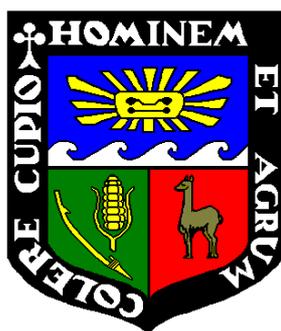


**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS



“Caracterización molecular de cultivares nativos y variedades mejoradas de *Ipomoea batatas* L. “camote” provenientes de África mediante marcadores microsatélites”

**Presentado por:**

Maria del Carmen David Salas

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
BIÓLOGO**

Lima – Perú

**2012**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por ayudarme a ser constante durante los años de universidad y guiarme hasta este paso en mi carrera. Durante el desarrollo de esta tesis no solo me llenó de conocimientos sino de muchas lecciones para mi vida.

Al Dr. Wolfgang Grüneberg y al M.Sc. Federico Diaz por la oportunidad que me han dado de generar un aporte al proyecto SASHA.

A mis padres y mi hermana que me mostraron su apoyo, amor y paciencia durante mi preparación universitaria y desarrollo de esta tesis.

A mis amigos de la Iglesia, mis hermanos en Cristo, quienes con sus palabras de ánimo y sus oraciones me respaldaron constantemente.

A mis compañeros del laboratorio de Biología Aplicada del CIP. A los integrantes de Marcadores Moleculares I: Juan Daniel Montenegro, José Rodríguez, Luis Roca y en especial a Luis Gutiérrez, quien me transmitió con mucha paciencia sus conocimientos.

A mis compañeros del Instituto de Biotecnología - UNALM, Joel Flores y Cesar Palomino, quienes me enseñaron, apoyaron y animaron desde mis años universitarios. De manera especial, al M.Sc. Roberto Mansilla por su asesoramiento en la redacción del presente trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

I. Introducción.....	1
II. Objetivos .....	3
2.1.    Objetivo principal .....	3
2.2.    Objetivos específicos .....	3
III. Revisión de Literatura.....	4
3.1. <i>Ipomoea batatas</i> L. “camote”.....	4
3.1.1. Características nutricionales.....	5
3.1.2. Principales limitaciones en el cultivo de camote.....	6
3.1.2.1. Gorgojo del camote ( <i>Cylas</i> spp.).....	7
3.1.2.2. <i>Sweet Potato Feathery Mottle Virus</i> .....	8
3.1.2.3. <i>Sweet Potato Chlorotic Stunt Virus</i> .....	8
3.1.2.4. <i>Sweet Potato Virus Disease</i> .....	8
3.1.2.5. Incidencia de virus en África.....	9
3.2.    Manejo del camote en África.....	10
3.3.    Mejoramiento en camote.....	11
3.4.    Marcadores moleculares.....	12
3.5.    Marcadores microsatélites.....	13
3.5.1. Ventajas de los marcadores microsatélites.....	17
3.5.2. Limitaciones de los marcadores microsatélites.....	17
3.5.3. Uso de marcadores microsatélites en camote.....	18
3.6.    Diversidad genética.....	18
3.6.1. Distancia genética.....	19
3.6.2. Diferenciación genética entre poblaciones.....	19
3.7.    Análisis de agrupamiento.....	20
3.8.    Antecedentes.....	21
IV. Materiales y Métodos.....	26
4.1.    Material vegetal.....	26
4.2.    Extracción de ADN.....	32

4.3.	Determinación de calidad y concentración de ADN.....	32
4.4.	Amplificación de marcadores microsatélites .....	32
4.5.	Electroforesis y detección de bandas .....	34
4.6.	Análisis de variabilidad.....	35
4.6.1.	Número de alelos por locus.....	35
4.6.2.	Porcentaje de loci polimórficos.....	35
4.6.3.	Índice de Contenido Polimórfico.....	35
4.6.4.	Poder de discriminación.....	35
4.7.	Análisis de diferenciación genética.....	36
4.7.1.	Agrupamientos.....	36
4.8.	Estructura poblacional.....	36
V.	Resultados y Discusión.....	39
5.1.	Análisis de variabilidad.....	39
5.1.1.	Número de alelos por locus.....	39
5.1.2.	Porcentaje de loci polimórficos.....	41
5.1.3.	Índice de Contenido Polimórfico.....	41
5.1.4.	Poder de discriminación.....	42
5.2.	Agrupamientos.....	44
5.3.	Estructura poblacional.....	47
VI.	Conclusiones.....	50
VII.	Recomendaciones.....	51
VIII.	Referencias bibliográficas.....	52
IX.	Anexos.....	68

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Tipos de microsatélites según Chambers y MacAvoy.....	14
Cuadro 2: Datos de las accesiones de camote utilizadas.....	26
Cuadro 3: Cebadores de los 31 marcadores microsatélites utilizados.....	33
Cuadro 4: Análisis molecular de variancia.....	38
Cuadro 5: Número de alelos, PIC y Poder de discriminación para 31 loci microsatélites.....	40
Cuadro 6: Análisis molecular de variancia de dos grupos élitos de África.....	47
Cuadro 7: Análisis molecular de variancia de cuatro regiones geográficas.....	48
Cuadro 8: Valores de $F_{ST}$ para distancias por etapas obtenidos de acuerdo al AMOVA entre genotipos de camote de cuatro regiones geográficas.....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Modelos de mutación de microsatélites.....	15
Figura 2: Proceso de amplificación y corrida electroforética con cebadores microsatélites.....	16
Figura 3: Regiones geográficas consideradas para el análisis de AMOVA.....	37
Figura 4: Dendograma obtenido según el algoritmo UPGMA.....	43

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Datos pasaporte y color de pulpa de accesiones de camote utilizadas.....	68
Anexo 2: Protocolo de extracción de ADN.....	73
Anexo 3: Reactivos utilizados en la extracción de ADN.....	74
Anexo 4: Reactivos para determinación de calidad de ADN.....	75
Anexo 5: Reactivos para PCR.....	76
Anexo 6: Información de los 31 cebadores microsátélites utilizados.....	76
Anexo 7: Imágenes de geles con patrones de bandas generados por cada cebador...	78

## RESUMEN

El camote es un cultivo para la seguridad alimenticia, en especial en países en desarrollo gracias a que no requiere de muchos cuidados y a su alto contenido de  $\beta$ -caroteno. Se evaluaron 148 cultivares nativos y variedades mejoradas de camote provenientes de África, América del Sur, Estados Unidos, Asia y Oceanía. Estos mostraron una alta variabilidad genética, con un número promedio de alelos por locus de 7 y PIC promedio de 0.75, al ser evaluados con cebadores microsatélites. Asimismo, se encontró una alta variabilidad dentro de los cultivares africanos, ya que en el dendograma y el AMOVA se diferenciaron de aquellas de otras regiones del mundo. Al dividir la población según características agronómicas favorables y resistencia a virus y *Alternaria*, no se halló diferencias genéticas significativas. Este trabajo confirma el gran potencial del material genético de *I. batatas* en África para el desarrollo de programas de mejoramiento específicos para su región.

Palabras claves: *Ipomoea batatas*, camote, marcadores microsatélites, variabilidad genética.

---

## ABSTRACT

Sweetpotato is a food security crop, especially in developing countries, because it does not require many inputs to grow and because of its  $\beta$ -carotene content. One hundred forty-eight landraces and modern varieties from Africa, South America, United States and Oceania were analyzed by microsatellite markers. They showed a high genetic variability. The average number of alleles per locus was 7 and a PIC of 0.75 was observed. African cultivars have a high genetic diversity. Both dendogram and AMOVA showed that these African clones are distinctly different from those of other regions of the world. When dividing accessions according to agronomic favorable characteristics, and virus and *Alternaria* resistance, genetic differences were not significant between the two groups. This research confirms the potential of African *I. batatas* germplasm for regional breeding programs.

Keywords: *Ipomoea batatas*, sweetpotato, microsatellite markers, genetic variability.

## I. INTRODUCCIÓN

*Ipomoea batatas* “camote” pertenece a la familia *Convolvulaceae*; cuyo género *Ipomoea* contiene entre 600 a 700 especies, la mitad de las cuales está concentrada en las Américas (Austin & Huaman, 1996). Su mayor producción se realiza en países en desarrollo, donde muchas veces ha combatido la escasez de alimentos. Por lo tanto, el camote es considerado un cultivo para la seguridad alimentaria mundial. A pesar de su potencialidad para suplir las necesidades alimenticias, aún es un producto secundario en países desarrollados (Scott *et al.* 2000).

Se presume que *I. batatas* se originó en Centro América y que alcanzó su dispersión por todo el mundo por medio de dos rutas de migración. La primera es la ruta *batatas*, que partió desde América por medio de embarcaciones españolas, llegando hasta Europa. Luego, en el siglo XVI D.C. hubo otra transferencia desde este continente hacia África e India por medio de exploradores portugueses. La segunda ruta, denominada *kamote*, sostiene en que clones mexicanos fueron llevados hacia las Filipinas por medio de galeones españoles (Woolfe, 1992).

Actualmente, el camote es considerado un cultivo de subsistencia y está asociado a la pobreza. En consecuencia, ha sido reemplazado a favor de cultivos de mayor demanda y rentabilidad. Sin embargo, en países tropicales se le cultiva durante todo el año en zonas con irrigación o lluvias disponibles, pero debido a su baja producción solamente es cultivado a pequeña o mediana escala (Ray & Ravi, 2005). Su principal uso es para el consumo humano, como producto fresco y en menor cantidad como enlatado o en frituras (Fuentes & Chujoy, 2009). Además, es utilizado para la alimentación de animales, y en la producción de almidón, alimentos y bebidas.

Los programas de mejoramiento de camote tienen como propósito desarrollar variedades con características nutricionales y agronómicas superiores, pero son dependientes del conocimiento acerca de su diversidad genética. Las limitaciones que existen para el mejoramiento genético de *I. batatas* son: bajo éxito reproductivo y dificultad para fijar características deseables por su alta ploidía, escasa producción de semilla, presencia de incompatibilidad entre algunas variedades y autoincompatibilidad, las cuales restringen la implementación y el desarrollo de programas eficientes de mejoramiento (Vimala, 1990).

En el este de África hay gran diversidad en el germoplasma de camote, lo cual representa un gran potencial para el mejoramiento del cultivo mediante cruzamientos entre individuos provenientes de la región (Tomlins *et al.* 2010). Además, un programa de mejoramiento para este continente tendría como propósito fijar características que le permitan afrontar sus principales problemas, los cuales son la deficiencia de vitamina A y la presencia de virus. Por lo tanto, se podría aprovechar la diversidad genética para la introducción vía sexual de genes para altos niveles de producción y materia seca, alto contenido de beta-caroteno, así como, para resistencia al gorgojo y virus.

Los estudios con marcadores moleculares en camote han ampliado el conocimiento de su diversidad genética y han permitido crear estrategias más eficientes para su mejoramiento. Asimismo, el presente trabajo tiene la finalidad de caracterizar una población de cultivares africanos de camote para determinar su diversidad genética, lo cual permitirá desarrollar programas de mejoramiento genético que tengan como resultado variedades con características deseables para esta región. Además, el conocimiento de la naturaleza genética y el grado de parentesco entre cultivares permitirá explotar heterosis en familias híbridas al utilizarlos como progenitores.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO PRINCIPAL**

- Caracterizar molecularmente cultivares nativos y variedades mejoradas de *Ipomoea batatas* L. “camote” provenientes de África mediante marcadores microsatélites.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la estructura y distancia genética entre cultivares nativos y variedades mejoradas.
- Determinar la variabilidad genética de los cultivares nativos y las variedades mejoradas mediante marcadores microsatélites.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 *Ipomoea batatas* L. “CAMOTE”

##### Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Convolvulaceae

Género: *Ipomoea*

Especie: *Ipomoea batatas* (L.) Lam.

El camote es un cultivo neotropical que crece en todas las regiones subtropicales y tropicales del mundo, desde el nivel del mar hasta 2800 m.s.n.m. (Woolfe, 1992). Esta planta es alohexaploide (Shiotani & Kawase, 1989) y cuenta con  $2n=6x=90$  cromosomas. Además se caracteriza por ser una planta herbácea perenne, con hábito de crecimiento desde erecto hasta postrado, la forma de sus hojas y su pigmentación varía según el cultivar, y desarrolla raíces reservantes con pulpa de color desde blanco a naranja y de rojo a morado (Huaman, 1992). Es un cultivo rústico, fácil de mantener, tolerante a la sequía, a las altas temperaturas y a la humedad.

Austin (1988) postuló que el centro de origen de *I. batatas* estaba entre la península de Yucatán, México y el Río Orinoco, Venezuela. Por otro lado, estudios recientes sugieren a América Central como centro de origen de este cultivo (Zhang *et al.* 2004). Conforme a evidencias arqueológicas, lingüísticas e históricas, Fuentes y Chujoy (2009) sostienen que el centro primario de origen del camote comprende Colombia, Ecuador y el Norte del Perú. Además, si bien los indicios más antiguos de cultivo de camote han venido de Perú, se ha encontrado mayor diversidad genética en México que en Perú (Zhang *et al.* 2004).

No se conoce con exactitud como fue la introducción del camote en el continente africano, pero existen dos alternativas de cómo pudo ocurrir. Una de ellas propone que fue introducido directamente desde Portugal hacia Angola y Mozambique en el siglo dieciséis y la siguiente sugiere que el cultivo se difundió entre el siglo diecisiete y diecinueve por medio de influencias británicas desde el puerto de Bombay (O'Brien, 1972). En el siglo dieciocho, cuando el rey de Rwanda invadió Uganda, *I. batatas* ya era cultivado en el país invadido sin embargo no en toda su extensión (Wolfe, 1992). Por mucho tiempo, se consideró al camote como un alimento de estatus secundario que sólo era consumido por personas pobres o en tiempos de hambruna (McMaster, 1962).

El camote es considerado un alimento para la seguridad alimentaria debido a que tiene una producción confiable en condiciones de estrés y se desarrolla en suelos pobres o ligeramente fertilizados de zonas donde se presentan lluvias. En África, la producción de camote representa el 11% de la producción global y tanto Uganda como Nigeria están en segundo y tercer puesto respectivamente de producción de este cultivo (FAOSTAT, 2010). Sin embargo, sus mercados de venta y procesamiento no están desarrollados y son de pequeña escala.

### **3.1.1 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES**

El camote es un cultivo altamente nutritivo, del cual se consume mayormente las raíces reservantes pero en algunos países también se ingieren las hojas (Villareal *et al.* 1979). Es importante para la alimentación debido a que contiene vitamina B2, B6, C, y E, además de almidón,  $\beta$ -caroteno, potasio, fósforo, calcio y magnesio (Padmaja, 2009; Lopez, 1980; Picha, 1985). Su contenido de magnesio encontrado en las raíces cubriría el 50% de las necesidades diarias; el 17.3%, 17.4% y 19.6% de hierro, zinc y calcio si se ingiere 240 g. de camote por día (Tumwegamire *et al.* 2011). El contenido promedio de materia seca en *I. batatas* está en el rango de 5.6% - 38.3%, aunque varía según la variedad y los factores ambientales (Bradbury & Holloway, 1988; Cereda *et al.* 1982), y los carbohidratos representan el 80 - 90% del total de materia seca. Además contiene entre 1.3% a 10% de proteínas (Purcell *et al.* 1972; Splittstoesser, 1977) y antocianinas en las variedades de pulpa morada, las cuales han mostrado capacidad antioxidativa y antimutagénica (Konczak-Islam *et al.* 2003).

El principal pigmento en el camote de pulpa naranja es el  $\beta$ -caroteno (Kimura *et al.* 2006) y se ha hallado que su contenido llega a ser mayor que el encontrado en zanahorias o calabazas (Takahata *et al.* 1993). Además se conoce que existe una correlación positiva entre el color y el contenido de carotenoides (Ameny & Wilson, 1997; Takahata *et al.* 1993). Por otro lado, la deficiencia de vitamina A en el cuerpo humano genera ceguera, queratitis y afecta el sistema inmune ante una deficiencia prolongada (Bates, 1995). Siendo el  $\beta$ -caroteno precursor de la vitamina A, este cultivo tiene un gran valor para compartir su deficiencia, especialmente en países en desarrollo donde niños, y mujeres en gestación y lactantes son los más afectados por una nutrición deficiente (West, 2002).

Gracias a que la disponibilidad diaria de camote por persona en Uganda es de 197.77 g. (FAOSTAT, 2007), el camote se presenta como un cultivo indicado para incrementar la ingesta de  $\beta$ -caroteno al introducir variedades de pulpa naranja. En África se consume principalmente el camote de pulpa blanca o crema, el cual tiene alto contenido de almidón, pero en las últimas décadas hay gran interés por introducir variedades de pulpa naranja para así combatir la deficiencia de vitamina A en la población (Low *et al.* 2001). En una evaluación del germoplasma del Este de África se encontraron cultivares con altos contenidos de caroteno, materia seca y almidón, y bajas cantidades de sacarosa, siendo muy atractivas para el consumidor de esta región (Tumwegamire *et al.* 2011).

Generalmente, la raíz del camote se consume hervida, horneada o frita, pero también en sus formas procesadas como bebidas, harinas, bebidas alcohólicas y como dulces (Woolfe, 1992). La fibra es usada como láminas degradables para la agricultura, mientras que las antocianinas que se encuentran en la pulpa morada sirven como colorantes (Yoshimoto, 2010). Por otro lado, el follaje ha sido comúnmente usado para alimentar animales de granja en Perú y países asiáticos (Achata *et al.* 1990).

### **3.1.2 PRINCIPALES LIMITACIONES EN EL CULTIVO DE CAMOTE**

Los principales factores bióticos limitantes para el cultivo de camote son los gorgojos (*Cylas* spp.) y virus, entre estos son los virus los que más daño generan sobre I. batatas (Geddes, 1990). Se han reportado pérdidas en la producción de raíces reservantes entre 60 y 90% a causa de los gorgojos del camote (Stathers *et al.* 2003; Ho, 1970;

Subramanian *et al.* 1977; Mullen, 1984; Jansson *et al.* 1987; Smit, 1997). Con respecto a los virus que atacan a este cultivo, SPFMV (*Sweet Potato Feathery Mottle Virus*) y SPCSV (*Sweet Potato Chlorotic Stunt Virus*) son los más comunes, los cuales pueden generar una reducción en la producción de hasta 98% a causa del complejo viral formado por los dos virus (Gibson *et al.* 1998). El complejo SPVD ha sido reportado en todo el mundo pero está especialmente esparcido en África (Hahn, 1979).

### **3.1.2.1 GORGOJO DEL CAMOTE (*Cylas* spp.)**

El gorgojo del camote (*Cylas* spp.) es la mayor peste de *I. batatas* alrededor del mundo (Sutherland, 1986; Wolfe, 1991). Las especies económicamente importantes son *Cylas formicarius*, *C. Puncticollis*, *C. Brunneus*, estos dos últimos los principales en África, y *Euscsepes postfasciatus* (Andrade *et al.* 2009). Daña externa e internamente las raíces reservantes (Sutherland, 1986), generando pérdidas en producción. Cuando las larvas se alimentan de las raíces, inducen la producción de terpenoides (Uritani *et al.* 1975) que dan un sabor desagradable al camote y no permiten su comercialización. El gorgojo es más abundante y perjudicial en épocas secas, ya que a altas temperatura, la tierra se quiebra y deja las raíces reservantes expuestas a este insecto (Sorensen, 2009). El desconocimiento de los hábitos alimenticios de las larvas y la actividad nocturna de los adultos dificulta la detección y control del gorgojo (Downham *et al.* 2001).

El gorgojo puede ser controlado en los almacenes con fumigantes pero el control químico es limitado por su alto costo. Entre los mayores esfuerzos para combatirlo está el uso de feromonas para atraerlos a trampas y así reducir su número. Esta estrategia fue evaluada en dos investigaciones, en la primera no se encontró diferencias en los niveles de infestación en raíces por el gorgojo pero en el segundo sí se halló una reducción (Smit *et al.* 2001, Downham *et al.* 2001). Por otro lado, los caracteres importantes para la resistencia al gorgojo son densidad de raíz reservante, contenido de materia seca, contenido de almidón, profundidad de raíz, grosor de ramas y composición química de la raíz reservante (Sorensen, 2009). Las estrategias tradicionales para combatirlo son plantar y cosechar tempranamente, rotar cultivos, sumergir el campo al inicio de la temporada y usar variedades que desarrollen sus raíces a mayores profundidades (Andrade *et al.* 2009).

### **3.1.2.2 Sweet Potato Feathery Mottle Virus**

SPFMV pertenece al género *Potyvirus*, se presenta en todo lugar donde se cultiva *I. batatas*. Cuando ataca a una planta por sí sólo, puede haber ausencia (Gibson *et al.* 1997) hasta ligeros síntomas en el hospedero, como manchas cloróticas y manchas anulares (Moyer & Salazar, 1990) Su transmisión ocurre por medio de áfidos, entre ellos *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, *A. craccivora* y *Lipaphis erysimi* (Loebenstein *et al.* 2009) Mediante una comparación de los genes de capa de proteína del virus, se determinó que existían cuatro grupos filogenéticos del virus, uno de ellos contenía virus aislados de África del Este, España y Perú, otro de Australia, África, Asia, Norte y Sur de América y el último grupo contenían aislamientos de África, Asia y Sur América (Kreuze *et al.* 2000).

### **3.1.2.3 Sweet Potato Chlorotic Stunt Virus**

El virus SPCSV, parte del género *Crinivirus*, se caracteriza por producir enrollamientos de hojas y ligeras coloraciones amarillentas o moradas en hojas basales (Gibson *et al.* 1998). Esta enfermedad es transmitida por medio de la mosca blanca (*Bermisia tabasi*, *Trialeurodes abutilonea* y *B. afer*) (Valverde *et al.* 2004; Gamarra *et al.* 2010). Según su clasificación serológica, está categorizado en dos serotipos principales: un grupo perteneciente al Este de África, presente en esta región y en Perú, y el serotipo de África del Oeste que se presenta también en los continentes americanos y la región mediterránea. Además se determinó que el serotipo de SPCSV presente en Uganda es distinto al identificado en Nigeria y que además provoca síntomas mucho más severos (Gibson *et al.* 1998).

### **3.1.2.4 Sweet Potato Virus Disease**

El complejo viral del camote o *sweetpotato virus disease* (SPVD) es causado por la interacción de SPFMV y SPCSV (Schaeffers & Terry, 1976). Cada uno de estos virus genera síntomas leves en plantas infectadas por sólo uno de ellos pero cuando una planta adquiere ambos virus, las cantidades de SPFMV aumentan en gran cantidad dentro del hospedero y se producen severos síntomas como aclaramiento de venas, clorosis, arrugamiento y reducción en el tamaño de hojas, y enanismo (Karyeija *et al.* 2000; Gibson *et al.* 1998). Las pérdidas debido a SPVD han sido reportadas entre 56%-98% (Gibson &

Aritua, 2002; Aldrich, 1963; Aritua *et al.* 2001; Mukiibi, 1977; Hahn, 1979; Ngeve & Bouwkamp, 1991) haciendo de este uno de los mayores problemas en el cultivo de camote.

La permanencia de virus en África está influenciada por las prácticas agronómicas de la región, debido a que SPFMV a veces no presenta síntomas, los agricultores seleccionan semilla que aparenta estar limpia pero realmente no lo está (Karyeija *et al.* 1998). Otra observación realizada en este continente ha señalado que mientras más avanzado sea el estado vegetativo de las plantas de camote, mayor será la incidencia del virus debido a que plantas antiguas son fuente de contaminación de las nuevas, facilitando así la propagación del virus (Kwololo *et al.* 2007; Gibson & Aritua, 2002; Terry, 1982). También se sabe que los agricultores continúan sembrando variedades susceptibles a SPVD por su sabor, alto contenido de materia seca, buena producción y rápida maduración (Gasura & Mukasa, 2010).

### **3.1.2.5 INCIDENCIA DE VIRUS EN ÁFRICA**

En África se han identificado los virus SPFMV, SPCSV, SPMMV, SPCFV, SPVII, SPCaLV y SPVG (Aritua & Adipala, 2006). Mientras tanto, la incidencia de SPVD es muy alta en el Este de África, al punto que la prioridad para esta región es producir variedades resistentes al complejo (Karyeija *et al.* 1998). En Kenia se han identificado cuatro virus en Kenia: SPFMV, SPCSV, SPMMV (Sweetpotato mild mottle virus) y SPCFV (Sweetpotato chlorotic flecks virus). Entre ellos, el más común y más ampliamente distribuido fue SPFMV (75%), seguido por SPCSV (39%) sólo como el serotipo del Este de África y SPMMV presente en un 10% de las plantas analizadas. Por otro lado, la combinación de virus de mayor frecuencia hallada fue el complejo viral del camote (22%) (Ateka *et al.* 2004).

Un estudio en Uganda, se detectó la presencia cuatro virus en campos de *I. batatas*: SPFMV, SPCSV (serotipo del Este de África), SPCFV y SPMMV (Gibson *et al.* 1998). De las plantas evaluadas, el 99% contenía el complejo SPVD, convirtiéndolo en un factor de alto riesgo para el cultivo de camote en este país. En otra investigación se registró la presencia e incidencia de cinco virus en Uganda: SPFMV (90.2%), SPCSV (89.5%), SPMMV (9.6%), SPCFV (8.2%) y SPCaLV (0.2%), estos virus estuvieron presentes en el

63.3% de plantas evaluadas (Aritua *et al.* 2002). En el mismo país, otra investigación (Mukasa *et al.* 2003) señaló que SPCSV (67.5%) era el virus de mayor prevalencia, seguido por SPFMV (63.8%), SPMMV (24.6%) y SPCFV (5.2%). Además se observaron síntomas de virus diferentes a los identificados. Por otro lado, tanto SPCSV y SPFMV se encontraron en todas las localidades analizadas y el complejo viral del camote se halló en el 32.4% de plantas analizadas.

Siendo SPVD el factor biótico más perjudicial para el cultivo de *I. batatas* en Uganda, se evaluó la recuperación este cultivo frente al complejo viral (Gasura & Mukasa, 2010). Ellos encontraron que los cultivares susceptibles al virus eran los más cultivados en el este de Uganda, el cual se caracteriza por una baja presión del virus. Mientras que los cultivares resistentes crecían en las regiones oeste y central de Uganda donde la presión de SPVD es mayor. Adicionalmente, encontraron que el 24% de plantas analizadas se recuperó de la enfermedad, lo cual indica una alta presencia de cultivares resistentes. Estos investigadores sugieren que el alto porcentaje de plantas resistentes se debe a que al escoger semilla para la siguiente campaña, los agricultores eligen las resistentes que también son de baja producción y así se va reduciendo el cultivo de material con alta producción pero con susceptibilidad a virus.

### **3.2 MANEJO DEL CAMOTE EN ÁFRICA**

En África aún no existe un sistema de identificación y caracterización de los cultivares tradicionales, lo cual no permite a los mejoradores rastrear el material liberado para analizar su desempeño en el campo. Mediante un análisis morfológico, se identificaron duplicados que originalmente tenían nombres diferentes (Yada *et al.* 2010b). En una investigación en Tanzania se encontró que algunos nombres de los cultivares estaban asociados a las localidades donde habían sido obtenidas o llevaban el nombre de la persona quien los introdujo (Tairo *et al.* 2008). Para contrarrestar estos problemas, en Uganda se ha iniciado un proceso de identificación de cultivares de camote presentes en su territorio. En el año 2005, se colectaron 1303 accesiones de los 21 distritos de mayor producción de camote en este país. Las muestras fueron caracterizadas usando 40 descriptores de la planta (International Potato Center-AVRD-IBPGR) y evaluadas con respecto a producción, resistencia a SPVD y resistencia a *Alternaria brassicae* y (Yada *et al.* 2010a). Esta información se reunió en una base de datos denominada *Uganda*

*Sweetpotato Germplasm Database* (USGDB) y se encuentra en línea en [http://www.viazivitamu.org/ugasp\\_db/index.php](http://www.viazivitamu.org/ugasp_db/index.php).

Los principales sistemas de semilla utilizados en Uganda, Tanzania y Rwanda han sido descritos (Namanda *et al.* 2011). Usualmente, los agricultores colectan tallos de campos en desarrollo con apariencia limpia de cualquier enfermedad para usarlos en una nueva campaña. Por otro lado, en épocas secas se usan plantas voluntarias como fuente de esquejes. En estos sistemas, los tallos se entregan libremente. Un recurso de emergencia es cultivar camote en tierras pantanosas en zonas cercanas a lagos, sin embargo esta práctica es ilegal. Cuando hay proximidad al agua para el cultivo, se irriga las plantas durante la época seca y también se pueden utilizar otros cultivos como sombra, entre ellos café, palta y yuca. En Uganda y Tanzania es muy común encontrar cultivos de *I. batatas* en los patios de las casas que son regados con agua de desecho del mismo hogar. Las prácticas menos comunes pero que también se realizan son plantar usando raíces reservantes o con tallos desechados de la poda. Sin embargo, usar raíces incrementa la aparición de gorgojos en las nuevas plantas. Un estudio reportó que los tallos del camote pueden guardarse hasta por una semana en un lugar frío antes de plantarse, aumentando el tiempo disponible para trasportarlas entre largas distancias (Yada *et al.* 2010b)

### **3.3 MEJORAMIENTO EN CAMOTE**

El mejoramiento en plantas tiene como objetivo modificar la genética de las plantas para obtener características deseadas. Esto se puede lograr con técnica simples como selección según caracteres favorables hasta el uso de técnicas moleculares como la selección asistida por selección genómica (Heffner *et al.* 2009) y la transformación genética. Para generar variedades mejoradas primero se deben seleccionar las poblaciones de progenitores de manera que sean lo suficientemente variables y tengan altas frecuencias del carácter deseado, y luego realizar recombinaciones entre ellas (Sevilla & Holle, 2004). Este trabajo fue comúnmente llevado a cabo por el mejorador; sin embargo, se ha notado la necesidad de unir agricultores y mejoradores en el desarrollo de nuevas variedades, en especial para cultivos que son sembrados a pequeña escala. La estrategia se denomina mejoramiento participativo y ha probado ser eficiente en la producción de variedades de camote (Gibson *et al.* 2011).

Una de las metodologías utilizadas en el mejoramiento de camote es la de explotar la heterosis o vigor híbrido, la cual se refiere al fenómeno de que una progenie resultante de líneas endogámicas exhiba mejores características que sus parentales. Los programas de mejoramiento en este cultivo tienen como propósito aumentar la producción de raíces reservantes y su valor nutricional ( $\beta$ -caroteno y almidón), así como superar sus principales limitaciones, las cuales son los virus y el gorgojo. Entre todos estos, la prioridad en *I. batatas* para el Este de África es incorporar genes de resistencia a los virus que provocan el SPVD en cultivares de alta productividad (Ateka, 2004; Mwololo *et al.* 2007; Gasura & Mukasa, 2010).

En los últimos veinte años, los programas de mejoramiento de Tanzania han liberado 6 variedades: Jitihada, Mavuno, Simama, Sinia, Ukerewe y Vumilia con rasgos para buena calidad nutricional y comerciabilidad (Chirimi *et al.* 1999). Además se han descrito tres formas de selección de cultivares resistentes a SPVD practicadas en África: selección informal mediada por agricultores, colección de germoplasma local seguido de una búsqueda de genotipos superiores y producción de genotipos superiores a partir de parentales resistentes (Karyeija *et al.* 1998). En Uganda, se han liberado desde cultivares nativos como Bwanjule, New Kawogo, Tanzania, Wagabolige, SPK004, Ejumula y Dimbuka-Bukulula (Mwanga *et al.* 2001, 2007, 2009) hasta variedades mejoradas para mayor contenido de  $\beta$ -caroteno y/o resistencia a virus, entre ellas Sowola, NASPOT 1 – NASPOT8, NASPOT 9 O y NASPOT 10 O (Mwanga *et al.* 2001, 2003, 2009). Incluso se liberó la variedad denominada NASPOT 11, la primera en ser desarrollada con el método de mejoramiento participativo (Mwanga *et al.* 2010).

### **3.4 MARCADORES MOLECULARES**

En la caracterización molecular de los recursos fitogenéticos, se requiere el uso de técnicas que permitan conocer la información genética que estos portan. Los primeros métodos utilizados estuvieron basados en las características fenotípicas de los individuos. Sin embargo, ya que estas características están influenciadas por el medio ambiente, no ofrecen resultados repetibles y por ende, no son confiables. Es así como las técnicas de biología molecular y especialmente las de marcadores moleculares son las más usadas para estimar diversidad y relaciones genéticas entre grupos de interés, ya que los marcadores moleculares no son afectados por el medio ambiente.

Los marcadores moleculares permiten evidenciar variaciones (polimorfismos) en las secuencias del ADN entre dos individuos, sin importar su fenotipo. Un marcador ideal es aquel que es altamente polimórfico o variable dentro y entre especies, codominante, de rápida identificación y simple análisis (Picca *et al.* 2004). La mayoría de los marcadores moleculares se clasifican en dos categorías de técnicas usadas, estas son las que se basan en la hibridación o en la Reacción en Cadena de Polimerasa.

En los marcadores detectados por hibridación se utilizan sondas, las cuales son fragmentos de ADN o ARN que contienen las bases complementarias para detectar una secuencia específica del genoma. Las técnicas más comunes de este tipo de marcadores son: Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), Número variable de repeticiones en tándem (VNTR) y ADN-Chips (Oligonucleotide arrays). Por otro lado, los marcadores basados en PCR (Polymerase Chain Reaction) permiten la generación de gran número de marcadores y requieren de cantidades mínimas de material genético. Las técnicas usadas varían entre sí en la longitud y secuencia de los cebadores empleados, condiciones de la PCR y en el método de separación y detección de los fragmentos (Velasco, 2005). Entre las más usadas están: Fragmentos polimórficos de ADN amplificados aleatoriamente (RAPD), DNA Amplification finger-printing (DAF), Microsatélites (SSR) y los Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (AFLP).

### **3.5 MARCADORES MICROSATÉLITES**

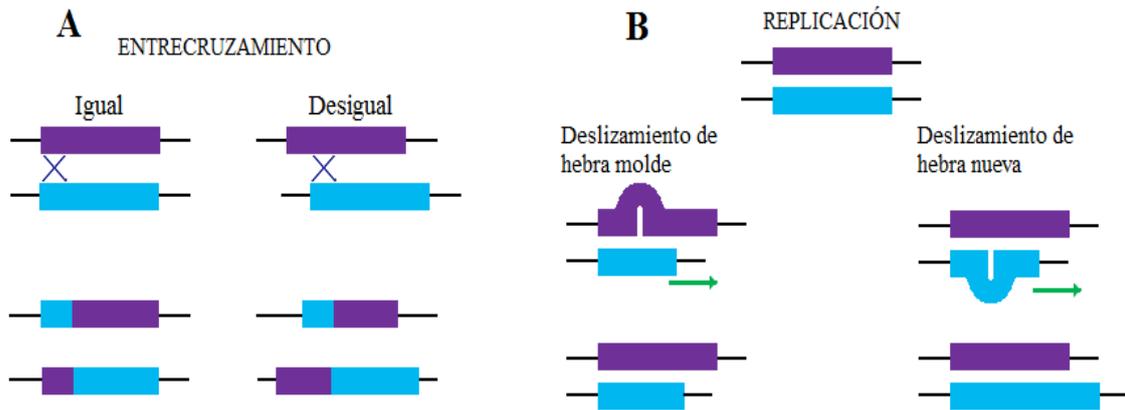
Los microsatélites, también conocidos como secuencias sencillas repetidas o SSRs (Simple Sequence Repeats), son motivos de uno a cuatro nucleótidos repetidos muy comunes en genomas eucariotas. Los marcadores basados en la amplificación de microsatélites fueron utilizados desde 1989 (Tautz, 1989; Weber & May, 1989) y los primeros en documentar la presencia de microsatélites en plantas fueron Condit y Hubbell (1991). Según una búsqueda de microsatélites en bancos de datos de plantas a inicios de los años noventa, se calculó que su frecuencia era de una por cada cincuenta mil pares de bases (Morgante & Olivieri, 1993). Asimismo, se determinó que el dinucleótido AT era el más repetido entre los motivos encontrados. Esta alta presencia de microsatélites en el genoma, motivó a los investigadores a desarrollar marcadores capaces de identificar estas repeticiones.

Las secuencias microsatélites están clasificadas por el patrón de sus repeticiones. Según Weber (1990), éstos están ordenados en tres grupos: perfectos, imperfectos y compuestos. Los perfectos son aquellos que tienen un solo motivo de repetición y carecen de interrupción. El segundo grupo está formado por aquellos que contienen interrupciones entre los elementos repetidos y los compuestos pueden contener más de un motivo de repetición y a su vez presentar o no interrupciones. Por otro lado, existe otra clasificación con tres grupos principales: perfectos, compuestos y complejos; usando el término “interrumpido” para señalar nucleótidos no repetidos entre los motivos (Chambers & MacAvoy, 2000). El cuadro 1 muestra ejemplos de esta clasificación.

**Cuadro 1:** Tipos de microsatélites según Chambers y MacAvoy (2000).

<b>Tipo de microsatélite</b>	<b>Ejemplo</b>
Perfecto	(CA) <sub>10</sub>
Perfecto interrumpido	(CA) <sub>10</sub> -TA-(CA) <sub>8</sub>
Compuesto	(CA) <sub>10</sub> -(CT) <sub>6</sub>
Compuesto interrumpido	(CA) <sub>10</sub> -AA-(CT) <sub>6</sub>
Complejo	(CA) <sub>10</sub> -A <sub>5</sub> -(CT) <sub>6</sub> -TA-(CAA) <sub>4</sub>
Complejo interrumpido	Secuencias como las complejas con interrupciones en las unidades repetidas.

Entre las secuencias de ADN, los microsatélites son los que más rápido evolucionan, con una tasa de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  eventos por locus por gameto por generación; lo que a su vez los hace ampliamente informativos en estudios genéticos (Pemberton *et al.* 2009). La Figura 1 esquematiza los dos modelos principales de mutación de estas secuencias: (i) el entrecruzamiento desigual que se produce cuando las moléculas de ADN se alinean erróneamente y dan como resultado un alargamiento o acortamiento de los motivos repetidos, y (ii) el deslizamiento de cadena durante la replicación (Eisen, 1999), durante el cual la hebra de ADN se alinea de forma no homóloga y forma un bucle provocando que se gane o pierdan unidades de repetición.

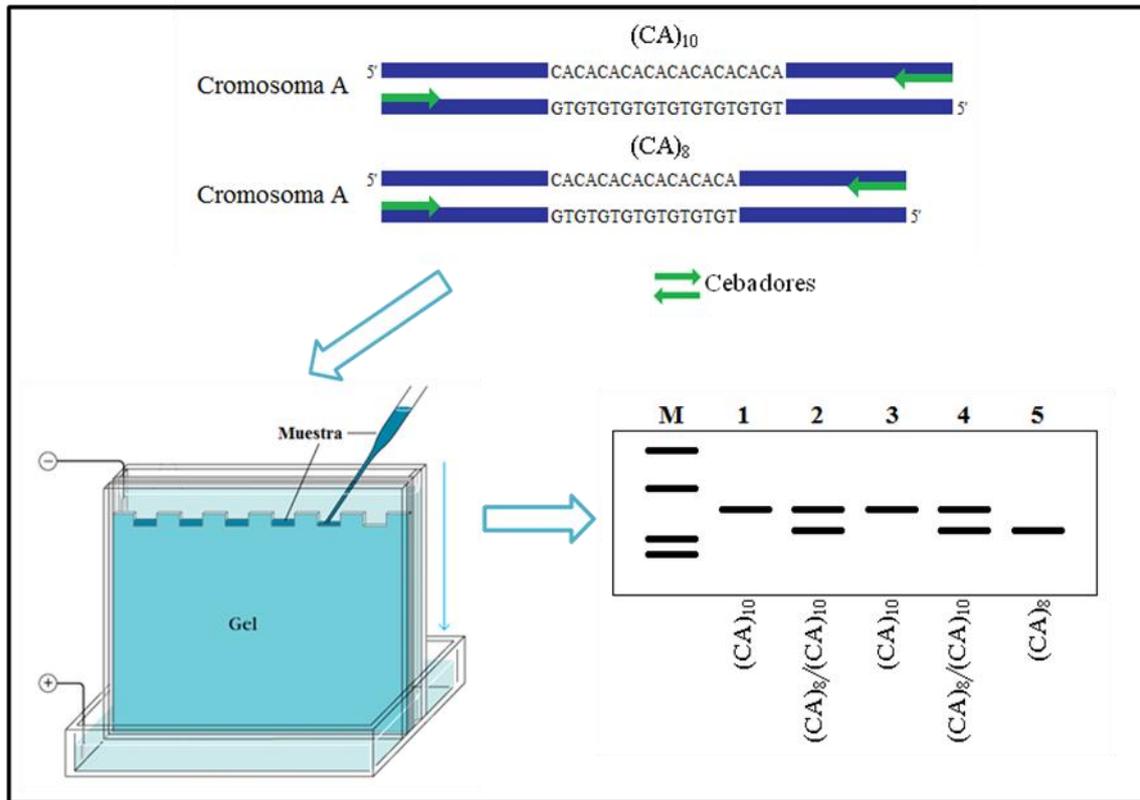


**Figura 1:** Modelos de mutación de microsatélites: (A) Entrecruzamiento desigual y (B) Deslizamiento de cadena.

Los modelos de mutación vigentes para los microsatélites asumen que las ganancias o pérdidas ocurren por unidades de repetición. Por lo tanto, la variación en los pesos de regiones microsatélites amplificadas se basan en esta suposición. Sin embargo, las diferencias en pesos de los fragmentos obtenidos no muestran la verdadera naturaleza de las secuencias, por lo que dos fragmentos del mismo tamaño pueden parecer iguales pero sus secuencias pueden ser diferentes. El secuenciamiento de fragmentos obtenidos mediante PCR mostró que las inserciones y deleciones de nucleótidos eran responsables del cambio de peso de los alelos y no el número de repeticiones. Además se observó que estas mutaciones podían resultar en amplificaciones de tamaños idénticos a pesar de que los motivos microsatélites presentaban variaciones (Buteler *et al.* 1999).

Los marcadores microsatélites identifican regiones de ADN que contienen estos elementos repetidos amplificándolos con cebadores complementarios a las secuencias que flanquean los microsatélites por medio de una reacción de PCR. Seguidamente, el producto de la amplificación es corrido en geles de poliacrilamida y la detección de secuencias se realiza mediante la tinción de los geles obtenidos o mediante autorradiografías, si se usan cebadores marcados con radioisótopos. El uso de cebadores marcados con moléculas quimioluminiscentes y el uso de electroforesis capilar en gel requieren el uso de equipos y programas informáticos para la obtención de información genética, pero a la vez aportan una mejor resolución en los resultados. Finalmente, las bandas obtenidas constituyen un locus y los segmentos obtenidos, los cuales tienen distintos tamaños, representan alelos de

un mismo locus. El procedimiento de detección de marcadores microsatélites se observa en la Figura 2.



**Figura 2:** Proceso de amplificación y corrida electroforética con cebadores microsatélites.

Además de los marcadores microsatélites genómicos, también se está incrementando el uso de marcadores microsatélites génicos o EST-SSRs (Expressed Sequence Tag-SSR), cuyas siglas EST indican que son obtenidos de bases de datos de marcadores de secuencias expresadas. Al provenir de secuencias de ADN traducido, se les utiliza para amplificar loci microsatélites presentes en genes y así intentar asociar patrones genéticos con variaciones fenotípicas o funciones biológicas. Los EST-SSR se caracterizan por ser de alta calidad, son útiles para estimar relaciones genéticas y pueden ser usados en especies para las cuales hay pocos marcadores y pocas secuencias disponibles (Varshney *et al.* 2005). En comparación con los microsatélites genómicos son menos polimórficos, pero en algunos estudios han mostrado ser altamente polimórficos (Fraser *et al.* 2004). El diseño de estos cebadores es bastante simple ya que existen diversos programas informáticos especializados en la búsqueda de microsatélites disponibles en la web como MISA (Microsatellite identification tool, <http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>), SPUTNIK

(Abajian, 1994), Primer3 (<http://primer3.sourceforge.net/history.php>), SSR Locator (Maia *et al.* 2008), SSR Finder (Gao *et al.* 2003), entre otros.

### **3.5.1 VENTAJAS DE LOS MARCADORES MICROSATÉLITES**

Los marcadores SSR son ampliamente usados debido a que son codominantes, frecuentes, estables, multialélicos, de herencia mendeliana simple, reproducibles y fácilmente analizables y tienen un elevado contenido de información de polimorfismo (PIC). Además, se encuentran distribuidos al azar en el genoma, lo que permite una amplia cobertura en el análisis de genotipos. Por estas características son apropiados para la identificación de genotipos, el estudio de genética de poblaciones, estudios de ligamiento y mapeo genético (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Los sitios microsatélites están conservados en especies emparentadas, por lo cual se pueden usar los mismos cebadores entre ellas (Menottiraymond & Obrien, 1995). Por lo tanto, encontrar información de una misma secuencia de microsatélites en una variedad de géneros permitiría un análisis más exhaustivo de diferenciación entre especies (Jarret & Bowen, 1994).

### **3.5.2 LIMITACIONES DE LOS MARCADORES MICROSATÉLITES**

Uno de los mayores obstáculos en la implementación de marcadores microsatélites ha sido el trabajo previo para su utilización. Desarrollar uno de estos marcadores implica tener conocimiento de al menos parte de la secuencia genética del organismo en estudio. En el pasado, esto implicaba que cada grupo de investigación debía construir una biblioteca de ADN genómico o complementario, para luego realizar una selección con sondas sintéticas. Luego, realizarían un secuenciamiento de las secuencias seleccionadas e identificarían los cebadores que usarían. Actualmente, la creciente información disponible en bancos de datos como GenBank (NCBI) y EMBL permiten obviar varios pasos en la obtención de cebadores microsatélites y sólo hace falta realizar una búsqueda de marcadores utilizando un programa informático especializado para ello. Sin embargo, aún no todas las especies han sido secuenciadas, ni se ha iniciado un estudio genético en ellas, por lo que sus investigadores se enfrentan al costo y tiempo que implica diseñar marcadores microsatélites desde el inicio.

El aislamiento y caracterización de microsatélites es demandante ya que no todos los marcadores identificados son polimórficos. Además los cebadores deben ser secuenciados y probados para determinar si son útiles. Del total de cebadores microsatélites diseñados por un grupo de investigación, se encontró que el 50% fueron útiles (Jarret & Bowen, 1994). Adicionalmente, se ha reportado una eficiencia de amplificación del 87% en marcadores EST-SSRs diseñados (Schafleiner *et al.* 2010). Por otro lado, se ha hallado un rango de éxito de amplificación de 60% a 90% de marcadores tanto genómicos como génicos en diversos estudios (Varshney *et al.* 2005).

### **3.5.3 USO DE MARCADORES MICROSATÉLITES EN CAMOTE**

Para el camote, se han desarrollado marcadores microsatélites y han sido usados con éxito para el análisis genético de este cultivo (McGregor *et al.* 2000, Zhang *et al.* 2001, Gichuru *et al.* 2006, Yada *et al.* 2010, Tumwegamire *et al.* 2011). Cuando se evaluaron los cebadores diseñados por Buteler *et al.* (1999), se determinó que tenían una alta capacidad discriminatoria debido a que fue posible diferenciar 113 accesiones con sólo cuatro cebadores (Zhang *et al.* 2001). Otro grupo de investigación desarrolló 27 pares de cebadores microsatélites genómicos y 75 génicos con una eficiencia de 34% y 50%, respectivamente (Hu *et al.* 2004). Además lograron identificar locus asociados con regiones de proteínas con funciones conocidas y otras desconocidas.

### **3.6 DIVERSIDAD GENÉTICA**

En el mejoramiento de cultivos, el conocimiento de la diversidad genética de germoplasma, líneas de mejoramiento y variedades es requerido para desarrollar estrategias eficientes a partir del material genético disponible. El análisis de la diversidad genética es el proceso mediante el cual se analiza la variación entre individuos o grupos de individuos o de poblaciones mediante un método específico o una combinación de estos (Mohammadi & Prassana, 2003). Para medir la diversidad genética se analiza la variación genética, la cual se refiere a dos conceptos según Frankel y colaboradores (1995): “riqueza” de una población o muestra, la cual es el número total de genotipos o alelos presentes en la población, y “uniformidad” o frecuencia de distintos alelos dentro de la población o muestras analizadas.

### 3.6.1 DISTANCIA GENÉTICA

La distancia genética es una medida cuantitativa de la diferencia genética, a un nivel de secuencias o de frecuencia de alelos, la cual se calcula entre individuos, poblaciones o especies (Beaumont *et al.* 1998). La distancia genética usualmente se calcula con métodos euclidianos para datos morfológicos. Por otro lado, la información proveniente de marcadores moleculares se utiliza para generar matrices binarias que serán analizadas estadísticamente mediante distintos coeficientes de similitud genética, entre los cuales están el coeficiente de Nei-Li (1979), coeficiente de Jaccard (1908), coeficiente de *Simple Matching* (Sokal & Michener, 1958) y la distancia modificada de Roger (Wright, 1978; Goodman & Stuber, 1983).

De todos los coeficientes mencionados, el de Jaccard toma en consideración sólo las coincidencias entre bandas presentes e ignora los pares en los cuales una banda estuvo ausente. Este coeficiente le da más valor a la presencia de bandas, ya que indican mayor similitud que un  $N_{00}$  porque existen diversas razones para la ausencia de bandas, el  $N_{00}$  no refleja identidad por descendencia sino identidad de estado (Mohammadi & Prasanna, 2003). Al usar marcadores codominantes, tanto Jaccard como Nei-Li pueden resultar en distancias genéticas idénticas dentro de líneas de entrecruzamiento pero ambas tienen distribuciones estadísticas desconocidas, lo cual no permite calcular la varianza ni el intervalo de confianza. Para sobrellevar esta limitación, se puede utilizar la técnica de *bootstrap* y así estimar la varianza (Brown, 1994). El coeficiente de Jaccard se estima según la siguiente fórmula:

$$DG_J = 1 - \frac{N_{11}}{N_{11} + N_{10} + N_{01}}$$

donde  $N_{11}$  es el número de bandas presentes en ambos individuos,  $N_{10}$  es el número de bandas presentes sólo en el individuo  $i$  y  $N_{01}$  es el número de bandas presentes sólo en el individuo  $j$ .

### 3.6.2 DIFERENCIACIÓN GENÉTICA ENTRE POBLACIONES

Muchas veces es necesario calcular cuan diferentes son dos poblaciones y subpoblaciones genéticamente. Para determinar esta diferencia los estadísticos F de Wright (1951) permiten comparar poblaciones entre ellas y dentro de ellas. Wright utiliza tres

coeficientes para estimar (i) la correlación de genes entre los individuos de todas las poblaciones  $F_{IT}$ , (ii) la correlación de genes de distintos individuos en la misma población  $F_{ST}$  y (iii) la correlación de genes de los individuos dentro de las poblaciones ( $F_{IS}$ ). La relación entre coeficientes es la siguiente:

$$F_{ST} = (F_{IT} - F_{IS}) / (1 - F_{IS})$$

$F_{ST}$  es un valor positivo que varía de 0 a 1, tiene su menor valor cuando las subpoblaciones son idénticas en frecuencia de alelos y su valor es uno cuando las subpoblaciones tienen distintos alelos.  $F_{IS}$  y  $F_{IT}$  son medidas que cuando son positivas indican deficiencia de heterocigotos pero cuando son negativas indican exceso de estos.

### 3.7 ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO

El análisis de agrupamiento se refiere a un grupo de técnicas multivariadas cuyo propósito es agrupar individuos u objetos basándose en las características que poseen, de manera que los individuos con descripciones similares se ordenen juntos (Hair *et al.* 1995). Existen dos tipos de métodos de agrupamiento, el primero es el basado en distancias y el segundo es el basado en modelos. Aquellos basados en distancias pueden ser clasificados como jerárquicos y no jerárquicos. Los métodos jerárquicos son los más usados en los análisis de diversidad genética y se construyen juntando o separando grupos de individuos. Los métodos aglomerativos siguen el principio del primer método, primero tienen tantos grupos como individuos, aquellos similares se ordenan juntos y a medida que se agregan individuos se van agrupando según su similitud.

El método de ligamiento promedio no ponderado o UPGMA (Unweighted pair-group method using arithmetic averages) (Sneath & Sokal, 1973) es un método aglomerativo y es el algoritmo más utilizado entre los de su clase. Este algoritmo permite una agrupación consistente de material biológico con respecto a grupos de heterosis y pedigree previamente conocidos (Mohammadi & Prassana, 2003; Ajmone-Marsan *et al.* 1992; Mohna *et al.* 1992; Mumm *et al.* 1994). También ha mostrado altos valores de correlación cofenética (Rincon *et al.* 1996; Lombard *et al.* 2000), este coeficiente determina si el método es apropiado para un análisis en particular, y ha sido capaz de estructurar con mayor eficacia relaciones conocidas que el método de Single Linkage pero con la misma eficiencia que el método de Ward (Milligan & Cooper, 1985). Si bien el método UPGMA es muy eficiente, siempre es recomendable generar un análisis de

remuestreo con bootstrap para determinar cuan confiables son los nodos del árbol obtenido (Mohammadi & Prassana, 2003). Otra estrategia para aumentar la confiabilidad de la topología con este algoritmo es utilizar un mayor número de marcadores en el análisis de material genético (Highton, 1993).

### 3.8 ANTECEDENTES

Desde la implementación de las técnicas moleculares en el estudio del camote, su uso se ha extendido con diversos propósitos. Inicialmente, las investigaciones apuntaban a determinar el vínculo entre *Ipomoea batatas* y las especies que se asumían estar relacionadas a ella (Jarret, Gawel & Whittemore, 1992; Jarret & Austin, 1994). Estas técnicas también han sido utilizadas para la identificación de cultivares (Connolly *et al.* 1994), incluyendo el uso de isoenzimas (Kennedy & Thompson, 1991) por su bajo costo y efectividad.

En la determinación de especies relacionadas a *I. batatas*, varios han sido los esfuerzos para lograr identificar a los ancestros del camote. En un análisis usando RAPDs, se compararon accesiones de camote con ocho especies de *Ipomoea* y se observó que *I. tabascanana*, *I. trifida* e *I. batatas* var. *apiculata* eran las especies más cercanas a la especie cultivada (Jarret & Austin, 1994). Cuando se comparó el camote con especies de la serie *Batatas* usando marcadores ISSR se halló que *I. trifida* era la más relacionada genéticamente a *I. batatas*, sin embargo no se incluyó *I. tabascanana* (Huang & Sun, 2000; Hu *et al.* 2003). En otro estudio se incluyó a esta especie en una comparación mediante secuencias del gen de  $\beta$ -amilasa y se encontró que tanto *I. trifida* como *I. tabascanana* eran las especies más relacionadas a *I. batatas* (Rajapakse *et al.* 2004).

Entre los enfoques más tratados en este cultivo están la investigación de la naturaleza de su dispersión en el mundo; así como el estudio de la diversidad genética y las relaciones genéticas entre clones. Usando RAPDs, se halló una alta diversidad accesiones de camote de varios países, lo cual fue atribuido a la auto-incompatibilidad del camote y su naturaleza alogama (He *et al.* 1995). Además se observó que genotipos de América del Sur y América Central se ordenaron juntos, las accesiones de Estados Unidos tenían una alta similitud y se agrupaban pero las muestras provenientes de Papúa Nueva Guinea se ubicaron de forma difusa en el dendograma. Por otro lado, ya que Austin (1988) había

postulado que el centro de origen del camote se encontraba entre la Península de Yucatán y el Río Orinoco en Venezuela y que Oceanía era un centro secundario de diversidad, los estudios de diversidad apuntaron a probar las propuestas. Algunos resultados respaldaron esta hipótesis, ya que accesiones de Papúa Nueva Guinea mostraron una alta diversidad genética y a la vez fueron estadísticamente diferentes a genotipos provenientes de Suramérica (Zhang *et al.* 1998, 2000). También hallaron un alto nivel de diversidad entre especies en América Central usando marcadores AFLP.

Otro estudio realizado con marcadores RAPD evaluó genotipos de seis regiones del mundo: Suramérica, Centroamérica y el Caribe, Estados Unidos, África, Asia y Oceanía (Gichuki, 2003). Según los resultados era posible que el centro primario de diversidad para el camote consistiera de dos acervos génicos, uno proveniente de Centroamérica y el Caribe, y otro de Suramérica. Además, se encontró que los genotipos de América Central y el Caribe tenían una relación cercana a los genotipos de las demás regiones, lo cual sugería que la dispersión del cultivo comenzó desde la región central de América hacia el mundo. Por otro lado, los clones africanos y sudamericanos mostraron tener una distancia genética significativa frente a todos los demás grupos evaluados, menos uno para Sudamérica.

En una nueva investigación con respecto al origen de *I. batatas*. se analizaron accesiones provenientes desde Perú hasta México usando marcadores microsatélites de cloroplastos y nucleares (Roullier *et al.* 2011). En base a los resultados, se postuló que pudieron ocurrir dos eventos de domesticación para el camote, uno en la zona noroeste de América del Sur y otra en la región de América Central y el Caribe. Por otro lado, se coincidió con anteriores estudios en que el camote fue difundido desde la región tropical de América.

El estudio de la diversidad genética del camote es vital para la selección de una colección núcleo, así como para el desarrollo de técnicas de mejoramiento. Por lo tanto, en los últimos años varios estudios se han enfocado en estudiar la variabilidad y diversidad de los cultivares presentes en distintas zonas geográficas. Cultivares chilenos fueron evaluados con RAPDs se halló que estos eran casi uniformes y por lo tanto tenían una variabilidad genética muy pequeña (Sagredo *et al.* 1998). En otro estudio, se analizaron accesiones de Papúa Nueva Guinea (Fajardo *et al.* 2002), según los resultados la

diversidad genética era relativamente limitada y en el dendograma obtenido se observó dos grupos principales, uno de ellos contenía los genotipos de la isla Nueva Irlanda y el otro estaba compuesto por accesiones de la isla Nueva Guinea. Al evaluar cultivares élite de Taiwán, China y Japón que serían usados en policruzadas, se observó que las accesiones chinas y japonesas se agrupaban juntas y separadas de aquellas provenientes de Taiwán (Tseng *et al.* 2002). Un análisis mediante ISSRs de cultivares nativos de China (Xue-qin *et al.* 2007) determinó que en aquel país existen cultivares con diversos orígenes genéticos y que las variedades nativas varían mucho entre ellas.

Cultivares nativos de Brasil analizados con marcadores SSR mostraron un alto grado de polimorfismo y alta diversidad genética (Veasey *et al.* 2008). En esta población se observó que la mayor diversidad genética se encontraba dentro de los campos donde se realizó la colecta, en lugar de encontrarse entre comunidades y lo atribuyeron al manejo y sistema de intercambio entre los agricultores. En Argentina (Arizio *et al.* 2008) se usaron marcadores microsatélites para identificar genotípicamente accesiones locales, de otros países y material de mejoramiento. En el análisis de agrupamientos observaron grupos en los que predominaba el color de piel de raíces y obtuvieron una variabilidad genética alta. Al comparar las accesiones argentinas con las de otros países obtuvieron que la variación dentro de cada región aportaba el 97.1% de la variancia total, sugiriendo que Argentina tiene un germoplasma heterogéneo.

En India, se han evaluado accesiones de camote usadas para mejoramiento y la progenie resultante por medio de caracteres morfológicos. Un amplio estudio fue realizado en 250 híbridos de un cruzamiento de parentales de pulpa blanca y pulpa naranja (Vimala & Hariprakash, 2011a). Se obtuvo una alta variabilidad morfológica y se observó que el color de pulpa tenía una correlación positivamente con el dulzor y sabor de las raíces. Sin embargo, no se encontró ninguna correlación entre caracteres morfológicos y producción. También se estudió la variabilidad de accesiones de camote de pulpa naranja con respecto a su producción de raíces reservantes, contenido de  $\beta$ -caroteno y materia seca (Vimala *et al.* 2011b). Se encontró un alto rango de variabilidad en estos caracteres, además de un alto valor de producción y una relación entre contenido de  $\beta$ -caroteno y el color de pulpa de la raíz, como en reportes anteriores (Zhang & Xie, 1988; Lin *et al.* 1989). Además se confirmó la relación negativa entre contenido de materia seca y la intensidad del color naranja en raíces (Hernandez *et al.* 1967; Simone *et al.* 1993).

El germoplasma africano ha sido caracterizado morfológica y agronómicamente. Una colección de germoplasma de Tanzania (Tairo *et al.* 2008) fue evaluada con este tipo de caracteres y se halló que existía una baja variabilidad entre las accesiones y presencia de duplicados. Por otro lado, el agrupamiento realizado con datos morfológicos produjo un dendograma con dos grupos principales sin ninguna relación con las zonas agroecológicas. Sin embargo, se observó variación significativa en el germoplasma para los rasgos de número de raíces por planta, peso de raíces y contenido de materia seca. Además se observó una correlación negativa significativa entre el peso fresco de las raíces y su contenido de materia seca. Al evaluar material del mismo país mediante descriptores morfológicos y se obtuvo un alto nivel de diversidad fenotípica, pero también altos coeficientes de variación fenotípica (Elameen *et al.* 2011). Se determinó que los caracteres de menor heredabilidad fueron: rasgos de venas, hojas y raíces reservantes (menos tamaño de hoja madura y color de hoja madura), defectos en la raíz, color secundario de piel, color y distribución secundaria de pulpa de la raíz; mientras aquellos de mayor heredabilidad fueron: color predominante de de tallo, tipo de lóbulos, pigmentación de vena, pigmentación del peciolo, color predominante de piel y color predominante de pulpa de la raíz.

Germoplasma de Ghana fue caracterizado agro-morfológicamente (Kaledzi, 2010) hallándose cultivares de posible interés ya que presentaban forma de raíz elíptica, color de pulpa crema, profundidad de raíz intermedia y ausencia o baja oxidación en la mayoría de ellos. En otra caracterización morfológica de germoplasma de Uganda, se observó que la colección era altamente diversa. Además se encontraron duplicados y se determinó que los caracteres relacionados a pigmentación y a los lóbulos de las hojas eran los más efectivos para caracterizar el camote (Yada *et al.* 2010b). Entre los rasgos evaluados, encontraron que los colores predominantes de pulpa eran crema y blanco (70%) y encontraron accesiones con corteza de raíz gruesa especialmente en la región noreste, la cual ha sido reportada con alta presión de gorgojos (Story *et al.* 1999). También obtuvieron un dendograma en el que no se observó relación entre agrupamientos y distribución geográfica. También se realizó una evaluación del germoplasma del Este de África de acuerdo a su contenido de materia seca, proteína, almidón, sacarosa,  $\beta$ -caroteno, hierro, zinc, calcio y magnesio (Tumwegamire *et al.* 2011). Se encontró que el camote de esta región tiene mayor cantidad de materia seca y contenido de almidón, y menor contenido de sacarosa que aquellos cultivados en otras partes del mundo. Sus resultados

confirmaron la relación positiva entre contenido de almidón y materia seca, así como la correlación negativa de ambos con el contenido de  $\beta$ -caroteno.

Además de realizarse análisis morfológicos del germoplasma africano, también ha sido evaluado mediante diversos marcadores. En uno de estos estudios se analizaron 57 cultivares nativos del Este de África con cuatro marcadores microsatélites (Gichuru *et al.* 2006). Los investigadores observaron que no había relación distinguible entre el origen geográfico de los clones y su ordenamiento dentro del dendograma obtenido usando el algoritmo UPGMA. Sin embargo, señalaron que cultivares provenientes de Tanzania tenían la tendencia de agruparse juntos, sugiriendo que eran genéticamente diferentes del resto. Posteriormente, se obtuvieron resultados similares al contrastar germoplasma de Tanzania con accesiones de Perú, África, Asia y Estados Unidos mediante marcadores AFLP (Elameen *et al.* 2008). Nuevamente, la mayoría de las accesiones de Tanzania se agruparon en un mismo grupo, mas no se observó agrupamientos debido a su procedencia geográfica. Según sus resultados, determinaron que existía poca variación genética entre regiones pero alta variación dentro de cada una. Cuando se evaluó la diversidad fenotípica de la misma población y se la comparó con los resultados previos, no se halló una correlación entre datos morfológicos y moleculares (AFLP) (Elamen *et al.* 2011).

El germoplasma de Uganda fue caracterizado usando marcadores microsatélites (Yada *et al.* 2010c) y se determinó que existía una alta diversidad genética en este. Según el dendograma que obtuvieron, las accesiones de camote no se agruparon según origen geográfico, sin embargo sí se lograron identificar duplicados que no habían sido diferenciados morfológicamente. En el 2011 se realizó un estudio para comparar cultivares de camote con pulpa naranja y pulpa blanca provenientes del Este de África utilizando 26 marcadores microsatélites (Tumwegamire *et al.* 2011). Se observó que ninguno de los subgrupos formados contenía accesiones del mismo país ni del mismo color de pulpa, lo que estaba de acuerdo a los resultados de Gichuru (2006). Por otro lado, los cultivares del Este de África mostraron altas distancias genéticas en comparación a las variedades no africanas, lo cual sugería que las variedades de camote de pulpa naranja africanas habrían evolucionado de manera distinta de aquellas originadas en otras regiones.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron 148 accesiones de camote (Cuadro 2), entre ellas cultivares nativos de Tanzania, Uganda, Zambia, Kenia, Rwanda y Mozambique. Además se incluyeron variedades representativas de América, Asia y Oceanía. Los datos pasaporte y de color de pulpa de las accesiones usadas se encuentran en el Anexo 1.

**Cuadro 2:** Datos de las accesiones de camote utilizadas.

Código	Accesión	País de Origen	Región geográfica
1A	Carrot-C	Tanzania	África
2A	Ejumula	Uganda	África
3A	Resisto	Estados Unidos	Estados Unidos
4A	Zambezi	Zambia	África
5A	Carrot Dar	Tanzania	África
6A	Mayai	Tanzania	África
7A	Abuket 1	Uganda	África
8A	SN	Uganda	África
9A	Osapat	Uganda	África
10A	Osukut	Uganda	África
11A	Obuogo	Kenia	África
12A	Opaade	Uganda	África
13A	Kakoba	Uganda	África
14A	Sponge	Kenia	África
15A	Epura Amojong	Uganda	África

Código	Accesión	País de Origen	Región geográfica
<b>16A</b>	Oguroirwe	Kenia	África
<b>17A</b>	Anyumel	Uganda	África
<b>18A</b>	Oleke	Uganda	África
<b>19A</b>	Kalobo	Uganda	África
<b>20A</b>	Rwabuganda	Uganda	África
<b>21A</b>	Kibogo	Uganda	África
<b>22A</b>	NK318L	NaCRRRI	ND
<b>23A</b>	Santo Amaro	Brasil	América del Sur
<b>24A</b>	SN	Uganda	África
<b>25A</b>	Kyebandira 2	Uganda	África
<b>26A</b>	Anamoyito	Uganda	África
<b>27A</b>	Dimbuka 2	Uganda	África
<b>28A</b>	Mary	Uganda	África
<b>30A</b>	Rainha	Mozambique	África
<b>31A</b>	TIS 9265	IITA	ND
<b>32A</b>	TIS 9101	IITA	ND
<b>33A</b>	WT-237	ND	ND
<b>34A</b>	Tororo 3	Uganda	África
<b>35A</b>	Silk omuyaka	Uganda	África
<b>36A</b>	Kyebandula	Uganda	África
<b>37A</b>	Koromojo	Uganda	África
<b>38A</b>	Tedolo Keren I	Uganda	África
<b>39A</b>	Liralira	Uganda	África
<b>42A</b>	Kahungezi	Uganda	África
<b>43A</b>	Burundi	Uganda	África
<b>44A</b>	SN	Uganda	África
<b>45A</b>	Kalebe	Uganda	África
<b>46A</b>	Kibanda	Uganda	África

Código	Accesión	País de Origen	Región geográfica
<b>47A</b>	SN	Uganda	África
<b>48A</b>	Bunduguza	Uganda	África
<b>49A</b>	Bundugaza empyaka	Uganda	África
<b>50A</b>	Dimbuka obuleku	Uganda	África
<b>51A</b>	Dimbuka	Uganda	África
<b>52A</b>	Silk	Uganda	África
<b>53A</b>	Otada	Uganda	África
<b>54A</b>	Tanzania	Uganda	África
<b>55A</b>	Naspot 1	NAARI	ND
<b>56A</b>	Kasoga	Uganda	África
<b>57A</b>	Jewel	Estados Unidos	Estados Unidos
<b>58A</b>	Beauregard	Estados Unidos	Estados Unidos
<b>59A</b>	Naspot 5	NAARI	ND
<b>60A</b>	Kyabafuluki	Uganda	África
<b>61A</b>	Caromex	Estados Unidos	Estados Unidos
<b>62A</b>	Excel	Estados Unidos	Estados Unidos
<b>63A</b>	Zapallo	Perú	América del Sur
<b>64A</b>	Tainung 64	Taiwán	Asia
<b>65A</b>	Naspot 5/58	ND	ND
<b>66A</b>	KMI59 Kampala Red	Uganda	África
<b>67A</b>	W-115	ND	ND
<b>68A</b>	Silk	Uganda	África
<b>69A</b>	K-118	Kenia	ND
<b>70A</b>	Naspot 3	NaCRRI	ND
<b>71A</b>	K-566632	Kenia	ND
<b>72A</b>	Magabari	Uganda	África
<b>73A</b>	SN	Uganda	África
<b>74A</b>	Dar-es-Salaam Carrot	Uganda	África

Código	Accesión	País de Origen	Región geográfica
<b>75A</b>	Suwedi	Uganda	África
<b>76A</b>	SN	Uganda	África
<b>77A</b>	199062.1	CIP-HQ	ND
<b>78A</b>	Tuulansime	Uganda	África
<b>79A</b>	Bungoma	Uganda	África
<b>80A</b>	Duduma 2	Uganda	África
<b>81A</b>	SN	Uganda	África
<b>82A</b>	Dduka Enzala	Uganda	África
<b>84A</b>	Koromojo Red	Uganda	África
<b>85A</b>	Bikiramaria	Uganda	África
<b>87A</b>	SN	Uganda	África
<b>88A</b>	SN	Uganda	África
<b>89A</b>	SN	Uganda	África
<b>91A</b>	SN	Uganda	África
<b>92A</b>	Oketodede	Uganda	África
<b>93A</b>	Nylon	Uganda	África
<b>94A</b>	SN	Uganda	África
<b>95A</b>	Uganda Mali	Uganda	África
<b>96A</b>	SN	Uganda	África
<b>97A</b>	SN	Uganda	África
<b>98A</b>	Munafu Dimbuka	Uganda	África
<b>99A</b>	SN	Uganda	África
<b>100A</b>	Mugiga	Uganda	África
<b>1B</b>	Bunduguza 2	Uganda	África
<b>2B</b>	Kigaire	Uganda	África
<b>3B</b>	Namusoga	Uganda	África
<b>4B</b>	SN	Uganda	África
<b>6B</b>	Koromojo Red	Uganda	África

Código	Accesión	País de Origen	Región geográfica
<b>7B</b>	Bunduguza Empyaka 2	Uganda	África
<b>8B</b>	Gulu	Uganda	África
<b>10B</b>	Dimbuka	Uganda	África
<b>11B</b>	Wagabolige	Uganda	África
<b>12B</b>	New Kawogo	Uganda	África
<b>13B</b>	Ukerewe	Tanzania	África
<b>14B</b>	Bitambi	Uganda	África
<b>15B</b>	Sowola	NaCRRI	ND
<b>16B</b>	SN	Uganda	África
<b>17B</b>	Karebe	Uganda	África
<b>18B</b>	Naspot 7	NaCRRI	ND
<b>19B</b>	Naspot 9 O	NaCRRI	ND
<b>20B</b>	Naspot 10 O	NaCRRI	ND
<b>21B</b>	NK1081L	NaCRRI	ND
<b>22B</b>	NK259L	NaCRRI	ND
<b>23B</b>	DLP 3163	Perú	América del Sur
<b>24B</b>	Huarmeyano	Perú	América del Sur
<b>25B</b>	Semanda	Uganda	África
<b>26B</b>	SN	Uganda	África
<b>27B</b>	Mukoma	Uganda	África
<b>28B</b>	Silimu	Uganda	África
<b>29B</b>	SN	Uganda	África
<b>30B</b>	SN	Uganda	África
<b>31B</b>	SN	Uganda	África
<b>32B</b>	Dimbuka-Bukulula	Uganda	África
<b>33B</b>	Dagadaga	Uganda	África
<b>34B</b>	Kawogo Old	Uganda	África
<b>35B</b>	Kigabali	Uganda	África

Código	Accesión	País de Origen	Región geográfica
<b>36B</b>	Kamamanzi	Uganda	África
<b>37B</b>	SN	Uganda	África
<b>38B</b>	Wolunganda	Uganda	África
<b>39B</b>	SPK004	Kenia	África
<b>40B</b>	BND145L	NaCRRI	ND
<b>41B</b>	Tengerere	Uganda	África
<b>42B</b>	Mpaifumbiro	Uganda	África
<b>43B</b>	Mpambire	Uganda	África
<b>44B</b>	Tanzania	Uganda	África
<b>45B</b>	Shock	Uganda	África
<b>46B</b>	Silk	Uganda	África
<b>47B</b>	Malagalia	Uganda	África
<b>48B</b>	Mbale	Uganda	África
<b>49B</b>	Kala	Uganda	África
<b>50B</b>	Mugande	Rwanda	África
<b>1C</b>	Jonathan	Perú	América del Sur
<b>2C</b>	Xushu18	China	Asia
<b>3C</b>	Yanshu1	China	Asia
<b>4C</b>	Naveto	Papúa Nueva Guinea	ND
<b>5C</b>	Resisto (CIP)	Estados Unidos	Estados Unidos
<b>6C</b>	SPK004 (CIP)	Uganda	África

SN = sin nombre, ND = no determinado. A = accesión perteneciente al grupo A, B = accesión perteneciente al grupo B.

## **4.2 EXTRACCIÓN DE ADN**

Se realizó una extracción de ADN a mediana escala según la metodología de Murray y Thompson (1980) a partir de hojas liofilizadas. Seguidamente, se efectuó un tratamiento de degradación de ARN utilizando ARNasa 12mg/mL (Macherey-Nagel). El protocolo usado en este trabajo se encuentra descrito en el Anexo 2.

## **4.3 DETERMINACIÓN DE CALIDAD Y CONCENTRACIÓN DE ADN**

Para determinar la calidad del ADN obtenido se realizó una electroforesis horizontal en un gel de agarosa al 1%. Para cada muestra se agregó 8.87  $\mu\text{L}$  de la solución de carga (Anexo 4), 0.13  $\mu\text{L}$  de Gel Red <sup>TM</sup> y 1  $\mu\text{L}$  de ADN. Se comparó cada accesión con un marcador de peso molecular, fago lambda digerido con la enzima PstI (280ng ADN/ $\mu\text{L}$ ). Se consideró que el material obtenido era de buena calidad si no mostraba un patrón de barrido y si se observaba una banda definida. La concentración de ADN se calculó utilizando el espectrofotómetro NanoDrop 1000 de Thermo Scientific y a partir de estos datos se diluyó el ADN hasta una concentración de 30ng/ $\mu\text{L}$  usando la solución tampón T<sub>10</sub>E<sub>0.1</sub>.

## **4.4 AMPLIFICACIÓN DE MARCADORES MICROSATÉLITES**

Se realizaron amplificaciones con cebadores de marcadores microsatélites siguiendo un protocolo probado en trabajos previos en el Centro Internacional de la Papa, en los laboratorios de biología aplicada. Las amplificaciones se realizaron a un volumen final de PCR de 10 $\mu\text{L}$  para cada reacción. Cada una de ellas consistió de 8 $\mu\text{L}$  de master mix y 2  $\mu\text{L}$  de ADN vegetal a una concentración de 30ng/ $\mu\text{L}$ . El programa usado en el termociclador consistió en un primer paso de 94°C por 4 minutos, después se repitió 29 ciclos de: desnaturalización a 94°C por un minuto, alineamiento por un minuto y extensión a 72°C por un minuto. Luego, se tuvo un paso de extensión final a 72°C por siete minutos y finalmente la temperatura bajó a 4°C hasta la transferencia de las muestras a -20°C. Las temperaturas de alineamiento para la PCR variaron según el cebador utilizado en la amplificación, según el Cuadro 3.

**Cuadro 3:** Cebadores de los 31 marcadores microsatélites utilizados.

Nombre cebador	Temperatura alineamiento	Motivo	Secuencia de cebadores
Ib-242	58	(CT) <sub>3</sub> CA(CT) <sub>11</sub>	Fw: GCGGAACGGACGAGAAAA Rev: ATGGCAGAGTGAAAATGGAACA
Ib-286	57	(CT) <sub>12</sub>	Fw: AGCCACTCCAACAGCACATA Rev: GGTTTCCCAATCAGCAATTC
Ib-297	58	(CT) <sub>13</sub>	Fw: GCAATTTACACACAAACACG Rev: CCCTTCTTCCACCACTTTCA
IBCIP-1	63	(ACC) <sub>7</sub>	Fw: CCCACCCTTCATTCCATTACT Rev: GAACAACAACAAAAGGTAGAGCAG
IbC5	62	(AAG) <sub>8</sub>	Fw: CCACAAAAATCCCAGTCAACA Rev: AGTGGTCGTCGACGTAGGTT
IbC12	56	(TTC) <sub>6</sub>	Fw: TCTGAGCTTCTCAAACATGAAA Rev: TGAGAATTCTGGCAACCAT
IbE2	62	(TCT) <sub>13</sub>	Fw: CAGCCGCCAAGTTTTCTACA Rev: AGGCGGAGGCTGATAATGA
IbJ67	58	(GAA) <sub>5</sub>	Fw: CACCATTGATCATCTCAACC Rev: GGCTCTGAGCTTCCATTGTTAG
IbJ116a	57	(GAA) <sub>8</sub>	Fw: TCTTTTGCATCAAAGAAATCCA Rev: CCTCAGCTTCTGGGAAACAG
IbJ263	55.5	(AAC) <sub>5</sub>	Fw: CTCTGCTTCTCCTGCTGCTT Rev: GTGCGGCACTTGTCTTTGATA
IbJ522a	57	(CAC) <sub>6-7</sub>	Fw: ACCCGCATAGACTCACCT Rev: TGACCGAAGTGTATCTAGTGG
IbJ544b	62	(TCT) <sub>5</sub>	Fw: AGCAGTTGAGGAAAGCAAGG Rev: CAGGATTTACAGCCCCAGAA
IbJ664E	55	(CTT) <sub>6</sub>	Fw: CACATGCCATGGACGCTCCAA Rev: GATTCTTCTCCTTCCAGCTCCT
IbN21	60	(CT) <sub>9</sub> C	Fw: AACCTCATCTTTCTCATCTCTTC Rev: ACCTTGAACCTCCGTCTCCTCTT
IbN24	60	(TA) <sub>5</sub> GA(TA) <sub>3</sub>	Fw: TAATGAGGTGTGATGATGGGTACTA Rev: AGTGAAGTTGAGGTCAGGAAAATC
IbN37	55	(TA) <sub>7</sub> T	Fw: GATGATGGAGCTCATAAATCTCG Rev: GTCAGTGTGCCTCCAGTTTTTC
IBS144	60	(TTC) <sub>9</sub>	Fw: TCGAACGCTTTCTACACTCTT Rev: CTGTGTTTATAGTCTCTGGCGA
IBS147	55	(GCA) <sub>8</sub>	Fw: TGTGTACATGAGTTTGGTTGTG Rev: GAAGTGCAACTAGGAAACATGA
IBS149	60	(AGA) <sub>8</sub>	Fw: CCACCTCCTTAGGTATCAGACT Rev: ACTACTAGCGCTGCAACCTTAT
IBS169	53	(TTG) <sub>8</sub>	Fw: CGTACTATGTTTCCCCCATTAC Rev: AATGCATCTACCCTCCTTACAC

Nombre cebador	Temperatura alineamiento	Motivo	Secuencia de cebadores
IBS199	60	(ACA) <sub>7</sub>	Fw: TAACTAGGTTGCAGTGGTTTGT Rev: ATAGGTCCATATACAATGCCAG
IbY40	60	(GCG) <sub>7</sub> GC	Fw: AGTGTTGGGACTCATAAAGATTCTG Rev: GAATGAAATACAGTGACCCGAGAG
IbY44	52	(AGA) <sub>6</sub>	Fw: CAAGAAGAGCATAAGCGTGAGAT Rev: GCGATCTGAGAAGGTGATAATTG
IbY46	55	(ATC) <sub>5</sub> AT	Fw: TAGTAACACCATTACTTATTAACCTTG Rev: TGTAATCTCATGGATTGCTCGTAG
IbY51	55	(GCG) <sub>5</sub> G	Fw: GATGTCGTTTACGCGACTGAG Rev: GTATCGTCACATTCAGCAGCAG
IbY52	55	(GCG) <sub>5</sub> G	Fw: AAACAGATAGCAGAGACGAGATGAG Rev: CAGATAGTGTCACCAACACTGAAGA
IbY53	55	(GGA) <sub>5</sub> G	Fw: CCACGATCTCGGAAACCGCCAT Rev: GGGGCAAAGGTCTTATTCATAT
IbY54	57	(TGT) <sub>5</sub> T	Fw: GTCCAAGAGAAAGAACTGAAGATG Rev: AACTATTCTGCACAACTACATGCTC
IbY56	52	(CCT) <sub>5</sub>	Fw: CACCATGGATTTCAAACCACTACTT Rev: AGGGGGAGTTGTCTTGACTGGT
IbY58	55	(GCG) <sub>5</sub>	Fw: ACGACATGGCTCTCTCTTTCTC Rev: AGTTTCCTTCTCGACGCTTCT
IbY60	62	(TAT) <sub>5</sub>	Fw: TCTCTCTGTTATGTTATGGTGATGG Rev: GCGTTTTACAAGATTCAGAAACCAC

#### 4.5 ELECTROFORESIS Y DETECCIÓN DE BANDAS

A los productos de PCR se les adicionó 6µL de solución de detención de LI-COR<sup>®</sup> y pasaron por un ciclo de desnaturalización a 94°C por cinco minutos antes de ser corridos en geles de poliacrilamida en el equipo DNA Analyzer 4000 (LI-COR<sup>®</sup>). Los resultados fueron observados con el software Saga Evolution (LI-COR<sup>®</sup>) y las bandas obtenidas se identificaron mediante la comparación con un marcador de peso molecular corrido en todos los geles de poliacrilamida. Además se determinó el patrón de bandas de cada cebador y se asignó el peso molecular correspondiente a cada banda observada.

## 4.6 ANÁLISIS DE VARIABILIDAD

### 4.6.1 NÚMERO DE ALELOS POR LOCUS

Se determinó el número de alelos por locus tomando en cuenta que los alelos fueran claramente distinguibles, que se encontraran dentro del rango de peso esperado y que pudieran ser utilizados para determinar presencia o ausencia de bandas.

### 4.6.2 PORCENTAJE DE LOCI POLIMÓRFICOS

Según el número de loci polimórficos se obtuvo el porcentaje de ellos en el trabajo realizado. Se consideró a un locus como polimórfico cuando su alelo más común tuvo una presencia menor al 99% del total de muestras analizadas (Aranguren-Méndez *et al.* 2005).

### 4.6.3 ÍNDICE DE CONTENIDO POLIMÓRFICO (PIC)

El PIC es un valor que puede estar entre 0 y 1, el cual refleja el poder informativo de un marcador en la población. El carácter de informativo está relacionado a la probabilidad de que la progenie cargue un alelo que permita deducir el genotipo de su progenitor en determinado locus. Se considera a un locus como altamente informativo si el PIC obtenido es mayor a 0.5, razonablemente informativo si el valor se encuentra entre 0.5 y 0.25, y ligeramente informativo si es menor a 0.25 (Botstein *et al.* 1980). Para hallar el valor del PIC de cada marcador se usó la siguiente ecuación:

$$\text{PIC} = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

donde  $p_i$  es la frecuencia del  $i$ -ésimo alelo (Weir, 1996).

### 4.6.4 PODER DE DISCRIMINACIÓN

El poder de discriminación ( $D_L$ ) de un locus es una valor en el rango de 0 a 1, que estima la probabilidad que dos accesiones escogidas al azar sean diferentes entre sí según sus patrones de alelos (Hokanson *et al.* 1998). Este es un buen estimador de la eficiencia de un tipo de primer o de cierto locus. Además, según Tessier y colaboradores (1999) sus

beneficios son que puede ser usado para comparar distintos tipos de marcadores moleculares y para predecir la eficiencia de los cebadores. Por lo tanto, permite calcular el costo de una caracterización molecular en términos de amplificaciones realmente informativas. El valor del poder de discriminación fue calculado según Kloosterman *et al.* (1993):

$$D_L = 1 - \sum_{i=1}^I p_i^2$$

donde  $p_i$  es la frecuencia de cada genotipo.

## 4.7 ANÁLISIS DE DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

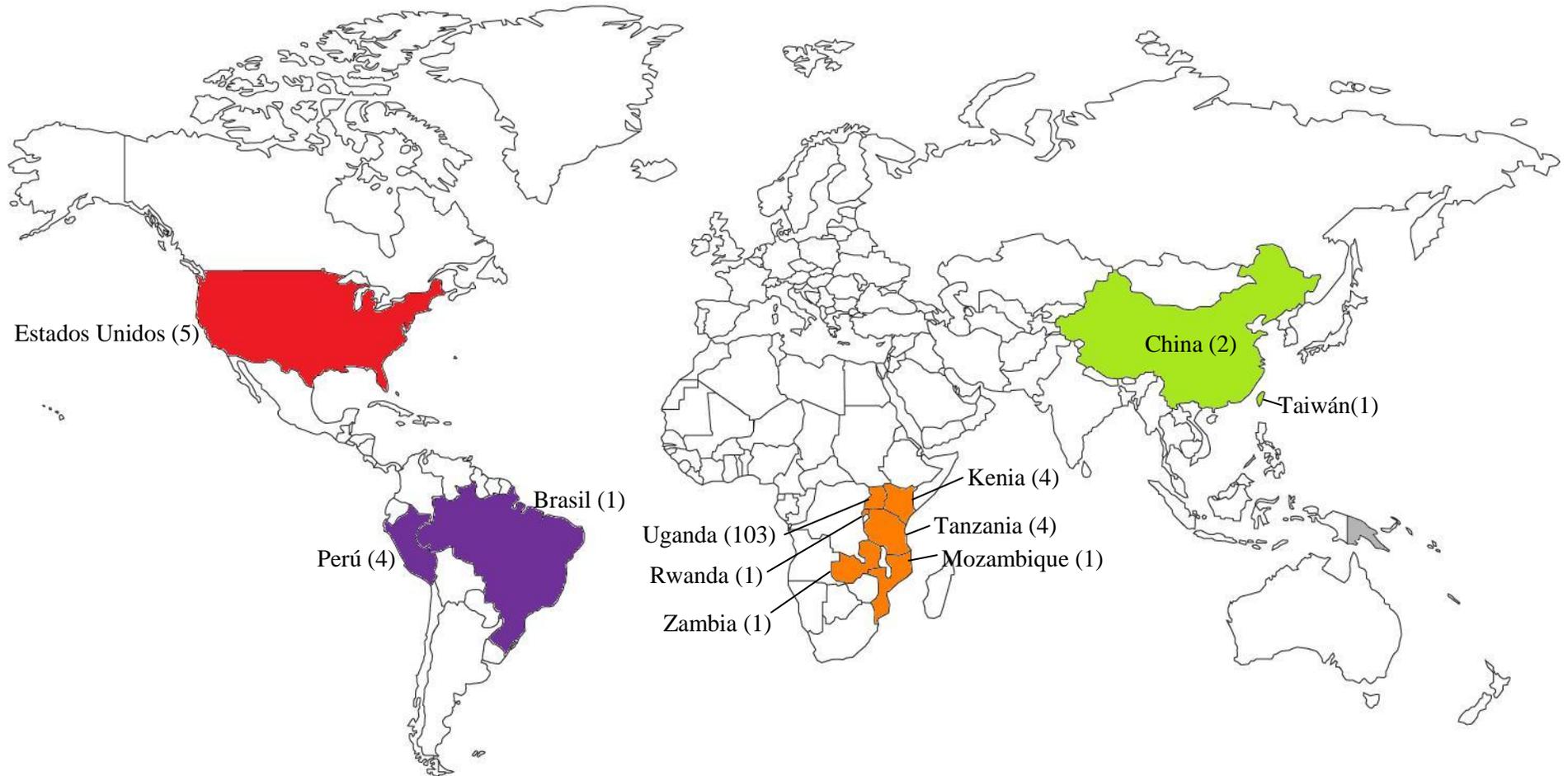
### 4.7.1 AGRUPAMIENTOS

Se construyó una Matriz Básica de Datos con los datos de presencia y ausencia (1 ó 0) de bandas, la cual fue ingresada al programa NTSYSpc versión 2.2 (Rohlf, 2000). Con este programa se obtuvo una matriz de similitud usando el coeficiente de similitud de Jaccard. Este coeficiente proporciona el mismo valor a todos los términos y mide la asociación entre muestras (Rodríguez, 2001). Para el análisis de grupos se usó el algoritmo de SAHN-Clustering incluido en el programa NTSYS, basado en el método de ligamiento UPGMA, con el cual se generó un dendograma para visualizar las distancias genéticas entre las muestras según el coeficiente de similitud utilizado.

## 4.8 ESTRUCTURA POBLACIONAL

Se realizó un análisis molecular de variancia (AMOVA) para dividir la variación medida por marcadores microsatélites de cuatro regiones: África, América del Sur, Estados Unidos y Asia (Figura 4). En el caso de África, sólo se usaron cultivares nativos para el análisis. También se comparó dos grupos élite de camote: grupo A y grupo B, los cuales fueron establecidos por el programa de mejoramiento de CIP-Uganda para la obtención de nuevas variedades de camote. El grupo A consiste en accesiones seleccionadas según características agronómicas deseables como contenido de  $\beta$ -caroteno, alta producción, contenido de materia seca, resistencia a sequía y producción de biomasa. Por otro lado, el grupo B contiene genotipos resistentes a SPVD y a *Alternaria brassicae*.

**Figura 3:** Regiones geográficas consideradas para el análisis de AMOVA.



Regiones según color: ■ Estados Unidos, ■ América del Sur, ■ África, ■ Asia, ■ Oceanía (no se utilizó para AMOVA). Se indica el número de accesiones por país.

Mediante el AMOVA se obtuvo los porcentajes de variación genética entre y dentro de los grupos, así como el índice de fijación  $F_{ST}$ . Los cálculos fueron realizados mediante el programa Arlequin versión 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005).

**Cuadro 4:** Análisis molecular de variancia.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Medias cuadradas esperadas
Entre grupos (EG)	P-1	SC(EG)	$n\sigma_a^2 + \sigma_b^2$
Dentro de grupos (DG)	N-P	SC(DG)	$\sigma_b^2$
Total	N-1	SC(total)	$\sigma_T^2$

Donde, P = número de grupos, N = número total de individuos,  $\sigma_a^2$  = componente de covariancia debido a diferencias entre poblaciones,  $\sigma_b^2$  = componente de covariancia debido a las diferencias entre haplotipos dentro de un grupo y  $\sigma_T^2$  = suma de los componentes de covariancia debido a las diferencias entre haplotipos dentro de una población. Los valores de  $n$  y  $F_{ST}$  están definidos según las siguientes ecuaciones:

$$n = \frac{N - \sum_p \frac{N_p^2}{N}}{P-1}, \quad F_{ST} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}$$

Adicionalmente se calculó las distancias genéticas por etapas entre las cuatro regiones geográficas establecidas (Excoffier & Smouse, 1994). El mismo programa informático calculó los valores de  $F_{ST}$  para las distancias por etapas y señaló la significancia de éstas.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. ANÁLISIS DE VARIABILIDAD

#### 5.1.1 NÚMERO DE ALELOS POR LOCUS

Se utilizaron 31 cebadores microsatélites de los cuales se obtuvo un total de 221 alelos claramente distinguibles, siendo 218 polimórficos. El número de alelos obtenido por locus se observa en el Cuadro 5. En promedio, se obtuvo siete alelos por locus en el grupo de genotipos estudiados. En un análisis de la diversidad genética de cultivares nativos de Brasil (Veasey *et al.* 2008) se utilizaron los cebadores Ib-242, Ib-286 e Ib-297, entre otros. El número de alelos polimórficos por locus obtenidos en aquella investigación fue muy similar al número hallado en este trabajo; siendo 3, 10 y 9 el número de alelos obtenidos con los tres cebadores.

Roulliet *et al.* (2011) utilizó algunos de los cebadores usados en este trabajo, los cuales fueron: IbJ522a (10 alelos), IbJ263 (7 alelos), Ib-297 (23 alelos), IbJ116a (15 alelos), IbC5 (12 alelos) e IbJ544b (8 alelos). Ellos obtuvieron más alelos para todos estos cebadores, debido a que analizaron accesiones de Suramérica, América Central y el Caribe, las cuales son las zonas de mayor diversidad genética del camote y por lo tanto se espera un mayor número de alelos por locus. Se sabe que un número pequeño de muestras de ADN y muestras de similar origen geográfico genera un número bajo de alelos por locus (Hu *et al.* 2004), en este caso el número de alelos fue menor porque el origen de la mayoría de accesiones fue Uganda. En la investigación de Tumwegamire y colaboradores (2011), se evaluaron accesiones del Este de África y en varios de los cebadores compartidos en ambos trabajos se obtuvo un número de alelos similar: IbJ116a (9 alelos), Ib-242 (6 alelos), IbCIP1(4 alelos), IbJ544b (7 alelos), IbJ522a (5 alelos), IbC12 (9 alelos) e Ib-297 (9alelos). La mayor cantidad de alelos en algunos cebadores puede deberse a que ellos trabajaron con muestras de camotes de más países africanos.

**Cuadro 5:** Número de alelos, PIC y Poder de discriminación para 31 loci microsatélites.

<b>Cebador</b>	<b>Número de alelos</b>	<b>PIC</b>	<b>D<sub>L</sub></b>
Ib-242	5	0.76	0.76
Ib-286	8	0.82	0.95
Ib-297	9	0.82	0.96
IBCIP-1	4	0.75	0.74
IbC5	7	0.79	0.91
IbC12	7	0.84	0.96
IbE2	12	0.80	0.93
IbJ67	8	0.78	0.89
IbJ116a	9	0.81	0.93
IbJ263	5	0.71	0.82
IbJ522a	5	0.75	0.82
IbJ544b	4	0.52	0.25
IbJ664E	3	0.59	0.46
IbN21	9	0.81	0.90
IbN24	4	0.71	0.69
IbN37	12	0.85	0.97
IBS144	9	0.84	0.96
IBS147	9	0.82	0.94
IBS149	12	0.80	0.93
IBS169	5	0.68	0.76
IBS199	11	0.84	0.95
IbY40	7	0.77	0.92
IbY44	8	0.78	0.88
IbY46	8	0.82	0.95
IbY51	6	0.69	0.61
IbY52	6	0.77	0.86
IbY53	5	0.72	0.76
IbY54	6	0.69	0.76
IbY56	2	0.48	0.47
IbY58	5	0.74	0.88
IbY60	9	0.76	0.89
Promedio	7.06	0.75	0.81

### **5.1.2 PORCENTAJE DE LOCI POLIMÓRFICOS**

Según los cebadores utilizados, se obtuvo un porcentaje de 77.4% de loci polimórficos. Para determinar si un locus era polimórfico se siguió lo recomendado por Aranguren-Méndez y colaboradores (2005). Por lo tanto, los cebadores IbC5, IbJ544b, IbJ664E, IbN24, IbY56, IbY58 e IbY60 fueron considerados como no polimórficos porque el más común de sus alelos tuvo una presencia mayor del 99% en el grupo de genotipos estudiados. Veasey y colaboradores (2008) obtuvieron 75% de loci polimórficos usando ocho cebadores genómicos, pero en su investigación el cebador Ib-242 se comportó como no polimórfico. Esto se pudo deber a que la población analizada era en su totalidad proveniente de Brasil, lo que hizo que las muestras tuvieran un alelo en común del locus Ib-242.

### **5.1.3 ÍNDICE DE CONTENIDO POLIMÓRFICO (PIC)**

El promedio del índice de contenido polimórfico (PIC) para los cebadores utilizados fue 0.75, por lo tanto se puede considerar al grupo de cebadores utilizados como altamente informativos. Los valores de PIC para los 31 cebadores utilizados se encuentran en el Cuadro 5. El cebador IbY56 tuvo el menor valor de PIC, 0.48, de manera que se le considera como razonablemente informativo. Su bajo valor se debe a que sólo se observaron 2 alelos al utilizar este cebador, pero sigue siendo informativo porque ambos alelos fueron polimórficos. Tanto IbJ544b como IbJ664E son los siguientes cebadores con menor PIC ya que tuvieron 4 alelos, pero en el caso del primero uno de sus alelos no fue polimórfico y en el segundo uno de sus alelos presentó una frecuencia mayor a 0.99. El cebador IbN37 tuvo un valor de 0.85 de PIC, mostrando que es altamente informativo ya que de este se obtuvo 12 alelos y cada uno con frecuencias variables, menores a 0.80. El PIC obtenido fue mayor a un estudio previo en el que también se usó cultivares nativos de Uganda y obtuvo un PIC promedio de 0.62 (Yada *et al.* 2010), probablemente porque sus cebadores sólo arrojaron un máximo de 6 alelos por locus.

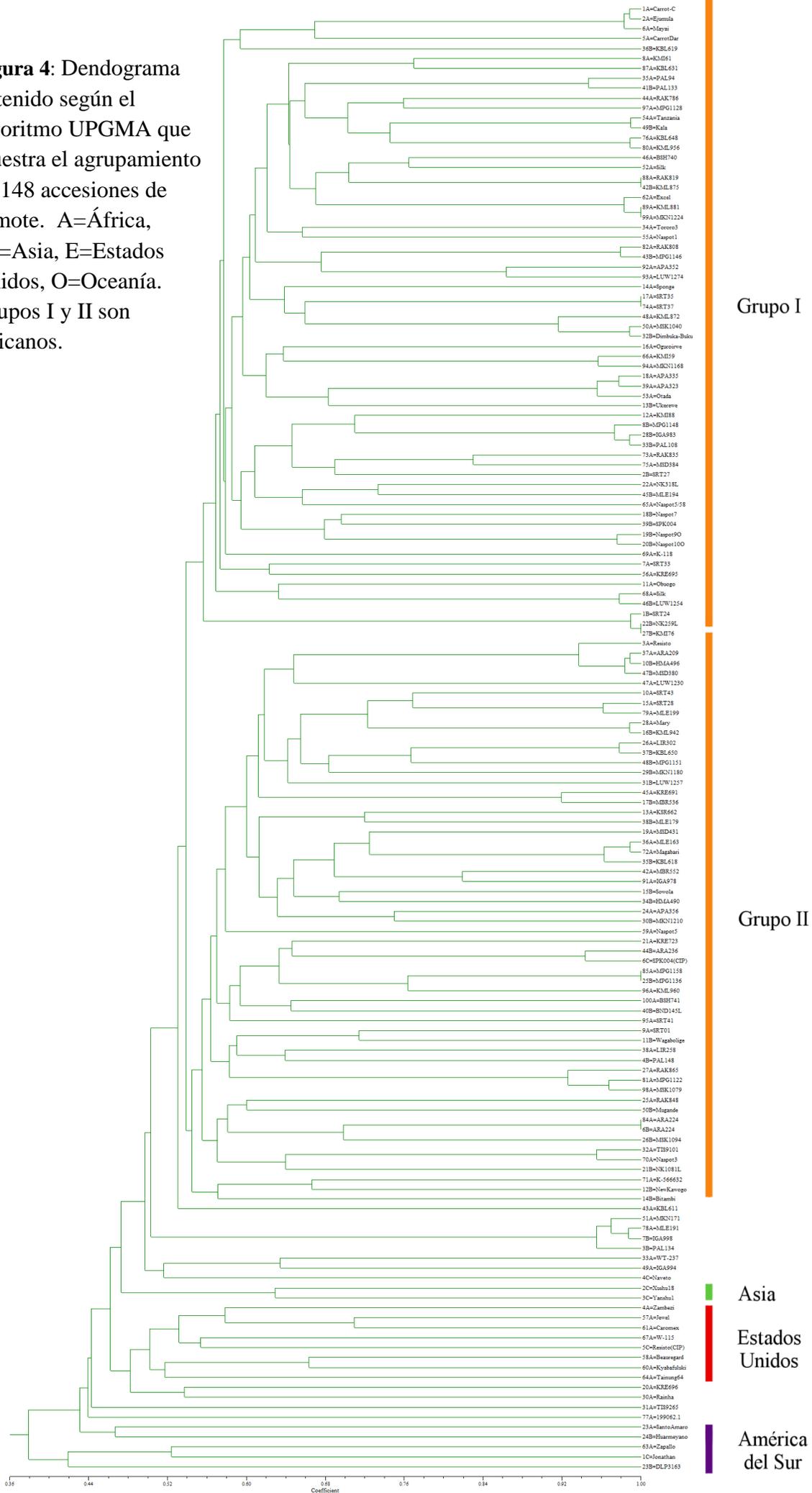
#### 5.1.4 PODER DE DISCRIMINACIÓN

El poder de discriminación hallado para los distintos cebadores microsatélites estuvo en un rango de 0.97 y 0.25. El cebador IbN37 tuvo el valor más alto, demostrando que tiene una gran capacidad para diferenciar entre genotipos ya que la probabilidad de que sea capaz de diferenciar dos genotipos en una población que tienda al infinito es de 0.97. Catorce marcadores utilizados mostró un  $D_L$  igual o mayor a 0.90, estos datos corroboran los resultados de PIC, los cuales también fueron altos para la mayoría de cebadores, que plantean que los cebadores usados son altamente informativos para la caracterización molecular de genotipos de *I. batatas*. El poder discriminativo ha sido calculado para marcadores microsatélites en otras especies cultivadas como *Vitis vinifera* L. (Tessier *et al.* 1999), *Pyrus* spp. (Sisko & Javornik, 2007), *Pisum sativum* L. (Smýkal *et al.* 2008), *Olea europaea* (Muzzalupo *et al.* 2009; Belaj *et al.* 2003) y *Malus x domestica* borkh. (Hokanson *et al.* 1998); sin embargo el valor promedio de  $D_L$  obtenido en este trabajo es mayor a los anteriormente reportados, menos para los dos últimos que obtuvieron valores de 0.90 y 0.82, respectivamente.

Por otro lado, el cebador con menor poder de discriminación fue IbJ544 (0.25) a pesar de no ser el de menor número de alelos. Aunque IbY56 (2 alelos) y IbJ664e (3 alelos) tengan menos alelos polimórficos, sus valores de  $D_L$  son mucho mayores al de IbJ544, debido a que el cebador produce pocos genotipos y la frecuencia de estos está sesgada ya que sólo uno está presente en el 86% de las accesiones y los demás entre 0.69% y 2%. Según Tessier y colaboradores (1999), un cebador tendrá un poder de discriminación máximo cuando genere patrones de alelos en la misma frecuencia, también llamada situación de isofrecuencia y esta no es la situación de IbJ544.

Los mejores cebadores microsatélites de los 31 usados son IbN37, Ib-297, IbC12 y IBS144. Sus valores de poder discriminativo (0.96-0.97) señalan que son capaces de diferenciar genotipos en una población de gran tamaño, por lo tanto serán útiles para trabajos de análisis de diversidad genética en camote. Su informatividad también está respaldada por el número de alelos por locus (7-12) y el valor de PIC encontrado en ellos (0.82-0.85).

**Figura 4:** Dendograma obtenido según el algoritmo UPGMA que muestra el agrupamiento de 148 accesiones de camote. A=África, As=Asia, E=Estados Unidos, O=Oceanía. Grupos I y II son africanos.



## 5.2 AGRUPAMIENTOS

En el dendograma obtenido (Figura 4) se observa que las accesiones provenientes de África se agrupan juntas. Además a un nivel de 0.52 de similitud se observan dos grupos bien definidos de genotipos africanos (grupo I y II), al igual que en investigaciones previa (Gichuru *et al.* 2006, Elameen *et al.* 2008) Sin embargo, no se observó ninguna relación entre el distrito donde se realizó la colecta y su agrupamiento. Este fenómeno es muy común en África, ya que el intercambio de semilla vegetativa es una práctica común entre los agricultores (Namanda *et al.* 2011; Yada *et al.* 2010c), además las variedades introducidas suelen recibir nuevos nombres en los lugares donde empiezan a ser cultivadas (Gichuki *et al.*, 2003; Tairo *et al.* 2008) La misma falta de relación entre localidad y genotipo fue obtenida anteriormente (Gichuru *et al.* 2006, Elameen *et al.* 2008; Veasey *et al.* 2008; Yada *et al.* 2010c). La divergencia de las accesiones evaluadas muestra un alto nivel de diversidad, lo cual puede deberse a los manejos de la semilla por parte de los agricultores, y a la auto-incompatibilidad y alogamia de *I. batatas*, que favorecen el flujo genético (He *et al.* 1995).

Por otro lado, los genotipos no africanos tendieron a ordenarse por origen geográfico. Las variedades provenientes de Estados Unidos se observaron dentro de un sub-grupo a un nivel de 0.5 de similitud junto a accesiones de distinta procedencia, el mismo resultado fue obtenido por He y colaboradores (1995). El agrupamiento de las variedades estadounidenses muestra alta similaridad genética, además se debe tener en cuenta que el 79% de los cultivares de Estados Unidos son considerados provenientes de sólo 3 parentales (National Research Council, 1993). Las variedades chinas Xushu18 y Yanshu1 se separaron de las africanas un nivel de 0.48, un resultado similar fue obtenido por Tseng *et al.* (2002) que observó que accesiones de este país se agrupaban juntas. Por otro lado, la accesión Tainung 64 de Taiwán se agrupó junto con las variedades de Estados Unidos en lugar de aquellas provenientes de China, este fenómeno también ha sido observado en cultivares taiwanenses que se agruparon separadamente de cultivares japoneses y chinos (Tseng *et al.* 2002). Esta diferencia se puede deber a que Taiwán es una isla y por lo tanto, pudo evolucionar y ser seleccionada de manera independiente de otros países asiáticos.

En esta investigación, sólo se cuenta con una accesión de Papúa Nueva Guinea, la cual se observa separada de las demás accesiones a un nivel de 0.52, siendo las accesiones africanas las más cercanas a ellas. En investigaciones previas los genotipos de este país de Oceanía se ordenaron sin relación geográfica y fueron estadísticamente diferentes a los de América del Sur (He *et al.* 1995, Zhang *et al.* 1998). Los genotipos provenientes de Sudamérica se separaron de todos los demás desde un nivel de 0.44 y se observó que las accesiones Zapallo, Jonathan y DLP3163, todas peruanas, se agruparon a mayor distancia que las demás, a un nivel de 0.38. Otros estudios también han observado que los genotipos de Latinoamérica suelen separarse por patrón regional (Zhang *et al.* 2000, 2001; Gichuki *et al.* 2003). Además, la alta diferenciación obtenida entre los cultivares de América del Sur con aquellos africanos coincide con los resultados de Gichuki y Elameen *et al.* (2008).

Entre las accesiones evaluadas, se encontraron accesiones a una distancia de coeficiente de 1, estos fueron los cultivares africanos (i)RAK819 y KML875, (ii)KML881 y MKN1224, (iii)SRT35 y SRT37, (iv)NK259L y KMI76, y (v)MPG1158 y MPG1136. El primer par tiene color de pulpa y de piel similar pero se diferencian en la forma de la raíz reservante y fueron colectadas en diferentes regiones; sin embargo su similitud puede deberse a que es muy común que los agricultores intercambien semilla vegetativa y designen un nuevo nombre al cultivar obtenido (Tairo *et al.* 2008). Estas accesiones han sido comparadas anteriormente y se determinó que eran diferentes (Yada *et al.* 2010c); sin embargo, en ese estudio se usó un grupo diferente de marcadores microsatélites. El segundo y tercer par no pueden ser considerados como repeticiones porque dos accesiones no amplificaron con todos los cebadores utilizados. Sin embargo, KML881 y MKN1224 son de pulpa crema pero este último presenta color secundario de pulpa y ambos fueron colectados de distritos cercanos.

Con respecto al tercer par, ambos son de pulpa naranja y son del mismo distrito, lo cual podría explicar su corta distancia genética. Por otro lado, las accesiones NK259L y KMI76 (par iv) son ambas de pulpa naranja, pero sólo la segunda fue colectada en campo lo que sugiere que se tratan del mismo genotipo pero con un nuevo nombre otorgado por el agricultor como se acostumbra en África cuando se reciben nuevos cultivares. Finalmente, las accesiones colectadas de Mpigi son genéticamente idénticas según los marcadores microsatélites usados en este trabajo pero morfológicamente el primero de ellos es de pulpa naranja mientras el segundo es de pulpa crema. Sin embargo, se han reportado

mutaciones somáticas en camote en el color de raíz (Hernandez *et al.* 1964), lo cual puede explicar la diferencia morfológica. Adicionalmente, el dendograma muestra a las accesiones 84A y 6B como idénticas, lo cual es cierto ya que ambas se tratan de ARA224 Koromojo Red. El cultivar se repite ya que ha sido incluido en ambos grupos de camote (A y B) para la realización de policruzas.

En un análisis molecular previo, se sugirió que los cultivares MLE191 y KML942 podrían ser duplicados a pesar de mostrarse idénticos molecularmente, ya que tenían diferencias en coloración de hojas y tallos pero sus colores de piel y pulpa eran parecidos (Yada *et al.* 2010c). En el presente trabajo se observó que ambos genotipos son diferentes, lo cual es consistente con la diferencia en morfología que presentan. Este resultado demuestra el alto poder discriminativo de los cebadores utilizados ( $D_L=0.81$ ), ya que en el trabajo mencionado se utilizó otros cebadores. Las tres accesiones denominadas Silk resultaron ser diferentes entre sí, aunque dos de ellas (68A y 46B) se ordenaron en un mismo subgrupo. Anteriormente, se han encontrado cultivares con el mismo nombre que después de su análisis mostraron ser diferentes, así como cultivares con el mismo nombre pero que sí se trataban de duplicados (Yada *et al.* 2010b).

Por último, se han analizado dos pares de las variedades Resisto y SPK004, una usada por el programa de mejoramiento de Uganda y otra en el Centro Internacional de la Papa en Lima. En el caso de Resisto, la variedad conservada en Lima se agrupa con otras provenientes de Estados Unidos; mientras que la usada en Uganda se asemeja más a cultivares de aquel país. Kakamega o SPK004 es un cultivar nativo de Kenia y se agrupa junto a las variedades desarrolladas a partir de él; sin embargo, la accesión SPK004 manejada en CIP-Lima se acerca más al cultivar africano ARA236 Tanzania. Lo más probable es que haya ocurrido una mezcla entre accesiones tanto en el envío hacia y desde África o en la recepción del material vegetal. Es necesario realizar una verificación de estos materiales en el banco de germoplasma para evitar confusiones y errores en resultados en futuras investigaciones.

### 5.3 ESTRUCTURA POBLACIONAL

Para analizar la estructura poblacional de las accesiones evaluadas se formaron dos grupos: grupo A y B, establecidos por el programa de mejoramiento de CIP-Uganda para la obtención de nuevas variedades de camote. Según los resultados del AMOVA (Cuadro 6), el mayor porcentaje de variación entre estos dos grupos se encuentra dentro de ellos (99%), mientras que la variación entre ellos es responsable de menos del 1% de variación. Una alta divergencia genética dentro de poblaciones del Este de África ha sido observada anteriormente (Gichuru *et al.* 2006). Asimismo, el valor de  $F_{ST}$  obtenido fue de 0.88%, de tal manera que estadísticamente no hay diferencia en la frecuencia de alelos entre los grupos A y B. Por lo tanto, generar policruzas entre estos dos grupos no aseguraría el aprovechamiento de heterosis.

**Cuadro 6:** Análisis molecular de variancia de dos grupos élités de África.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componentes de variancia	Porcentaje de variación
Entre grupos A y B	43.251	0.24693	0.88247
Dentro de grupos A y B	3756.171	27.73500	99.11753
Total	379.423	27.98193	

Se separaron las accesiones de *I. batatas* según regiones (África, América del Sur, Estados Unidos y Asia) para estimar los componentes de variancia según los datos obtenidos con marcadores microsatélites. La variación dentro de los grupos fue mayor a la encontrada entre grupos de regiones (Cuadro 7), resultados similares han sido obtenidos por otros investigadores (Zhang *et al.* 1998, 2000; Gichuki *et al.* 2003; Elameen *et al.* 2008; Tumwegamire *et al.* 2011). La variación entre grupos obtenida es alta, así como el  $F_{ST}=19.77\%$ , lo que indica que existe una alta diferencia genética entre las regiones evaluadas. Por lo tanto, se sugiere que existe una alta diversidad genética en el grupo de accesiones utilizadas en este trabajo. Esto se debe a que el camote es de naturaleza alogama y auto-incompatible, de manera que la variación por reproducción sexual es alta (Zhang *et al.* 2000), mientras que su cultivo a partir de semilla vegetativa ayuda a fijar la diversidad (He *et al.* 1995; Zhang *et al.* 1998).

**Cuadro 7:** Análisis molecular de variancia de cuatro regiones geográficas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componentes de variancia	Porcentaje de variación
Entre regiones	238.814	6.58220	19.77382
Dentro de regiones	3177.766	26.70527	80.22618
Total	3416.581	33.28747	

La variación dentro de los grupos fue menor que en otras investigaciones, probablemente porque las accesiones analizadas no han sido elegidas al azar sino que han sido escogidas debido a caracteres agro-morfológicos provechosos y debido a que los grupos consistían de pocas accesiones, a diferencia del grupo africano. Por otro lado, esta variación es mayor a la hallada en un estudio con cultivares de Papúa Nueva Guinea (Fajardo *et al.* 2002). En aquella investigación, los genotipos mostraban ser muy similares en los análisis de agrupamiento, mientras que en el presente trabajo las accesiones estuvieron claramente diferenciadas en el dendrograma.

Según el  $F_{ST}$  calculado entre pares de regiones, se sugiere que las regiones son significativamente diferentes entre sí, a excepción de Estados Unidos con Asia (Cuadro 8). La mayor distancia fue entre África y América del Sur (0.25189), seguida por África y Asia (0.21945). África también tuvo el mayor valor promedio contra todas las demás regiones. El mismo análisis fue realizado previamente y se halló que África era la región de mayor distancia genética al ser comparado con otras después de América del Sur (Gichuki *et al.* 2003), pero los grupos de regiones formados fueron más homogéneas entre sí que los de este trabajo. La gran diferencia de accesiones entre el grupo de África (114) y Suramérica (5) pueden haber sesgado los resultados y haber otorgado mayor diversidad a África.

Las accesiones de América del Sur son significativamente diferentes a las demás regiones, lo cual está conforme a resultados previos (Gichuki *et al.* 2003, Zhang *et al.* 2001). Esta diferencia es de esperarse ya que se considera a Sudamérica como un centro de diversidad secundario por la alta diversidad genética en *I. batatas* hallada en el lugar. Los genotipos de Estados Unidos y de Sudamérica son los segundos de menor distancia entre sí (0.12693), sin embargo son significativamente diferentes entre ellos. Gichuki y colaboradores (2003) observaron previamente una cercana relación entre accesiones de

camote de América Central y el Caribe con Estados Unidos, y de América del Sur con el mismo país del norte, lo cual respalda los resultados obtenidos.

**Cuadro 8:** Valores de  $F_{ST}$  para distancias por etapas obtenidos de acuerdo al AMOVA entre genotipos de camote de cuatro regiones geográficas.

Región	África	América del Sur	Estados Unidos	Asia
África	0.00000			
América del Sur	0.25189*	0.00000		
Estados Unidos	0.16610*	0.12693*	0.00000	
Asia	0.21945*	0.19024*	0.02512	0.00000
Promedio	0.21248	0.18969	0.10605	0.14494

\*Diferencia significativa entre regiones ( $P > 0.05$ ).

En otra investigación se coincidió en que Estados Unidos y Asia presentan la menor distancia genética entre regiones (Elameen *et al.* 2008). La razón de esta similitud se explicó con el hecho de que existen muchas actividades de mejoramiento entre las dos regiones, lo cual implica un intercambio de material vegetal. Gichuki y colaboradores (2003) tampoco lograron encontrar diferencias significativas entre estas regiones. Por otro lado, se debe tener en cuenta que Xushu18 tiene como progenitores a Okinawa 100 y Nancy Hall, siendo esta última una variedad de Estados Unidos. De tal forma, esta accesión aumenta la similitud entre ambas regiones.

## VI. CONCLUSIONES

1. Mediante el análisis de la diversidad molecular a 148 accesiones de cultivares nativos y variedades mejoradas de camote, fueron identificados 136 genotipos hallándose seis accesiones duplicadas.
2. Al evaluar la variabilidad genética con marcadores microsatélites, se encontraron 218 alelos polimórficos con un promedio de siete por cada par de cebador. Además, se obtuvo un 77.4% de loci polimórficos, el cual es un valor alto y demuestra que existe una alta variabilidad genética en la población evaluada.
3. En el análisis de agrupamientos se observó que la mayoría de los individuos africanos se ordenaron en dos sub-grupos a un nivel de similitud de 0.52, sin relación con el lugar donde fueron colectados. Mientras que los genotipos de América del Sur y Asia se agruparon según su origen geográfico, aquellos de Estados Unidos se ubicaron en un sub-grupo a 0.48 junto a variedades mejoradas y cultivares nativos de África.
4. Según los resultados del análisis molecular de variancia y los  $F_{ST}$  (estadístico F de Wright) calculados entre regiones geográficas, se logró describir la estructura poblacional. Al agrupar la población según caracteres agronómicos, no se observaron diferencias significativas entre los grupos formados. Sin embargo, al agruparla según regiones geográficas, sí fueron significativamente diferentes, siendo los grupos de América del Sur y África los más distanciados genéticamente. En todos los casos, se encontró que la variación dentro de los grupos formados era la responsable del mayor porcentaje de variancia.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Para un programa de mejoramiento en Uganda, se podrían cruzar accesiones de los grupos I y II para características diferentes.
2. Se debe generar nuevas progenies usando los cultivares africanos más distanciados a las variedades de otras regiones, ya que el germoplasma de África ha probado ser genéticamente diferente al de Asia, Estados Unidos y América del Sur.
3. Se podría analizar si existe una correlación entre las características agronómicas con los patrones obtenidos con los marcadores microsatélites.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abajian, C. 1994. SPUTINIK. Disponible en: <http://abajian.net/sputnik/index.html>
- Achata, A., Fano, H., Goyas, H., Chiango, O. & Andrade, M. 1990. El Camote (Batata) en el Sistema Alimentario del Perú. El caso del Valle de Cañete. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 63 p.
- Ajmone-Marsan, P., Livini, C., Messmer, MM., Melchinger, AE. & Motto, M. 1992. Cluster analysis of RFLP data from related maize with pedigree data. *Euphytica*. 60:139-148.
- Aldrich, DTA. 1963. The sweetpotato crop in Uganda. *East African Agricultural and Forestry Journal*. 29:42-49.
- Ameny, MA., Wilson, PW. 1997. Relationship between Hunter color values and beta-carotene content in white-fleshed African sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Lam). *J Sci Food Agric*. 73:301-306.
- Andrade, M., Barker, I., Cole, D., Dapaah, H., Elliott, H., Fuentes, S., Grüneberg, W., Kapinga, R., Kroschel, J., Labarta, R., Lemaga, B., Loechl, C., Low, J., Lynam, J., Mwanga, R., Ortiz, O., Oswald, A. & Thiele, G. 2009. Unleashing the potential of sweetpotato in Sub-Saharan Africa: Current challenges and way forward. International Potato Center (CIP), Lima, Perú. Working Paper 2009-1. 197 p.
- Aranguren-Méndez, J., Román, R., Isea, W., Villasmil, Y. & Jordana, J. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*. 13(1):30-42.
- Aritua, V. & Edipala, E. 2006. Characteristics and Diversity in Sweetpotato-Infecting Viruses in Africa. *ISHS Acta Horticulturae 703: II International Symposium on Sweetpotato and Cassava: Innovative Technologies for Commercialization*. Pp 175-181.

- Aritua, V., Mwanga, ROM., Legg, JP., Ndunguru, J., Kamau, JW, Vetten, HJ.& Gibson, RW. 2001. Status of sweetpotato virus disease in East Africa: a 1999 update on incidence. Proceedings of the 5th Triennial Conference of the African Potato Association, Kampala, Uganda (29th May – 2nd June, 2000). pp. 393-398.
- Arizio, CM., HOmpanera, N., Suarez, EY. & Manifesto MM. 2008. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. 7(2):135-138.
- Ateka, EM., Njeru, RW., Kibaru, AG., Kimenju, JW., Barg, E., Gibson, RW. & Vetten, HJ. 2004. Identification and distribution of viruses infecting sweet potato in Kenya. Ann appl Biol. 144:371-379.
- Austin, DF. 1988. The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweet potatoes and related wild species. En: Exploration, Maintenance and Utilization of Sweet Potato Genetic Resources. Report of the First Sweet Potato Planning Conference 1987. International Potato Center, Lima, Perú. Pp. 27-59.
- Austin, DF. & Huaman, Z. 1996. A synopsis of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the Americas. Taxon 45:3-38.
- Bates, CJ. 1995. Vitamin A. The lancet. 345:31-35.
- Beaumont, MA., Ibrahim, KM., Boursot, P. & Bruford, MW. 1998. Measuring genetic distance. En: Molecular tools for screening biodiversity. A. Karp *et al.* (eds) Chapman and Hall, London. Pp. 316-325.
- Belaj, A., Satovic, Z., Cipriani, G., Baldoni, L., Testolin, R., Rallo, L. & Trujillo, I. 2003. Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. Theor Appl Genet. 107:736-744.
- Botstein, D., White, RL., Skolnick, M. & Davies, RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. Am J Hum Genet. 32:314–331.
- Bradbury, JH. & Holloway, WD. 1988. Chemistry of tropical root crops: significance for nutrition and agriculture in the Pacific. ACIAR Monograph Ser. No. 6. Canberra.

- Brown, JKM. 1994. Bootstrap hypothesis tests for evolutionary trees and other dendograms. *Proc Natl Acad Sci.* 91:12293-12297.
- Buteler, MI., Jarret, RL., Labonte, DR. 1999. Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploid *Ipomoea*. *Theor Appl Genet.* 99:123-132.
- Buteler, MI., Jarret, RL., Labonte, DR. 1999. Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploidy *Ipomoea*. *Theor Appl Genet.* 99:123-132.
- Cereda, MP., Conceicao, FAD., Cagliari, AM., Heezen, AM. & Fioretto, RB. 1982. Comparative study of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) varieties to estimate their utilization in the food industry. *Turrialba.* 32(4):365-370.
- Chambers, GK. & MacAvoy, ES. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 126:455-476.
- Chirimi, B. Kapinga, R., Kanju, E., Rugutu, C. & Caley, T. 1999. On-farm evaluation of Sweet potato varieties in the Lake Zone of Tanzania. En: Potatoes for Poverty Alleviation, African Potato Association Conference Proceedings. E. Adipala, P. Nampala & M. Osiru (eds). 29 Mayo-Junio 2000. Kampala, Uganda. Pp 125-130.
- Condit, R. & Hubbel, SP. 1991. Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome* 34:66-71.
- Connolly, AG., Godwin, ID., Cooper, m. & DeLacy, IH. 1994. Interpretation of randomly amplified polymorphic DNA marker data for fingerprinting sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 88:332-336.
- Downham, MCA, Smit, NEJM., Laboke, PO., Hall, DR. & Odongo, B. 2001. Reduction of pre-harvest infestation of African sweet potato weevils *Cylas brunneus* and *C. puncticollis* (Coleoptera: Apionidae) using a pheromone mating-disruption technique. *Crop Protect.* 20:163-166.
- Eisen, JA., 1999. Mechanistic basis for microsatellite instability. En: Microsatellites: evolution and applications. DB. Goldstein & C. Schlotterer (eds). Oxford University Press, Oxford. Pp. 34–48.
- Elameen, A., Larsen, A., Klemsdal, SS., Fjellheim, S., Sundheim, L., Msolla, S., Masumba, E., Rognli, OA. 2011. Phenotypic diversity of plant morphological and root

descriptor traits within a sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam., germplasm collection from Tanzania. *Genet Resour Crop Evol.* 58:397-407.

Excoffier, L. & Smouse, PE. 1994. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. *Genetics.* 136:343-359.

Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.

Fajardo, DS., Labonte, DR., Jarret, R.L. 2002. Identifying and selecting for genetic diversity in Papua New Guinea sweetpotato *Ipomoea batatas* (L.) Lam. Germplasm collected as botanical seed. *Genet Resour Crop Evol.* 49:463-470.

FAOSTAT . 2007. Crops Primary Equivalent. Consultado 06 febrero. 2012. Disponible en <http://faostat.fao.org>.

FAOSTAT . 2010. Food and agricultural commodities production. Consultado 06 febrero. 2012. Disponible en <http://faostat.fao.org>.

Ferreira, ME. & Grattapaglia, D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Brasilia, Embrapa – cenargen. 220 p.

Frankel, OH., Brown, AHD. & Burdon, JJ. 1995. The conservation of plant biodiversity. Cambridge Univer Press. Cambridge, England. 299 p.

Fraser, LG., Harvey, CF., Crowhurst, RN. & Silva, HN. 2004. EST-derived microsatellites from *Actinidia* species and their potential for mapping. *Theor Appl Genet.* 108:1010-1016.

Fuentes, S. & Chujoy, E. 2009. Sweetpotato in South America. En: G. Loebenstein and G. Thottappilly (eds.) *The Sweetpotato*. Springer. Pp. 415-440.

Gamarra, HA., Fuentes, S., Morales, F J., Glover, R., Malumphy, C. & Barker, I. 2010. *Bemisia afer* sensu lato, a vector of *Sweet potato chlorotic stunt virus*. *Plant Dis.* 94:510-514.

Gao, LF., Tang, JF., Li, HW. & Jian, JZ. 2003. Analysis of microsatellites in major crops assessed by computational and experimental approaches. *Mol Breed.* 12(3):245-261.

- Gasura, E. & Mukasa, SB. 2010. Prevalence and implications of sweetpotato recovery from sweetpotato virus disease in Uganda. *Afr Crop Sci J.* 18(4):195-205.
- Gichuki, ST, Berenyi, M., Zhang, D., Hermann, M., Schmidt, J., Glössl, J. & Burg, K. 2003. Genetic diversity in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] in relationship to geographical sources as assessed with RAP markers. *Genet Resour Crop Evol.* 50: 429-437.
- Gibson, RW., Mpembe, I., Alicai, T., Carey, EE., Mwange, ROM., Seal, SE. & Vetten, HJ. 1998. Symptoms, aetiology and serological analysis of sweet potato virus disease in Uganda. *Plant Pathol.* 47:95-102.
- Gibson, RW. & Aritua, V. 2002. The perspective of sweetpotato chlorotic stunt virus in sweetpotato production in Africa: a review. *Afr Crop Sci J.* 10(4):281-310.
- Gibson, RW., Mpembe, I. & Mwanga, ROM. 2011. Benefits of participatory plant breeding (PPB) as exemplified by the first-ever officially released PPB-bred sweet potato cultivar. *J Agr Sci.* 149:625-632.
- Gichuki, ST, Berenyi, M., Zhang, D., Hermann, M., Schmidt, J., Glössl, J. & Burg, K. 2003. Genetic diversity in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] in relationship to geographical sources as assessed with RAP markers. *Genet Resour Crop Evol.* 50:429-437.
- Goodman, MM. & Stuber, EW. 1983. Races of maize. VI. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. *Maydica.* 28:169-187.
- Hahn, SK. 1979. Effects of viruses (SPVD) on growth and yield of sweet potato. *Exp Agric.* 15:253-256.
- Hair, JR., Anderson, RE., Tatham, RL. & Black, WC. 1995. *Multivariate data analysis: with readings.* Prentice-Hall. Englewood Cliffs, NJ. 745 pp.
- Heffner, EL., Sorrells, ME. & Jannink, J. 2009. Genomic Selection for Crop Improvement. *Crop Sci.* 49:1-12.
- Hernandez,TP., Hernandez, T., Miller, JC. 1964. Frequency of Somatic Mutations in Several Sweet Potato Varieties. *J Amer Soc Hort Sci.* 85:430-434.

- Hernandez, TP., Hernandez, T., Constanin, RJ. & Kakar, RS. 1967. Improved techniques in breeding and inheritance of some of the characters in the sweet potato (*Ipomoea batatas*). International Symposium on Tropical Root and Tuber Crops. St. Augustine, Trinidad, 2-8 April. St. Augustine, Trinidad. Pp 31-40.
- Highton, R. 1993. The Relationship between the Number of Loci and the Statistical Support for the Topology of UPGMA Trees Obtained from Genetic Distance Data. *Mol Phylogenet Evol.* 2(4):337-343.
- Ho, HT. 1970. Studies on some major pests of sweet potatoes and their control. *Malay Agric J.* 47:437-452.
- Hokanson, SC., Szewc-McFadden, AK., Lamboy, WF. & McFerson, JR. 1998. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* borkh. core subset collection. *Theor Appl Genet.* 97:671-683.
- Hu, J., Nakatani, M., Garcia, A., Kuranouchi, T. & Fujimura, T. 2003. Genetic Analysis of Sweetpotato and Wild Relatives using Inter-simple Sequence Repeats (ISSRs). *Breed Sci.* 53:297-304.
- Hu, J., Nakatani, M., Mizuno, K. & Fujimura, T. 2004. Development and Characterization of Microsatellite Markers in Sweetpotato. *Breed Sci.* 54:177-188.
- Huaman, Z. 1992. Systematic botany and morphology of the sweet potato plant. Technical Information Bulletin 25. International Potato Center, Lima, Peru. 22 p.
- Huang, JC. & Sun, M. 2000. Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its wild relatives in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. *Theor Appl Genet.* 100:1050-1060.
- International Potato Center, Asian Vegetable Research and Development Center & International Board for Plant Genetic Resources. 1991. Descriptors for sweet potato. Z. Huamán (ed) Intl. Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 51 p.
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull Soc Vaudoise Sci Natl.* 55:223-270.

- Jansson, RK., Bryan, HH. & Sorenson, KA. 1987. Within-vine distribution and damage of sweetpotato weevil, *Cylas formicarius elegantus* (Coleoptera: Curculionidae) on four cultivars of sweet potato in southern Florida. Fla Entomol. 70: 523-526.
- Jarret, RL., Gawel, N. & Whitmore, A. 1992. Phylogenetic relationships of the Sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117: 633-637.
- Jarret, RL., Austin, DF. 1994. Genetic diversity and systematic relationship in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] and related species as revealed by RAPD analysis. Gen. Res. Crop Evol. 41: 165–173.
- Jarret, RL. & Bowen, N. 1994. Simple sequence repeats (SSRs) for sweetpotato germplasm characterization. Plant Genet Res Newslett. 100:9-11.
- Kaledzi, PD., Ansong, E., Dapaah, HK. & Timpo, G. 2010. Agro-morphological characterization of sweet potato (*Ipomoea batatas*) germplasm. Ghana Journal of Horticulture. 8:1-11.
- Karyeija, RF., Gibson, RW, Valkonen, JPT. 1998. The Significance of Sweet Potato Feathery Mottle Virus in Subsistence Sweet Potato Production in Africa. Plant Dis. 82:4-15.
- Karyeija, RF., Kreuze, JF., Gibson, RW. & Valkonen, JPT. 2000. Synergistic Interactions of a Potyvirus and a Phloem-Limited Crinivirus in Sweet Potato Plants. Virology. 269:26-36.
- Kennedy, LS. & Thompson, PG. 1991. Identification of sweet potato cultivars using isozyme analysis. HortScience 26(3):300-302.
- Kimura, M., Kobori, CH., Rodriguez-Amaya, DB. & Nstel, P. 2006. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweet potato, cassava and maize for plant breeding trials. Food Chem. 100:1734-1746.
- Kloosterman, AD., Budowle, B. & Daselaar, P. 1993. PCR-amplification and detection of the human D1S80 VNTR locus. Int J Leg Med. 105:257-264.

- Konczak-Islam, I., Yoshimoto, M., Hou, D., Terahara, N. & Yamakawa, O. 2003. Potential chemopreventive properties of anthocyanin-rich aqueous extracts from in vitro produced tissue of sweet potato (*Ipomoea batatas* L). *J Agric Food Chem.* 51:5916-5922.
- Kreuze, JF., Karyeija, RF., Gibson, RW. & Valkonen, JPT. 2000. Comparison of coat protein gene sequences show that East African isolates of sweetpotato feathery mottle virus from a genetically distinct group. *Arch Virol.* 145:567-574.
- Lin, DV., Li, W. & Lu, XY. 1989. Studies on carotenoid and flesh colour of sweet potato root tubers. *Acta Agronomica Sinica.* 15(3):260-166.
- Loebenstein, G., Thottappilly, G., Fuentes, S. & Cohen, J. 2009. Virus and Phytoplasma Diseases. En: *The Sweetpotato.* G. Loebenstein & G. Thottappilly (eds). Heidelberg, Germany. Springer. 522p.
- Lombard, V., Baril, CP., Dubreuil, P., Blouet, F. & Zhang, D. 2000. Genetic relationships and fingerprinting of rapeseed cultivars by AFLP: Consequences for varietal registration. *Crop Sci.* 40:1417-1425.
- Lopez, A., Williams, HL. & Cooler, FW. 1980. Essential elements in fresh and canned sweet potatoes. *J Food Sci.* 45(3):675-678.
- Low, J., Walker, T. & Hijmans, R. 2001. The potential impact of orange-fleshed sweet potato on Vitamin-A intake in sub-Saharan Africa. *Regional Workshop on Food Based Approaches to Human Nutritional Deficiencies: The VITAA Project, Vitamin A and Orange-fleshed sweet potato in sub-Saharan Africa.* May 9-11, 2001. Nairobi, Kenya.
- Maia, LC., Palmieri, DA., Souza, VQ., Kopp, MM., Carvalho, FIF. & Oliveira, AC. 2008. SSR Locator: Tool for Simple Sequence Repeat Discovery Integrated with Primer Design and PCR Simulation. *Int J Plant Genom.* 9 p.
- McMaster, DN. 1962. A subsistence crop geography of Uganda. *The World Land Use Survey Occasional Papers No.2.* Geographical Publications Ltd, Bude, Cornwall, London. 111 pp.
- Menottiraymond, MA. & Obrien, SJ. 1995. Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felida. *J. of Heredity* 86:319-322.

- Milligan, GW. & Cooper, M. 1985. An examination of procedures for determining the number of clusters in a data set. *Psychometrika*. 50:159-179.
- Mohammadi, SA.& Prasanna, BM. 2003. Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants – Salient Statistical Tools and Considerations. *Crop Sci*. 43:1235-1248.
- Mohna, FJ., Shen, P., Jong, SC. & Orikono, K. 1992. Molecular evidence supports the separation of *Lentinula edodes* from *Lentinus* and related genera. *Can J Bot*. 70:2446-2452.
- Morgante, M. & Olivieri, AM. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J*. 3(1):175-182.
- Moyer, JW. & Salazar, L F. 1990. Viruses and virus-like diseases of sweet potato. En: *International Potato Center, Control of Virus and Virus-like diseases of Potato and Sweet Potato. Report of the 3 Planning Conference, Lima, Perú. 20-22 Nov. 1989. Lima. pp. 13-19.*
- Mukiibi, J. 1977. Effect of mosaic on the yield of sweetpotatoes in Uganda. En: *Proceedings of Tropical Root Crops Symposium. J. Cook, R. MacIntyre & M. Graham (eds). CIAT, Cali, Colombia. Pp.169-170.*
- Mukasa, SB., Rubaihayo, PR. & Valkonen, JPT. 2003. Incidence of viruses and viruslike diseases of sweetpotato in Uganda. *Plant Dis*. 87:329-335.
- Mullen, MA. 1984. Influence of sweetpotato weevil infestation on the yields of twelve sweet potato lines. *J Agric Entomol*. 1:227-30.
- Mumm, RL., Hubert, J. & Dudley, JW. 1994. A classification of 148 U.S. maize inbreds: II. Validation of cluster analysis based on RFLPs *Crop Sci*. 34:852-865.
- Murray, MG. & Thompson, WF. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*. 8(19): 4321–4325.
- Muzzalupo, I., Stefanizzi, F., Salimonti, A., Falabella, R. & Perri, E. 2009. Microsatellite markers for identification of a group of italian olive accessions. *Sci Agric*. 66(5):685-690.
- Mwanga, ROM., Odongo, B. Ocitti p'Obwoya, C., Gibson, RW., Smit, NEJM. & Carey, EE. 2001. Release of Five Sweetpotato Cultivars in Uganda. *HortScience*. 36(2):385-386.

- Mwanga, ROM., Odongo, B., Turyamureeba, G., Alajo, A., Yecho, GC., Gibson, RW., Smit, NEJM. & Carey, EE. 2003. Release of Six Sweetpotato Cultivars ('NASPOT 1' to 'NASPOT 6') in Uganda. *HortScience* 38(3):475-476.
- Mwanga, ROM., Odongo, B., Niringiye, C., Alajo, A., Abidin, PE., Kapinga, R., Tumwegamire, S., Lemaga, B., Nsumba, J. & Carey, EE. 2007. Release of Two Orange-fleshed Sweetpotato Cultivars, 'SPK004' ('Kakamega') and 'Ejumula', in Uganda. *HortScience*. 42(7):1728-1730.
- Mwanga, ROM., Odongo, B., Niringiye, C., Alajo, A., Kigozi, B., Makumbi, R., Lugwana, E., Namukula, J., Mpembe, I., Kapinga, R., Lemaga, B., Nsumba, J., Tumwegamire, S. & Yecho, CG. 2009. 'NASPOT 7', 'NASPOT 8', 'NASPOT 9 O', 'NASPOT 10 O', and 'Dimbuka-Bukulula' Sweetpotato. *HortScience*. 44(3):828-832.
- Mwanga, ROM., Kigozi, B., Namakula, J., Mpembe, I., Niringiye, C., Tumwegamire, S., Gibson, RW. & Yecho, GC. 2010. Submission to the Variety Release Committee for Release of Sweetpotato Varieties 2009. Uganda: National Agricultural Research Organization (NARO).
- Mwololo, JK., Mburu, MWK., Njeru, RW., Ateka, EM., Kiarie, N., Munyua, JK., Muinga, RW., Kapinga, R. & Lemaga, B. 2007. Resistance of sweetpotato genotypes to sweetpotato virus disease in coastal Kenya. *African Crop Science Conference Proceedings*. Vol 8. Pp 2083-2086.
- Namanda, S., Gibson, R., Sindi, K. 2011. Sweetpotato Seed Systems in Uganda, Tanzania, and Rwanda. *J Sustain Agr*. 35:870-884.
- National Research Council. 1993. *Managing Global Genetic Resources: Agricultural Crop Issues and Policies*. Vol I. Washington, DC: The National Academies Press. 380 p.
- Nei, M. & Li, W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci*. 76:5269-5273.
- Ngeve, JM. & Bouwkamp, JC. 1991. Effects of Sweet Potato Virus Disease (SPVD) on the Yield of Sweet Potato Genotypes in Cameroon. *Exp Agr*. 27:221-225.
- O'Brien, PJ. 1972. The Sweet Potato: Its Origin and Dispersal. *Am Anthropol*. 74(3):342-365.

- Padmaja, G. 2009. Uses and Nutritional Data of Sweetpotato. En: The Sweetpotato. G. Loebenstein & G. Thottappilly (eds). Heidelberg, Germany. Springer. 522 p.
- Pemberton, T.J., Sandefur, C.I., Jakobsson, M. & Rosenberg, N.A. 2009. Sequence determinants of human microsatellite variability. *BMC Genom.* 10:612.
- Perrier, X., Jacquemoud-Collet J.P. 2006. DARwin software. Disponible en: <http://darwin.cirad.fr/darwin>
- Picca, A., Helguera, M., Salomón, N., Carrera, A., 2004. Capítulo4: Marcadores moleculares. En: *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. Parte II Capitulo 4 ed.: V Echenique, C. Rubinstein, L. Mroginski (eds).*
- Picha, D.H. 1985. Crude protein, minerals and total carotenoids in sweetpotatoes. *J Food Sci.* 50(6):1768-1769.
- Purcell, A.E., Swaisgood, H.E. & Pope, D.H. 1972. Protein and amino acid content of sweetpotato cultivars. *J Am Soc Hort Sci.* 97:30-33.
- Rajapakse, S., Nilmalgoda, S.D., Molnar, M., Ballar, R.E., Austin, D.F. & Bohac, J.R. 2004. Phylogenetic relationships of the sweetpotato in *Ipomoea* series *Batatas* (Convolvulaceae) based on nuclear  $\beta$ -amylase gene sequences. *Mol Phylogenet Evol.* 30:623-632.
- Ray, R.C. & Ravi, R. 2005. Post Harvest Spoilage of Sweetpotato in Tropics and Control Measures. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35:623-644.
- Rinon, F., Johnson, B., Crossa, J. & Taba, S. 1996. Cluster analysis, an approach to sampling variability in maize accessions. *Maydica.* 41:307-316.
- Rohlf, F. 2000. NTSYS-pc, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. Exeter Publications, New York, USA.
- Roullier, C., Rossel, G., Tay, D., McKey, D. & Lebot, V. 2011. Combining chloroplast and nuclear microsatellites to investigate origin and dispersal of New World sweet potato landraces. *Mol Ecol.* 20:3963-3977.

- Sagredo, B., Hinrichsen, P., López, H., Cubillos, A. & Muñoz, C. 1998. Genetic variation of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.) cultivated in Chile determined by RAPDs. *Euphytica*. 101:193-198.
- Schaefer, GA. & Terry, ER. 1976. Insect transmission of sweet potato disease agents in Nigeria. *Phytopathology*. 66:642-645.
- Schafleitner, R., Tincopa, LR., Palomino, O., Rossel, G., Robles, RF., Alagon, R., Rivera, C., Quispe, C., Rojas, L., Pacheco, JA., Solis, J., Cerna, D., Kim, JY., Hou, J. & Simon, R. 2010. A sweetpotato gene index established by de novo assembly of pyrosequencing and Sanger sequences and mining for gene-based microsatellite markers. *BMC Genom.* 11:604.
- Scott, G.J., Best, R., Rosegrant, M., Bokanga, M. 2000. Roots and tubers in the global food system: A vision statement for the year 2020. International Potato Center, Lima, Peru. 111 p.
- Sevilla, R. & Holle, M. 2004. Recursos Genéticos Vegetales. Ediciones Torre Azul SAC. Lima, Perú. 445 p.
- Simonne, AH., Kays, SJ., Koehler, PE. & Eilenmiller, RR. 1993. Assessment of  $\beta$ -carotene in sweet potato breeding lines in relation to dietary requirements. *J Food Compos Ana.* 6:336:345.
- Shiotani, I. & Kawase, T. 1989. Genomic Structure of the Sweet Potato and Hexaploids in *Ipomoea trifida* (H.B.K.) DON. *Japan J Breed.* 39:57-66.
- Sisko, M. & Javornik, B. 2007. Effectiveness of AFLP and SSR molecular markers in determination of genetic relationships among pear (*Pyrus* spp.) genotypes. *Agricultura.* 5:21-24.
- Smit, NEJM., Downham, MCA., Laboke, PO., Hall, DR. & Odongo, B. 2001. Mass-trapping male *Cylas* spp. With sex pheromones: a potential IPM component in sweetpotato production in Uganda. *Crop Protect.* 20:643-651.
- Smýkal, P., Horáček, J., Dostálová, R. & Hýbl, M. 2008. Variety discrimination in pea (*Pisum sativum* L.) by molecular, biochemical and morphological markers. *J Appl Genet.* 49(2): 155-166.

- Sneath, PHA. & Sokal, RR. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco. 573 p.
- Sokal, RR., & Michener, CD. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. Univ Kansas Sci Bull. 38:1409-1438.
- Sorensen, KA. 2009. Sweetpotato Insects: Identification, Biology and Management. En: The Sweetpotato. G. Loebenstein & G. Thottappilly (eds). Heidelberg, Germany. Springer. 522pp.
- Splittstoesser, WE. 1977. Protein quality and quantity of tropical roots and tubers. Hort Sci. 12:294-298.
- Stathers, TE., Rees, D., Kabi, S., Mbilinyi, L., Smit, N., Kiozya, H., Nyango, A. & Jeffries, D. 2003. Sweetpotato infestation by *Cylas* spp. In East Africa: I. Cultivar differences in field infestation and the role of plant factors. Int J Pest Manag. 49(2):131-140.
- Story, RN., Hammond, A., Labonte, Thompson, P. & Bahoc, J. 1999. Evaluation of sweetpotato germplasm for resistance to sweetpotato weevil. Arthropod Manage Tests. 24:438-439.
- Subramanian, TR., David, BV., Thangavel, P. & Abraham, EV. 1977. Insect pest problems of tuber crops in Tamil, Nadu. J Root Crops. 3:43-50.
- Sutherland, JA. 1986. A review of the biology and control of the sweetpotato weevil *Cylas formicarius* (Fab). Trop Pest Manag. 32(4):304-315.
- Tairo, F., Mneney, E. & Kullaya, A. 2008. Morphological and agronomical characterization of Sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] germplasm collection from Tanzania. Afr J Plant Sci. 2(8):77-85.
- Takahata, Y., Noda, T. & Nagata, T. 1993. HPLC determination of  $\beta$ -carotene content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. Japan J Breed. 43:421-427.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphism markers. Nucleic Acids Res. 12:4127-4138.
- Tessier, C., David, J., This, P., Boursiquot, JM. & Charrier, A. 1999. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. Theor Appl Genet. 98:171-177.

Tomlins, K. I., Rees, D., Ray, R.C. and Westby, A. 2010. Sweet potato utilization, storage and small scale processing in Africa: Overview. En: Sweet Potato: Post – harvest Aspects in Food, Feed and Industry, (Eds., Ramesh C. Ray and Keith I. Tomlins), Nova Science Publishers Inc., Hauppauge, New York, USA, Pp. 271- 294.

Tseng, Y., Lo, H. & Hwang, S. 2002. Genotyping and assessment of genetic relationships in elite polycross breeding cultivars of sweet potato in Taiwan base don SAMPL Polymorphisms. Bot Bull Acad Sin. 43:99-105.

Tumwegamire, S., Kapinga, R., Rubaihayo, PR., Labonte, DR., Wolfgang, G., Burgos, G., Felde, TZ, Carpio, R., Pawelzik, E., Mwangi, ROM. 2011. Evaluation of Dry Matter, Protein, Starch, Sucrose,  $\beta$ -carotene, Iron, Zinc, Calcium, and Magnesium in East African Sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] Germplasm. HortScience. 46(3): 348-357.

Uritani, I., Saito, T., Honda, H. & Kim, WK. 1975. Induction of furano-terpenoids in sweet potato roots by the larval components of the sweet potato weevils. Agr Biol Chem. 39(9):1857-1862.

Valverde, RA., Sim, J. & Lotrakul, P. 2004. Whitefly transmission of sweet potato viruses. Virus Res. 100:123-128.

Veasey, E., Borges, A, Rosa, MS., Queiroz-Silva, JR. 2008. Genetic diversity in Brazilian sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam., Solanales, Convolvulaceae) landraces assessed with microsatellite markers. Genet Mol Biol. 31(3):725-733.

Velasco, R. 2005. Marcadores Moleculares y la Extracción de ADN. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Facultad de Ciencias Agropecuarias-Universidad del Cauca, Colombia. 3(1):14-18.

Villareal, RL., Tsou, SCS., Lin, SK. & Chiu, SC. 1979. Use of sweet potato (*Ipomoea batatas*) leaf tips as vegetable. II. Evaluation of yield and nutritive quality. Exptl Agric. 15.117-122.

Vimala, B. 1990. Breeding methods in sweetpotato. Second International training curse on sweet potato production. India. Pp. 40-48.

- Vimala, B. & Hariprakash, B. 2011a. Variability of morphological characters and dry matter content in the hybrid progenies of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L) Lam). *Gene Conserve*. 10(39):65-86.
- Vimala, B., Sreekanth, A., Binu, H. & Wolfgang, G. 2011b. Variability in 42 Orange-Fleshed Sweet Potato Hybrids for Tuber Yield and Carotene & Dry matter Content. *Gene Conserve*. 10(40):190-200.
- Weber, JL. & May, PE. 1989. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44:388-396.
- Weber, JL. 1990. Informativeness of Human (dC-dA)<sub>n</sub>-(dG-dT)<sub>n</sub> Polymorphisms. *Genomics*. 7(4):524-530.
- Weir, BS. 1996. *Genetic data analysis II*. Second edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, MA. 445 p.
- West, KP. 2002. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr.* 132:S2857-S2866.
- Woolfe, JA. 1992. *Sweet potato: an untapped food resource*. Cambridge University Press, 643 p.
- Wolfe, GW. The origin and dispersal of the pest species of *Cylas* with a key to the pest species groups of the world. En: *Sweet potato pest management: a global perspective*. R. Jansson & K. Raman (eds). Westvie Press, Bould, CO, USA. Pp. 13-43.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann Eugenics*. 15:323-354.
- Wright, S. 1978. *Evolution and genetics of populations*. Vol IV. The University of Chicago Press, Chicago, IL. 590 p.
- Xue-qin, H., Qing-Chang, L., Ishiki, K., Hong, Z. & Yu-Ping, W. 2007. ISSR analysis of genetic diversity and relationships among sweet potato (*Ipomoea batatas*) landraces in China. *Plant Genet Resour Newslett.* 150:35-41.
- Yada, B., Tukamuhabwa, P., Villordon, A., Alajo, A. & Mwanga, ROM. 2010a. An Online Database of Sweetpotato Germplasm Collectoin in Uganda. *HortScience* 45(1):153.

- Yada, B., Tukamuhabwa, P., Alajo, A. & Mwangi, ROM. 2010b. Morphological Characterization of Ugandan Sweetpotato Germplasm. *Crop Sci.* 50:2364-2371.
- Yada, B. Tukamuhabwa, P., Wanjala, B., Kim, DJ., Skilton, RA., Alajo, A. & Mwangi, ROM. 2010c. Characterization of Ugandan Sweetpotato Germplasm Using Fluorescent Labeled Simple Sequence Repeat Markers. *HortScience.* 45(2)225-230.
- Yoshimoto, M. 2010. Physiological Functions and Utilization of Sweet Potato En: Sweet Potato: Post – harvest Aspects in Food, Feed and Industry. RC. Ray & KI. Tomlins (eds). Nova Science Publishers. New York, USA. Pp. 59-89.
- Zhang, LY. & Xie, YZ. 1998. Inheritance of flesh colour and its correlation with other traits in sweet potato (*Ipomoea batatas*) *J Agri Sci.* 4:30-34.
- Zhang, DP., Cervantes, J., Huamán, Z., Carey, E. & Ghislain, M. 2000. Assessing genetic diversity of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars from tropical America using AFLP. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 47:659-665.
- Zhang, DP., Carbajulca, D., Ojeda, L., Rossel, G., Milla, S., Herrera, C. & Ghislain, M. 2001. Microsatellite Analysis of Genetic Diversity in Sweetpotato Varieties from Latin America. En: CIP Program report 1999-2000. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.
- Zhang, DP.; Rossel, G., Kriegner, A. & Hijmans, R. 2004. AFLP assessment of diversity in sweetpotato from Latin America and the Pacific region: Its implications of the dispersal of the crop. *Genet. Resour. Crop Evol.* 51:115-120.

## IX. ANEXOS

Anexo 1: Datos pasaporte y color de pulpa de accesiones de camote utilizadas.

<b>Código</b>	<b>Accesión</b>	<b>Código CIP/colección</b>	<b>País/Instituto de Origen</b>	<b>Estatus</b>	<b>Color pulpa</b>
1A	Carrot-C		Tanzania	cultivar nativo	naranja
2A	Ejumula		Uganda	cultivar nativo	naranja
3A	Resisto	CIP440001	Estados Unidos	variedad mejorada	naranja
4A	Zambezi		Zambia	variedad mejorada	naranja
5A	Carrot Dar		Tanzania	ND	naranja
6A	Mayai		Tanzania	cultivar nativo	naranja
7A	Abuket 1	SRT33	Uganda	cultivar nativo	naranja
8A	SN	KMI61	Uganda	cultivar nativo	naranja
9A	Osapat	SRT01	Uganda	cultivar nativo	crema
10A	Osukut	SRT43	Uganda	cultivar nativo	amarillo
11A	Ubuogo		Kenia	ND	ND
12A	Opaade	KMI88	Uganda	cultivar nativo	crema
13A	Kakoba	KSR662	Uganda	cultivar nativo	crema
14A	Sponge		Kenia	ND	naranja
15A	Epura Amojong	SRT28	Uganda	cultivar nativo	crema
16A	Oguoirwe		Kenia	ND	crema
17A	Anyumel	SRT35	Uganda	cultivar nativo	naranja
18A	Oleke	APA335	Uganda	cultivar nativo	amarillo
19A	Kalobo	MSD431	Uganda	cultivar nativo	ND
20A	Rwabuganda	KRE696	Uganda	cultivar nativo	crema
21A	Kibogo	KRE723	Uganda	cultivar nativo	crema
22A	NK318L		ND	ND	ND
23A	Santo Amaro	CIP400011	Brasil	ND	naranja
24A	SN	APA356	Uganda	cultivar nativo	crema
25A	Kyebandira 2	RAK848	Uganda	cultivar nativo	crema

<b>Código</b>	<b>Accesión</b>	<b>Código CIP/colección</b>	<b>País/Instituto de Origen</b>	<b>Estatus</b>	<b>Color pulpa</b>
26A	Anamoyito	LIR302	Uganda	cultivar nativo	crema
27A	Dimbuka 2	RAK865	Uganda	cultivar nativo	crema
28A	Mary		Uganda	ND	ND
30A	Rainha		Mozambique	ND	ND
31A	TIS9265		IITA	ND	naranja
32A	TIS9101		IITA	ND	naranja
33A	WT-237		ND	ND	naranja
34A	Tororo 3		Uganda	cultivar nativo	crema
35A	Silk omuyaka	PAL94	Uganda	cultivar nativo	crema
36A	Kyebandula	MLE163	Uganda	cultivar nativo	crema
37A	Koromojo	ARA209	Uganda	cultivar nativo	amarillo
38A	Tedolo Keren 1	LIR258	Uganda	cultivar nativo	crema
39A	Liralira	APA323	Uganda	cultivar nativo	ND
42A	Kahungezi	MBR552	Uganda	cultivar nativo	crema
43A	Burundi	KBL611	Uganda	cultivar nativo	ND
44A	SN	RAK786	Uganda	cultivar nativo	amarillo
45A	Kalebe	KRE691	Uganda	cultivar nativo	blanca
46A	Kibanda	BSH740	Uganda	cultivar nativo	amarillo
47A	SN	LUW1230	Uganda	cultivar nativo	crema
48A	Bunduguza	KML872	Uganda	cultivar nativo	amarillo
49A	Bunduguza empyaka	IGA994	Uganda	cultivar nativo	blanca
50A	Dimbuka obuleku	MSK1040	Uganda	cultivar nativo	blanca
51A	Dimbuka	MKN171	Uganda	cultivar nativo	crema
52A	Silk		Uganda	ND	ND
53A	Otada		Uganda	ND	ND
54A	Tanzania	CIP440166	Uganda	cultivar nativo	blanca
55A	Naspot 1		NAARI	variedad mejorada	amarillo
56A	Kasoga	KRE695	Uganda	cultivar nativo	crema
57A	Jewel	CIP440031	Estados Unidos	variedad mejorada	naranja
58A	Bearegard	CIP440132	Estados Unidos	ND	naranja
59A	Naspot 5		NAARI	variedad mejorada	naranja
60A	Kyabafuluki		Uganda	ND	ND

<b>Código</b>	<b>Accesión</b>	<b>Código CIP/colección</b>	<b>País/Instituto de Origen</b>	<b>Estatus</b>	<b>Color pulpa</b>
61A	Caromex	CIP440136	Estados Unidos	variedad mejorada	naranja
62A	Excel	CIP440016	Estados Unidos	ND	naranja
63A	Zapallo	CIP420027	Perú	ND	amarillo
64A	Tainung 64	CIP440189	Taiwán	ND	naranja
65A	Naspot 5/58		ND	variedad mejorada	naranja
66A	Kampala Red	KMI59	Uganda	cultivar nativo	crema
67A	W-115		ND	ND	naranja
68A	Silk		Uganda	ND	ND
69A	K-118		ND	ND	naranja
70A	Naspot 3		NAARI	variedad mejorada	crema
71A	K-566632		Kenia	desconocido	naranja
72A	Magabari		Uganda	ND	ND
73A	SN	RAK835	Uganda	cultivar nativo	blanca
74A	Dar-es-Salaam Carrot	SRT37	Uganda	cultivar nativo	naranja
75A	Suwedi	MSD384	Uganda	cultivar nativo	amarillo
76A	SN	KBL648	Uganda	cultivar nativo	blanca
77A	199062.1		CIP-HQ	variedad mejorada	amarillo
78A	Tuulansime	MLE191	Uganda	cultivar nativo	crema
79A	Bungoma	MLE199	Uganda	cultivar nativo	crema
80A	Duduma 2	KML956	Uganda	cultivar nativo	crema
81A	SN	MPG1122	Uganda	cultivar nativo	blanca
82A	Dduka enzala	RAK808	Uganda	cultivar nativo	amarillo
84A	Koromojo Red	ARA224	Uganda	cultivar nativo	crema
85A	Bikiramaria	MPG1158	Uganda	cultivar nativo	amarillo
87A	SN	KBL631	Uganda	cultivar nativo	blanca
88A	SN	RAK819	Uganda	cultivar nativo	amarillo
89A	SN	KML881	Uganda	cultivar nativo	crema
91A	SN	IGA978	Uganda	cultivar nativo	amarillo
92A	Oketodede	APA352	Uganda	cultivar nativo	amarillo
93A	Nylon	LUW1274	Uganda	cultivar nativo	blanca
94A	SN	MKN1168	Uganda	cultivar nativo	crema
95A	Uganda Mali	SRT41	Uganda	cultivar nativo	amarillo

<b>Código</b>	<b>Accesión</b>	<b>Código CIP/colección</b>	<b>País/Instituto de Origen</b>	<b>Estatus</b>	<b>Color pulpa</b>
96A	SN	KML960	Uganda	cultivar nativo	morado
97A	SN	MPG1128	Uganda	cultivar nativo	crema
98A	Munafu Dimbuka	MSK1079	Uganda	cultivar nativo	blanca
99A	SN	MKN1224	Uganda	cultivar nativo	crema
100A	Mugiga	BSH741	Uganda	cultivar nativo	crema
1B	Bunduguza 2	SRT24	Uganda	cultivar nativo	crema
2B	Kigaire	SRT27	Uganda	cultivar nativo	crema
3B	Namusoga	PAL134	Uganda	cultivar nativo	crema
4B	SN	PAL148	Uganda	cultivar nativo	crema
6B	Koromojo Red	ARA224	Uganda	cultivar nativo	crema
7B	Bunduguza empyaka 2	IGA998	Uganda	cultivar nativo	blanca
8B	Gulu	MPG1148	Uganda	cultivar nativo	crema
10B	Dimbuka	HMA496	Uganda	cultivar nativo	blanca
11B	Wagabolige	CIP440167	Uganda	cultivar nativo	blanca
12B	New Kawogo	CIP441743	Uganda	cultivar nativo	blanca
13B	Ukerewe		Uganda	ND	naranja
14B	Bitambi		Uganda	ND	ND
15B	Sowola	CIP441744	NAARI	variedad mejorada	crema
16B	SN	KML942	Uganda	cultivar nativo	amarillo
17B	Karebe	MBR536	Uganda	cultivar nativo	crema
18B	Naspot 7		NaCRRI	variedad mejorada	naranja
19B	Naspot 9 O		NaCRRI	variedad mejorada	naranja
20B	Naspot 10 O		NaCRRI	variedad mejorada	naranja
21B	NK1081L		ND	ND	ND
22B	NK259L		ND	ND	ND
23B	DLP3163	CIP420269	Perú	cultivar nativo	amarillo
24B	Huarmeyano	CIP420020	Perú	cultivar nativo	crema
25B	Semanda	MPG1136	Uganda	cultivar nativo	crema
26B	SN	MSK1094	Uganda	cultivar nativo	crema
27B	Mukoma	KMI76	Uganda	cultivar nativo	crema
28B	Silimu	IGA983	Uganda	cultivar nativo	crema
29B	SN	MKN1180	Uganda	cultivar nativo	crema

<b>Código</b>	<b>Accesión</b>	<b>Código CIP/colección</b>	<b>País/Instituto de Origen</b>	<b>Estatus</b>	<b>Color pulpa</b>
30B	SN	MKN1210	Uganda	cultivar nativo	blanca
31B	SN	LUW1257	Uganda	cultivar nativo	blanca
32B	Dimbuka-Bukulula		Uganda	cultivar nativo	crema
33B	Dagadaga	PAL108	Uganda	cultivar nativo	crema
34B	Kawogo Old	HMA490	Uganda	cultivar nativo	blanca
35B	Kigabali	KBL618	Uganda	cultivar nativo	amarillo
36B	Kamamanzi	KBL619	Uganda	cultivar nativo	crema
37B	SN	KBL650	Uganda	cultivar nativo	crema
38B	Woluganda	MLE179	Uganda	cultivar nativo	crema
39B	SPK004	CIP441768	Kenia	cultivar nativo	naranja
40B	BND145L		ND	ND	ND
41B	Tengerere	PAL133	Uganda	cultivar nativo	crema
42B	Mpaifumbiro	KML875	Uganda	cultivar nativo	crema
43B	Mpambire	MPG1146	Uganda	cultivar nativo	crema
44B	Tanzania	ARA236	Uganda	cultivar nativo	crema
45B	Shock	MLE194	Uganda	cultivar nativo	
46B	Silk	LUW1254	Uganda	cultivar nativo	crema
47B	Malagalia	MSD380	Uganda	cultivar nativo	crema
48B	Mbale	MPG1151	Uganda	cultivar nativo	amarillo
49B	Kala		Uganda	cultivar nativo	ND
50B	Mugande		Rwanda	ND	ND
1C	Jonathan	CIP420014	Perú	cultivar nativo	amarillo
2C	Xushu 18	CIP440025	China	variedad mejorada	naranja
3C	Yanshu 1	CIP440024	China	cultivar nativo	naranja
4C	Naveto	CIP440131	Papúa Nueva Guinea	ND	naranja
5C	Resisto (CIP)	CIP440001	Estados Unidos	ND	amarillo
6C	SPK004 (CIP)	CIP441768	Uganda	ND	naranja

Códigos distritales de Uganda: SRT= Soroti, KMI=Kumi , KSR=Kisoro, APA=Apac, MSD=Masindi, KRE=Kabarole, RAK=Rakai, PAL=Pallisa, MLE=Mbale, ARA=Arua, LIR=Lira, MBR= Mbarara, KBL=Kabale, BSH=Bushenyi, LUW=Luwero, KML=Kamuli, IGA=Iganga, MSK=Masaka, MKN=Mukono, MPG=Mpigi, HMA=Hoima. SN=Sin nombre, ND=No disponible

## **Anexo 2:** Protocolo de extracción de ADN.

Se realizó una extracción de ADN de hojas liofilizadas según el protocolo estandarizado en el CIP, a partir de la metodología descrita por Murray y Thompson (1980). Para cada muestra procesada se completaron los siguientes pasos:

1. Se pulverizó 1 ó 2 hojas de camote liofilizadas con nitrógeno líquido en un mortero y se transfirió el material pulverizado a un tubo de 50 mL que contenía 20 mL de CTAB 2X y 200  $\mu$ L de  $\beta$ -mercaptoetanol.
2. La mezcla se incubó a 65°C en un baño maría por 20 minutos.
3. Luego, se adicionó el mismo volumen de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) al tubo y se homogenizó por inversión.
4. Se centrifugó la muestra por 15 minutos a 4000 rpm y se transfirió el sobrenadante a un tubo de 50 mL nuevo.
5. Se repitieron los pasos 3 y 4 sucesivamente.
6. Se agregó  $\frac{3}{4}$  partes de isopropanol con respecto al volumen transferido al tubo nuevo y se incubó a -20°C por 30 minutos.
7. Se separó la medusa de ADN en el tubo del isopropanol utilizando una pipeta Pasteur y se la transfirió a un tubo de 1.5 mL.
8. Se adicionó 500  $\mu$ L de la solución de limpieza 1, se agitó por inversión por 10 segundos y se dejó reposar por 20 minutos.
9. Se transfirió la medusa a otro tubo de 1.5 mL conteniendo la solución de limpieza 2. Después de agitarla por 10 segundos se transfirió la medusa a un nuevo tubo de 1.5 mL.
10. El DNA obtenido fue liofilizado por 10 minutos a potencia media en el equipo Speed Vac Plus SC110A (Savant) y para resuspenderlo se agregó entre 100-500  $\mu$ L de T<sub>10</sub>E<sub>1</sub> según el tamaño del pellet de ADN obtenido. Las muestras se guardaron a 4°C hasta que se realizara las pruebas de calidad.

**Anexo 3:** Reactivos utilizados en la extracción de ADN.

- CTAB 2X

Solución stock	Cantidad para 1000 mL	Concentración final
CTAB	20g	2%
NaCl 5M	280 mL	1.4 M
EDTA 0.5M, pH 8.0	40 mL	20mM
Tris-HCL 1M, pH 8.0	100 mL	100mM
PVP	10 g	1%
Agua destilada	c.s.p. 1000 mL	

- Solución de limpieza 1

Solución stock	Cantidad para 100 mL	Concentración final
Etanol absoluto	76 mL	76%
Acetato de sodio 3M	6.67 mL	0.3 M
Agua destilada	17.33 mL	

- Solución de limpieza 2

Solución stock	Cantidad para 100 mL	Concentración final
Etanol absoluto	76 mL	76%
Acetato de amonio 1M	1mL	10 mM
Agua destilada	23 mL	

- Solución tampón T<sub>10</sub>E<sub>1</sub>

Solución stock	Cantidad para 100 mL	Concentración final
Tris-HCl 1M, pH 8.0	10 mL	10 mM
EDTA 0.5M, pH 8.0	2 mL	1 mM
Agua. destilada	c.s.p 100 mL	

**Anexo 4:** Reactivos para determinación de calidad de ADN.

- Gel de agarosa

Solución stock	Cantidad para 100 mL	Concentración final
Agarosa	1 g	1%
TBE 10X	10 mL	1X
Agua destilada	c.s.p. 100 mL	

- TBE 10X

Solución stock	Cantidad para 1000 mL	Concentración final
Trizma base	108 g	90mM
Ácido bórico	55 g	5.50%
EDTA 0.5M, pH 8.0	40 mL	20 mM
Agua destilada	c.s.p. 1000 mL	

- Solución de carga.

Solución stock	Cantidad para 50 mL	Concentración final
Azul de bromofenol	75 mg	0.15%
Xilen cianol	75 mg	0.15%
Naranja G	100 mg	0.20%
Sacarosa	30 g	60%
TBE 10X	2.5 mL	0.5X
Agua destilada	c.s.p. 50 mL	

- Marcador de peso molecular (fago lambda digerido con PstI)

Reactivos	Cantidad
Buffer 10X para Pst-I	90 $\mu$ L
BSA	9 $\mu$ L
DNA fago lambda 0.5 $\mu$ G/ $\mu$ L	200 $\mu$ L
Pst-I 3U/ $\mu$ G	30 $\mu$ L
Agua libre de nucleasas	c.s.p. 2 mL

Solución tampón T<sub>10</sub>E<sub>0.1</sub>

Solución stock	Cantidad para 100 mL	Concentración final
Tris-HCl 1M, pH 8.0	10 mL	10 mM
EDTA 0.5M, pH 8.0	0.2 mL	0.1 mM
Agua destilada	c.s.p.100 mL	

**Anexo 5:** Reactivos para PCR.

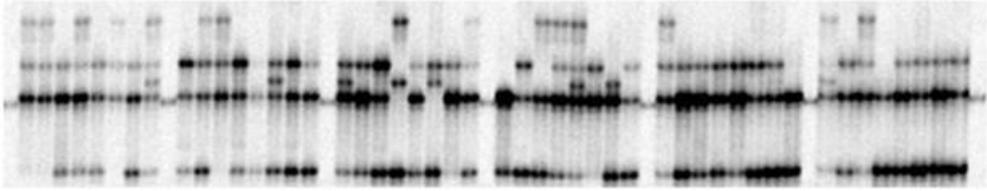
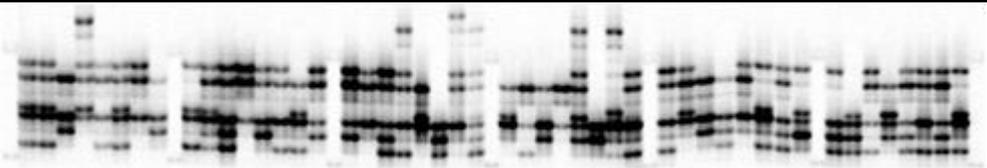
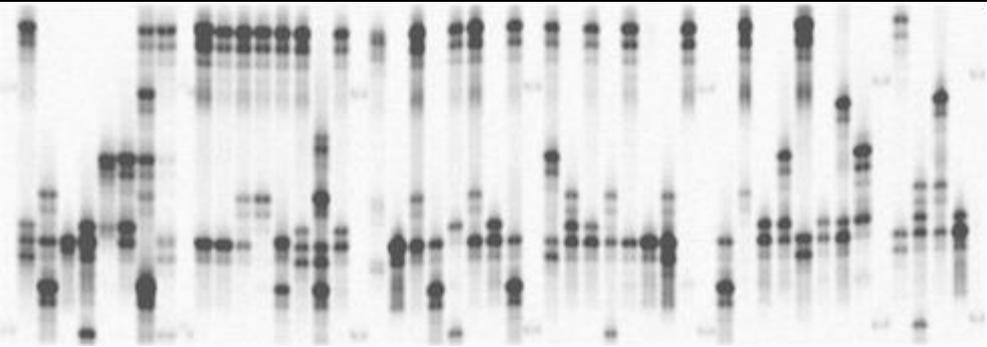
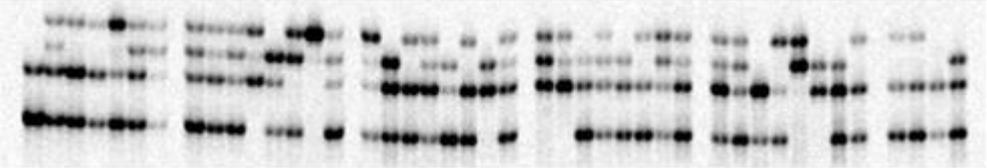
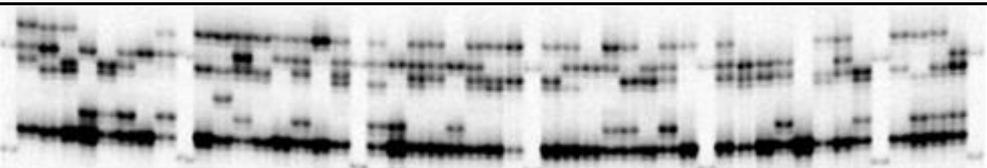
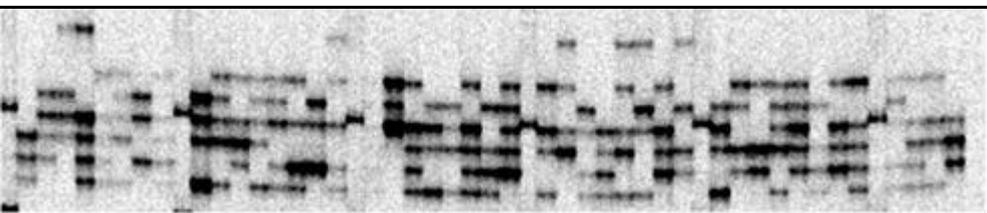
Reactivo	Concentración	Cantidad 1 reacción	Concentración
	Inicial		final
Agua libre de nucleasas		5.13 µL	
Solución tampón	10X	1 µL	1X
MgCl <sub>2</sub>	25mM	1 µL	2.5 mM
Nucleótidos	10mM	0.2 µL	0.2 mM
Cebador forward	1uM	0.22 µL	0.022 µM
Cebador reverse	1uM	0.15 µL	0.015 µM
M13 FWD 700/800	1uM	0.25 µL	0.025 µM
Taq polimerasa	5U/uL	0.05 µL	0.025 U/µL
ADN	30ng/uL	2 µL	6 ng/µL
Total		10 µL	

**Anexo 6:** Información de los 31 cebadores microsatélites utilizados.

Nombre cebador	Rango de peso	Motivo	Autor	Fuente
Ib-242	137-155	(CT) <sub>3</sub> CA(CT) <sub>11</sub>	Buteler <i>et al.</i> 1999	Librería genómica
Ib-286	106-125	(CT) <sub>12</sub>	Buteler <i>et al.</i> 1999	Librería genómica
Ib-297	145-182	(CT) <sub>13</sub>	Buteler <i>et al.</i> 1999	Librería genómica
IBCIP-1	155-167	(ACC) <sub>7</sub>	Yañez, 2002	Librería genómica
IbC5	108-131	(AAG) <sub>8</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbC12	110-130	(TTC) <sub>6</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbE2	107-150	(TCT) <sub>13</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbJ67	191-213	(GAA) <sub>5</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc

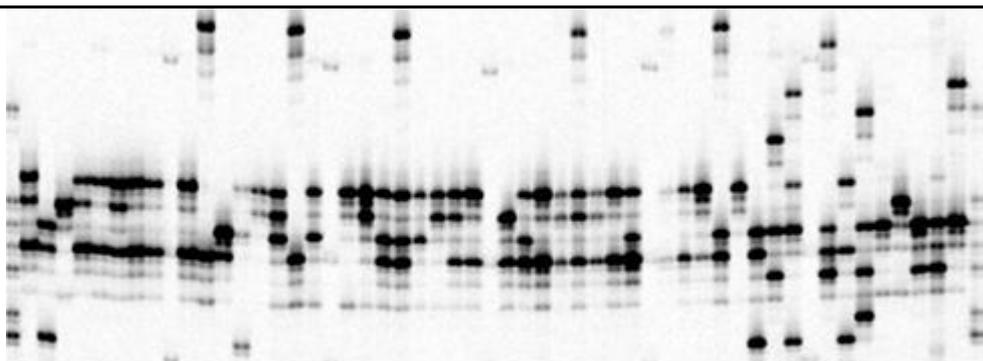
<b>Nombre cebador</b>	<b>Rango de peso</b>	<b>Motivo</b>	<b>Autor</b>	<b>Fuente</b>
IbJ116a	203-240	(GAA) <sub>8</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbJ263	174-189	(AAC) <sub>5</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbJ522a	226-265	(CAC) <sub>6-7</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbJ544b	192-208	(TCT) <sub>5</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbJ664E	144-153	(CTT) <sub>6</sub>	Solis <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbN21	160-173	(CT) <sub>9</sub> C	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbN24	166-180	(TA) <sub>5</sub> GA(TA) <sub>3</sub>	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbN37	179-225	(TA) <sub>7</sub> T	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IBS144	167-190	(TTC) <sub>9</sub>	Schafleitner <i>et al.</i> 2010	Librería ADNc
IBS147	192-215	(GCA) <sub>8</sub>	Schafleitner <i>et al.</i> 2010	Librería ADNc
IBS149	201-247	(AGA) <sub>8</sub>	Schafleitner <i>et al.</i> 2010	Librería ADNc
IBS169	125-159	(TTG) <sub>8</sub>	Schafleitner <i>et al.</i> 2010	Librería ADNc
IBS199	167-219	(ACA) <sub>7</sub>	Schafleitner <i>et al.</i> 2010	Librería ADNc
IbY40	178-196	(GCG) <sub>7</sub> GC	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY44	183-215	(AGA) <sub>6</sub>	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY46	146-164	(ATC) <sub>5</sub> AT	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY51	186-204	(GCG) <sub>5</sub> G	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY52	204-216	(GCG) <sub>5</sub> G	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY53	274-310	(GGA) <sub>5</sub> G	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY54	151-167	(TGT) <sub>5</sub> T	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY56	190-212	(CCT) <sub>5</sub>	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY58	172-182	(GCG) <sub>5</sub>	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc
IbY60	187-206	(TAT) <sub>5</sub>	Huamani <i>et al.</i> no publicado	Librería ADNc

**Anexo 7:** Imágenes de geles con patrones de bandas generados por cada cebador.

<b>Nombre cebador</b>	<b>Gel</b>
Ib-242	
Ib-286	
Ib-297	
IBCIP-1	
IbC5	
IbC12	

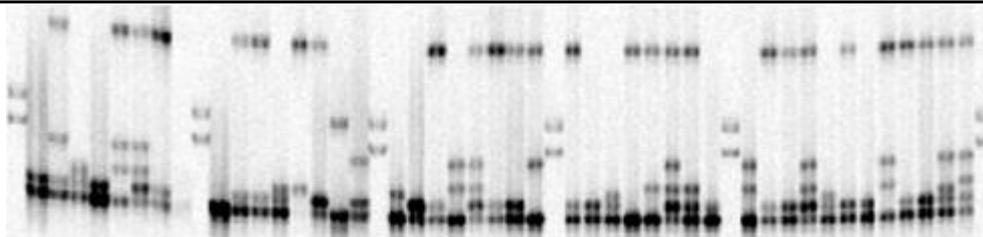
---

IbE2



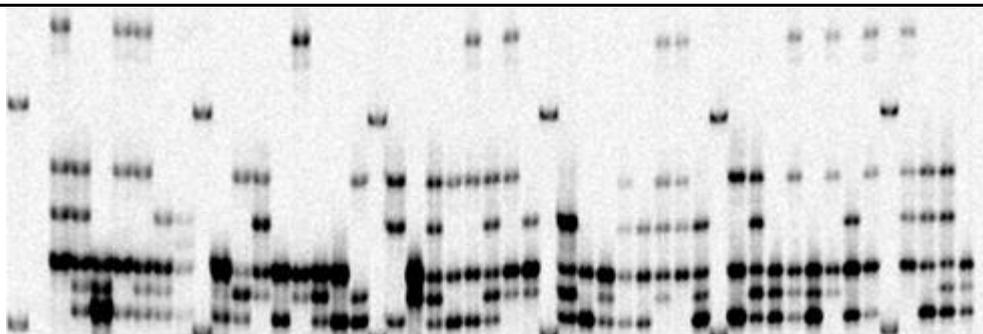
---

IbJ67



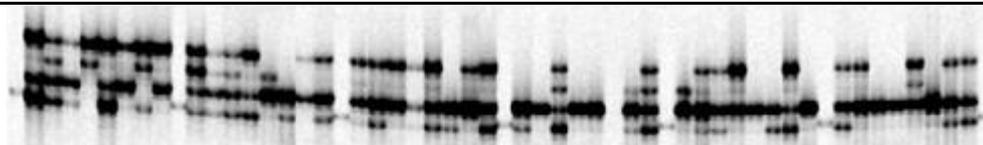
---

IbJ116a



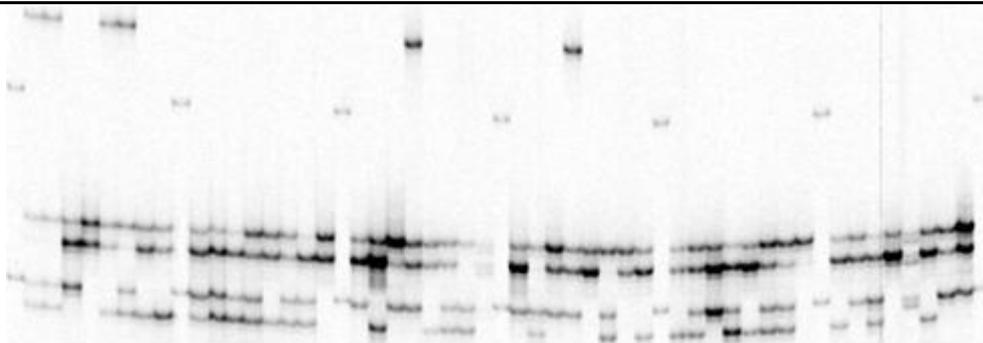
---

IbJ263



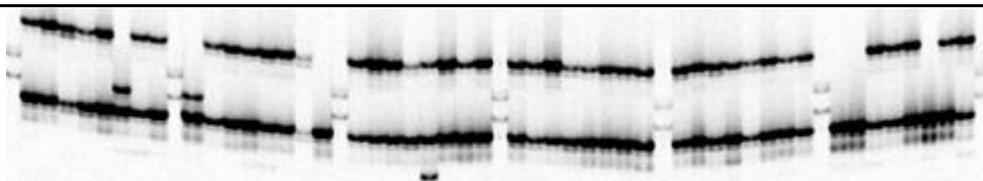
---

IbJ522a



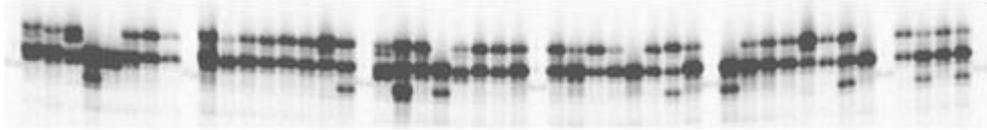
---

IbJ544b



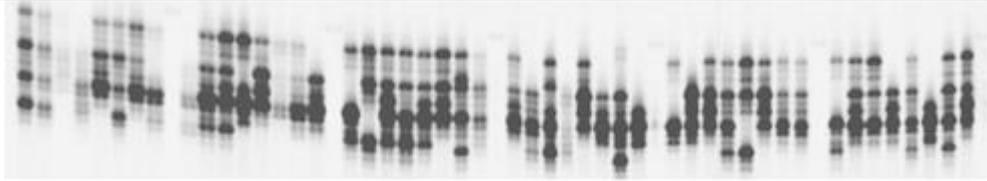
---

IbJ664E



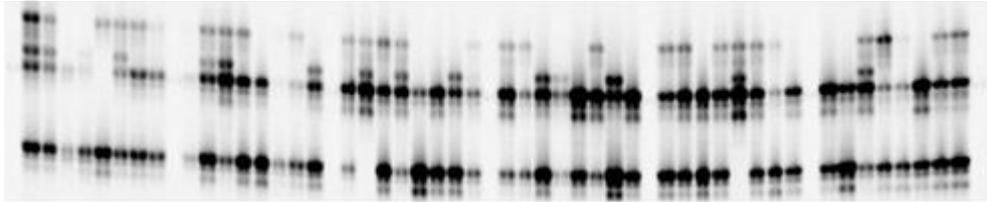
---

IbN21



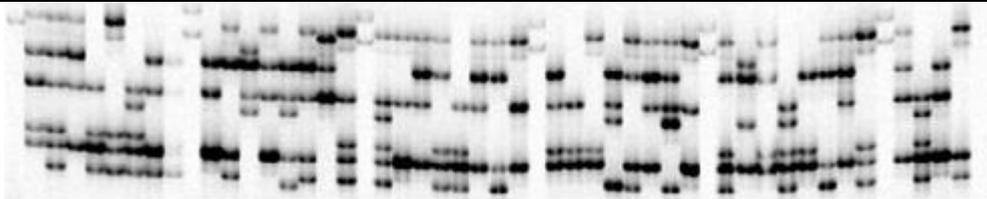
---

IbN24



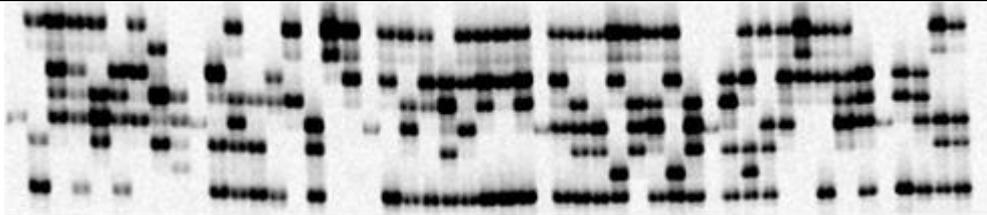
---

IbN37



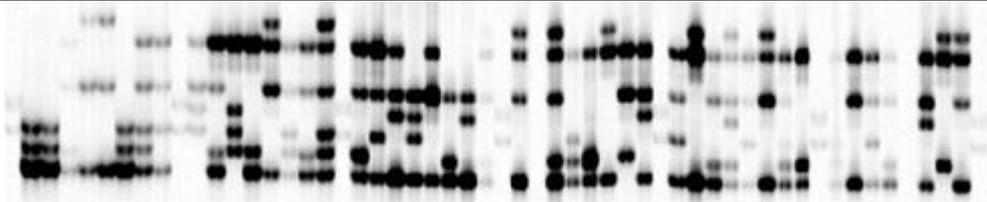
---

IBS144



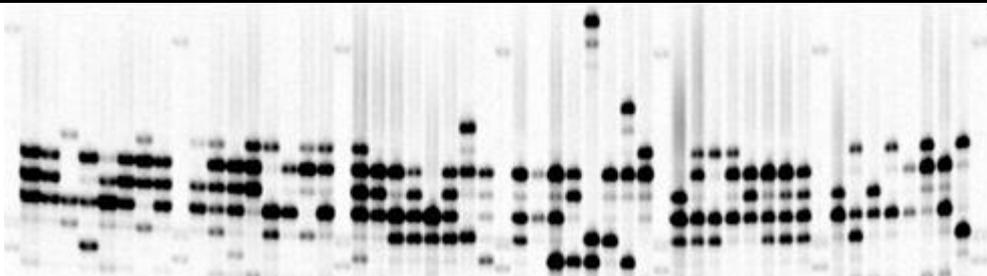
---

IBS147



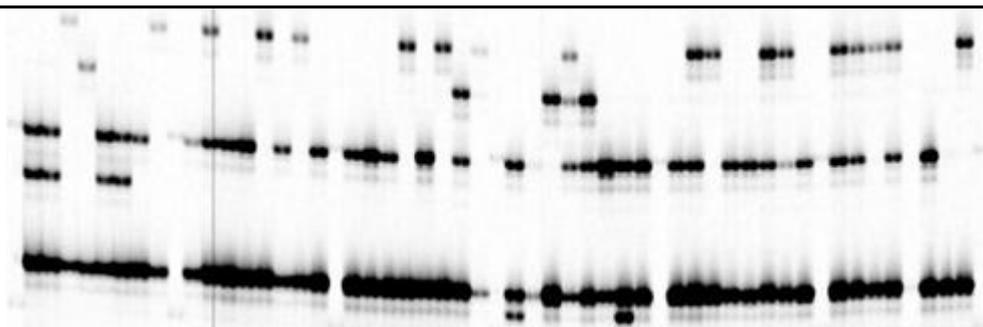
---

IBS149



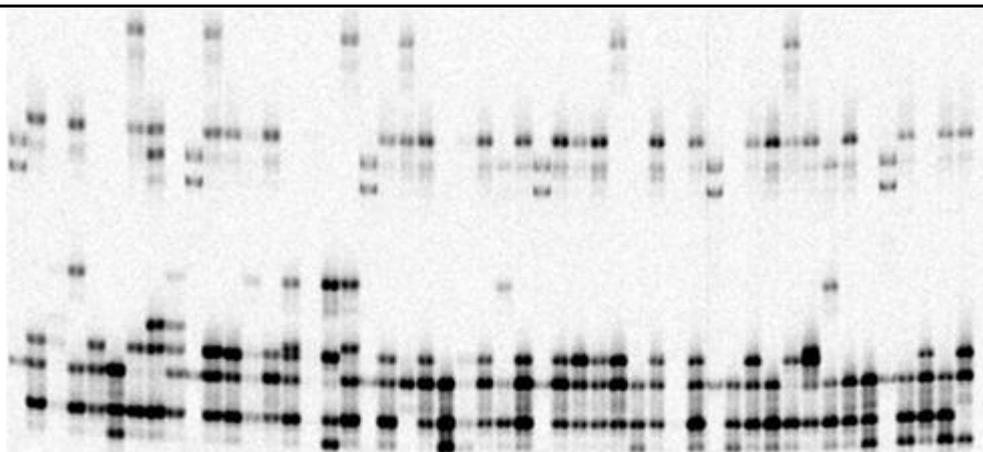
---

IBS169



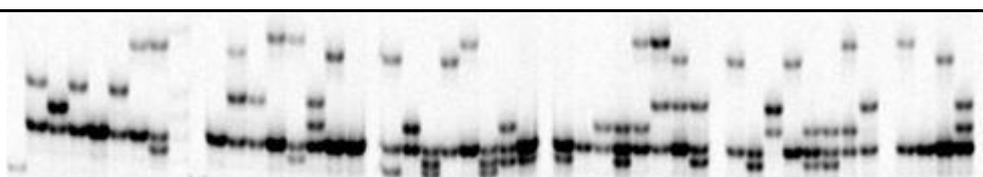
---

IBS199



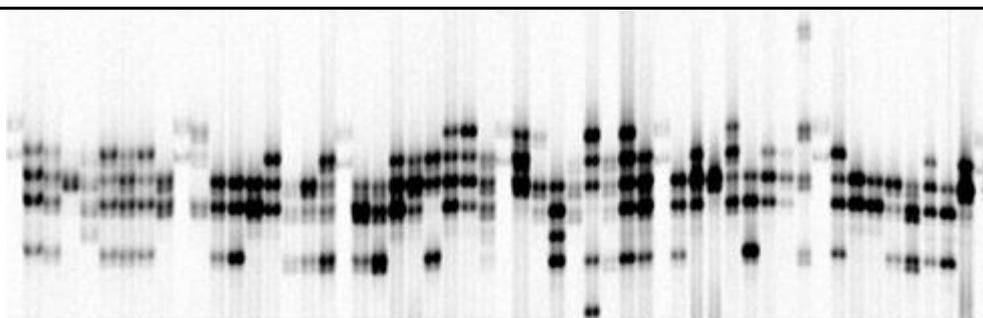
---

IbY40



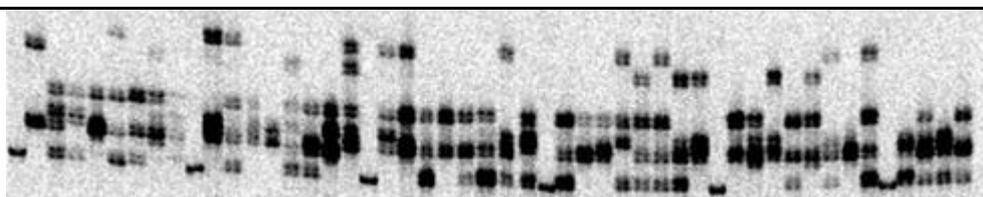
---

IbY44



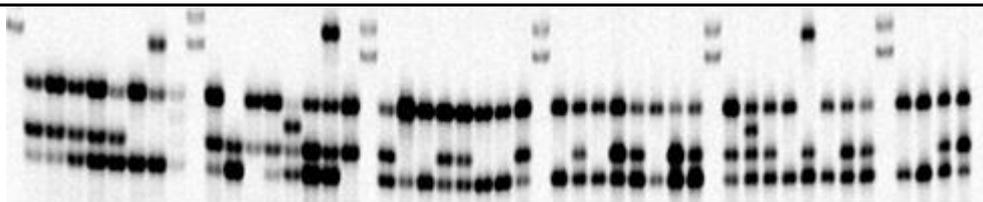
---

IbY46



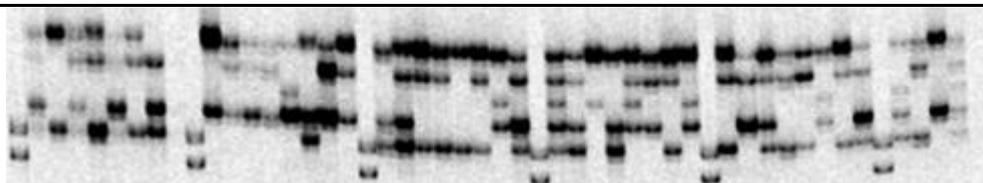
---

IbY51



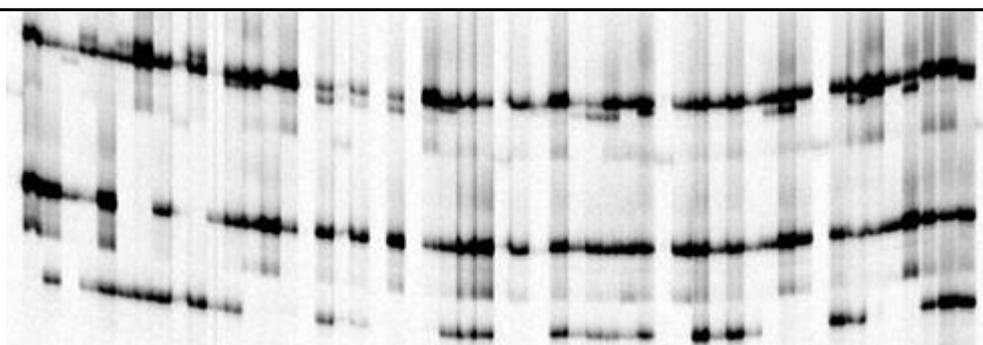
---

IbY52



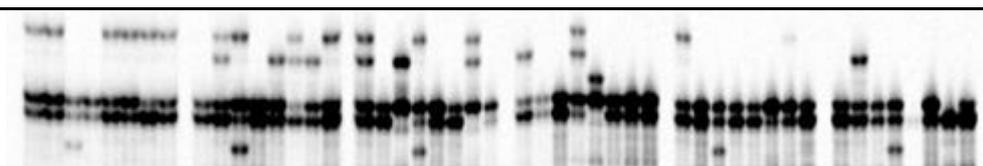
---

IbY53



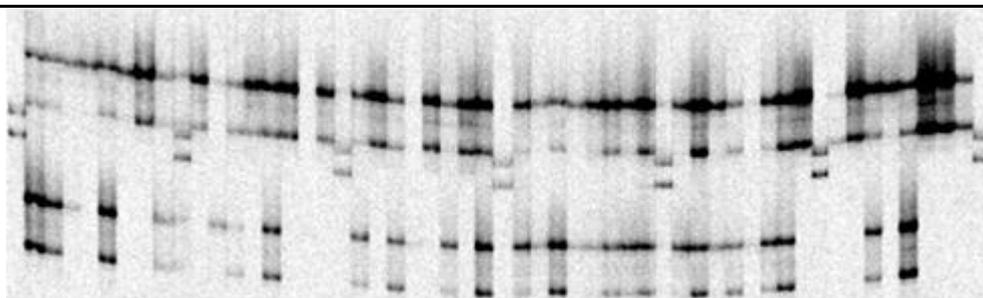
---

IbY54



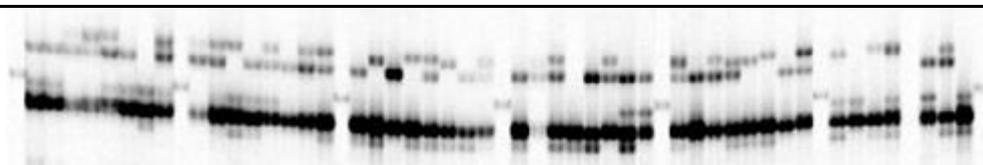
---

IbY56



---

IbY58



---

IbY60

