaje de fruto rajado posiblemente porque que el parénquima de estas accesiones no es compacto haciéndolo susceptible al daño físico. De igual manera las accesiones 09U010_1, 14U448_1 y 14U451_1 presentaron una baja firmeza (inferior 1,2 lb-f) indicando menor resistencia mecánica, posiblemente debido a una mayor tasa de degradación de los hidratos de carbono poliméricos específicamente

sustancias pécticas con la subsecuente formación de ácido péctico, ácido pectínico y pectinas que pueden debilitar las fuerzas cohesivas entre células y la pared celular (Calderón, 1993). Esta situación puede hacer que los frutos tengan una alta susceptibilidad al daño mecánico ocasionado por el impacto en el proceso de cosecha y poscosecha ocasionando grietas, abrasiones y magulladuras subcutáneas tal como es mencionado por Rao y Steffe (1992). La firmeza del fruto junto con el porcentaje de fruto rajado pueden atribuirse a un factor genético tal como se mencionado para uchuva (Fischer y Lüdders, 1997; Criollo *et al.*, 2014) o como se ha reportado previamente en tomate (Moctezuma *et al.*, 2003); no obstante es necesario un estudio a profundidad.

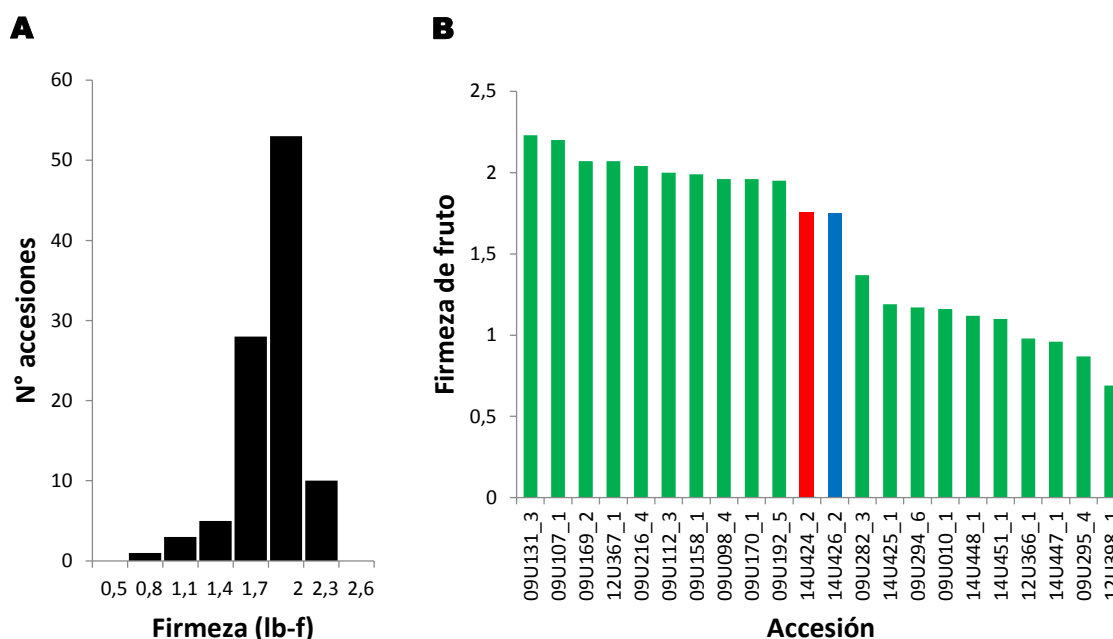


Figura 1-14 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a firmeza del fruto **A.** Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

En la variable SST, el 45% de las accesiones tuvo entre 14,6 y 15,4 °Brix (Figura 1-15A). Las accesiones 12U398, 09U130-2 y 14U420 presentaron los mayores contenidos de azúcares con 17,27, 16,54 y 16,05, respectivamente (Tabla 1-3; Figura 1-15B); resultados mayores a las accesiones de referencia Colombia y Kenia las cuales presentaron las cuales 15,11 y 14,3 °Brix, respectivamente. Estos resultados son similares a lo reportado por Márquez *et al.* (2009) quienes reportaron en uchuva el contenido de azúcar se halla entre 9 y 13,5 °Brix y se encuentran dentro de los intervalos recomendados por la normatividad colombiana para uchuva fresca. Asimismo, Galvis *et al.*, (2005) reportaron que el genotipo Colombia presenta mayor contenido de azúcares que el genotipo Kenia, tal como se evidenció en este estudio. Los genotipos 09U193_1, 09U186_1, 09U282_3, 09U295_4, 09U192_5, 09U131_3, 09U248_5, 09U134_3, 14U449_1, 09U210_2 y 09U045_2 presentaron menos de 14 °Brix pero superior a 13 °Brix. Estos resultados son

similares a los reportados por Martínez *et al.* (2008) y Balaguera-Lopez (2014) quienes mencionan que el contenido de sólidos solubles totales en promedio es de 13 °Brix.

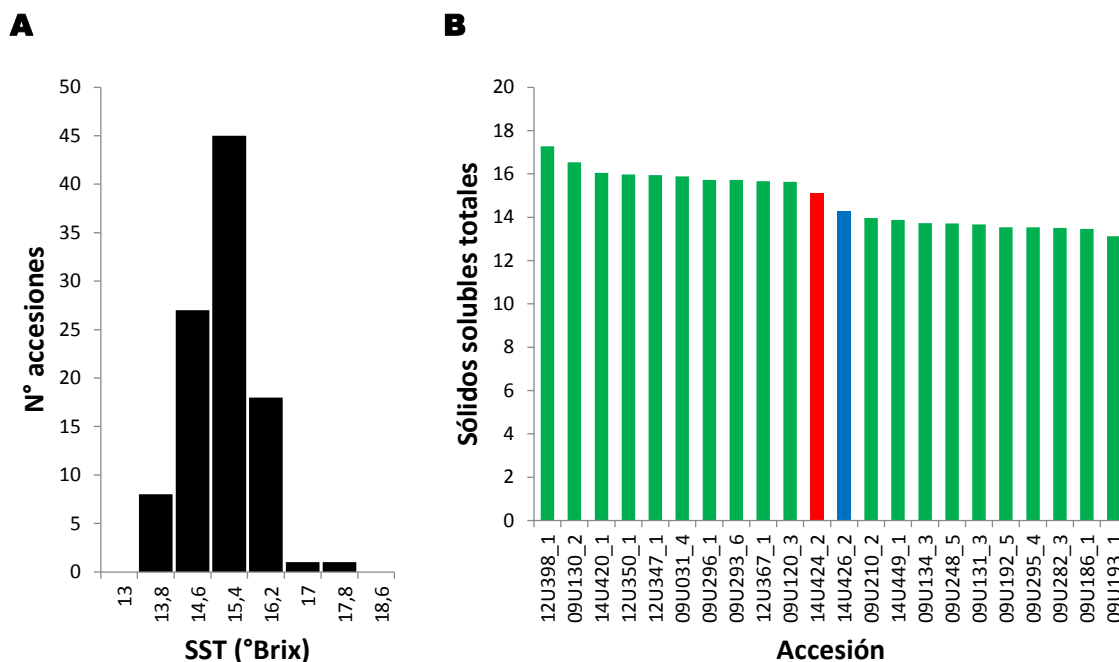


Figura 1-15 Variación fenotípica de la colección de trabajo de uchuva respecto a contenido de sólidos solubles totales

A. Distribución de frecuencia en cien accesiones de uchuva. **B.** Variación en veintidós de las accesiones de uchuva evaluadas. Ecotipo Colombia en rojo y Ecotipo Kenia en azul.

El coeficiente de variación en las variables de calidad de fruto osciló entre 3,47% y 88,66% (Tabla 1-7). El mayor coeficiente de variación se encontró en porcentaje de fruto rajado sugiriendo una amplia dispersión de los datos en esta variable; mientras que *FirmF* y *SST* presentaron menores coeficientes de variación. Estos resultados difieren a los reportados por Herrera *et al.* (2011) quienes reportan coeficientes de variación de 10,06% en sólidos solubles totales y 107,22% en porcentaje de fruto rajado; sin embargo, el porcentaje de fruto rajado presenta el más alto coeficiente de variación de todas las variables evaluadas en los dos estudios.

1.3.3 Análisis de correlación entre variables

Las correlaciones entre los componentes de rendimiento, calidad de fruto y dimensión y forma de fruto examinados, fueron calculadas por el coeficiente de Pearson con un nivel de significancia del 5% (Anexo B).

En cuanto a las variables relacionadas con el componente de rendimiento, se encontró que la producción (*Prod*) estuvo positiva y fuertemente correlacionada con el *NumF* ($r= 0,75$) y *FMad3* ($r=0,87$) y correlacionado positiva y moderadamente

con el peso de fruto con cáliz (*PFC*; $r=0,59$) y sin cáliz (*PFS*; $r=0,58$). Esto indica que a mayor número de frutos mayor producción, lo cual fue evidenciado en la correlación positiva y significativa entre estas dos variables y fue claramente demostrado en las accesiones 09U033_1 y 09U277_5; resultados similares han sido reportados por Fischer (1995) quien menciona que al encontrar mayor número de frutos por lo general hay mayor rendimiento de las plantas. Adicionalmente; la correlación con el *PFC* y *PFS*, indica que dichas variables influyen en el rendimiento final, por lo que al aumentar el peso del fruto, tanto la producción (*Prod*) como el peso de fruto de categoría 3 (*FMad3*) también se incrementarán.

En las variables de calidad de fruto se encontró correlación fuerte y negativa entre la *FirmF* y el *Raj* ($r=-0,7$); esta correlación sugiere que a mayor firmeza de las células de la epidermis del fruto, menor será el porcentaje de fruta rajada; por lo que esta medición podría ser un indicativo del porcentaje de fruta rajada en la cosecha. En cuanto al contenido de sólidos solubles no mostró correlación con las demás variables evaluadas; sin embargo Ranc *et al.* (2012) y Xu *et al.* (2013) reportaron una correlación negativa ($r = -0,66$) entre el tamaño de fruto y sólidos solubles en diferentes accesiones de tomate.

En las variables asociadas al componente de tamaño y forma de fruto, se encontró correlación fuerte y positiva entre el *Peri* y el *Area* ($r=0,97$), *AnchoMF* ($0,97$), *AnchoMax* ($r=0,98$), *LongMF* ($r=0,96$), *LongMax* ($0,96$) y forma de fruto ovoide (*Ovoid*, $r=0,85$); y correlación fuerte y negativa de *Peri* con las variables *AreaHendD* ($r=-0,82$) y forma obovoide ($r=-0,82$); indicando que las mayores dimensiones del fruto se presentaron en los frutos ovoides sin hendidura distal.

El *FSII* estuvo correlacionado fuerte y positivamente con el *FSI* ($r=0,93$), el *LongMF* ($r=0,61$) y *LongMax* ($r=0,59$) y correlacionado negativa y moderadamente con las variables *AreaHendD* ($r=-0,65$) y *Obovoid* ($r=-0,61$). Esto indica que los mayores índices de forma II se encontraron en los frutos ovoides con la mayor altura de fruto y sin hendidura distal. La variable *AreaHendD* presentó una asociación fuerte y negativa con la forma ovoide ($r=-0,89$) y una asociación fuerte y positiva con la forma obovoide ($r=0,99$), indicando que la hendidura distal se presentó en frutos con forma obovoide.

Cuando se analizaron las correlaciones entre caracteres de los diferentes componentes, se encontró que el peso de fruto con cáliz (*PFC*) y sin cáliz (*PFS*) se encuentra fuerte y positivamente correlacionado con el *Area* ($r=0,94$), *AnchoMF* ($0,93$), *AnchoMax* ($r=0,92$), *LongMF* ($r=0,90$), *LongMax* ($r=0,90$; $r=0,91$) y la forma ovoide (*Ovoid*; $r=0,77$); estos resultados indican que a mayor peso de fruto aumentan también las dimensiones de éste y sugiere que la forma de fruto ovoide presentó los mayores valores de peso de fruto. Por el contrario, se encuentra fuerte y negativamente correlacionado con *AreaHendD* ($r=-0,73$; $r=-0,72$) y con la forma obovoide (*Obovoid*; $r=-0,71$; $r=-0,70$); indicando que los menores peso de fruto se presentan en frutos obovoides con hendidura distal; en otras palabras los frutos de menores tamaños se encontraron en los frutos de las plantas haploides.

Por otro lado, el porcentaje de rajado *Raj* se encontró correlacionada fuerte y positivamente con el *AreaHendD* ($r=0,70$) y la forma obovoide ($r=0,70$) pero negativamente con el *LongMF* ($r=-0,68$), *LongMax* ($r=-0,66$) y con la forma ovoide ($r=-0,71$); por el contrario, la *FirmF* estuvo correlacionado negativamente con *AreaHendD* ($r=-0,69$) y forma obovoide ($r=-0,67$) y positivamente con la forma ovoide ($r=0,67$). Esto indica que los frutos con mayor longitud presentan menos rajado y generalmente presentan forma ovoide sin hendidura distal.

Se encontraron algunas correlaciones moderadas: la *Prod* se encontró positivamente correlacionada con el *LongMF* ($r=0,56$) y *LongMax* ($r=0,55$). La *FMad3* se encontró correlacionada de manera positiva con el *Peri* ($r=0,56$), *AnchoMF* ($r=0,59$), *LongMF* ($r=0,61$), *LongMax* ($r=0,61$) y con la forma ovoide ($r=0,56$). Indicando que las accesiones con frutos de mayor tamaño presentan una producción mayor.

El peso de fruto con cáliz (*PFC*) y sin cáliz (*PFS*) se encontró correlacionado positivamente con la *FirmF* ($r=0,54$) y negativamente con *Raj* ($r=-0,59$; $r=-0,60$); sugiriendo que las accesiones que presentan mayor peso fresco del fruto tienen menor porcentaje de rajado y por ende mayor firmeza del fruto; sin embargo cabe resaltar que los genotipos de menor tamaño poseían menor compactación de la pulpa facilitando la entrada de la aguja del penetrómetro. Estos resultados no coinciden con lo reportado por Fischer (2005) quien menciona que el porcentaje de rajado en frutos de uchuva es más alto a medida que los frutos son más grandes; esta diferencia se debe a que las accesiones haploides poseen frutos pequeños con poca pulpa y alto rajado facilitando el ingreso de la aguja durante la medición.

Por otro lado, el *Raj* se encontró correlacionado negativamente con el *Peri* ($r=-0,64$), *Area* ($r=-0,59$), *AnchoMF* ($r=-0,60$), *AnchoMax* ($r=-0,60$), *LongMF* ($r=-0,68$) y *LongMax* ($r=-0,66$); mientras que la *FirmF* estuvo correlacionada de manera positiva con las variables *Peri* ($r=0,60$), *Area* ($r=0,57$), *AnchoMF* ($r=-0,57$), *AnchoMax* ($r=0,57$), *LongMF* ($r=0,66$), *LongMax* ($r=0,65$) e *FSII* ($r=0,55$), sugiriendo que los frutos más grandes es decir con mayores dimensiones, presentaron mayor firmeza del fruto y por ende menos porcentaje de frutos rajados.

1.3.4 Análisis de componentes principales y conglomerados

En el análisis de componentes principales (ACP) mostró que más del 89% de la variabilidad total observada es explicada por los cuatro primeros componentes principales (Tabla 1-8). El primer componente principal (CP1) explicó el 62,93% de la variabilidad total existente en 100 accesiones de uchuva y se encuentra correlacionado positivamente con peso de fruto con cáliz (*PFC*), peso de fruto sin cáliz (*PFS*), firmeza del fruto (*FirmF*), perímetro (*Peri*), área (*Area*), ancho en la parte media del fruto (*AnchoMF*), ancho máximo del fruto (*AnchoMax*), Longitud en la parte media del fruto (*LongMF*), Longitud máxima del fruto (*LongMax*) y ovoide (*Ovoid*), y negativamente con área de hendidura distal (*AreaHendD*) y forma

Obovoide (*Obovoid*) como se muestra en la Tabla 1-8. Las anteriores variables se encuentran correlacionadas tal como se demuestra en el Anexo B y contribuyeron en mayor proporción para discriminar la variabilidad encontrada; estos resultados son similares a los reportados por Bonilla *et al.* (2008) donde han mencionado que la mayor variabilidad se presenta en atributos como peso y tamaño del fruto.

Tabla 1-8 Matriz de correlación de Eigenvalues y contribución de las variables a los cuatro primeros componentes

		CP1	CP2	CP3	CP4
Eigenvalue		11,95	2,39	1,72	1,01
Proporción absoluta		0,6293	0,1259	0,0905	0,0530
Proporción acumulada		0,6293	0,7552	0,8457	0,8987
Variable	Abreviatura	CP1	CP2	CP3	CP4
Producción (g/planta)	<i>Prod</i>	0,189	0,324	0,415	0,003
Número de frutos (N°)	<i>NumF</i>	0,027	0,504	0,412	-0,150
Fruta madurez 3 (g/planta)	<i>FMad3</i>	0,200	0,242	0,366	-0,047
Rajado (%)	<i>Raj</i>	-0,217	-0,157	0,0615	-0,022
Peso de fruto con cáliz (g/fruto)	<i>PFC</i>	0,265	-0,123	0,141	-0,002
Peso de fruto sin cáliz (g/fruto)	<i>PFS</i>	0,265	-0,125	0,137	-0,036
Firmeza del fruto	<i>FirmF</i>	0,209	0,185	-0,082	0,033
Sólidos solubles totales	<i>SST</i>	0,009	0,134	0,060	0,955
Perímetro	<i>Peri</i>	0,274	-0,158	-0,002	-0,035
Área	<i>Área</i>	0,272	-0,165	0,074	-0,048
Ancho en la parte media del fruto	<i>AnchoMF</i>	0,271	-0,204	0,084	-0,024
Ancho máximo del fruto	<i>AnchoMax</i>	0,270	-0,209	0,080	-0,020
Longitud en la parte media del fruto	<i>LongMF</i>	0,284	-0,036	-0,074	-0,035
Longitud máximo del fruto	<i>LongMax</i>	0,283	-0,050	-0,058	-0,043
Índice de forma I	<i>FSI</i>	0,090	0,445	-0,418	-0,122
Índice de forma II	<i>FSII</i>	0,165	0,367	-0,424	-0,068
Área de hendidura distal	<i>AreaHendD</i>	-0,259	-0,012	0,206	-0,098
Forma obovoide	<i>Obovoid</i>	-0,256	0,016	0,202	-0,099
Forma ovoide	<i>Ovoid</i>	0,263	-0,027	-0,071	0,116

El segundo componente principal (CP2) explicó el 12,59% de la variabilidad total y estuvo asociado de manera positiva al número de frutos (*NumF*) e índice de forma externa I (*IFI*) tal como se muestra en la tabla 1-8. El tercer componente principal (CP3) explicó el 9,05% de la variación total y estuvo asociado positivamente con la producción acumulada por planta (*Prod*), peso de la fruta en estado de maduración 3 (*FMad3*) y asociado negativamente con el índice de forma II (*FSII*). El cuarto y último componente principal (CP4) explicó el 5,3% de la variación total y estuvo correlacionado positivamente con el contenido de sólidos solubles totales. Estas variables son de gran importancia en estudios de caracterización de uchuva, debido a la variabilidad que se ha encontrado en esta investigación y que han sido objeto de estudio en investigaciones similares (Bonilla *et al.*, 2008; Lagos *et al.* 2003; Pulgarín, 1989).

De acuerdo al análisis de conglomerados teniendo en cuenta cuatro componentes principales, la colección conformada por cien genotipos de uchuva puede agruparse en cuatro grupos (Figura 1-16). El primer grupo representó el 6% del material

evaluado y se encuentran los genotipos haploides 09U294-6, 14U425, 09U295-4, 12U366-1, 12U398 y 14U447. Este grupo se caracteriza por tener una producción baja (inferior a 1100g), alto porcentaje de fruto rajado (entre 16 y 60%), bajo peso de fruto con cáliz (inferior a 1,1g) y frutos obovoides con hendidura distal mostrando un forma obcordada.

El segundo grupo representó el 18% del material evaluado y se caracteriza por tener una producción media a baja que oscila entre 205 y 5000g/planta, porcentaje de rajado de fruto de moderado a alto (inferior al 50%) y los frutos presentan forma ovoide con tendencia a forma oblata. Este grupo presenta dos subgrupos diferenciados principalmente por el *PFC* y *PFS*, siendo mayor en el segundo subgrupo conformado por el 15% y presentando valores entre 5,7 y 10,7g por fruto; mientras que el otro subgrupo presenta *PFC* por debajo de 5g.

El tercer agrupamiento estuvo representado por el 59% de los genotipos, se caracterizó por tener una alta producción que osciló entre 2.925 y 8.304g/planta, bajo porcentaje de rajado de fruto (inferior al 10%), alta firmeza de fruto (superior a 1,4 lb-f) y los frutos presentan forma ovoide con un índice de forma $FSI-FSI > 0,85$. Este primer clúster presenta dos subgrupos, el primer subgrupo está representado por el 7% de la colección de trabajo y el segundo por el 52%. El primer subgrupo presenta una mayor producción con una media de 6.894 g/planta, mayor número de frutos (1.222 frutos), mayor peso de *FMad3* (2768 g) y un porcentaje de rajado inferior al 4%; mientras que el segundo subgrupo presenta una *Prod* media de 4.652g, 754 frutos en promedio, menor peso de *FMad3* (1870 g) y porcentaje de rajado inferior al 10%. El segundo subgrupo a su vez presenta una subdivisión debida principalmente a diferencias en la variable *FMad3* donde el 39% presenta una producción de *FMad3* media de 2.324g mientras que el 13% presenta una media de 1.720g.

El cuarto y último agrupamiento, representado por el 17% del material evaluado se caracteriza por tener una producción moderada entre 840 y 4600g/planta, porcentaje de rajado de fruto moderado (inferior al 24%) y los frutos presentan forma ovoide. Este subgrupo presenta una subdivisión debida principalmente a diferencias en el porcentaje de rajado; el primer subgrupo conformado por el 9% presenta un *Raj* inferior al 8% y el segundo subgrupo presenta un rajado superior pero menor al 24%.

En general las accesiones del tercer agrupamiento presentan atributos interesantes en cuanto a producción y rajado de fruto constituyendo un importante insumo para los esquemas de mejoramiento ya sea empleándolas como parentales en cruzamientos o en programas de selección recurrente para la generación de nuevos materiales.

En cuanto al origen de las accesiones, no se una distribución atribuida a este factor y se encontró que los agrupamientos contenían accesiones de diferente origen geográfico; estos se debe principalmente al transporte de semilla dr un lugar a otro

por parte de los productores. El primer clúster estuvo representado por accesiones regeneradas de cultivo de anteras de plantas parentales procedentes de los departamentos de Cundinamarca y Boyacá. En el clúster dos, se encontraron accesiones de los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Nariño en Colombia y repositorios internacionales de Ecuador, Nepal, Francia y Dinamarca, mientras que en el tercer agrupamiento se encontraron accesiones de Caldas, Valle, Nariño, Cundinamarca, Boyacá y Antioquia en Colombia y dos accesiones provenientes de sur Africa (09U140-5 y 09U288-7). En el cuarto agrupamiento, se encontraron únicamente accesiones de Colombia de los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Valle, Boyacá, Norte de Santander y Nariño.

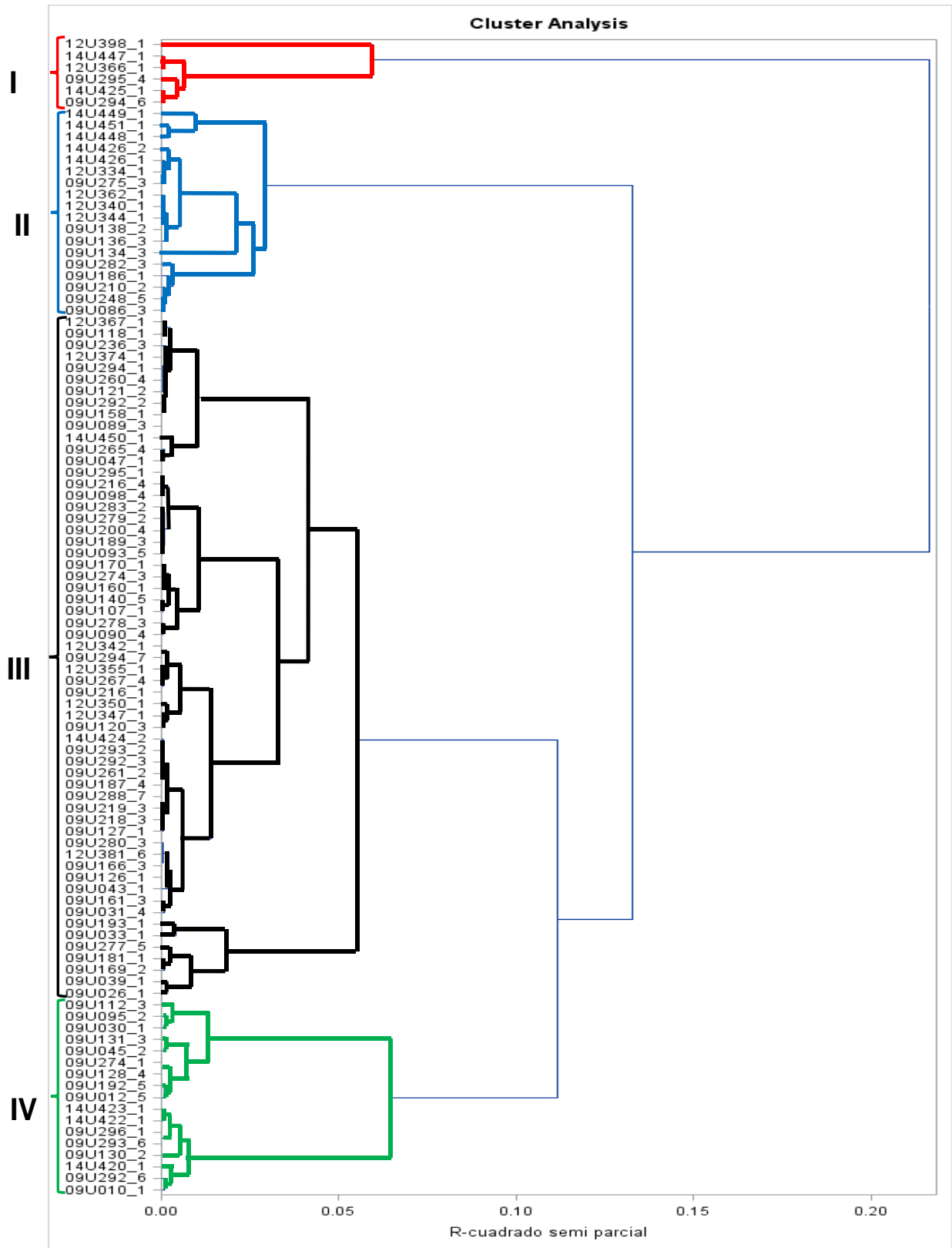


Figura 1-16 Dendrograma de agrupamiento de 100 accesiones de uchuva teniendo en cuenta variables de los componentes de rendimiento, tamaño, forma y calidad de fruto

1.4 Conclusiones

Las accesiones 09U033_1, 09U039_1, 09U277_5, 09U169_2, 09U193_1, 09U181_1 y 09U026_1 presentaron una alta producción (mayor a 7000 g/planta) y bajo porcentaje de rajado (inferior al 5%) pueden ser utilizadas en futuros programas de mejoramiento. En contraste, las accesiones haploides las cuales presentaron la más baja producción y alto porcentaje de rajado pueden tener potencial en la pastelería e industria láctea.

La firmeza del fruto junto con el porcentaje de fruta rajada, al parecer no solo es determinada por condiciones climáticas sino que al parecer posee un factor genético que puede intervenir en el fenotipo de esta característica; no obstante es necesario un estudio riguroso que permita el entendimiento de esta correlación.

El dendograma obtenido del análisis de conglomerados agrupó las 100 accesiones de uchuva en cuatro grupos donde no se encontró agrupamiento por origen, sino por variables como producción, rajado firmeza y peso y tamaño de fruto. Por lo que es útil en la identificación de materiales con diversidad fenotípica.

2. Capítulo 2. Análisis de asociación para rasgos de rendimiento, calidad fisicoquímica y tamaño de fruto en la colección de trabajo de *P. peruviana*

2.1 Estado del arte

2.1.1 Marcador molecular de ADN

Un marcador genético corresponde a un rasgo polimórfico, confiable y fácilmente identificable, que puede ser cartografiado genéticamente con el uso de poblaciones segregantes y que identifica el genotipo de individuos que exhiben determinado atributo. Este atributo puede ser perceptible a simple vista, o mediante una característica bioquímica, incluyendo una proteína. Por lo tanto, un locus de un marcador genético se define como una ubicación específica en el genoma de un organismo que puede ser identificado por un marcador genético del organismo. Estos marcadores genéticos pueden agruparse de la siguiente manera en: marcadores morfológicos, marcadores basados en proteínas y marcadores de ADN (Singh y Singh, 2015).

Los marcadores moleculares basados en ADN representan la variación en la secuencia del ADN genómico de diferentes individuos, y pueden ser detectados por diferencias en la movilidad de los fragmentos en un gel, amplificación mediante PCR o diferencias en la secuencia de ADN. Un marcador de ADN "ideal" debe ser altamente polimórfico, reproducible y debería ser de herencia codominante para permitir la discriminación entre heterocigotos y homocigotos. Adicionalmente, no debe ser epistático, pero sí debe ser neutral por lo que los alelos de ese marcador no afectan el *fitness* de los individuos. Debe ser abundante y distribuido casi uniformemente sobre todo el genoma. Finalmente, la variación ambiental no debe afectar el marcador, de manera que el fenotipo del marcador sea reflejado con precisión independientemente del ambiente en el que se encuentre (Kumar *et al.*, 2009; Singh y Singh, 2015).

Desde el punto de vista del mecanismo molecular, existen tres principales tipos de variación en el ADN: cambios a nivel de un solo nucleótido llamados SNPs (Single

Nucleotide Polymorphism), inserciones o deleciones (Indels) de diferentes longitudes que varían desde 1 hasta varios cientos de pares de bases, y VNTR para variaciones en el número de repeticiones en tándem (Singh y Singh, 2015). De los anteriores, se destacan los marcadores SNPs dado que son altamente abundantes en el genoma y permiten mapeo de alta resolución comparado con otros sistemas (Mammadov *et al.*, 2012).

2.1.2 Marcadores tipo SNPs

Los marcadores SNPs (*Single nucleotide polymorphisms*) describen la variación entre diferentes individuos de una especie para un solo par de bases en un sitio de su genoma. Por lo tanto, un locus de un SNP es una posición específica en el genoma, donde puede presentarse diferentes nucleótidos en la misma cadena de ADN en diferentes individuos de la misma especie. Un locus del SNP tiene cuatro alelos posibles representados por uno de los cuatro nucleótidos de ADN (A, T, G y C) y usualmente son catalogados como marcadores bialélicos. Los SNPs pueden ser producidos por transiciones (C/T, G/A o viceversa) o transversiones (A-G/C-T); siendo más frecuentes las transiciones que las transversiones (Singh y Singh, 2015; Al-Samarai y Al-Kazaz, 2015).

Los SNPs son extremadamente abundantes (cerca de un SNP por cada 100-300 pb en algunos genomas vegetales), tienen relativamente poca tasa de mutación y son relativamente fácil de detectar. La densidad de SNPs varía entre genomas de diferentes especies y entre diferentes regiones genómicas de la misma especie; pero en general son más frecuentes en regiones no codificantes que en regiones codificantes debido a la falta de presión de selección en las primeras (Singh y Singh, 2015; Al-Samarai y Al-Kazaz, 2015).

El análisis de SNPs es útil en la distinción de variedades en cultivos donde es difícil encontrar polimorfismos como en tomate cultivado (Kumar *et al.*, 2009). Los SNPs también pueden ser usados en la identificación y caracterización genética de individuos y en la evaluación de la variación genética dentro de poblaciones (Morin *et al.*, 2004). Otra aplicación de los SNPs es en estudios de asociación amplia del genoma (GWAS) que se basan en genotipar un gran número de marcadores SNPs distribuidos en todo el genoma, de tal manera que algunos de ellos resulten en alto desequilibrio de ligamiento (LD) con el fenotipo de interés, los cuales pueden ser usados posteriormente en el apoyo a programas de mejoramiento de la especie (Mammadov *et al.*, 2012). En trigo y soya, se han identificado marcadores SNPs asociados a la resistencia a la roya de la hoja y resistencia a áfidos, respectivamente, que sirven como herramienta de selección asistida por marcadores (MAS) (Buerstmayr *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2010).

2.1.3 Genotipificación por secuenciación (GBS)

La aparición de tecnologías de secuenciación de última generación (NGS) ha permitido nuevas aplicaciones de la secuenciación y la ampliación del alcance de los estudios en metagenómica y otras áreas. Esto ha sido posible debido a que estas técnicas ofrecen mayor precisión, mayor rendimiento y simplicidad a un menor costo (Gupta *et al.*, 2008), y recientemente, las NGS se han empleado en la secuenciación de genomas completos y en proyectos de re-secuenciación facilitando el descubrimiento de miles de SNPs (Elshire *et al.*, 2011).

Algunos métodos de NGS dependen de enzimas de restricción para generar una representación reducida del genoma (Baird *et al.*, 2008; Elshire *et al.*, 2011). Los principales métodos son: la secuenciación de representación reducida que incluye las librerías de representación reducida (RRLs), la secuenciación de ADN asociada a sitios de restricción (RAD-seq) y genotipificación de baja cobertura para el genotipado, donde se encuentra la genotipificación por secuenciación (GBS). Una de las grandes ventajas del uso de enzimas de restricción es la posibilidad de excluir regiones altamente repetitivas en el genoma debido a que pueden ser sensibles a las regiones metiladas y no son capaces de cortar en estos sitios (Davey *et al.*, 2011). Terminológicamente, estos métodos parecen diferentes pero el procedimiento para la preparación de las librerías son casi idénticos: digestión del ADN con una o más enzimas, selección del tamaño de los fragmentos, ligación de adaptadores, amplificación por PCR y secuenciación (Figura 2-1).

En el método RRLs, los fragmentos de todas las muestras se mezclan y se seleccionan fragmentos de 300-700 pb, los fragmentos son ligados a los adaptadores y luego son secuenciados. En la técnica de RAD-seq se ligan los fragmentos con adaptadores P1 y P2, se seleccionan y amplifican fragmentos entre 300-700 pb (solo los que tienen el sitio de restricción con adaptadores P1 y P2). Por último, en la técnica GBS, los adaptadores barcode y los adaptadores comunes son ligados a los fragmentos digeridos, produciendo fragmentos con las combinaciones de adaptadores barcode-común, barcode-barcode y común-común. Las muestras son mezcladas y amplificadas en una línea de un analizador Illumina y solo los fragmentos cortos con los adaptadores barcode+común son amplificados en la secuenciación (Davey *et al.*, 2011).

GBS es un sistema altamente multiplexado, donde se genera gran cantidad de SNPs útiles en análisis genotípicos y de genotipificación (Elshire *et al.*, 2011); fue originalmente desarrollado para estudios de asociación de alta resolución en maíz, y así como la técnica RAD-seq, se ha extendido a un gran número de especies con genomas complejos. La construcción de librerías de GBS se basa en la reducción de la complejidad del genoma empleando enzimas de restricción sensibles a la metilación (tales como *APeKI*, *PstI* y *MspI*) haciendo posible la búsqueda de importantes regiones del genoma inaccesibles con otras tecnologías y además simplifica los análisis computacionales al evitar las regiones repetitivas especialmente en especies con altos niveles de diversidad genética (He *et al.*, 2014). Adicionalmente, los marcadores tipo SNP obtenidos pueden ser aplicados

en estudios de asociación del genoma completo (GWAS), selección asistida por marcadores (MAS) y selección genómica (GS), permitiendo en el futuro a los mejoradores realizar MAS o GS en nuevo germoplasma sin un desarrollo previo de marcadores moleculares.

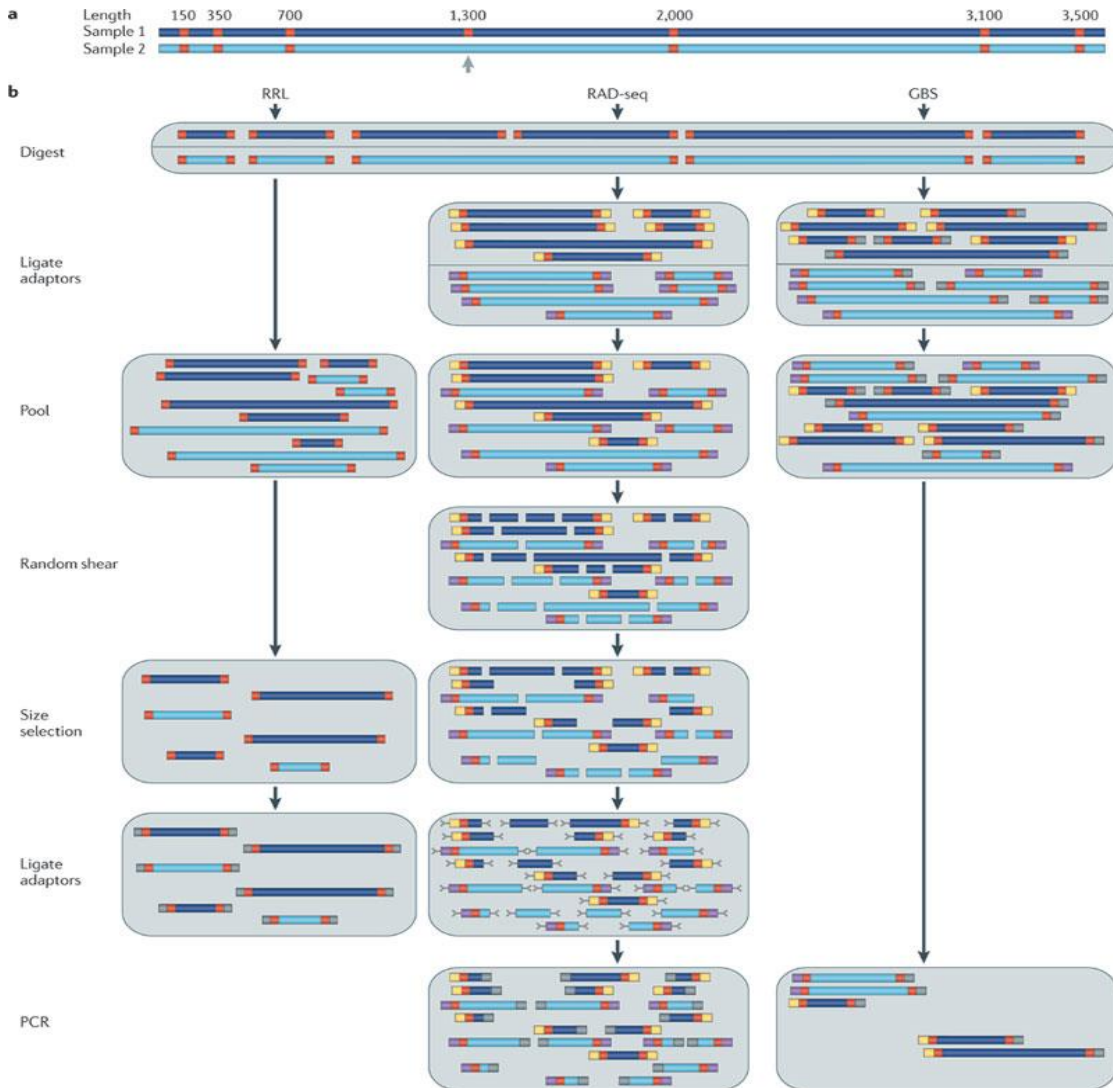


Figura 2-1 Métodos de alto rendimiento para identificación de SNPs

a. Muestras de ADN genómico con sus respectivos sitios de restricción (Rojo). **b.** Protocolos para las técnicas de alto rendimiento: RRLs (librerías de representación reducida), RAD-seq (secuenciación de ADN asociado a sitios de restricción), y GBS (Genotipificación por secuenciación). Tomado de Davey *et al.* (2011). Número de licencia: 3962660817636.

2.1.4 Mapeo genético

Las aproximaciones de mapeo se basan en dos tipos: mapeo de familias y mapeo de poblaciones. En el mapeo de familias, la población debe ser construida mediante cruzamientos generalmente entre líneas homocigotas y por ende estas poblaciones

son familias relacionadas derivadas de parentales comunes. El mapeo de poblaciones, también llamado mapeo por asociación, emplea individuos o líneas provenientes de poblaciones naturales como por ejemplo poblaciones de apareamiento al azar de especies silvestres, poblaciones mejoradas o poblaciones diseñadas para mapeo de familias que explota el desequilibrio de ligamiento - LD como resultado de la hibridación entre las líneas parentales (Singh y Singh, 2015).

2.1.5 Mapeo por asociación

Existen dos aproximaciones generales de mapeo por asociación: aproximación del gen candidato y del genoma completo. La estrategia de genes candidatos se basa en la selección de genes potencialmente involucrados en el control de la variación fenotípica del carácter en estudio. Generalmente, información de varias fuentes como análisis genómico comparativo, anotación de la secuencia, análisis de QTLs, etc, es empleado para identificar los genes candidatos. Después de esto, la genotipificación se centra en las regiones genómicas con los genes candidatos; sin embargo, el número de marcadores empleados es reducido y es difícil determinar cómo estas mutaciones se relacionan con la variación fenotípica presente en la población (Singh y Singh, 2015).

Por el contrario, en el mapeo por asociación se realiza la caracterización de marcadores distribuidos homogénea y densamente en el genoma (GWAS) e involucra una exploración exhaustiva del genoma para la localización de variación genética causativa. Por tal razón, en la genotipificación es necesario el empleo de un gran número de marcadores distribuidos uniformemente en el genoma (10.000 a 100.000), los cuales son analizados para encontrar asociaciones con varios caracteres complejos, sin requerir ningún tipo de información previa acerca del control genético del carácter.

Además, GWAS permite identificar polimorfismos relacionados con la variación fenotípica y puede ser útil en la identificación de alelos de interés para propósitos de mejoramiento. En esta estrategia, la recombinación y la diversidad genética natural se analizan para lograr mapeo de alta resolución; por lo que tiene el potencial de alcanzar resolución a nivel de genes individuales, dado que hace uso de los numerosos eventos de recombinación ocurridos en el seno de las poblaciones a lo largo de su historia, permitiendo así detectar aquellas formas alélicas involucradas en la variación de un determinado carácter fenotípico (Ranc *et al.*, 2012). En el caso de las plantas, las poblaciones analizadas pueden ser poblaciones naturales de colecciones de germoplasma, poblaciones de mejoramiento, población basada en familias, poblaciones biparentales (cruzamientos dialélicos entre líneas endogámicas) y multiparentales (MAGIC- *multiparent advanced generation intercrosses* y NAM- *nested association mapping*) (Singh y Singh, 2015).

2.1.6 QTLs de rendimiento, tamaño y forma de fruto en tomate

En tomate, el rendimiento ha sido asociado a QTLs cercanos a los centrómeros de los cromosomas 1 y 7 y en los brazos largos de los cromosomas 1 y 5 (Eshed y Zamir, 1996). Asimismo, Gur *et al.* (2011) reportaron la identificación de 23 QTLs asociados a rendimiento en condiciones de exceso de agua y 16 QTLs en condiciones de sequía, los cuales se encuentran en casi todos los cromosomas y algunos de estos mostraron efectos de sobredominancia.

El tamaño del fruto en tomate es un rasgo de herencia cuantitativa controlado por más de 28 QTLs llamados FRUIT WEIGHT (FW), los cuales han sido reconocidos como reguladores de masa en el fruto (Grandillo *et al.*, 1999; Paran y Van der Knaap, 2007). Sin embargo, se ha encontrado que más del 60% de la variación fenotípica en este rasgo puede atribuirse a seis loci mayores (*fw1.1*, *fw1.2*, *fw2.1*, *fw2.2*, *fw3.2* y *fw11.3*), localizados en los cromosomas 1, 2, 3 y 11 (Causse *et al.*, 2004; Muñoz *et al.*, 2011). Los loci *fw1.1*, *fw2.2*, *fw3.1* y *fw4.1* se identificaron inicialmente en cruzamientos entre tomates silvestres con frutos pequeños y tomates cultivados con frutos grandes (Grandillo *et al.*, 1999), y su efecto parece estar confinado al peso del fruto y no a su forma con la excepción del locus *fw3.1* (Van der Knaap and Tanksley, 2003). El locus *fw2.2* codifica una proteína localizada en la membrana plasmática que inhibe la división celular, por lo que bajos niveles de mRNA de *fw2.2* promueve el ciclo celular dando lugar a frutos más grandes que contienen mayor número de células con mayor tamaño (Nesbitt y Tanksley, 2001). Asimismo, se ha encontrado que este locus incrementa el peso del fruto en un 30% y se encuentra en materiales comerciales, mientras que el alelo para frutos pequeños se encuentra en materiales silvestres de tomate (Frary *et al.*, 2000). El locus *fw3.2* codifica para el citocromo P450 de la clase CYP78A y es ortólogo de KLUH en *Arabidopsis* (Zhan *et al.*, 2012; Chakrabarti *et al.*, 2013). Una mutación en el promotor de *sKLUH* se ha encontrado cambia el peso de fruto de tomate (Chakrabarti *et al.*, 2013) y se encuentra en muchas accesiones de tomates cultivados pero no tiene efectos en el tamaño del ovario sino que actúa aparentemente después de tres semanas de anthesis (Zhang *et al.*, 2012). El *fw11.3* es otro locus importante en el control del peso del fruto en tomate, se ha encontrado que se sobrelapa con *fasciated (fas)* el cual controla la forma de fruto ubicado en el cromosoma 11 (Van der Knaap y Tanksley, 2003).

Además del incremento en el tamaño del fruto, la domesticación del tomate generó una alta diversidad en la forma del fruto. Partiendo de frutos redondos invariables de tomates silvestres a frutos con formas redondas, oblatas, rectangulares, elipsoides, obovoides (Forma de pera), forma de corazón y frutos alargados en tomates cultivados (Monforte *et al.*, 2014). Esta diversidad en la forma del tomate es el resultado de mutaciones en cuatro genes (*lc*, *fas*, *ovate* y *sun*), cuyo efecto genera cambios en la forma del fruto a través de modulaciones en etapas tempranas del desarrollo del carpelo. El gen *Loculus number (lc)* controla el número de carpelos y su mutación resulta en frutos con más lóculos que el fruto normal que cuenta dos o tres lóculos (Barrero *et al.*, 2006). Este incremento en el número de lóculos da como resultado frutos oblatos de mayor tamaño y se encuentra en los

tomates beefsteak y tomates de vino (Muños *et al.*, 2011; Rodríguez *et al.*, 2011b). La mutación *fasciated* (*fas*) causa incremento en el número de lóculos con mayor efecto que el gen *lc*, incrementa el número de órganos florales y se encuentra en los tomates de la herencia o heirloom tomatoes (Rodríguez *et al.*, 2011b). Este gen codifica para el factor de transcripción YABBY, el cual se encuentra infra-regulado (down-regulated) en el mutante con alto número de lóculos (Barrero y Tanksley, 2004) y está asociado a formas oblatas y en corazón (Rodríguez *et al.*, 2011b).

La forma de muchas variedades elipsoides y obovoides como el tomate uva son controlados por el gen que regula la elongación del fruto, *ovate* (Liu *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2011b). Este gen fue mapeado en el cromosoma 2 y su mutación resulta en una parada prematura del codón en una nueva clase de proteínas, llamada familia de proteínas Ovate (OFP) involucradas en la represión transcripcional y en la elongación del fruto (Liu *et al.*, 2002). El gen *sun* controla la elongación el fruto y se incluyen los tomates ciruela empleados para la pasta de tomate, los cuales son muy largos con forma cónica o en forma de corazón (Rodríguez *et al.*, 2011b). El efecto del gen *Sun* en la elongación del fruto es más pronunciado que el efecto de *ovate*, y codifica para una proteína de unión a la calmodulina de la familia IQD (Xiao *et al.*, 2009).

2.1.7 Modelo estadístico para análisis de asociación en plantas

El análisis de asociación estructurado desarrollado por Pritchard *et al.* (2000) estima la estructura de la población (Matriz Q) a partir de un conjunto de marcadores aleatorios y la incluye en el modelo lineal generalizado (GLM) permitiendo la corrección de falsas asociaciones. Posteriormente, Yu *et al.* (2006) desarrollaron el modelo lineal mixto (MLM) el cual incorpora además de la estructura de población, el parentesco entre individuos (Matriz K) de una colección de germoplasma. De esta manera, al incluir las matrices Q y K en el análisis de asociación, se controlan las asociaciones espurias.

El modelo lineal mixto para el método Q+K, es una versión ampliada del modelo mixto tradicional en los cuales los efectos fijos son modelados por el término $X\beta$ y que corresponde a los SNP bajo prueba y la estructura de población; Y es el factor fenotípico; β es un vector de efectos fijos (SNP o efecto de la población); α es el efecto del SNP; v es un vector del efecto de la población; μ es un vector de efectos del poligen; e es un vector del efecto residual; Q es la matriz de estructura relacionando Y a v; y X, S y Z son matrices de incidencia de 0 y 1 relacionando Y a β , α y μ , respectivamente (Yu *et al.*, 2006).

$$Y = X\beta + S\alpha + Qv + Z\mu + e$$

Estructura poblacional

La estructura de la población puede presentarse debido al aislamiento geográfico, apareamiento no aleatorio, migración, selección natural o artificial, entre otras causas. La estructura poblacional significa que los individuos de una población no forman un grupo homogéneo, sino que se distribuyen en varios subgrupos que muestran diferentes frecuencias génicas. Como resultado, la probabilidad de muestrear individuos que tengan un rasgo fenotípico específico que provengan de uno o pocos de estos subgrupos puede ser mayor que la de otros subgrupos; esto podría producir estimaciones engañosas del LD (Desequilibrio de ligamiento). Por ende, cuando un rasgo fenotípico se correlaciona con la subdivisión de la población, el rasgo es probable que muestre una asociación significativa con incluso aquellos loci que en realidad no están involucrados en la expresión de este rasgo. Un enfoque para mapeo por asociación en poblaciones estructuradas esencialmente divide la población en subgrupos homogéneos (subpoblaciones no estructuradas putativas) en base a las frecuencias del gen, y evalúa las asociaciones dentro de los subgrupos (Singh y Singh, 2015).

Parentesco

El coeficiente de parentesco es estimado como la proporción de alelos que son idénticos por descendencia entre cada par de individuos y puede ser estimado utilizando el método de Loiselle en el software *Tassel* o *Gapit*. Estos programas generan una matriz de parentesco relativo, en la cual valores de 0, 0.25 y 0.5 corresponde a individuos no relacionados, medios hermanos y hermanos completos, respectivamente (Loiselle *et al.*, 1995).

Desequilibrio de ligamiento

El desequilibrio de ligamiento (DL) se refiere a asociaciones no aleatorias entre los alelos de distintos loci y su intensidad determina la resolución del mapeo (Rafalski, 2002). La distancia sobre la cual el DL persiste va a determinar tanto el número y como la densidad de marcadores, así como el diseño experimental que se ajuste mejor para el mapeo por asociación.

Para cuantificar DL se han utilizado comúnmente el coeficiente de desequilibrio estandarizado D' (Lewontin, 1964) y la correlación de frecuencias alélicas r^2 (Hill y Weir, 1994), siendo esta última la más empleada por presentar menor varianza en muestras de tamaño pequeño (Flint-García *et al.*, 2003). Cuando DL se extiende dentro de varios cientos de pares de bases (pb), se requiere un gran número de marcadores para cubrir la totalidad del genoma y los alelos de genes candidatos seleccionadas deben ser evaluados para asociación. Si se extiende a grandes distancias, el genoma puede ser escaneado con una menor densidad de marcadores para identificar polimorfismos asociados con la variación fenotípica. La medida del DL sobre el genoma puede variar de acuerdo con la especie, la región del genoma y la población en estudio (Nordborg y Tavaré, 2002), y es más fuerte

en especies autógamas que en alógamas ya que la recombinación es menos eficaz en las especies de autofecundación (Flint–García *et al.*, 2003).

2.1.8 Estado del conocimiento del genoma de la uchuva

El grado de avance de los conocimientos sobre el genoma de la uchuva es limitado comparado con otras solanáceas cultivadas como el tabaco, el tomate, la papa y el ají, los cuales también pertenecen a la familia de las Solanáceas. Sin embargo, a pesar de que su genoma no se ha secuenciado totalmente, en los últimos 10 años se ha producido un promisorio avance en los estudios citogenéticos, genéticos y genómicos en esta especie.

A nivel citogenético, se ha encontrado que el número cromosómico de esta especie presenta una amplia variación asociada a diferentes ecotipos; las poblaciones silvestres tiene un número cromosómico $2n=24$, el ecotipo Colombia (cultivado) $2n=32$ y el ecotipo Kenia (introducido) $2n=48$ (Rodríguez y Bueno, 2006); simultáneamente, Lagos (2006) reportó que los números cromosómicos más frecuentes son $2n = 36, 24$ y 48 , en su orden con un número básico de $x = 12$. Según Liberato *et al.*, (2014), *P. peruviana* cuenta con una dotación cromosómica de $2n=4X=48$ y $2n=2X=24$, y una variación en el contenido de ADN nuclear entre 2,33 pg para el genotipo $2n=24$ y entre 5,77 y 8,12 pg para los genotipos $2n=48$ cromosomas, equivalentes a más de 1.400 Mb y cerca de 2 Gb, respectivamente.

A nivel genético, se han realizado múltiples estudios basados en caracterización moleculares con marcadores dominantes tipo RAM (microsatélites amplificados aleatoriamente) y marcadores codominantes tipo SSR (secuencia simple repetida). En estas caracterizaciones moleculares se ha encontrado un valor de heterocigosidad de 0,2559 mediante marcadores tipo RAM (Bonilla *et al.*, 2008); $H_o=0,44$ y una distancia genética entre 0,095 y 1,42 con marcadores tipo RAM (Lagos *et al.*, 2011); $H_o=0,366$ empleando marcadores tipo SSR (Sánchez, 2014) y una $H_o=0,737$ en una población F1 del cruzamiento interespecífico entre *Physalis peruviana* y *P. floridana* (Berdugo *et al.*, 2015).

A nivel genómico, Garzón-Martínez *et al.* (2012) reportaron un estudio del transcriptoma orientado a la caracterización funcional y predicción de genes y obtuvieron un ensamblaje de *novi* con 24.014 isotigs y 110.921 singletons, con un promedio de 1.638pb y 354pb, respectivamente. Se asociaron 12.672 unigenes a términos ontológicos, relacionados con los principales procesos biológicos y funciones moleculares en plantas y se identificaron 5.971 potenciales marcadores SSRs, dentro de los cuales se proponen 10 posibles marcadores relacionados con la respuesta a defensa en plantas.

Los estudios de mapeo por asociación en la especie se limitan al reportado por Osorio-Guarín *et al.* (2016), quienes realizaron la evaluación de un total de 100 accesiones por su respuesta ante *Fusarium oxysporum* mediante escala de severidad, y paralelamente genotiparon estas accesiones permitiéndole identificar

60.663 SNPs. Teniendo en cuenta la estructura poblacional y la matriz de parentesco se identificaron 16 marcadores relacionados con la respuesta ante el patógeno basado en el genoma de tomate y 12 marcadores asociado al comparar con el genoma de papa.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Extracción y genotipificación de SNPs

Para este estudio se empleó un total de 100 accesiones (Anexo A), de las cuales 80 contaban con datos previos de secuencias obtenidas por GBS (Osorio-Guarín *et al.*, 2016). Las 20 accesiones restantes se mantuvieron en condiciones *in vitro*, de estas se colectó tejido foliar (aprox. 100 mg), se maceró con nitrógeno líquido y se realizó la extracción del ADN utilizando el kit de extracción DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), se procesaron dos muestras por accesión para obtener el volumen, concentración y calidad de ADN necesarios para la genotipificación por secuenciación-GBS. La cuantificación se realizó en geles de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio empleando el marcador de peso molecular Lambda DNA (λ) y la calidad se determinó realizando digestión enzimática con *HindIII* de 10 muestras tomadas al azar.

Para genotipificar las 20 accesiones, las muestras de ADN de alta calidad con dos réplicas se enviaron al Instituto de diversidad genómica (*Institute for Genomic Diversity*) de la Universidad de Cornell donde fueron procesadas por el protocolo GBS (Elshire *et al.*, 2011). Las muestras fueron digeridas con la enzima *ApeKI*, que reconoce una secuencia específica de 5 pb (CGWGC, donde W = A o T) y las librerías se secuenciaron en un equipo *Illumina HiSeq 2000*. A partir de estas lecturas se determinó la calidad de las mismas usando el programa *Fastqc*.

A partir de las secuencias obtenidas por GBS, se realizó el llamado de SNPs mediante el pipeline GBS de Tassel 5 GBS v2 (Bradbury *et al.*, 2007) y el mapeo de las lecturas usando el transcriptoma de referencia de raíz y hoja de uchuva (Garzón-Martínez *et al.*, 2012) y en el genoma de referencia de tomate con el programa *Bowtie2* (Langmead *et al.*, 2009). Los marcadores se filtraron teniendo como parámetros: longitud de *tags* de 64 pb, cobertura mínima de locus en 80 individuos (*mnLCov*), menor frecuencia mínima alélica MAF de 0.01 (*mnMAF*), cobertura mínima por sitio de 0.7 (*mnSCov*) y cobertura mínima por taxón de 0.3 (*mnTCov*). A partir de lo anterior, se generaron archivos *hapmap* con los SNPs por cada individuo analizado necesarios para posteriores análisis.

2.2.2 Análisis de variabilidad, estructura poblacional y desequilibrio de ligamiento

Para el análisis de variabilidad se utilizaron aquellos SNPs mapeados y filtrados en los transcriptomas de referencia de uchuva y genoma de referencia de tomate. Se calculó heterocigosidad esperada (H_e), heterocigosidad observada (H_o) y el contenido de información polimórfica (PIC) empleando al software *Power Marker* v3.25. Asimismo, se realizó un análisis de agrupamiento usando el algoritmo

Neighbor Joining con *Tassel* v5.0, se visualizó con el software *FigTree* v1.4.0, y el análisis de componentes principales PCA se realizó en *Tassel* v5.0.

De igual manera, se estimó la ancestría genética de la población aplicando la metodología implementada en el software *Admixture* v 1.3.0 (Alexander *et al.*, 2009), empleando un modo no supervisado, asumiendo subpoblaciones (K) con rango de K=1 hasta K=10, un período de Burnin de 20.000 y el error CV se visualizó mediante *RStudio*. *Admixture* usa un procedimiento de validación cruzada (CV) para estimar el número de poblaciones (K) más apropiado, el cual muestra un bajo error de validación cruzada comparado con otros valores de K (Alexander *et al.*, 2009).

Para el análisis de desequilibrio de ligamiento se evaluó el parámetro r^2 y su correspondiente test de significancia ($\leq 0,005$), con una ventana deslizante de 50 marcadores y se visualizó el parámetro mediante el software *Tassel* v5.0. Para este análisis y los análisis posteriores se empleó como base el archivo *hapmap* teniendo como base el genoma de referencia de tomate.

2.2.3 Análisis de asociación genotipo-fenotipo

Inicialmente se realizó el test de Shapiro Wilk para probar normalidad en las variables fenotípicas relacionadas con rendimiento como producción (*Prod*), número de frutos (*NumF*), peso de fruto con cáliz y sin cáliz (*PFS-PFC*), variables de calidad de fruto como contenido de sólidos solubles totales (*SST*), firmeza de fruto (*FirmF*) y porcentaje de rajado (*Raj*), y variables de tamaño de fruto como perímetro (*Peri*), área (*Area*), ancho máximo y en la parte media (*AnchoMax-AnchoMF*) del fruto, longitud máxima y longitud en la parte media del fruto (*LongMax-LongMF*), y mediante el procedimiento *BoxCox* del software *Statistica* v12 (Statsoft, 2014) se normalizaron los datos de las variables que no cumplieron este supuesto.

El análisis de asociación genotipo - fenotipo se realizó mediante el uso de la herramienta GAPIT (Genomic Association and Prediction Integrated Tool, Lipka *et al.*, 2012) del paquete estadístico R (R Development Core Team, 2012) y se evaluó el modelo lineal mixto (MLM) (Zhang *et al.*, 2010) teniendo en cuenta la estructura poblacional (matriz Q) y el parentesco entre accesiones (matriz K), estimado con el algoritmo *Loiselle* (Loiselle *et al.*, 1995). La significancia de las asociaciones entre loci SNPs y variables fenotípicas se determinó por su p-value ($p < 0,05$) calculados por el modelo estadístico. Además se utilizó como método de corrección la tasa de falso descubrimiento (FDR por sus siglas en inglés) propuesto por Benjamini & Hochberg, (1995).

2.2.4 Anotación funcional

Para determinar la función putativa de los marcadores asociados a atributos de calidad de la uchuva, se determinó la ubicación del SNP en el genoma de referencia

de tomate mediante la búsqueda en la base del *Sol Genomics Network* (SGN) utilizando la anotación genómica realizada por el Grupo de Anotación Internacional del Tomate (ITAG) a partir de la construcción SL2.50 del genoma.

2.3 Resultados y discusión

2.3.1 Extracción de ADN y secuenciación

Se obtuvo ADN de buena calidad, pureza y concentración para GBS; en la digestión enzimática se observó un patrón de corte adecuado con un barrido esperado para un ADN de alta calidad y pureza (Figura 2-2). Adicionalmente, la cuantificación en gel de agarosa permitió determinar una concentración promedio de ADN extraído de 130 ng/ μ l.

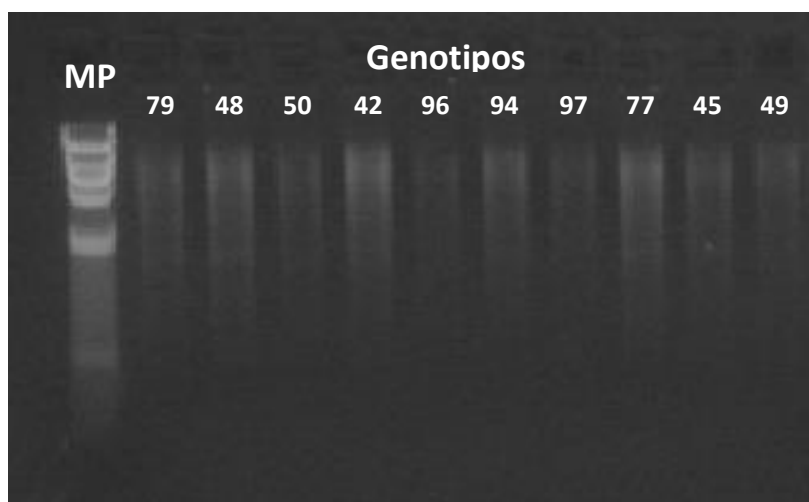


Figura 2-2 Digestión enzimática *Hind*III del ADN de algunas muestras representativas de la colección de uchuva en gel de agarosa al 1%

Una vez secuenciado el ADN de las veinte accesiones e identificadas las secuencias de las ochenta restantes, se obtuvo un total de 225.161.229 lecturas, con 52% de GC y buena calidad con una longitud de 101 pb (Figura 2-3). Con el uso del pipeline de GBS en Tassel 5, con los parámetros por defecto y empleando como referencia el ensamblaje del transcriptoma foliar y radicular de uchuva, y el genoma de referencia de tomate, se identificaron 45.184, 58.887 y 50.805 SNPs, respectivamente, con un porcentaje de datos perdidos de entre 17 y 19%. Después de aplicar los filtros de cobertura mínima del taxón (mnTCov), cobertura mínima del sitio (mnSCov) y frecuencia mínima alélica (MAF), el número de marcadores tipo SNPs obtenidos fue 27.982, 36.142 y 30.344, teniendo como referencia los tres genomas antes mencionados, con un porcentaje de datos perdidos entre el 3,9 y 4,4%, por lo que este último conjunto de SNPs fue utilizado para los análisis de variabilidad de la población. Sin embargo, el genotipo 09U039-1 fue eliminado del análisis debido a que no cumplía con el requerimiento de MnTCov previamente mencionado.

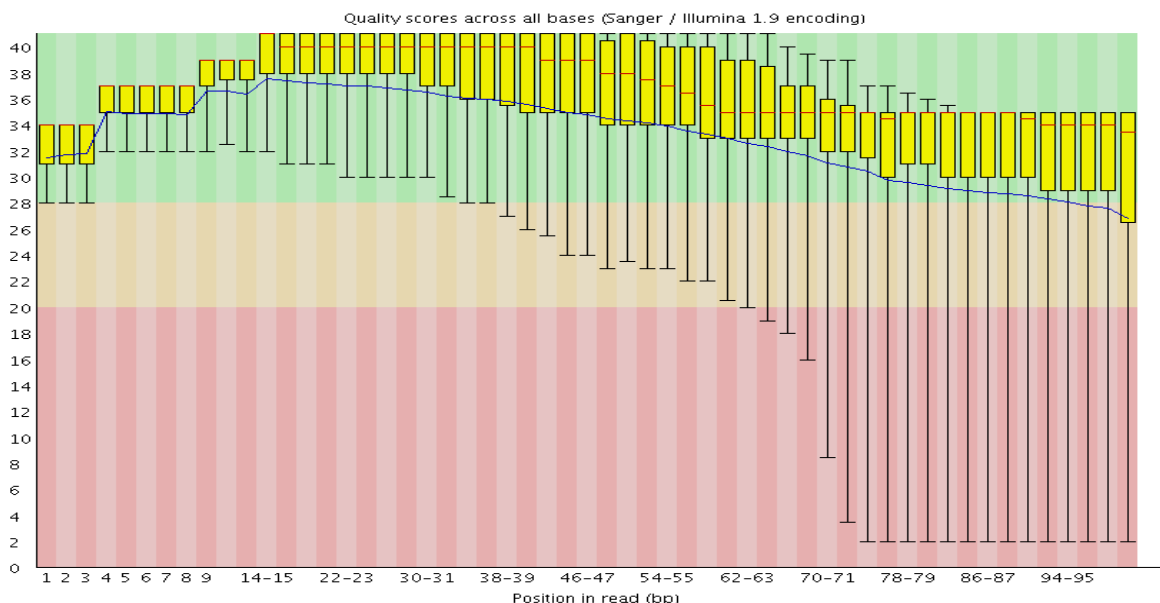


Figura 2-3 Calidad de las bases de las lecturas de Illumina para GBS en la colección de trabajo de uchuva

El eje Y corresponde al valor de calidad y el eje X indica la posición en la lectura. La región verde indica buena calidad, la naranja aceptable y la roja baja calidad en las secuencias. La línea azul indica la media de la calidad de las secuencias.

2.3.2 Variabilidad genética

El análisis genético de la colección de trabajo de uchuva de este estudio mostró un alto nivel de variabilidad con una media de Heterocigocidad esperada $H_E=0,445$, heterocigocidad observada $H_O=0,725$ y un índice de contenido polimórfico $PIC=0,342$. Los menores valores de diversidad genética se encontraron cuando se empleó el genoma de referencia de tomate, y un poco superiores aunque similares entre ellos, cuando se utilizó el transcriptoma foliar y radicular de uchuva (Tabla 2-1).

Tabla 2-1 Índices de diversidad genética para los marcadores filtrados usando como referencia el transcriptoma de uchuva y genoma de referencia de tomate

Transcriptoma/Genoma de referencia	SNPs sin filtrar	SNPs filtrados	H_O	H_E	PIC
Transcriptoma foliar de uchuva	45.184	27.982	0,731	0,447	0,343
Transcriptoma radicular de uchuva	58.887	36.142	0,733	0,449	0,344
Genoma de referencia de tomate	50.805	30.344	0,711	0,439	0,338
Media			0,725	0,445	0,342

Los valores de heterocigocidad observada (H_O) fueron mayores que los de la heterocigocidad esperada (H_E), lo que indica que la colección cuenta con exceso de individuos heterocigotos y deficiencia de homocigotos; sin embargo, este resultado puede estar asociado con la polinización mixta de la especie para la cual se ha reportado un 54% de polinización cruzada (Lagos *et al.*, 2008). Asimismo, se

encontró que el contenido de información polimórfica (PIC) fue de 0,343, 0,344 y 0,338 en los tres genomas indicando una variación alélica moderada y por ende una diversidad intermedia (Tabla 2-1).

Estos resultados difieren a lo reportado por Bonilla *et al.* (2008) quienes emplearon marcadores tipo RAMs en 43 accesiones y encontraron valores de heterocigocidad más bajos (0,2559), posiblemente debido a la naturaleza dominante de los marcadores, y al número y origen de accesiones empleadas, lo cual puede influir en los valores reportados. De igual manera, Delgadillo (2012) y Berdugo *et al.* (2015) reportaron valores de heterocigocidad observada menores a los reportados en este estudio (H_o : 0,54 y 0,55, respectivamente), mientras que los valores de H_E fueron similares al estudio de Berdugo *et al.* (2015) con H_E : 0,475 pero fueron mayores al estudio reportado por Delgadillo (2012) (H_E : 0,28) al emplear marcadores COSII e IRGs; no obstante, en estos dos estudios la H_o fue mayor H_E tal como ocurrió en el presente estudio.

De igual manera, Garzón-Martínez *et al.* (2012) evaluaron 64 accesiones de uchuva empleando marcadores SNPs y encontraron resultados similares a los encontrados en este estudio con respecto a H_E (0,41) y PIC (0,32) pero difieren con respecto a H_o posiblemente debido a diferencias en el material y su origen que influyeron en los datos obtenidos. En contraste, Osorio-Guarín *et al.* (2016) reportaron valores más altos de heterocigocidad esperada (H_E : 0,647) y valores más bajos de heterocigocidad observada (H_o : 0,431) en una colección de 100 accesiones de uchuva; esta discrepancia puede atribuirse a la diferencia en el material y el número de marcadores SNPs empleados en el estudio.

No obstante, a pesar de las diferencias encontradas en algunos estudios, todos concuerdan en que uchuva es una especie heterocigota, fundamentado principalmente en estudios previos del tipo de reproducción (Mosquera, 2002; Lagos *et al.*, 2008).

2.3.3 Estructura poblacional y agrupamiento neighbor-joining

El análisis de la estructura poblacional facilita el entendimiento de la diversidad genética en la colección de trabajo e identifica las poblaciones adecuadas (K) para el análisis de asociación. Para este análisis se utilizó el sistema de ADMIXTURE no supervisado, el cual usa el procedimiento de validación cruzada (CV) para estimar distintas poblaciones genéticas (K) y asignar los individuos a las poblaciones. El número adecuado de poblaciones exhibe un bajo error en la validación cruzada (error CV) comparado con los demás valores de K. En este estudio, se evaluó el error CV entre $K=1$ y $K=10$, y se identificó un K apropiado de $K=2$ con base en el genoma de tomate, no obstante cabe destacar que el error CV para $K=3$ estuvo muy cercano a $K=2$ (Figura 2-4A). El análisis de estructura poblacional también se realizó con el transcriptoma foliar y radicular de uchuva, el cual generó resultados muy similares, por lo que los posteriores análisis se realizaron con los SNPs obtenidos con base en el genoma de referencia de tomate.

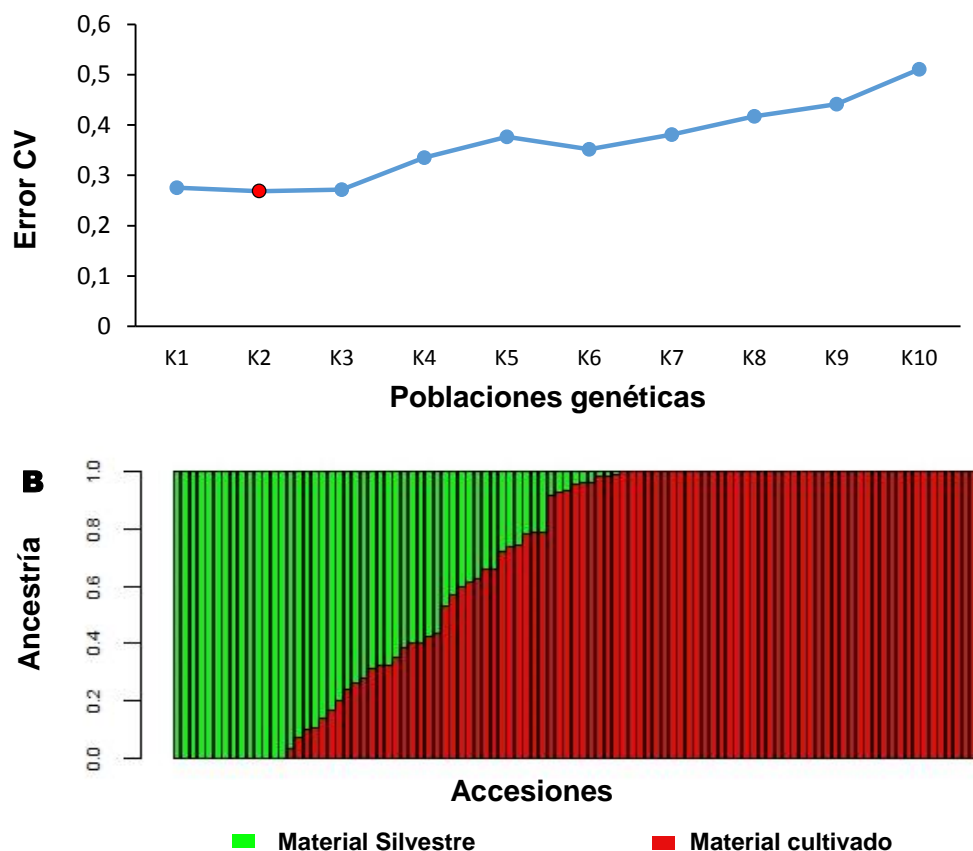


Figura 2-4 Análisis de la estructura poblacional de cien accesiones de uchuva mediante el software ADMIXTURE a partir de marcadores SNP

A. Error de la validación cruzada entre las poblaciones inferidas en la colección de trabajo de uchuva.
B. Composición de las dos subpoblaciones ($K=2$) usando como referencia el genoma de tomate. El eje X representa los individuos de las poblaciones ordenadas de acuerdo a su ancestro (eje Y). Cada individuo está representado por una columna vertical apilada con proporciones de color que refleja la contribución genética de las poblaciones ancestrales putativas.

Las dos poblaciones inferidas de uchuva fueron consistentemente separadas y difieren en su estado de cultivo o estado de mejoramiento y corresponden a la población de germoplasma silvestre y germoplasma cultivado (Figura 2-4B). La población silvestre de uchuva proviene de repositorios internacionales (Ecuador, Nepal, Dinamarca, Francia y Sur África) y de los departamentos de Nariño, Antioquia, Boyacá y Valle de Cauca en Colombia y agrupó el 33,3% de la colección de trabajo. Por otro lado, la población doméstica agrupó el 66,6% de la colección de trabajo y estuvo representada por material de agricultor procedente de los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Antioquia, Nariño, Caldas y Norte de Santander, y material doble haploide regenerado a partir de plantas de cultivos comerciales procedentes de Cundinamarca y Boyacá. La matriz de ancestría se empleó posteriormente en el análisis de asociación como matriz Q.

Los estimativos de diferenciación en función de las frecuencias alélicas en las dos poblaciones mostraron un F_{ST} de 0,028; según Wright (1978) estos resultados indican baja diferenciación entre las dos poblaciones. En este punto, Chacón *et al.*, (2016), caracterizaron 345 materiales de uchuva empleando marcadores microsatélites y reportaron la identificación de dos grupos asociados a accesiones cultivadas y no cultivadas con un índice de diferenciación (F_{ST}) de 0,058; similar al reportado en este estudio. En contraste, el estudio de Osorio-Guarín *et al.*, (2016) con quienes se comparte el 80% del material evaluado, reportaron la identificación de tres poblaciones constituidas por germoplasma comercial, germoplasma cultivado y mezcla de material doble haploide, material de agricultor y material cultivado, con un índice de diferenciación de 0,3507; esta variación puede deberse posiblemente a diferencias en la cantidad de marcadores SNPs empleados en cada estudio.

En el análisis de componentes principales (PCA), se encontró que los tres primeros componentes explicaron un 12,5% de variación total, con el 8,2%, 2,3% y 2%, respectivamente. Este análisis fue consistente con los resultados de Admixture y separa los 99 genotipos en dos poblaciones (población silvestre y doméstica); sin embargo, la población doméstica presenta dos subpoblaciones correspondientes al material de agricultor B1 y material derivado de cultivo de anteras B2, accesiones que provienen de los departamentos de Boyacá, Cundinamarca, Nariño y Antioquia; estos resultados podrían explicar el bajo error de la validación cruzada (error CV) para $K=3$ poblaciones. Cabe resaltar que la subpoblación B1 está muy cercana a la población silvestre posiblemente debido a similitudes en la variabilidad alélica, mientras que la subpoblación B2 tiende a ser más homogénea posiblemente debido a la homocigosidad en los loci resultado del cultivo de anteras (Figura 2-5).

Adicionalmente, se realizó un árbol de neighbor-joining con el objetivo de tratar de conocer las relaciones entre las accesiones cultivadas con respecto a las accesiones silvestres (Figura 2-6), este mostró similitudes con el modelo basado en estructura y PCA en la colección de trabajo. De esta manera, se identificaron cuatro grupos o clúster basados en la distancia genética de Nei y pueden asociarse al estado de mejoramiento o estado del cultivo pero no a la procedencia de las accesiones. El agrupamiento I estuvo representado por material de agricultor procedente de Boyacá, Nariño y Cundinamarca. El agrupamiento II estuvo conformado por una mezcla de material de agricultor procedente de Cundinamarca, Boyacá y Antioquia, y algunas accesiones derivadas de cultivo de anteras. El agrupamiento III en su mayoría está representado por accesiones derivadas de cultivo de anteras con algunas accesiones comerciales de Cundinamarca, Boyacá y Nariño. En el agrupamiento IV se encuentran en su mayoría las accesiones silvestres procedentes de Nariño, Antioquia, Valle del Cauca, Boyacá, Cundinamarca y Norte de Santander en Colombia, así como las accesiones silvestres provenientes de repositorios internacionales como Dinamarca, Francia, Nepal, Sur África y Ecuador, estas últimas accesiones formaron un subgrupo junto con la accesión 09U210_2 procedente de Nariño.

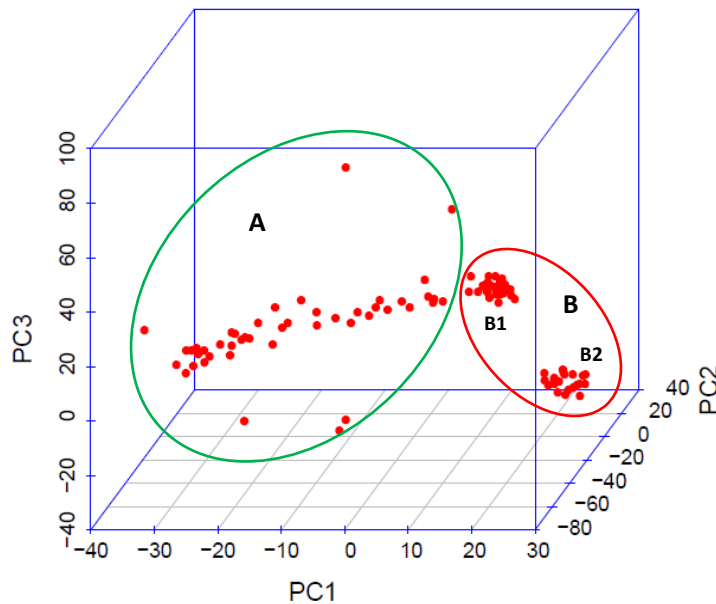


Figura 2-5 Representación gráfica de los tres primeros componentes principales usando como referencia el genoma de tomate
Las letras indican las poblaciones formadas en Admixture: Población de germoplasma silvestre (A) y cultivado (B) en color verde y rojo, respectivamente.

En este mismo agrupamiento (agrupamiento IV) se encuentran dos accesiones 09U236_3 y 12U374_1 derivadas de cultivo de anteras sugiriendo que aún conservan parte de la diversidad encontrada en las accesiones silvestres. Asimismo, se encontraron accesiones de los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Norte de Santander junto con accesiones provenientes de Nariño, Antioquia y Caldas en los cuatro agrupamientos. Estos resultados contrastan con lo reportado por Chacón *et al.*, (2016) quienes encontraron que las accesiones cultivadas y no cultivadas del oriente de los Andes se agruparon de forma separada de las accesiones del centro y oeste de la cordillera de los Andes.

Al comparar el resultado de estructura poblacional con el árbol de neighbor-joining (Figura 2-6), se encontró que las accesiones pertenecientes a la población silvestre también formaron un grupo, aunque relacionadas con individuos pertenecientes al otro acervo génico; esto puede deberse a que la resolución del árbol no alcanza a discriminar la estructuración de la muestra a diferencia del método bayesiano, tal como ha sido reportado por Fusari (2010). No obstante, el árbol de neighbor-joining permitió evidenciar que las accesiones seleccionadas para la identificación de SNPs contemplan la diversidad presente en la especie y puede orientar el establecimiento de los cruzamientos adecuados en los procesos de selección de nuevas variedades, basado en el conocimiento de las relaciones genéticas entre las diferentes accesiones.

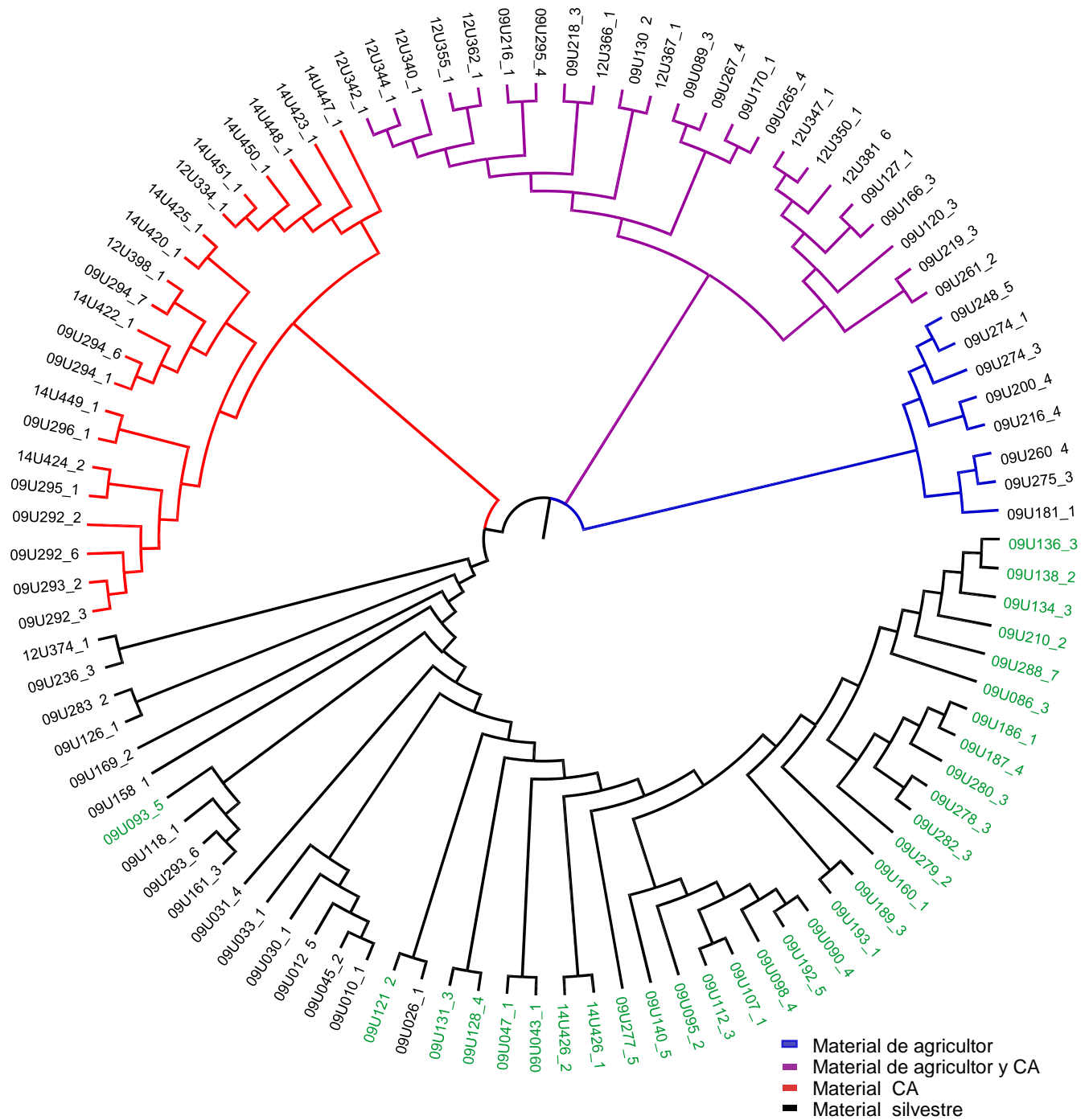


Figura 2-6 Dendrograma Neighbor-Joining basado en la distancia genética de Nei de la colección de trabajo de *P. peruviana*.

El dendrograma muestra cuatro subgrupos indicados en números romanos. El color verde y negro de las etiquetas corresponden al material silvestre y cultivado, respectivamente, asignadas por el programa Admixture. CA: material derivado de cultivo de anteras.

2.3.4 Análisis de desequilibrio de ligamiento

El desequilibrio de ligamiento (LD) se midió utilizando una ventana deslizante de 50 marcadores y empleando el parámetro r^2 definido como la correlación entre alelos de dos o más loci. LD se representó como una matriz de desequilibrio visualizando una estructura lineal de LD entre los marcadores, representado por el parámetro r^2 y su respectiva probabilidad (Flint-Garcia *et al.*, 2003). Un total de 38.844 comparaciones entre pares de marcadores presentaron algún grado de desequilibrio de ligamiento con un promedio de 0,008, y de éstos, 13.184 comparaciones mostraron una significancia $p \leq 0,01$, como se evidencia en el cromosoma 5 (Figura 2-7). Este valor de desequilibrio de ligamiento es bajo posiblemente debido a múltiples eventos de recombinación en el genoma de la uchuva, esto en respuesta a la naturaleza alógama de la especie (Lagos *et al.*, 2008; Flint-Garcia *et al.*, 2003); resultados que coinciden con lo reportado con Rafalski y Morgante, (2004) quienes mencionan que en especies con alta tasa de recombinación y/o especies alógamas, el desequilibrio de ligamiento es bajo. En contraste, los marcadores con LD significativos podrían encontrarse en genes ligados o en loci cuyos niveles de LD pudieron ser afectados por factores como la selección natural, tasa de recombinación o deriva genética (Rafalski y Morgante, 2004; Montgomery, 2008). No obstante, es necesario estimar como decae el LD en relación con la distancia física una vez se tengan disponibles mapas físicos para la especie.

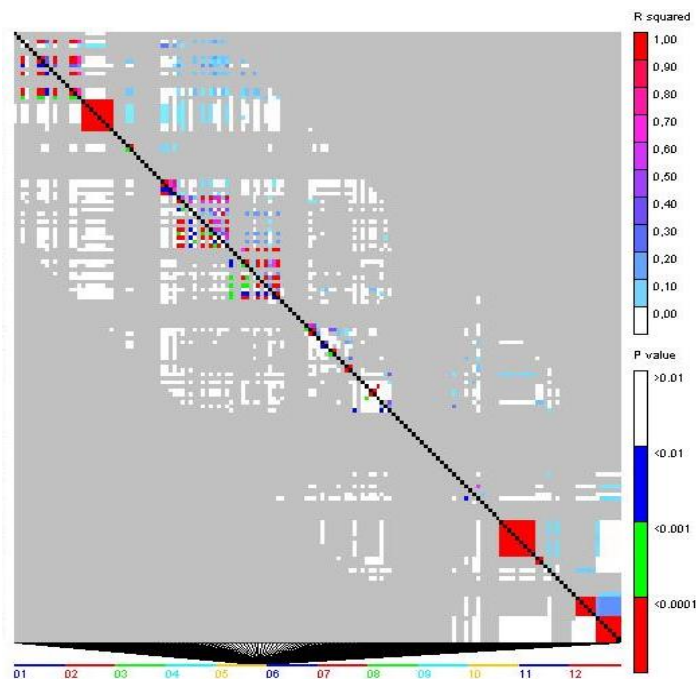


Figura 2-7 Matriz de desequilibrio de ligamiento en una porción de marcadores que mapearon en una región del cromosoma 5 del genoma de tomate. Cada celda representa la comparación de dos pares de marcadores con el r^2 y el correspondiente p-value, arriba y abajo de la diagonal, respectivamente.

2.3.5 Análisis de asociación

Normalidad de las variables

El análisis de normalidad empleando la prueba de Shapiro wilk arrojó que la totalidad de las variables no presentaron normalidad, esto se debe principalmente a la presencia de datos atípicos en cada una de las variables aportados principalmente por los genotipos haploides; esto se debe principalmente a la ploidía de estas accesiones, y por tal razón los datos de estos genotipos se excluyeron del análisis de asociación.

Una vez excluidos los datos atípicos, se encontró que los datos de las variables del componente de rendimiento como producción (*Prod*), número de frutos (*NumF*), peso de fruto con y sin cáliz (*PFS-PFC*), así como las variables de calidad de fruto de sólidos solubles totales (*SST*) y firmeza de fruto (*FirmF*) y variables de tamaño de fruto como perímetro (*Peri*), área (*Area*), ancho máximo y en la parte media (*AnchoMax-AnchoMF*) del fruto, presentaron normalidad. En la gráfica 2-9, se visualiza la distribución de los datos originales y cuan cerca está la distribución del conjunto de datos con respecto a la distribución ideal.

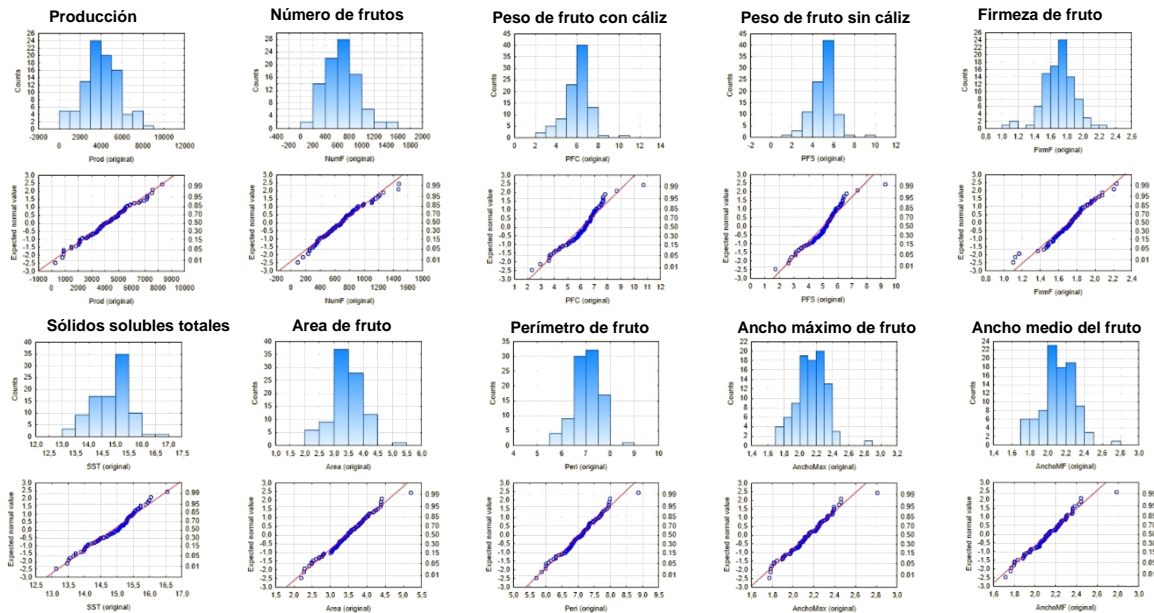


Figura 2-8 Grafico de distribución y cuantil-cuantil de las variables normales según el test de Shapiro Wilk

Por el contrario, las variables porcentaje de frutos rajados (*Raj*) de la categoría calidad de fruto, y Longitud máxima y longitud en la parte media del fruto (*LongMax-LongMF*) de la categoría tamaño de fruto, no presentaron normalidad y fueron tratadas mediante la transformación Boxcox con el objetivo de eliminar la variabilidad causada por factores diferentes al que fue evaluado en el experimento

y a su vez aumentar la confiabilidad de los datos lo cual es necesario para el test de asociación. En el gráfico 2-8, se visualiza la distribución de los datos originales y la distribución posterior a la transformación.

Una vez se normalizaron las variables *Raj*, *LongMax* y *LongMF*, se graficó la variación fenotípica de todas las variables evaluadas en las 93 accesiones, tal como se muestra en la figura 2-9.

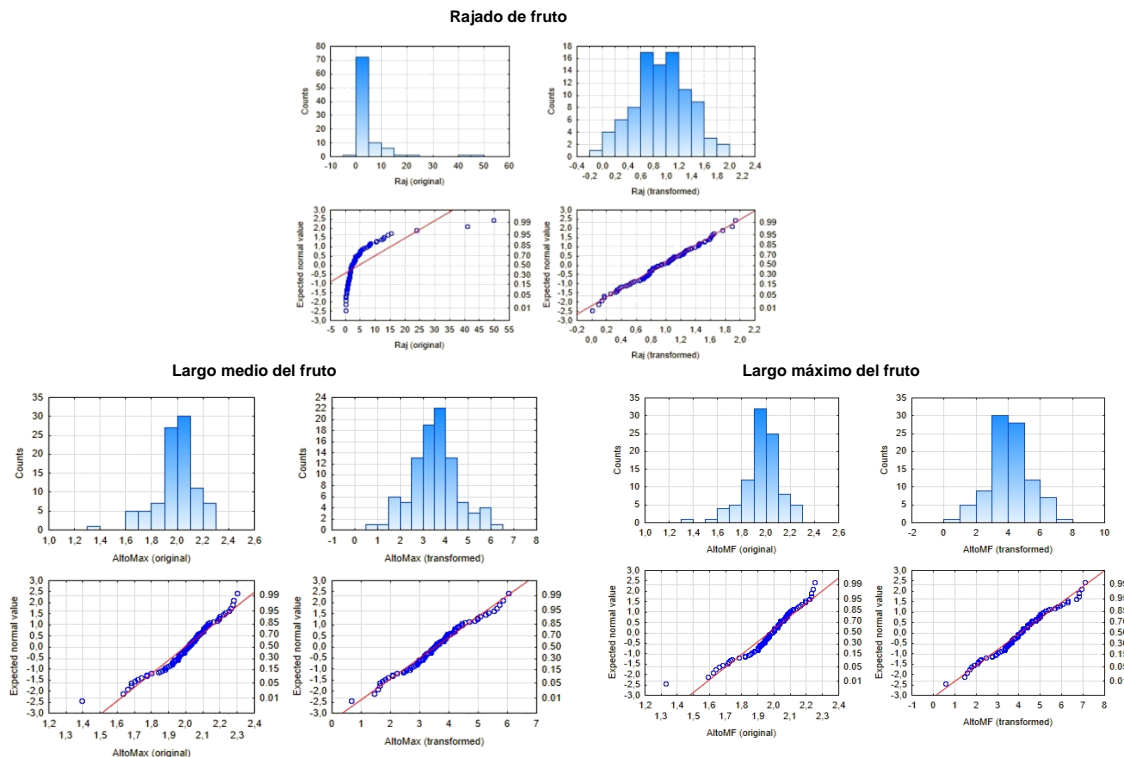


Figura 2-9 Grafico de distribución y cuantil-cuantil de datos originales y transformados de las variables no normales según el test de Shapiro Wilk

Parentesco y estructura poblacional

En el análisis del grado de parentesco se empleó el logaritmo de Loiselle, el cual se basa en la probabilidad de que al muestrear dos alelos, estos sean idénticos por descendencia (Loiselle *et al.*, 1995). Con este análisis se encontró que en la colección de trabajo cerca del 52% de los estimativos por parejas fueron cero y el 48% restante de los coeficientes no superó 0,12 con un valor medio de 0,013; indicando que estas accesiones no están emparentadas (Figura 2-10). Estos coeficientes de parentesco fueron empleados como matriz K en el análisis de asociación.

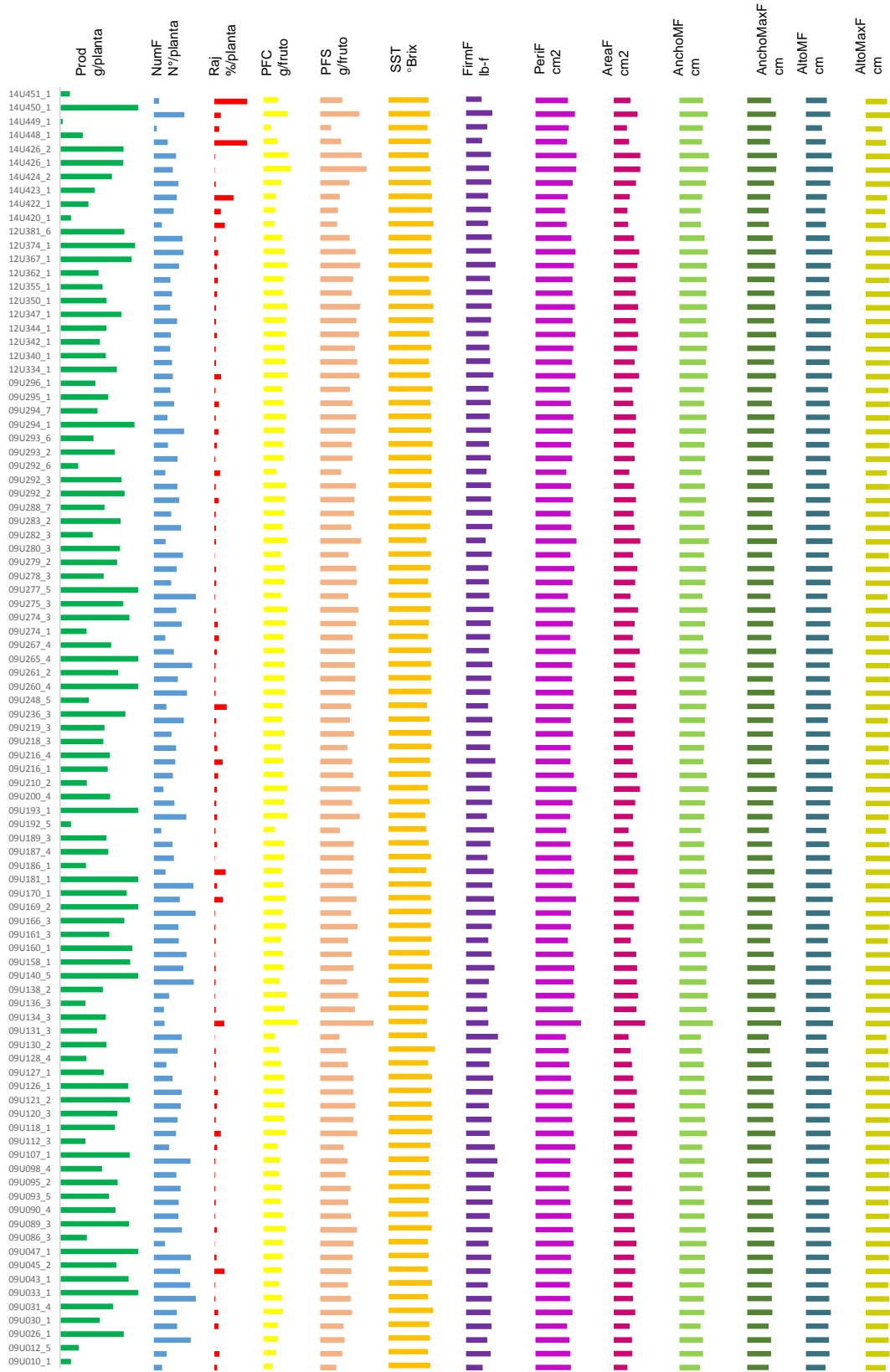


Figura 2-10 Variación en 13 características de rendimiento, calidad y dimensión de fruto en la colección de trabajo de uchuva.

Cada barra representa la media de cada variable en ocho cosechas

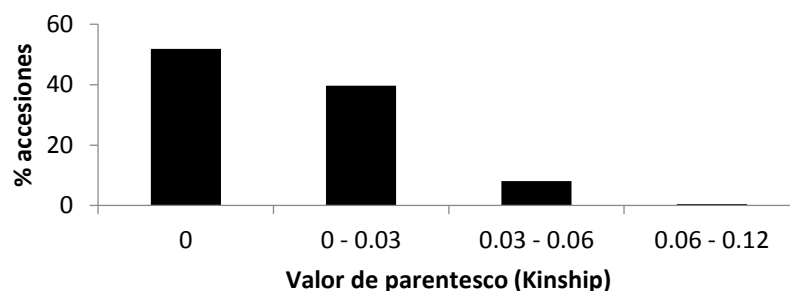


Figura 2-11 Distribución de los valores de parentesco entre parejas de la colección de trabajo. La altura de las barras negras representa el porcentaje de accesiones en los diferentes rangos de parentesco.

2.3.6 Asociación genotipo-fenotipo

El análisis de asociación genotipo-fenotipo se realizó empleando el modelo lineal mixto (MLM) basado en las matrices Q y K con el fin de controlar las falsas asociaciones debido a la estructura poblacional y parentesco, y empleando 13 características evaluadas cuya variación se muestra en la figura 2-10. Sin embargo, no se identificaron asociaciones significativas después de la corrección FDR ($p\text{-value} \leq 0.05$), posiblemente debido al tamaño reducido de la colección de trabajo y a su heterocigosidad como ha sido reportado en uchuva por Osorio *et al.*, (2016). Además, dado su tipo de reproducción (predominantemente alógama) es conocido que el decaimiento del desequilibrio de ligamiento es muy rápido por lo que el tamaño de la población a analizar debe ser grande. Por lo anterior, se redujo el umbral de significancia a $p\text{-value} \leq 0,0001$ equivalente a valores de $-\log_{10}(p) \geq 4,0$.

Dados los anteriores parámetros, este análisis reveló un total de 51 SNPs asociados con la variación en 13 características de rendimiento, tamaño y calidad del fruto en uchuva (Tabla 2-2). Estos SNPs, estuvieron representados por 31 SNPs únicos, de los cuales 19 se ubicaron en genes de tomate y se distribuyeron a lo largo del genoma por lo que cada cromosoma presentó al menos una asociación. Adicionalmente, seis SNPs (S02_44121109, S03_52616353, S03_70268245, S06_2049586, S11_1524907 y S12_6422882) exhibieron asociaciones significativas con más de una característica.

Rendimiento

Un total de 4 asociaciones se relacionaron únicamente con características de rendimiento, fueron detectadas en los cromosomas 1, 2, 3 y 12, de los cuales 10 se ubicaron en genes de tomate (Figura 2-12; Tabla 2-2). Individualmente, los SNPs asociados explicaron entre el 17,43 (S12_3664835) y 18,40% (S01_149166) de la varianza fenotípica respecto a peso del fruto.

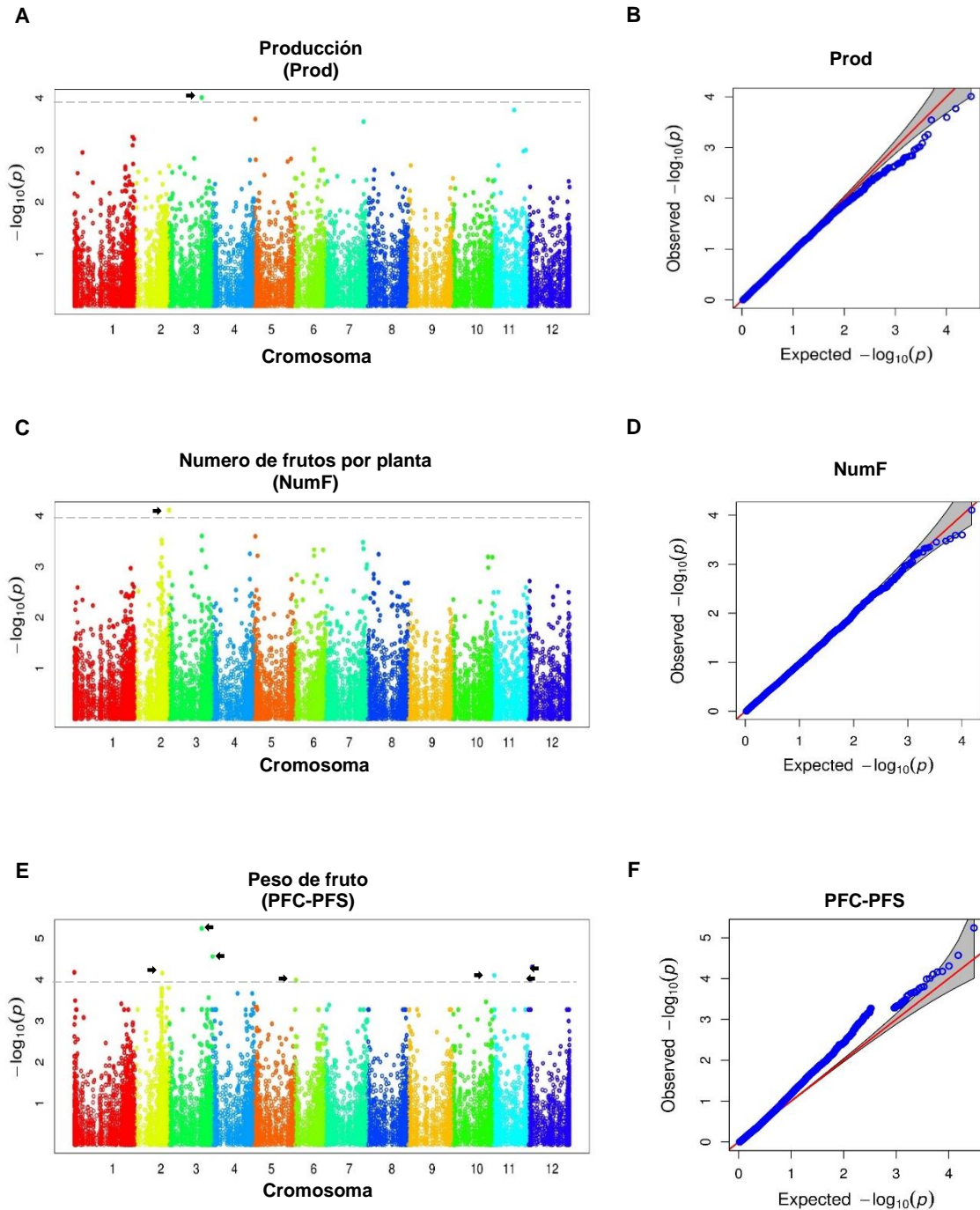


Figura 2-12 Análisis de mapeo por asociación en características de rendimiento **A.** Manhattan plot con SNPs asociados a producción, número de frutos **(C)** y peso de fruto **(E)**. **B.** Grafico cuantil-cuantil (QQ-plot) para la variable producción, número de frutos **(D)** y peso de fruto **(F)**. La línea punteada indica los SNPs asociados con un umbral de $-\log_{10}(P)=4,0$.

En este aspecto, el marcador S01_149166 asociado al peso de fruto, explicó el 18,40% de variación fenotípica y aunque no se ubicó en genes de tomate, cerca de este marcador se encuentra el gen Solyc01g005190.1 relacionado con proteínas zinc fingers; las cuales están involucradas en el desarrollo temprano del fruto en

tomate (Aiese *et al.*, 2013), y en tabaco (Wu *et al.*, 2014), mientras que en *Arabidopsis* juega un rol importante en la embriogénesis (Wang *et al.*, 2008). En este estudio los marcadores asociados únicamente con el peso de fruto se encontraron en los cromosomas 1, 2, 3, 6, 11 y 12; resultados similares fueron obtenidos por Xu *et al.*, (2013) quienes reportaron SNPs asociados a esta característica en tomate en estos cromosomas excepto en el cromosoma 6 y 11.

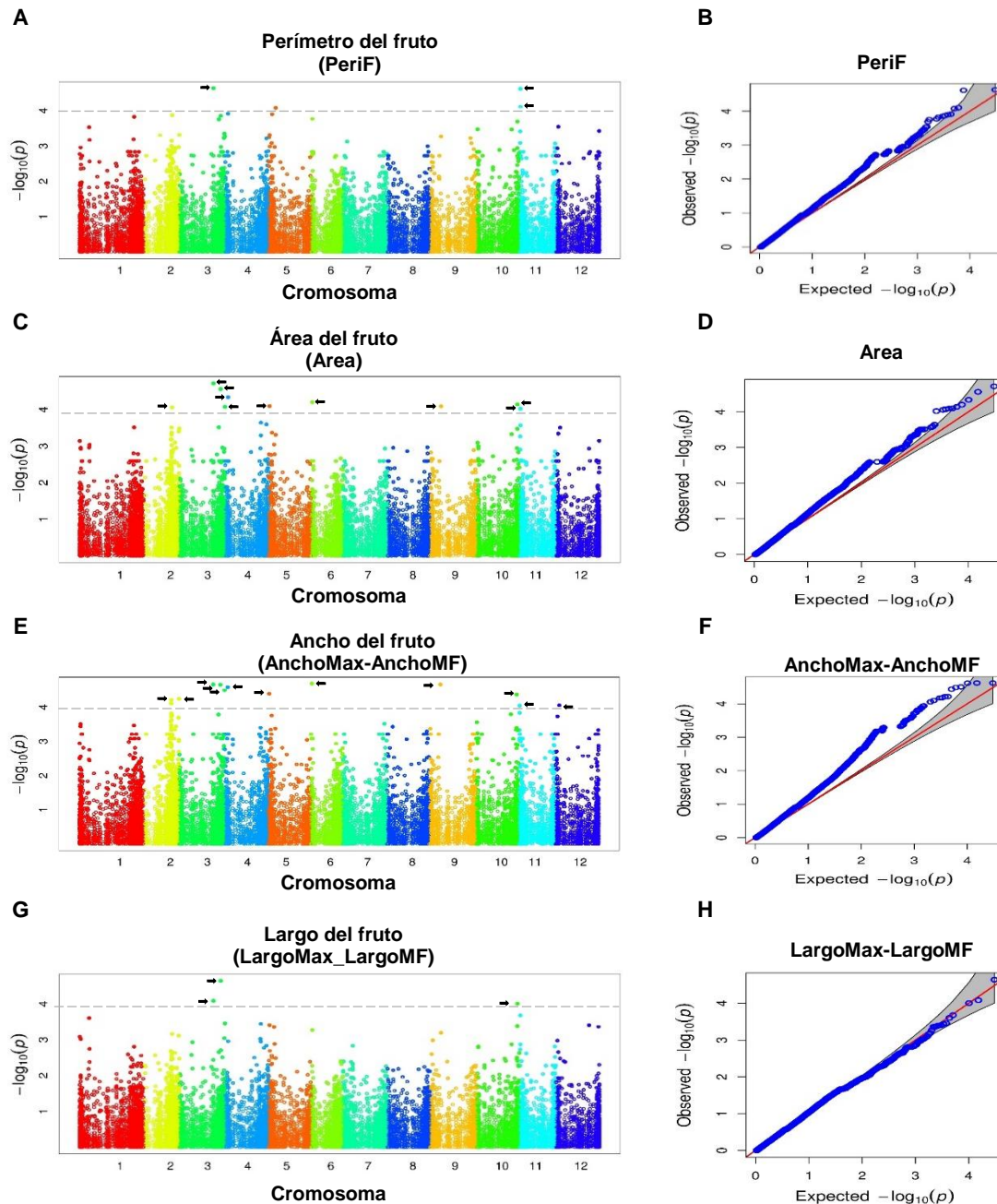


Figura 2-13 Análisis de mapeo por asociación en características de tamaño de fruto **A.** Manhattan plot con SNPs asociados a perímetro, área **(C)**, ancho **(D)** y largo de fruto **(G)**. **B.** Grafico cuantil-cuantil (QQ-plot) para la variable perímetro, área **(D)**, ancho **(F)** y largo de fruto **(H)**. La línea punteada indica los SNPs asociados con un umbral de $-\log_{10}(P)=4,0$.

Tamaño de fruto

Respecto a tamaño de fruto se detectaron 12 marcadores asociados ubicados en los cromosomas 2, 3, 4, 5, 9, 10 y 11 de los cuales 11 están asociados a proteínas en tomate (Figura 2-13; Tabla 2-2). Individualmente, los SNPs asociados explicaron entre el 17,30 (S10_62358117) y 21,23% (S09_17003764) de la varianza fenotípica respecto al ancho y largo de fruto, respectivamente.

El marcador S04_4375270 se ubicó en el gen Solyc04g012040.2 relacionado con el proteosoma 26S involucrado en la degradación de proteínas ubiquitinadas (UniProtKB) y juega un papel importante en el equilibrio de la expansión celular de los diferentes órganos durante la organogénesis (Kurepa *et al.*, 2009). Asimismo, el marcador S09_17003764 se ubicó en el gen Solyc09g018790.2 relacionado con la enzima gamma-hidroxibutirato deshidrogenasa, involucrada en múltiples respuestas fisiológicas como la regulación del pH citosólico, balance de la relación carbono/nitrógeno y producción de energía (Bouché y Fromm, 2004; Fait *et al.*, 2008) y en tomate se encontró que está involucrado en el desarrollo del fruto (Takayama y Ezura, 2015).

De la misma manera, el marcador S03_63746646 asociado al área, ancho y largo del fruto explicó entre el 19,11 y el 20,79% de la variación fenotípica y se ubicó en el gen Solyc03g113680.2 el cual codifica para proteínas asociadas a los microtúbulos, componentes esenciales para la división celular, expansión celular y morfogénesis (Jiang *et al.*, 2015).

Calidad de fruto

Nueve marcadores se asociaron a características de calidad de fruto, ubicados en los cromosomas 1, 6, 7, 8 y 11, de los cuales cinco marcadores se asociaron a genes de tomate. Individualmente, los SNPs asociados explicaron entre el 15,23 (S06_45033846 y S06_45033861) y 19,92% (S08_51945090 y S08_51945138) de la varianza fenotípica respecto al porcentaje de fruta rajada y firmeza de fruto, respectivamente.

El marcador S01_66177533 se asoció al contenido de sólidos solubles totales, explicó el 16,3% de la variación fenotípica pero no se ubicó en gen de tomate. No obstante, Saliba-Colombani *et al.* (2001) reportaron un QTL asociado a sólidos solubles en tomate ubicado en el cromosoma 2; mientras que Xu *et al.*, (2013), reportaron la identificación de 28 SNPs asociados a contenido de SST en tomate y especies relacionadas en los cromosomas 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 y 12.

Los marcadores S06_45033846 y S06_45033861 asociados a porcentaje de fruta rajada, explicaron el 15,23% de la variación y se colocalizaron en el gen Solyc06g073100.2 relacionado con enzimas lipasas y esterases, involucradas con el depósito de poliéster en la epidermis del tomate que puede afectar el grosor de la misma (Akoh *et al.*, 2004; Girard *et al.*, 2012). Asimismo, el marcador S06_49262147 explicó el 15,56% de la variación, aunque no se ubicó en genes de tomate, cerca de este marcador se encuentra el gen Solyc06g083980.1, el cual está

relacionado con el factor de transcripción BHLH involucrado en el desarrollo y maduración del fruto en tomate (Sun *et al.*, 2015).

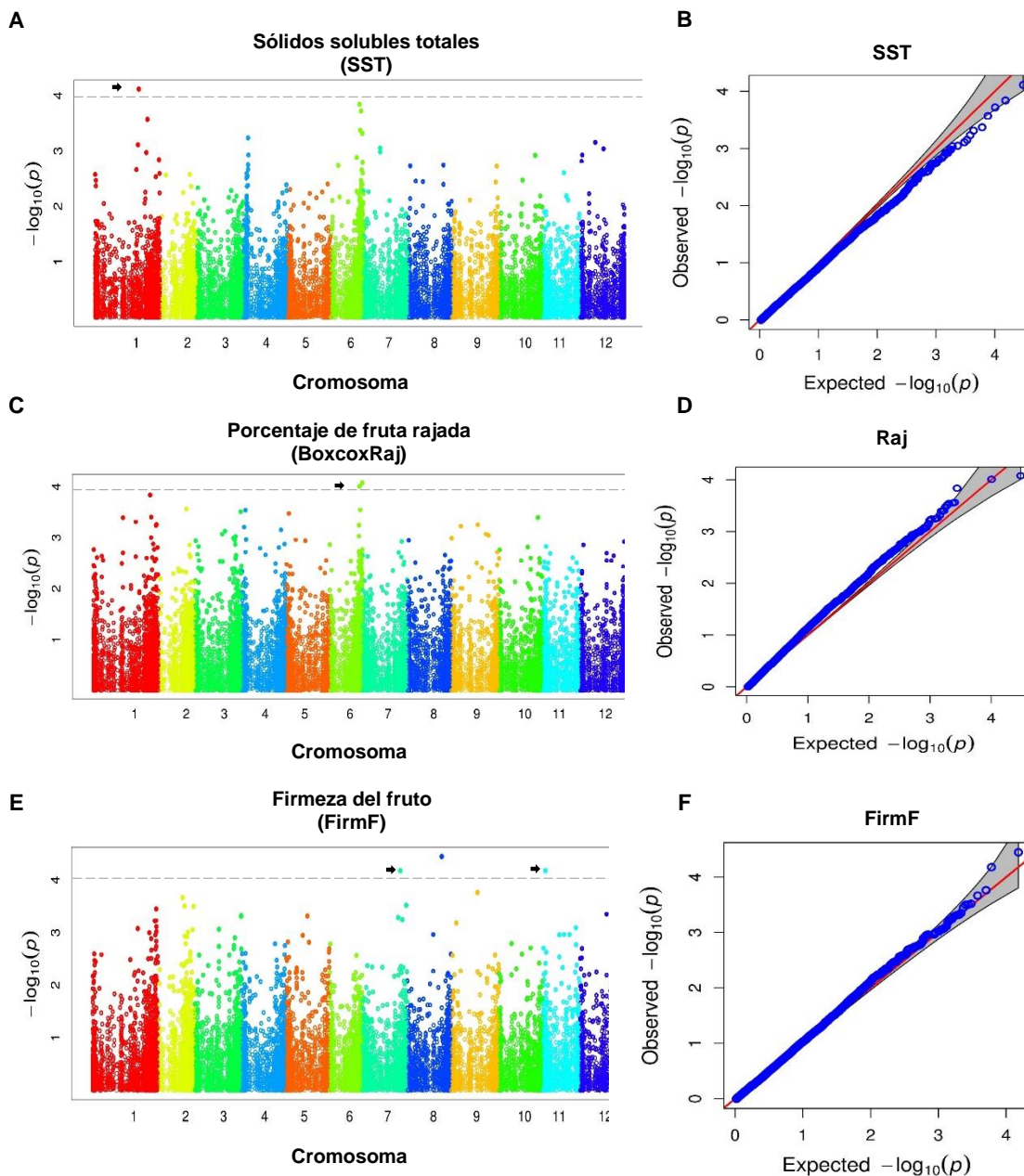


Figura 2-14 Análisis de mapeo por asociación en características de calidad de fruto **A.** Manhattan plot con SNPs asociados a sólidos solubles totales (**A**), porcentaje de fruta rajada (**C**) y firmeza de fruto (**E**). **B.** Gráfico cuantil-cuantil (QQ-plot) para la variable porcentaje de sólidos solubles, porcentaje de fruta rajada (**D**) y firmeza de fruto (**F**). La línea punteada indica los SNPs asociados con un umbral de $-\log_{10}(P)=4,0$.

Respecto a firmeza del fruto, el marcador S07_57560621 explicó el 18,43% de la variación y se localizó en el gen Solyc07g043610.2 relacionado con ruta de respuesta a la auxina involucrada con el control de la madurez, producción de

etileno y firmeza del fruto como se ha reportado en tomate (Hao *et al.*, 2015; Breitel *et al.*, 2016). Mientras que los marcadores S11_4540005 y S11_4540016, explicaron 18,43% de la variación y se colocaron en el gen Solyc11g011490.1 correspondiente a una proteína con función desconocida. Xu *et al.*, (2013), reportaron la identificación de SNPs asociados a firmeza en los cromosomas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11 y 12 de tomate, mientras que en este estudio se identificaron asociaciones en los cromosomas 7, 8 y 11.

El análisis de asociación identificó seis SNPs (S02_44121109, S03_52616353, S03_70268245, S06_2049586, S11_1524907 y S12_6422882) que exhibieron asociaciones significativas tanto con características de rendimiento como con características de tamaño de fruto, lo cual podría sugerir que estos SNPs exhiben efectos pleiotrópicos sobre el rendimiento y tamaño de fruto (Tabla 2-2). Por ejemplo, el marcador S03_52616353 se asoció a producción, peso, perímetro, área, ancho y largo de fruto, y sus comparaciones presentaron correlaciones significativas ($p < 0,0001$).

Este marcador (S03_52616353) se localizó en el gen Solyc03g082690.2 el cual está relacionado con proteínas Ubox involucradas en la regulación de proteínas celulares mediante la ubiquitinación (Azevedo *et al.*, 2001). Esta fuerte co-localización de variables de rendimiento y tamaño de fruto en el mismo SNP, sugiere que el marcador identificado juega un rol importante en el proceso de expresión controlando la producción, como se ha reportado en tomate previamente (Hernández-Bautista *et al.*, 2015) y además el rendimiento es expresado fenotípicamente a través de procesos bioquímicos y fisiológicos como fotosíntesis, respiración, traslocación y transpiración (Poehlman y Sleper, 1995; Zhu *et al.*, 2010), los cuales son afectados por factores genéticos que interactúan con el ambiente.

Adicionalmente, el marcador S02_44121109 asociado al peso y área del fruto, y explicó el 17,7 y 18,32% de la variación fenotípica, respectivamente. Este marcador se ubicó en el gen Solyc02g079590.2 relacionado con receptores kinasa serina/treonina, los cuales participan en la regulación de la abscisión del fruto en litchi y *Arabidopsis* (Li *et al.*, 2015; Jinn *et al.*, 2000). En tomate, Frary *et al.*, (2000), clonaron el gen *fw2.2* ubicado en el cromosoma 2 y encontraron que este gen controla el peso del fruto y más tarde Ranc *et al.*, (2012) identificó el alelo para frutos grandes en esta misma región en diferentes accesiones de tomate.

Asimismo, los marcadores S03_70268245 y S06_2049586 ubicados en los genes Solyc03g123410.1 y Solyc06g008160.2 fueron asociados al peso, área y ancho del fruto y explicaron entre el 16 y 21% de la variación fenotípica. Estos genes están involucrados en el desarrollo temprano de la pared celular (Lane, 1994 citado por Caliskan, 2000) y en la regulación de la biosíntesis de tetrapirroles durante la fotosíntesis (Meskauskiene *et al.*, 2001), respectivamente.

Esta fuerte co-localización de asociaciones de varias características además puede sugerir la presencia de genes fuertemente ligados. Este hecho también ha sido reportado en otros estudios de asociación en rasgos de calidad en fruto de tomate (Xu *et al.*, 2013), rasgos de floración y rendimiento en arroz (Zhao *et al.*, 2011) y variables de respuesta ante la marchitez vascular en uchuva (Osorio-Guarín *et al.*, 2016).

Tabla 2-2 Resumen de los marcadores asociados con variables de rendimiento, calidad fisicoquímica y tamaño de fruto en la colección de trabajo de uchuva

FENOTIPO	MARCADOR SNP	Ch.	LOCUS	MAF	P-value	PVE	Anotación
Producción	S03_52616353	3	Solyc03g082690.2	0,1344	0,0001	17,88	Proteína con dominio U-box
Número de frutos	S02_55085162	2	Solyc02g094550.2	0,457	0,0001	18,12	Proteína de función desconocida
	S02_55085163						
Peso del fruto PF	S01_149166	1	ND	0,3978	6,70E-05	18,40	-
	S02_44121109	2	Solyc02g079590.2	0,4785	6,90E-05	18,32	Receptor Kinasa Serina/Treonina
	S03_52616353	3	Solyc03g082690.2	0,1344	5,70E-06	24,46	Proteína con dominio U-box
	S03_70268245	3	Solyc03g123410.1	0,1774	2,70E-05	20,59	Proteínas con actividad oxalato oxidasa
	S06_2049586	6	Solyc06g008160.2	0,0968	0,0001	17,37	Proteína de cloroplasto
	S11_1524907	11	Solyc11g007040.1	0,4892	7,80E-05	18,02	Proteína de la familia alfa/beta hridrolasa
	S12_3664835	12	Solyc12g010740.1	0,0376	0,0001	17,43	Receptor Kinasa
	S12_6422882	12	Solyc12g017230.1	0,5000	4,90E-05	19,13	Proteína Os04g0431000
Perímetro del fruto	S03_52616353	3	Solyc03g082690.2	0,1344	2,30E-05	21,10	Proteína con dominio U-box
	S05_11429752	5	ND	0,2957	8,40E-05	17,98	-
	S11_1447930	11	Solyc11g006940.1	0,3978	2,40E-05	21,00	Proteínas con dominio PPR
	S11_1524907	11	Solyc11g007040.1	0,4892	7,90E-05	18,13	Proteína de la familia alfa/beta hridrolasa
Area del fruto	S02_44121109	2	Solyc02g079590.2	0,4785	8,70E-05	17,70	Receptor Kinasa Serina/Treonina
	S03_52616353	3	Solyc03g082690.2	0,1344	1,90E-05	21,35	Proteína con dominio U-box
	S03_63746646	3	Solyc03g113680.2	0,1559	2,70E-05	20,48	Proteína asociada a los microtúbulos
	S03_70268245	3	Solyc03g123410.1	0,1774	8,40E-05	17,78	Proteínas con actividad oxalato oxidasa
	S04_4375270	4	Solyc04g012040.2	0,2527	4,60E-06	19,23	Proteosoma 26S
	S05_1948424	5	Solyc05g007290.1	0,1129	8,00E-05	17,91	Proteína reguladora de la condensación de los cromosomas
	S06_2049586	6	Solyc06g008160.2	0,0968	6,30E-05	18,48	Proteína de cloroplasto
	S09_17003764	9	Solyc09g018790.2	0,172	8,10E-05	17,87	Enzima gamma-hidroxi-butarato deshidrogenasa
	S10_62358117	10	Solyc10g081250.1	0,2258	7,20E-05	18,14	ADN Polimerasa
	S11_1447930	11	Solyc11g006940.1	0,3978	9,50E-05	17,50	Proteínas con dominio PPR
	Ancho de fruto	S02_43088856	2	Solyc02g078390.2	0,4032	6,20E-05	18,72
S02_43089010		2	Solyc02g078390.2	0,3925	7,80E-05	18,14	Proteína MutS2
S02_43089036							

	S02_55241693	2	Solyc02g094640.2	0,4409	5,80E-05	18,87	Enzima acetil coenzima-A
	S03_52616353	3	Solyc03g082690.2	0,1344	2,20E-05	21,24	Proteína con dominio U-box
	S03_63746646	3	Solyc03g113680.2	0,1559	2,20E-05	21,20	Proteína asociada a los microtúbulos
	S03_70268245	3	Solyc03g123410.1	0,1774	3,20E-05	20,32	Proteínas con actividad oxalato oxidasa
	S04_4375270	4	Solyc04g012040.2	0,2527	2,60E-05	20,79	Proteosoma 26S
	S05_1948424	5	Solyc05g007290.1	0,1129	4,10E-05	19,72	Proteína reguladora de la condensación de los cromosomas
	S06_2049586	6	Solyc06g008160.2	0,0968	2,10E-05	21,39	Proteína de cloroplasto
	S09_17003764	9	Solyc09g018790.2	0,172	2,20E-05	21,23	Enzima gamma-hidroxiacetil-CoA deshidrogenasa
	S10_62358117	10	Solyc10g081250.1	0,2258	4,30E-05	19,59	ADN Polimerasa
	S11_1447931	11	Solyc11g006940.1	0,3978	9,10E-05	17,78	Proteínas con dominio PPR
	S12_6422882	12	Solyc12g017230.1	0,5000	8,90E-05	17,84	Proteína Os04g0431000
Largo de fruto	S03_52616353	3	Solyc03g082690.2	0,1344	5,80E-05	18,46	Proteína con dominio U-box
	S03_63746646	3	Solyc03g113680.2	0,1559	4,40E-05	19,11	Proteína asociada a los microtúbulos
	S10_62358117	10	Solyc10g081250.1	0,8254	9,90E-05	17,30	ADN Polimerasa
Porcentaje de fruto rajado	S06_45033846	6	Solyc06g073100.2	0,4624	9,80E-05	15,23	Enzimas lipasas y esterasas
	S06_45033861						
	S06_49262147	6	ND	0,4946	8,40E-05	15,56	-
Firmeza del fruto	S07_57560621	7	Solyc07g043610.2	0,0215	6,60E-05	18,43	Ruta de respuesta a la auxina
	S08_51945090						
	S08_51945138	8	ND	0,1935	3,573E-05	19,92	-
	S11_4540005						
	S11_4540016	11	Solyc11g011490.1	0,0215	6,60E-05	18,43	Proteína de función desconocida
Sólidos solubles totales	S01_66177533	1	ND	0,3817	7,70E-05	16,30	-

Localización genómica (Ch-cromosoma), Locus (Nombre del locus al cual pertenece el SNP de acuerdo a la anotación ITAG 2.5), ND (No se detectó gen), MAF (Frecuencia mínima alélica), PVE (porcentaje de varianza fenotípica explicada).

2.4 Conclusiones

La colección de trabajo presentó una alta variabilidad genética muy similar empleando ensamblaje del transcriptoma foliar y radicular de uchuva, y el genoma de referencia de tomate (H_o : 0,725; H_E : 0,445; PIC: 0,342), haciendo válido en este caso, el uso de los SNPs obtenidos con base en el genoma de tomate en los estudios de asociación.

Las dos poblaciones identificadas en el análisis de estructura poblacional corresponden a su estado de cultivo: silvestre y cultivada y no a su origen geográfico, explicado principalmente por el transporte de material.

Esta investigación permitió la identificación de 31 loci candidatos asociados con el rendimiento, tamaño y calidad de fruto en uchuva, los cuales mapearon en genes relacionados a expansión celular, desarrollo temprano del fruto y control de madurez en el fruto.

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1 Conclusiones

Las accesiones 09U033_1, 09U039_1, 09U277_5, 09U169_2, 09U193_1, 09U181_1 y 09U026_1 sobresalieron en el grupo con rendimientos altos y peso promedio de fruto óptimo para ser usados en los programas de mejoramiento en uchuva; mientras que las accesiones haploides presentaron bajo peso promedio de frutos pero presentan en general mayores contenidos de sólidos solubles totales y pueden emplearse en el arte culinario especialmente en pastelería.

En la colección de trabajo se encontraron tres formas de fruto claramente distinguibles y separables que corresponden a la forma ovoide, oblata y obcordada. Estas dos últimas formas de fruto se presentaron en menor proporción; sin embargo, es la primera vez que son reportadas para la especie.

La correlación entre variables de los componentes de rendimiento, calidad y tamaño de fruto, indicaron una alta correlación entre ancho y largo de fruto con el peso de fruto con y sin cáliz; indicando que mayor dimensión del fruto mayor peso del mismo. De igual manera, se encontró una correlación alta y positiva entre el porcentaje de frutos rajados con la forma obovoide y hendidura distal, indicando que los frutos obcordados presentan un mayor porcentaje de frutos rajados que los frutos ovoides; esta última presenta un mayor rendimiento y mayor peso de fruto.

La colección de trabajo presentó una alta variabilidad genética y presentó atributos contrastantes en la mayoría de características evaluadas que proporcionaron una amplia fuente de variación alélica y permitieron la identificación de accesiones promisorias para el mejoramiento de la especie.

La colección de trabajo presentó dos grupos correspondientes a la población de germoplasma silvestre y población de germoplasma cultivado de acuerdo al análisis de estructura poblacional; sin embargo se evidenciaron dos subpoblaciones en la población de germoplasma cultivado correspondientes al material de agricultor y material derivado de cultivo de anteras en el análisis de componentes principales.

Cabe resaltar, que este estudio es el primer análisis de asociación en atributos de rendimiento, calidad fisicoquímica y tamaño de fruto en uchuva. Esta aproximación

permitió la detección de 31 marcadores asociados, 19 de los cuales mapearon en genes de tomate y estuvieron asociados a trece atributos que son importantes en el mejoramiento comercial y nutricional de la uchuva procesada y en fresco.

3.2 Recomendaciones

Aumentar el número de accesiones de uchuva y ambientes a evaluar con el fin de realizar un mapeo de mayor resolución y/o confirmar los marcadores asociados a los atributos de rendimiento, calidad y tamaño de fruto identificados en este estudio. Adicionalmente, estos marcadores deben ser validados previo a su utilización en la selección asistida por marcadores mediante cuantificación de su expresión o silenciamiento génico.

Evaluar e incluir en los análisis de mapeo por asociación otros rasgos de calidad de fruto como contenido de ácido cítrico, β -carotenos, fenoles, witaesteroides, sacarosa, glucosa y fructosa que son de interés en la industria alimentaria para consumo en fresco o después de algún tipo de procesamiento.

Realizar estudios a nivel histológico para conocer a fondo la relación entre la firmeza de fruto, el porcentaje de frutos rajados y su resistencia en poscosecha; de tal manera, que se pueda confirmar la variable la firmeza de fruto como un indicativo del porcentaje de frutos rajado en cosecha.

Anexos

Anexo A. Colección de trabajo *P. peruviana*

N°	Accesión	Origen			Situación de colecta
		País	Departamento	Municipio	
1	09U010-1	SD	SD	SD	SD
2	09U012-5	Colombia	Norte de Santander	Pamplona	Asilvestrada
3	09U026-1	Colombia	Cundinamarca	Chía	Maleza
4	09U030-1	Colombia	Cundinamarca	Guatavita	Maleza
5	09U031-4	Colombia	Cundinamarca	Guasca	Maleza
6	09U033-1	Colombia	Cundinamarca	Zipaquirá	Maleza
7	09U039-1	Colombia	Boyacá	Villa de Leyva	Maleza
8	09U043-1	Colombia	Boyacá	Paipa	Maleza
9	09U045-2	Colombia	Boyacá	Firavitoba	Asilvestrada
10	09U047-1	Colombia	Boyacá	Tota	Maleza
11	09U086-3	Ecuador	Ambato	Tungurahua	SD
12	09U089-3	Colombia	Antioquia	Turbo	SD
13	09U090-4	SD	SD	SD	SD
14	09U093-5	Colombia	Antioquia	La Ceja	SD
15	09U095-2	Colombia	Nariño	Pasto	SD
16	09U098-4	Colombia	Antioquia	San Pedro de los Milagros	SD
17	09U107-1	Colombia	Antioquia	Santuario	SD
18	09U112-3	Colombia	Antioquia	El Retiro	SD
19	09U118-1	Colombia	Cundinamarca	Madrid	SD
20	09U120-3	Colombia	Antioquia	Rionegro	SD
21	09U121-2	Colombia	Antioquia	San Pedro de los Milagros	SD
22	09U126-1	Colombia	Antioquia	Sta Rosa de Osos	SD
23	09U127-1	Colombia	Antioquia	Entrerios	SD
24	09U128-4	Colombia	Antioquia	Sta Rosa de Osos	SD
25	09U130-2	Colombia	Boyacá	Villa de Leyva	SD
26	09U131-3	Colombia	Antioquia	Guarne	SD
27	09U134-3	Nepal	Provincia de Bagmati	Kathmandu	SD
28	09U136-3	Dinamarca	Copenhagen Botanical Garden	SD	SD

29	09U138-2	Francia	Berjerac	SD	SD
30	09U140-5	Sur Africa	SD	SD	SD
31	09U158-1	Colombia	Antioquia	Marinilla	SD
32	09U160-1	Colombia	Antioquia	El Carmen de Viboral	SD
33	09U161-3	Colombia	Antioquia	El Carmen de Viboral	SD
34	09U166-3	Colombia	Boyacá	Ciénega	SD
35	09U169-2	Colombia	Nariño	Ipiales	SD
36	09U170-1	Colombia	Nariño	Ipiales	SD
37	09U181-1	Colombia	Cundinamarca	Granada	SD
38	09U186-1	Colombia	Nariño	SD	SD
39	09U187-4	Colombia	Nariño	SD	SD
40	09U189-3	Colombia	Valle	Felidia	SD
41	09U192-5	Colombia	Valle	La Cumbre	SD
42	09U193-1	Colombia	Valle	Felidia	SD
43	09U200-4	Colombia	Nariño	SD	SD
44	09U210-2	Colombia	Nariño	SD	Cultivar comercial
45	09U216-1	Colombia	Universidad Nariño	SD	SD
46	09U216-4	Colombia	Universidad Nariño	SD	Cultivar comercial
47	09U218-3	Colombia	Cundinamarca	Granada	Cultivar comercial
48	09U219-3	Colombia	Cundinamarca	Granada	Cultivar comercial
49	09U236-3	Colombia	Boyacá	Cómbita	Cultivar comercial
50	09U248-5	Colombia	Boyacá	Arcabuco	Cultivar comercial
51	09U260-4	Colombia	Cundinamarca	Granada	Cultivar comercial
52	09U261-2	Colombia	Cundinamarca	Granada	Cultivar comercial
53	09U265-4	Colombia	Cundinamarca	Granada	Cultivar comercial
54	09U267-4	Colombia	Cundinamarca	Granada	Cultivar comercial
55	09U274-1	Colombia	Novacampo	SD	Cultivar comercial
56	09U274-3	Colombia	Novacampo	SD	Cultivar comercial
57	09U275-3	Colombia	Cundinamarca	Chocontá	Cultivar mejorado
58	09U277-5	Colombia	Nariño	Pasto	Espontánea
59	09U278-3	Colombia	Nariño	Pasto	Maleza
60	09U279-2	Colombia	Nariño	Pasto	Maleza
61	09U280-3	Colombia	Nariño	Pasto	Maleza
62	09U282-3	Colombia	Nariño	Pasto	Maleza
63	09U283-2	Colombia	Caldas	Manizales	Silvestre
64	09U288-7	Sur Africa	Transvaal	SD	SD
65	09U292-2	Colombia	Boyacá	Arcabuco	Cultivar comercial
66	09U292-3	Colombia	Boyacá	Arcabuco	Cultivar comercial
67	09U292-6	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
68	09U293-2	Colombia	Boyacá	Arcabuco	Cultivar comercial
69	09U293-6	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
70	09U294-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
71	09U294-6	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
72	09U294-7	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
73	09U295-1	Colombia	Boyacá	Arcabuco	Cultivar comercial

74	09U295-4	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
75	09U296-1	Colombia	Boyacá	Cómbita	Cultivar comercial
76	12U334	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
77	12U340-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
78	12U342-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
79	12U344-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
80	12U347-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
81	12U350-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
82	12U355-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
83	12U362-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
84	12U366-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
85	12U367-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
86	12U374-1	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
87	12U381-6	Colombia	Boyacá	Pesca	SD
88	12U398	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
89	14U420	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
90	14U422	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
91	14U423	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
92	14U424-2	Colombia	Nariño	Pasto	Cultivar comercial Ecotipo. Colombia
93	14U425	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
94	14U426-1	Colombia	Nariño	Pasto	Cultivar comercial
95	14U426-2	Colombia	Nariño	Pasto	Cultivar comercial Ecotipo. Kenia
96	14U447	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
97	14U448	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
98	14U449	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
99	14U450	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras
100	14U451	Colombia	Cundinamarca	Mosquera	Cultivo de anteras

SD: Sin datos

Anexo B. Matriz de correlación entre las variables analizadas en la colección de trabajo de uchuva

Variables	Prod	NumF	FMad3	PFC	PFS	Raj	SST	FirmF	Peri	Area	Ancho MF	Ancho Max	LongMF	Long Max	FSI	FSII	Area HendD	Obovoid	Ovoid
Prod	1,00	0,75	0,87	0,59	0,58	-0,52	0,16	0,54	0,49	0,52	0,51	0,50	0,56	0,55	0,23	0,35	-0,47	-0,45	0,52
NumF	< 0,0001	1,00	0,55	0,00	0,00	-0,21	0,06	0,24	-0,09	-0,05	-0,08	-0,09	0,01	0,00	0,26	0,19	0,03	0,07	0,00
FMad3	< 0,0001	< 0,0001	1,00	0,67	0,67	-0,54	0,10	0,47	0,56	0,59	0,56	0,56	0,61	0,61	0,24	0,38	-0,49	-0,47	0,56
PFC	< 0,0001	0,98	< 0,0001	1,00	1,00	-0,59	0,03	0,54	0,90	0,94	0,93	0,92	0,90	0,90	0,11	0,35	-0,73	-0,71	0,77
PFS	< 0,0001	0,99	< 0,0001	< 0,0001	1,00	-0,60	0,00	0,54	0,90	0,94	0,93	0,92	0,90	0,91	0,11	0,35	-0,72	-0,70	0,77
Raj	< 0,0001	0,03	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00	-0,05	-0,70	-0,64	-0,59	-0,60	-0,60	-0,68	-0,66	-0,33	-0,55	0,70	0,70	-0,71
SST	0,10	0,57	0,34	0,77	0,98	0,65	1,00	0,06	-0,04	-0,03	-0,04	-0,04	0,00	0,00	0,05	0,05	-0,06	-0,04	0,09
FirmF	< 0,0001	0,02	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,56	1,00	0,60	0,57	0,57	0,57	0,66	0,65	0,36	0,55	-0,69	-0,67	0,67
Peri	< 0,0001	0,40	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,69	< 0,0001	1,00	0,97	0,97	0,98	0,96	0,96	0,13	0,42	-0,82	-0,82	0,85
Area	< 0,0001	0,65	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,76	< 0,0001	< 0,0001	1,00	0,98	0,98	0,95	0,96	0,11	0,36	-0,76	-0,75	0,82
AnchoMF	< 0,0001	0,45	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,68	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00	1,00	0,94	0,94	0,01	0,30	-0,80	-0,80	0,84
AnchoMax	< 0,0001	0,40	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,69	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00	0,94	0,94	0,01	0,30	-0,80	-0,80	0,84
LongMF	< 0,0001	0,95	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,99	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00	1,00	0,35	0,61	-0,88	-0,86	0,88
LongMax	< 0,0001	1,00	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,96	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00	0,34	0,59	-0,86	-0,84	0,86
FSI	0,02	0,01	0,02	0,28	0,26	0,00	0,60	0,00	0,18	0,28	0,89	0,93	0,00	0,00	1,00	0,93	-0,34	-0,29	0,23
FSII	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	< 0,0001	0,62	< 0,0001	< 0,0001	0,00	0,00	0,00	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00	-0,65	-0,61	0,53
AreaHendD	< 0,0001	0,75	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,54	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,00	< 0,0001	1,00	0,99	-0,89
Obovoid	< 0,0001	0,49	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,66	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,00	< 0,0001	< 0,0001	1,00	-0,88
Ovoid	< 0,0001	0,99	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,40	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,02	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1,00

Los valores de correlación en negrita y sombreado azul son significativos con un alfa=0,05. Los valores de significancia se encuentran en sombreado gris. Los recuadros separan las variables de los componentes de rendimiento, calidad, y tamaño y forma de fruto.

Bibliografía

- Abdelnoor RV, Christensen AC, Mohammed S, Munoz-Castillo B, Moriyama H, Mackenzie SA. (2006). Mitochondrial genome dynamics in plants and animals: convergent gene fusions of a MutS homologue. *J Mol Evol.* 2006;63:165–173. doi: 10.1007/s00239-005-0226-9.
- Agronet. (2015). Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario – AGRONET. Colombia (Agosto de 2015). Disponible en: www.agronet.gov.co
- Aiese ,C., Sanseverino, W., Cremona, G., et al. (2013) Genome-wide analysis of histone modifiers in tomato: gaining an insight into their developmental roles. *BMC Genomics* 14:57. doi: 10.1186/1471-2164-14-57. pmid:23356725
- Akoh, C., Lee, G., Liaw, Y., Huang, T. & Shaw J. (2004). GDSL family of serine esterases/lipases. *Progress in Lipid Research*, 43 (6): 534-552.
- Alexander, D., Novembre, J. & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19:1655–1664, 2009.
- Almanza, P. & Fischer, G. (1993). Nuevas tecnologías en el cultivo de la uchuva *Physalis peruviana* L. *Agro-Desarrollo*. 4 (1-2), 292-304.
- Al-Samarai, F. & Al-Kazaz, A. (2015). Markers: an Introduction and Applications. *Molecular Biotechnology*. 2409-1332 Vol. 9, Is. 3, pp. 118-130.
- Álvarez-Herrera, J., Fischer, G. & Vélez, J. (2015). Producción de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) bajo diferentes láminas de riego, frecuencias de riego y dosis de calcio. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 9 (2), 222-233.
- Angulo, R. (2005). Crecimiento, desarrollo y producción de la uchuva en condiciones de invernadero y campo abierto. En: Fischer, G., Miranda, D., Piedrahita, W. & Romero, J. (ed.). *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (P. peruviana L.) en Colombia*. (pp. 111-130). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.

- Arbeláez, C. & Mora, M. (1990). Caracterización fenotípica de uchuva (*Physalis* sp.). (Medellín). 1990. 69 f. Monografía (Trabajo de pregrado de Ingeniería Agronómica) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira.
- Azevedo, C., Santos-Rosa M., & Shirasu, K. (2001). The U-box protein family in plants. 6(8): 354-358.
- Baird, N., Etter, P., Atwood, T., Currey, M., Shiver, A., *et al.* (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. PLoS One 3: e3376.
- Balaguera-López, H., Ramírez, L & Herrera, A. (2014). Fisiología y bioquímica del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) durante la maduración y poscosecha. En: Carvalho, C. & Moreno, D. (eds.). *Physalis peruviana: fruta andina para el mundo*. (pp. 113-131). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-CYTED. Alicante, España.
- Barriga, P., Díaz, M. & Moncayo, E. (2008). Estandarización de una técnica de propagación in vitro a partir de material foliar de una especie vegetal promisoría *Physalis peruviana* Linneo (Uchuva). Universidad Javeriana.
- Barrero, L. S., & Tanksley, S. D. (2004). Evaluating the genetic basis of multiple-locule fruit in a broad cross section of tomato cultivars. Theor.Appl.Genet. 109, 669–679. doi:10.1007/s00122-004-1676-y
- Barrero, L. S., Cong, B., Wu, F., & Tanksley, S. D. (2006). Developmental characterization of the fasciated locus and mapping of Arabidopsis candidate genes involved in the control of floral meristem size and carpel number in tomato. Genome 49, 991–1006. doi:10.1139/G06-059
- Berdugo, J., Enciso, F., González, C. & Barrero, L. (2015). Variabilidad genética de parentales y poblaciones f1 inter e intraespecíficas de *Physalis peruviana* L. y *P. floridana* Rydb. Revista Brasileira de Fruticultura, 37(1), 179-192. <https://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-002/14>.
- Bonilla, M., Arias, P., Landínez, I., Moreno, J., Cardozo, F. & Suárez M. (2009). Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la uchuva en fresco para exportación en Colombia. Ministerio De Agricultura y Desarrollo Rural; Proyecto Transición De La Agricultura - Universidad Nacional De Colombia, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica-Bogotá.
- Bonilla, M., Espinosa, K., Posso, A., Vásquez, H. & Muñoz, J. (2008). Caracterización molecular de 43 accesiones de uchuva de seis departamentos de Colombia. Acta Agronómica (Palmira) 57(2), 109-115.
- Bouché, N. & Fromm, H. (2004). GABA in plants: just a metabolite? Trends Plant Sci. 9, 110–115. 10.1016/j.tplants.2004.01.006

- Bradbury P., Zhang Z., Kroon D., Casstevens T., Ramdoss Y., *et al.*, (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23: 2633–2635.
- Breitel, D., Chappell-Maor, L., Meir, S., Panizel, I., Pons, C., Hao, Y., Yifhar, T., Yasuor, H., Zouine, M., Bouzayen, M., Granell, A., Rogachev, I. & Aharoni, A. (2016). Auxin response factor 2 intersects hormonal signals in the regulation of tomato fruit ripening. *PLoS Genet* 12(3): e1005903. doi:10.1371/journal.pgen.1005903
- Brown, G.S.; S. Wilson; W. Boucher; B. Graham & B. McGlasson. (1996). Effects of copper-calcium sprays on fruit cracking in sweet cherry (*Prunus avium*). *Scientia Hort.* 62, 75-80.
- BTC. (2015). Trade for Development Centre. Bélgica (Julio de 2016). Disponible en: <http://www.befair.be>
- Buerstmayr, H., Ban, T. & Anderson, J. (2009). QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breeding*, vol. 128, no. 1, pp. 1–26.
- Calderón, E. (1993). *Fruticultura general*. Tercera edición. Ed. Limusa. México. 763 p.
- Caliskan, M. (2000). Germin, an oxalate oxidase, has a function in many aspects of plant life. *Tr. J. Biol.* 24, 717-724.
- Causse M, Duffe P, Gomez MC, Buret M, Damidaux R, Zamir D, Gur A, Chevalier C, Lemaire-Chamley M, Rothan C. (2004). A genetic map of candidate genes and QTLs involved in tomato fruit size and composition. *J Exp Bot.* 2004, 55 (403): 1671-1685. 10.1093/jxb/erh207.
- Cedeño, M. & Montenegro, D. (2004). Plan exportador, logístico y de comercialización de uchuva al mercado de los Estados Unidos para FROTEXPO S.C.I Ltda. Trabajo de grado para optar el Título de Ingeniero Industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de ingeniería, Bogotá, Colombia.
- Chacón, M., Sánchez, Y. & Barrero L. (2016). Genetic structure of a Colombian cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) collection by means of microsatellite markers. *Agronomía Colombiana* 34(1), 5-16.
- Chakrabarti, M., Zhang, N., Sauvage, C., Munos, S., Blanca, J., Canizares, J., *et al.* (2013). Acytochrome P450 CYP78 A regulates a domestication trait in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 17125–17130. doi: 10.1073/pnas.1307313110
- Chang JC, Lin CC, Wu SJ, Lin DL, Wang SS, *et al* (2008) Antioxidative and Hepatoprotective Effects of *Physalis peruviana* Extract against Acetaminophen-

Induced Liver Injury in Rats. *Pharm Biol* 46: 724-731.

- Ciro, H. & Osorio, J. (2008). Avance experimental de la ingeniería de postcosecha de frutas colombianas: resistencia mecánica para frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Dyna*, 154, 39-46.
- Cooman, A., Torres, C. & Fischer, G. (2005). Determinación de las causas del rajado del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) bajo cubierta. II. Efecto de la oferta de calcio, boro y cobre. *Agronomía Colombiana* 23(1): 74-82.
- Corporación Colombia Internacional CCI. (2002). Uchuva-Perfil del producto. Inteligencia de Mercados.
- Criollo, H.; Lagos, T.; Fischer, G.; Mora, L. & Zamudio, L. (2014). Comportamiento de tres genotipos de uchuva (*P. peruviana* L.) bajo diferentes sistemas de poda. *Rev. Col. Cienc. Hortíc.* 8(1):34-43.
- D'Arcy, W. (1991). The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. pp. 75-137. En: Hawkes J.G.; R.L. Lester; M. Nee y N. Estrada (eds.). *Solanaceae: Taxonomy, chemistry, evolution*. Royal Gardens Kew and Linnean Society of London.
- Davey, J., Hohenlohe, P., Etter, P., Boone, J., Catchen, J & Blaxter, M. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat. Rev. Genet.* 12:499–510. doi:10.1038/nrg3012
- Delgadillo, P. (2012). Estudio de la diversidad genética de una colección de germoplasma de *Physalis peruviana* L. y taxa relacionados mediante el empleo de marcadores COSII y RCGs. (Tesis de grado). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Colombia.
- Dutfield, G. (2007). Social and economic consequences of genetic use restriction technologies in Developing countries. En: *Agricultural Biotechnology and intellectual property Seeds of change*. Ed Kesan, J.
- Elshire, R., Glaubitz, J., Sun, Q., Poland, J., Kawamoto, K., Buckler, E. y Mitchell, S. (2011). A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *PLoS ONE* 6(5): e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379
- Fait, A., Fromm, H., Walter, D., Galili, G. & Fernie, A. (2008). Highway or byway: the metabolic role of the GABA shunt in plants. *Trends Plant Sci.* 13, 14–19. 10.1016/j.tplants.2007.10.005
- Fischer, G. y Lüdders, P. (1997). Developmental changes of carbohydrates in capegooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits in relation to the calyx and the leaves. *Agronomía Colombiana* 14(2), 95-107.

- Fischer, G., Flórez, R. & Sora, A. (2000). Producción, Poscosecha y Exportación de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Universidad Nacional de Colombia. Sede Santa Fe de Bogotá. Facultad de Agronomía.
- Fischer, G. (2005). El problema del rajado del fruto y su posible control. En: Fischer, G., Miranda, D., Piedrahita, W. & Romero, J. (eds.). *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia*. Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 221 p.
- Fischer, G., G. Ebert y P. Lüdders. 2007. Production, seeds and carbohydrate contents of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits grown at two contrastins Colombian altitudes. *J. Appl Bot. Food Qual.* 81, 29-35.
- Flint-Garcia, S., Thornsberry, J. & Buckler, E. (2003). Structure of linkage disequilibrium in plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 54, 357–374.
- Frary, A., Nesbitt, T. C., Grandillo, S., van der Knaap, E., Cong, B., Liu, J., et al. (2000). fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science* 289, 85–88. doi:10.1126/science.289.5476.85
- Fukui, K. & Kuramitsu, S. (2011). Structure and function of the small MutS-related domain. *Mol. Biol. Int.* (2011), pp. 691735.
- Galvis, J.; Fischer, G. y Gordillo, O. Cosecha y poscosecha de la uchuva. En: Fischer, G.; Miranda, D.; Piedrahíta, W.; Romero, J. (Ed.). *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2005. p.165-190.
- García M. (2003). *Uchuva: cosecha y postcosecha*. CORPOICA. 70 p. Disponible en www.Agronet.gov.co
- Garzón-Martínez, G., Zhu, Z., Landsman, D., Barrero, L & Mariño-Ramírez, L. (2012). The *Physalis peruviana* leaf transcriptome: assembly, annotation and gene model prediction. *BMC Genom.* 13, 151.
- Girard, A., Mounet, F., Lemaire-Chamley, M., Gaillard, C., Elmorjani, K., Vivancos, J., Runavot, J., Quemener, B., Petit, J., Germain, V., Rothan, C., Marion, D. & Bakan, B. (2012) Tomato GDSSL1 is required for cutin deposition in the fruit cuticle. *Plant Cell* 24: 3119–3134.
- Grandillo, S., Ku, H. M., & Tanksley, S. D. (1999). Identifying the loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. *Theor.Appl.Genet.* 99, 978–987. doi:10.1007/s001220051405

- Grisales, N., Trillos, O., Cotes, J. & Orozco, L. (2010). Estudios de fertilidad de polen en accesiones de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Universidad Militar Nueva Granada. 1, 42-51.
- Gupta, P., Rustgi, S., & Mir, R. (2008). Array-based high-throughput DNA markers for crop improvement. *Heredity* (Edinb.) 101, 5–18. doi: 10.1038/hdy.2008.35
- Gupta, P., Langridge, P. & Mir, R. (2010). Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities. *Molecular Breeding*, vol. 26, no. 2, pp. 145–161.
- Gur A., Semel Y., Osorio S., Friedmann M., Seekh S., Ghareeb B., et al. (2011). Yield quantitative trait loci from wild tomato are predominately expressed by the shoot. *Theor. Appl. Genet.* 122 405–420. 10.1007/s00122-010-1456-9
- Hadjebi, O., Casas-Terradellas, E., Garcia-Gonzalo, F. & Rosa, J. (2008). The RCC1 superfamily: from genes, to function, to disease. *Biochim Biophys Acta.* 2008, 1783 (8): 1467-1479. 10.1016/j.bbamcr.2008.03.015
- Hao, Y., Hu, G., Breitel, D., Liu, M., Mila, I., Frasse, P., Fu, Y., Aharoni, A., Bouzayen, M. & Zouine, M. (2015) Auxin response factor SIARF2 is an essential component of the regulatory mechanism controlling fruit ripening in tomato. *PLoS Genet* 11(12): e1005649. doi:10.1371/journal.pgen.1005649
- He, J., Zhao, X., Laroche, A., Lu, Z., Liu, H. & Li, Z. (2014). Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Front Plant Sci* 2014; 5: 484.
- Hernández-Bautista, A., Lobato-Ortiz, R., Cruz-Izquierdo, S., García-Zavala, J., Chávez-Servia, J., Hernández-Leal, E. & Bonilla-Barrientos, O. (2015). Fruit size QTLs affect in a major proportion the yield in tomato. *Chilean journal of agricultural research*, 75(4), 402-409.
- Herrera, M., Ortiz J., Fischer G., & Chacón S. (2011) Behavior in yield and quality of 54 Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) accessions from north- eastern Colombia. Department of Agronomy. *Agronomía Colombiana* 29(2), 189-196.
- Hill, W. & Weir, B. (1994). Maximum-likelihood estimation of gene location by linkage disequilibrium. *Am J Hum Genet* 54:705-714.
- ICONTEC. (1999). Frutas frescas. Uchuva. Especificaciones. Norma Técnica Colombiana NTC 4580. Instituto Colombiano de Normas Técnicas.
- Jiang, L., Yan, S., Yang, W., Li, Y., Xia, M., Chen, Z., Wang, Q., Yan, L., Song, X., Liu, R., & Zhang, X. (2015). Transcriptomic analysis reveals the roles of microtubule-related genes and transcription factors in fruit length regulation in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Sci Rep* 5:8031. DOI: 10.1038/srep08031

- Jinn, T., Stone, J. & Walker, J. (2000). HAESA, an Arabidopsis leucine-rich repeat receptor kinase, controls floral organ abscission. *Genes Dev* 14(1):108–117.
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R., & Pandey, B. K. (2009). Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. *Plant Omics Journal*, 2, 141–162.
- Kurepa, J., Wang, S., Li, Y., Zaitlin, D., Pierce, A. & Smalle, J. (2009). Loss of 26S proteasome function leads to increased cell size and decreased cell number in Arabidopsis shoot organs. *Plant Physiol.* 150, 178–189. doi: 10.1104/pp.109.135970.
- Lagos, T., Criollo, H. y Mosquera, C. (2001). Evaluación preliminar de cultivares de uvilla o uchuva (*Physalis peruviana* L.) para escoger materiales con base en la calidad del fruto. *Revista de Ciencias Agrícolas* 18(2), 82-94.
- Lagos, T., H. Criollo, A. Ibarra y H. Hejeile 2003. Caracterización morfológica de la colección Nariño de uvilla o uchuva *Physalis peruviana* L. *Fitotecnia Colombiana* 3(2): 1-9.
- Lagos, T. (2006). Biología reproductiva, citogenética, diversidad genética, heterosis parentales de uvilla “uchuva”, *Physalis peruviana* L.) Palmira, Colombia. Para obtener el título de Ph. D. en la universidad Nacional de Colombia sede Palmira. pp. 129.
- Lagos, T., Vallejo, F., y Criollo, H. (2007). Análisis de la aptitud combinatoria de algunas características del fruto de *Physalis peruviana* L. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 36-46. Retrieved September 21, 2016.
- Lagos, T., Vallejo, F., Criollo, H., Muñoz, J. (2008). Sexual reproduction of the Cape gooseberry. *Acta Agron.* 57, 81–87.
- Lagos, T., Villota, D., Ordóñez, H. & Morillo, A. (2011). Caracterización Morfológica y Molecular de 18 Introducciones de Uchuva *Physalis peruviana* L. de la Colección de la Universidad de Nariño. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 64() 6043-6053.
- Lane, B. (1994). Oxalate, germin, and the extracellular matrix of higher plants. *FASEB J.*, 8, 294-301.
- Langmead, B., Trapnell, C., Pop, M., and Salzberg, S.L. (2009). Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol* 10, R25.

- Leiva-Brondo, M., Prohens, J. & Nuez, F. (2001). Genetic analyses indicate superiority of performance of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) hybrids. *Journal of New Seeds*. 3 (3), 71-84.
- Lewontin, R. (1964). The Interaction of Selection and Linkage. I. General Considerations; Heterotic Models. *Genetics* 49:49-67.
- Li, C., Wang, Y., Huang, X., Li, J., Wang, H. & Li, J. (2015). An improved fruit transcriptome and the identification of the candidate genes involved in fruit abscission induced by carbohydrate stress in litchi. *Front Plant Sci*. 2015; 6: 439. doi: 10.3389/fpls.2015.00439.pmid:26124768
- Liberato, S., Sánchez-Betancourt, E., Argüelles, J., González, C., Núñez, V. & Barrero, L. (2014). Cytogenetics of *Physalis peruviana* L. and *Physalis floridana* Rydb. genotypes with differential response to *Fusarium oxysporum*. *Rev Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*.15, 49–59.
- Liberato, S., Franco, C., Sánchez-Betancourt, E. & Núñez, V. (2015). Análisis citogenético y citológico de materiales genéticos avanzados de uchuva para uso en mejoramiento genético. Informe Colciencias.
- Ligarreto, G., Lobo, M. & Correa, A. (2005). Recursos genéticos del género *Physalis* en Colombia. En: Fischer, G., Miranda, D., Piedrahita, W. & Romero, J. (ed.). *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (P. peruviana L.) en Colombia*. (pp. 111-130). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía.
- Lipka, A., Tian, F., Wang, Q., Peiffer, J., Li M, Bradbury, P., Gore, M., Buckler, E., Z. (2012). GAPIT: Genome Association and Prediction Integrated Tool. *Bioinformatics* 28: 2397–2399.
- Lin, M. & Oliver, D. (2008). The role of acetyl-coenzyme a synthetase in Arabidopsis. *Plant Physiol*. 2008, 147 (4): 1822-1829. 10.1104/pp.108.121269.
- Liu, J., Van Eck, J., Cong, B., & Tanksley, S. D. (2002). A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 13302–13306.doi:10.1073/pnas.162485999
- Loiselle, B., Sork, V., Nason, J. & Graham, C. (1995). Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *Am. J. Bot.* 82:1420–1425.
- Madriñan, C. (2010). Caracterización morfológica de accesiones de *Physalis peruviana* L. del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia.

- Madriñán, C., Muñoz, J., Vásquez, H. & Barrera, N. (2011). Caracterización morfológica de 29 introducciones de *Physalis peruviana* L. de la colección de trabajo de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. *Acta Agronómica*, v. 60, n. 1, p. 68-75.
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R., & Kumpatla, S. (2012). SNP markers and their impact on plant breeding. *International journal of plant genomics*, 2012, 1–10.
- Manna, S. (2015). An overview of pentatricopeptide repeat proteins and their applications. *Biochimie* 113: 93-99.
- Márquez, C., Trillos, O. Cartagena, J. & Cotes, J. (2009). Evaluación físico-química y sensorial de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) *Vitae* 16 (1): 42-48.
- Marschner, H. (2002). Mineral nutrition of higher plants. 2a ed. Academic Press, London.
- Martínez, F., Sarmiento J., Fischer, G & Jiménez, F. (2008). Efecto de la deficiencia de N, P, K, Ca, Mg y B en componentes de producción y calidad de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agron. Colomb.* 26(3), 389-398.
- Martinez, M. (1998). Revision of *Physalis* section *Epeteiorhiza* (Solanaceae). *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México Ser. Bot.* 1998, 69, 71–117.
- Mendoza, C., Rodríguez, J. & Millán, P. (2012). Caracterización físico química de la uchuva (*Physalis peruviana*) EN LA REGIÓN DE SILVIA CAUCA. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 188-196.
- Meskauskiene R., Nater, M., Goslings, D., Kessler, F., op den Camp, R., & Apel, K. (2001). FLU: A negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98: 12826–12831.
- Miranda, D. (2005). Criterios para el establecimiento, los sistemas de cultivo, el tutorado y la poda de la uchuva. In: Fischer, G.; Miranda, D.; Piedrahíta, W.; Romero, J. (Ed.). *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. p.29-54.
- Moctezuma, E., Smith, D. & Gross, K. (2003). Antisense suppression of a β -galactosidase gene (TB G6) in tomato increases fruit cracking. *J. Exp. Bot.* 54(390), 2025-203.
- Monforte AJ, Diaz A, Caño-Delgado A, van der Knaap E. 2014. The genetic basis of fruit morphology in horticultural crops: lessons from tomato and melon. *Journal of Experimental Botany* 65, 4525–4537.
- Montgomery, S. (2008). "Linkage disequilibrium — understanding the evolutionary past and mapping the medical future". *Nature Reviews Genetics*. 9 (6): 477–485. doi:10.1038/nrg2361.

- Morita, R., Sato, Y., Masuda, Y., Nishimura, M. & Kusaba, M. (2009). Defect in non-yellow coloring 3, an α/β hydrolase-fold family protein, causes a stay-green phenotype during leaf senescence in rice. *Plant J*: doi: 10.1111/j.1365-1313X.2009.03919
- Morin PA, Luikart G, Wayne RK and the SNP workshop Group. (2004) SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 19, 208–216.
- Morineau, A. 1984. Note sur la caractérisation statistique d'une classe et les valeurs-test. *Bulletin Technique du Centre de Statistique et d'Informatique Appliquées* 2(1-2): 20-27.
- Mosquera, C. (2002). Polinización entomófila de la uvilla (*Physalis peruviana* L.). *Rev Ciencias Agrí.* 19 (1/2): 140-156.
- Muños S, Ranc N, Botton E, Berard A, Rolland S, Duffe P, Carretero Y, Le Paslier MC, Delalande C, Bouzayen M, Brunel D, Causse M. (2011). Increase in tomato locule number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near WUSCHEL. *Plant Physiol.* 2011, 156 (4): 2244-2254. 10.1104/pp.111.173997.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 18: 100-127.
- Nesbitt, T. C., & Tanksley, S. D. (2001). fw2.2 directly affects the size of developing tomato fruit, with secondary effects on fruit number and photosynthate distribution. *Plant Physiol.* 127, 575–583.doi:10.1104/pp.010087.1
- Nordborg, M., Tavare, S. (2002). Linkage disequilibrium: what history has to tell us. *Trends Genet* 18:83-90.
- Oraguzie, N., Wilcox, P. & Rikkerink, E. (2007). Linkage disequilibrium. En: Oraguzie N., Rikkerink, E., Gardiner, S., de Silva, N (ed). *Association mapping in plants*. Springer, New York, pp 10-39.
- Osorio-Guarín, J., Enciso-Rodríguez, F., González, C., Fernández-Pozo, N., Mueller, L. & Barrero, L. (2016). Association analysis for disease resistance to *Fusarium oxysporum* in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L). *BMC Genomics*.
- Paran, I., & Van Der Knaap, E. (2007). Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *J. Exp.Bot.* 58, 3841–3852. doi: 10.1093/jxb/erm257
- Peña, J., Ayala, J., Fischer, G., Chaves, B., Cárdenas-Hernández, J. & Almanza, P. (2010). Relaciones semilla fruto en tres ecotipos de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Rev. Colomb. Cienc. Hortíc.* 4(1), 43-54.

- Pinto, M., Ranilla, L., Apostolidis, E., Lajolo, F., Genovese, M. & Shetty, K. (2009) Evaluation of antihyperglycemia and antihypertension potential of native Peruvian fruits using in vitro models. *J Med Food* 12: 278-291.
- Pritchard, J., Stephens, M., Rosenberg, N. & Donnelly, P. (2000). Association mapping in structured populations. *The American Journal of Human Genetics*, Vol. 67, No. 1, 170-181.
- Poland, J. y Rife, T. (2012a). Genotyping-by-Sequencing for plant breeding and genetics. *Plant Genome J.* 5: 92–102.
- Poehlman, J., & Sleper, D. (1995). *Breeding field crops*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Pulgarín, O. (1989). Caracterización fenotípica preliminar de 13 colecciones de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Monografía (Trabajo de pregrado de Biología, Departamento de Biología) - Universidad de Antioquia, Medellín, 1989.
- Quevedo, O., Sánchez, O. & Veloza, C. (2015). Efecto del tutorado y distancias de siembra sobre el rendimiento de *Physalis peruviana* L. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 18 (1): 91 – 99.
- R Development Core Team. 2012. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rafalski A. (2002). Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr Opin Plant Biol* 5:94-100.
- Rafalski A, & Morgante M. (2004). Corn and humans: recombination and linkage disequilibrium in two genomes of similar size. *Trends in Genetics* 2004; 20:103-111.
- Rao, M. & Steffe, J. (1992). *Viscoelastic properties of foods*. New York: Elsevier Applied Science. 444 p.
- Rodríguez, E, Pulido V, Barrero L.S. y González, C. (2011a). El agente causal de la marchitez vascular de la uchuva. En: Gonzáles, C.; Barrero, L. (Ed.). *Estudio de la marchitez vascular de la uchuva para el mejoramiento genético del cultivo*. Bogotá: Cámara de Comercio de Bogotá, 2011. p.8-20.
- Rodríguez, G., Muños, S., Anderson, C., Sim, S., Michel, A., Causse, M., Van der Knaap, E. (2011b). Distribution of SUN, OVATE, LC, and FAS in the Tomato Germplasm and the Relationship to Fruit Shape Diversity. *Plant Physiology*, 156(1), 275–285. <http://doi.org/10.1104/pp.110.167577>

- Rodríguez, N. y Bueno, M. (2006). Estudio de la Diversidad Citogenética de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 11(2), 75-85.
- Rodríguez, G., Moyseenko, J., Robbins M., Morejón, N., Francis, D. & van der Knaap, E. (2010). Tomato Analyzer: a useful software application to collect accurate and detailed morphological and colorimetric data from two-dimensional objects. *Journal of Visualized Experiments* 37.
- Rojas Alfonso, D., Velandia Torres, S & Castro Sánchez, A. 2012. Aprovechamiento del fruto rajado de uchuva (*physalis peruviana* l.) en la elaboración de mermeladas. *Rev. Investig. Desarro. Innov. Vol.3, N°.1 Junio - Diciembre 2012, 18-24. ISSN: 2027-8306.*
- Saliba-Colombani, V., Causse, M., Langlois, D., Philouze, J., Buret, M. (2001) Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato 1. Mapping QTLs for physical and chemical traits. *Theor Appl Genet* 102:259–272
- Sánchez, E. (2014). Nivel de ploidía de plantas de uchuva provenientes de cultivo de anteras. (Tesis para optar el título de Magister en Ciencias Agrarias). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia.
- Seeb, J., Carvalho, G., Hauser, L., Naish, K., Roberts, S., Seeb, L. (2011). Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. *Mol Ecol Resour.* 11 Suppl 1:1–8.
- Sun, H., Hua-Jie, F. y Hong-Quing, L. (2015). Genome-wide identification and characterization of the bHLH gene family in tomato. *BMC Genomics* 16:9.
- Shiu, S. & Bleecker, A. (2001). Plant receptor-like kinase gene family: Diversity, function, and signaling. *Sci. STKE* 2001, RE22.
- Singh, B. & Singh, A. (2015). *Marker-Assisted Plant Breeding: Principles and Practices.* Springer New Delhi Heidelberg New York Dordrecht London. 514 pp.
- Solgenomics.net. (2016). About The Solanaceae family - Sol Genomics Network. [online] Disponible en: https://solgenomics.net/about/about_solanaceae.pl [Accessed 4 Oct. 2016].
- Suescún, L., Sánchez, E., Gómez, M., García, F., & Núñez, V. (2011). *Producción de plantas genéticamente puras de Uchuva.* Bogotá, Colombia: Editorial Kimpres Ltda.
- Takayama, M., & Ezura, H. (2015). How and why does tomato accumulate a large amount of GABA in the fruit? *Frontiers in Plant Science*, 6, 612.

- Torres, C., Cooman, A & Fischer, G. 2004. Determinación de las causas del rajado del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.) bajo cubierta: I. Efecto de la variación en el balance hídrico. *Agronomía Colombiana*, 2004. 22 (2): 140-146.
- USDA, NRCS. (2015). The plants Database (<http://plants.usda.gov>, 3 September 2015). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.
- Valdenegro, M., Almonacid, S., Henríquez, C., Lutz, M., Fuentes, L. y Simpson, R. (2013). The effects of drying processes on organoleptic characteristics and the health quality of food ingredients obtained from goldenberry fruits (*Physalis peruviana*). *Sci. Rep.* 2:1-7
- Valencia, M. 1985. Anatomía del fruto de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Acta Biológica Colombiana* 1(2), 63-89.
- Van Der Knaap, E., & Tanksley, S. (2001). Identification and characterization of a novel locus controlling early fruit development in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 103, 353–358. doi:10.1007/s001220100623
- Van der Knaap E, Tanksley SD. (2003). The making of a bell pepper shaped tomato fruit: identification of loci controlling fruit morphology in Yellow Stuffer tomato. *Theoretical and Applied Genetics* 107, 139–147.
- Vargas, O., Martínez, M & Dávila, P. (2001). Two new species of *Physalis* (Solanaceae) endemic to Jalisco, Mexico. *Brittonia* 53(4), 505-10.
- Vargas, O., Martínez, M. y Dávila, P. (2003). La Familia Solanaceae en Jalisco: El género *Physalis*. Colección Flora de Jalisco, No. 16. 126 pp. Instituto de Botánica, Departamento de Botánica y Zoología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.
- Villamizar, F., Ramírez, A. y Menes, M. (1993). Estudio de la caracterización física, morfológica y fisiológica poscosecha de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agrodesarrollo*. 4(1-2):305-320.
- Wang, D., Guo, Y., Wu, C., Yang, G., Li, Y, y Zheng, C. "Genome-wide analysis of CCCH zinc finger family in *Arabidopsis* and rice," *BMC Genomics*, vol. 9, article 44, 2008.
- Wright, S. (1978) *Evolution and the Genetics of Population, Variability Within and Among Natural Populations*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Wu, S., Ng, L., Huang, Y., Lin, D., Wang, S., Huang, S. & Lin, C. (2005) Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biol Pharm Bull* 28: 963-966.

- Wu W, Cheng Z, Liu M, Yang X, Qiu D (2014) C3HC4-Type RING Finger Protein NbZFP1 Is Involved in Growth and Fruit Development in *Nicotiana benthamiana*. PLoS ONE 9(6): e99352. doi:10.1371/journal.pone.0099352.
- Wu, S., Ng, I., Huang, Y., Lin, D., Wang, S., Huang, S. & Lin, C. (2006). Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities de *Physalis peruviana*. J Ethnopharmacol 108: 407-13.
- Xiao, H., Radovich, C., Welty, N., Hsu, J., Li, D., Meulia, T., et al. (2009). Integration of tomato reproductive developmental landmarks and expression profiles, and the effect of SUN on fruit shape. BMC PlantBiol. 9:49. doi:10.1186/1471-2229-9-49.
- Xu, J., Ranc, N., Muños, S., Rolland, S., Bouchet, J., Desplat, N., et al. (2013). Phenotypic diversity and association mapping for fruit quality traits in cultivated tomato and related species. Theor. Appl. Genet. 126, 567–581. doi: 10.1007/s00122-012-2002-8.
- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W., Vroh-Bi, I., Yamasaki, M., Doebley, J., McMullen, M., Gaut, B., Nielsen, D., Holland, J., Kresovich, S. & Buckler, E. (2006). A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. Nature Genetics, Vol. 38, No. 2, 203-208.
- Zhang Z, Ersoz E, Lai CQ, Todhunter RJ, Tiwari HK, Gore MA, Bradbury PJ, Yu J, Arnett DK, Ordovas JM et al. (2010). Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. Nat Genet 42(4): 355-360.
- Zhang, N. (2012). Fine Mapping and Characterization of fw3.2, One of the Major QTL Controlling Fruit Size in Tomato. PhD thesis, The Ohio State University, Columbus, OH.
- Zhang, N., Brewer, M. T., & Van Der Knaap, E. (2012). Fine mapping of fw3.2 controlling fruit weight in tomato. Theor. Appl. Genet. 125, 273–284. doi: 10.1007/s00122-012-1832-8.
- Zhao, K., Tung, C., Eizenga, G., Wright, M., Ali, M., Price, A., Norton, G., Islam, M., Reynolds, A., Mezey, J., McClung, A., Bustamante, C., McCouch, S. (2011) Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. Nat Commun 2:467
- Zhu, X-G, Long, S., Ort, D. (2010). Improving photosynthetic efficiency for greater yield. Annu Rev Plant Biol 61: 235–261