

Integración molecular y morfológica para la formación de la Colección Núcleo de Papa de Bolivia

Veramendi, S.; X. Cadima; J. Gabriel¹

Resumen

Con el objetivo de organizar la Colección Núcleo (CN) de papa de Bolivia, se utilizaron datos morfológicos y moleculares de 1432 accesiones de papa cultivada. Con estos datos se conformó una CN que retuvo un 100 % de los alelos conservados y que representó la diversidad de la colección original. Fueron elegidas 270 accesiones elegidas para la CN de todas las especies de papa, 90 accesiones de *Solanum* subsp. *andigena*, 25 de *S. x ajanhuiri*, 33 de *S. x curtilobum*, 52 de *S. x juzepczukii*, 3 de *S. goniocalyx* y 66 de *S. stenotomum*, representando en conjunto el 19 % de 1432 accesiones. Se confirmó la alta diversidad conservada en la CN de papa.

Palabras claves adicionales:

Accesiones, alelos, diversidad, morfológico, molecular.

Aceptado para publicación: 24 de junio, 2013.

Molecular and Morphological Integration to Form the Core Collection of Potatoes in Bolivia

Summary

In order to organize the Core Collection (CC) of potatoes from Bolivia, were used morphological and molecular data of 1432 accessions of cultivated potato. With these data we assembled a CC that retained 100% of the alleles preserved and represented the diversity of the original collection. They were chosen 270 accessions for the CC of all potato

¹ Fundación PROINPA, Casilla 4285, Cochabamba, Bolivia. E-mail: j.gabriel@proinpa.org

species, 90 accessions of *Solanum* subsp. *andigena*, 25 of *S. x ajanhuiri*, 33 of *S. x curtilobum*, 52 of *S. x juzepczukii*, 3 of *S. goniocalyx* and 66 of *S. stenotomum*, together representing 19% of 1432 accessions. We confirmed the high diversity preserved in CC potato.

Additional key words:

Accessions, alleles, diversity, morphological, molecular.

Introducción

La zona andina es el centro de origen y diversidad de la papa (Morales, 2007). Bolivia, al situarse en el centro de origen, alberga las siete especies cultivadas y 31 especies silvestres (Ochoa, 2001; Patiño *et al.*, 2007, 2008). La mayor concentración de diferentes morfotipos y niveles de ploidia de papa se halla en la zona que circunda el lago Titicaca de Bolivia y Perú (Morales, 2007); sin embargo, también se ha encontrado una diversidad importante en otras regiones del área andina, en los denominados microcentros de diversidad, tales como la zona de Colomi, ubicada en provincia Chapare en Cochabamba (Terrazas y Valdivia, 1998; García y Cadima, 2003), en Llallagua en el Norte de Potosí (Terrazas *et al.*, 2008), y en el altiplano Norte de La Paz (Iriarte *et al.* 2009), entre otros.

La diversidad de papa cultivada en Bolivia se conserva en el Banco de Germoplasma de Tubérculos y Raíces Andinas custodiado por la Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos (PROINPA) hasta el 2010 por mandato del estado boliviano (Cadima *et al.* 2009). Esta colección consta de más de 1600 accesiones, correspondientes a las siete especies cultivadas nativas: *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*, *S. phureja*, *S. goniocalyx*, *S. stenotomum*, *S. x ajanhuiri*, *S. x curtilobum* y *S. x juzepczukii*, provenientes de siete departamentos del país. El mantenimiento de la colección de papa fue conducida en base a un proceso cíclico para el desarrollo y evaluación de las accesiones en campo, invernadero, *in vitro*, y almacenamiento, proceso instaurado

para velar por la sanidad, limpieza y viabilidad de las accesiones.

El manejo y aprovechamiento de este germoplasma es dificultoso por el número de accesiones y las condiciones de conservación (Cadima *et al.*, 2009). El desarrollo de actividades relacionadas con la conservación como el mantenimiento, la regeneración, caracterización (morfológica y molecular), evaluación, documentación, monitoreo de la viabilidad del material así como su disseminación para múltiples usos, se ha incrementado con el tamaño de la colección (Cadima *et al.*, 2009).

La existencia de accesiones duplicadas, ligada al tipo de reproducción del cultivo y/o sobre - representación de variedades cultivadas, contribuye a un gasto y esfuerzos considerables para la conservación.

El tamaño de la colección también originó dificultades en la selección de material para evaluación y otros usos. Para facilitar e incentivar un mayor uso, se definió la urgencia de identificar y conformar una colección núcleo.

El proceso para establecer una colección núcleo implica la identificación y selección de un limitado número de accesiones, minimizando la repetitividad y redundancia, pero que represente la diversidad genética de toda colección (van Hintum *et al.*, 2003). Para la selección de accesiones de la colección núcleo se puede utilizar cualquier tipo de información disponible tales como datos pasaporte (geográficos) y la caracterización (agromorfológica, genética) (van Hintum *et al.*, 2003). El procedimiento a utilizar para generar una CN dependerá de la información disponible que se quiera utilizar.

En el año 2002 se dieron los primeros pasos para identificar una colección núcleo de la colección de papa boliviana, para ello se utilizó la información de las variables morfológicas que se contaba hasta entonces (Duran *et al.*, 2003).

Posteriormente se inició el estudio de caracterización molecular de la colección basada en pruebas de ADN utilizando marcadores tipo microsatélites ("Simple Sequence Repeats" o SSR) (Rojas *et al.*, 2007). Estos marcadores han sido descritos como una poderosa herramienta de identificación de clones y variedades de papa para facilitar la conservación y manejo del germoplasma de papa (Milbourne *et al.*, 1998). Los microsatélites son segmentos cortos de ADN de 2 a 5 pares de bases, que se repiten en tándem y de forma aleatoria en el genoma de los seres vivos. Estos marcadores son altamente polimórficos, muestran una herencia co-dominante, son fáciles de medir y analizar, tienen una confiabilidad del 100%, son repetitivos y automatizables y sobre todo mapean en diferentes entornos genéticos a posiciones genómicas idénticas (Valdez y Kahl, 2005).

En el caso de la papa ya existe un mapa denso de SSRs que cubre todo el genoma (Milbourne *et al.* 1998), y diversos investigadores han identificado y recomendado un set de marcadores altamente polimórficos para la determinación de huellas genéticas de papa (Ghislain *et al.*, 2004, 2009; Feingold *et al.*, 2005), los cuales fueron validados y utilizados para la caracterización molecular de la colección boliviana de papa (Rojas *et al.*, 2007). Con los datos obtenidos se hizo un estudio preliminar para seleccionar una colección representativa de una de las especies cultivadas de la colección (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*) utilizando la información morfológica y molecular (Cortez, 2011). Este estudio constituyó la base que permitió definir la metodología para conformar la colección núcleo de toda la colección de papa posteriormente.

Existen programas informáticos con diferente capacidad y utilidades que sirven de herramientas para conformar una colección núcleo (Gouesnard *et al.*, 2001; van Hintum *et al.*, 2003; Kyu - Won *et al.*, 2007, PASW, 2009). Kyu - Won *et al.*, (2007) efectuaron una comparación de diferentes métodos y herramientas, y recomendó el programa PowerCore que utiliza la técnica M de maximización en la búsqueda de accesiones representativas, que retengan la diversidad alélica total en un menor número de variedades. Cortez (2011) utilizó el mismo

programa para su estudio en *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*.

En esta investigación se propuso integrar la información resultante de la caracterización morfológica y molecular en una colección núcleo que incluya las siete especies de papa nativa conservadas en el banco de germoplasma boliviano, con el objetivo de que la misma contenga la máxima representación de la diversidad genética de estas especies cultivadas.

Materiales y métodos

Selección de datos morfológicos

De un total de 1612 accesiones de papa cultivada documentadas con información morfológica disponible en la base de datos del banco de germoplasma de Tubérculos y Raíces Andinas, se seleccionaron 1432 por poseer una completa descripción en todos los campos de descriptores morfológicos (29 caracteres). Las mismas se separaron en seis grupos de acuerdo a la especie (Tabla 1).

Tabla 1. Número de accesiones de siete especies de la colección boliviana de papa cultivada con datos morfológicos y moleculares completos

Especie	Ploidía	Nº accesiones
<i>S.tuberosum</i> ssp. <i>Andígena</i>	2n=4x=48	970
<i>S. x ajanhuiri</i>	2n=2x=24	56
<i>S. x curtilobum</i>	2n=5x=60	78
<i>S. x juzepczukii</i>	2n=3x=36	115
<i>S. stenotomum</i>	2n=2x=24	209
<i>S. goniocalyx</i> + <i>S. phureja</i>	2n=2x=24	4
Total		1432

La información molecular fue obtenida de la caracterización efectuada con 22 marcadores microsatélites (Tabla 2) de la colección boliviana de papa. Los datos de los alelos (en pares de bases) de cada microsatélite fueron transformados en datos binarios y dispuestos en una matriz denotando la presencia de un alelo como (1) y la ausencia como (0). El genotipado con los microsatélites se realizó en el laboratorio del ICRISAT-Patancheru de la India (Cadima *et al.*, 2013).

Análisis estadístico

Para la obtención de la colección representativa se elaboró una matriz para cada especie con los datos moleculares y morfológicos, y se utilizó el programa libre PowerCore, que permite realizar un muestreo mediante la estrategia M de maximización. El programa permitió efectuar una clasificación de cada uno de los caracteres en clases, tomando en cuenta las frecuencias de cada alelo (datos moleculares) y de cada carácter morfológico. Posteriormente se realizó una búsqueda repetitiva de la muestra de accesiones que tuviera la más alta riqueza alélica y carácter morfológico. Para cada especie se hizo la selección de las accesiones maximizando la retención de todos los alelos (molecular) y los 29 caracteres morfológicos considerados.

Para visualizar cuán representativas fueron las accesiones seleccionadas dentro la estructura genética de la colección total, se generaron dendrogramas con todas las accesiones de cada especie y se remarcaron las correspondientes a la colección núcleo. Para la generación del dendrograma se utilizó el programa NTSYSpc Ver. 2.1. (Rohlf, 2000).

Tabla 2. Marcadores microsatélites utilizados en la evaluación

Marcador	Motivo Repetido	Secuencia de iniciador	Th °C
STG 0001	(CT)n	F CAGCCAACATTTGTACCCCT R ACCCCCACTTGCCATATTTT	58.0 52.0
STG 0010	(TG)n	F CGATCTCTGCTTTGCAGGTA R GTTCATCACTACCGCCGACT	60.0 55.0
STG 0016	(AGA)n	F AGCTGCTCAGCATCAAGAGA R ACCACCTCAGGCACTTCATC	55.0 53.0
STG 0025	(AAAC)n	F TGGAATCCGAATTACGCTCT R AGGTTTTACCACTCGGGCTT	56.0 55.0
STI 0001	(AAT)nr	F CAGCAAATCAGAACCCGAT R GGATCATCAAATTCACCGCT	60.0 55.0
STI 0004	(AAG)n	F GCTGCTAAACACTCAAGCAGAA R CAACTACAAGATTCCATCCACAG	60.0 55.0
STI 0012	(ATT)n	F GAAGCGACTTCCAAAATCAGA R AAAGGGAGGAATAGAAACCAAAA	56.0 55.0
STI 0014	(TGG)n (AGG)n	F AGAAACTGAGTTGTGTTTGGGA R TCAACAGTCTCAGAAAACCTCT	54.0 55.0
STI 0030	(ATT)n	F TTGACCCTCCAATATAGATTCTTC R TGACAACTTTAAAGCATATGTCAGC	58.0 60.0
STI 0031	(TCA)n	F AGGCGCACTTTAACTTCCAC R CGGAACAAATTGCTCTGATG	60.0 54.0
STI 0032	(GGA)nr	F TGGGAAGAATCCTGAAATGG	61.0

		R TGCTCTACCAATTAACGGCA	60.0
STI 0033	(AGG) _n	F TGAGGGTTTTTCAGAAAGGGA	61.0
		R CATCCTTGCAACAACCTCCT	60.0
STM 0019	(AT) ₇ (GT) ₁₀ (AT) ₄	F AATAGGTGTAAGTACTGACTCTCAATG	52.8
	(GT) ₅ (GC) ₄ (GT) ₄	R TTGAAGTAAAAGTCCTAGTAGTG	52.6
STM 0037	(TC) _n (AC) _n AA...(AC) _n (AT) _n	F AATTTAACTTAGAAGATTAGTCTC	52.0
		R ATTTGGTTGGGTATGATA	53.0
STM 1052	(AT) _n GT(AT) _n (GT) _n	F CAATTTTCGTTTTTTCATGTGACAC	50.0
		R ATGGCGTAATTTGATTTAATACGTAA	52.0
STM 1053	(TA) _n (ATC) _n	F TCTCCCCATCTTAATGTTTC	53.0
		R CAACACAGCATSCAGATCATC	53.0
STM1064	(TA) _n (TG) GT (TG) _n	F GTTCTTTTGGTGGTTTTTCCT	55.0
		R TTATTTCTCTGTTGTTGCTG	55.0
STM 1104	(TCT) _n	F TGATTCTCTTGCCCTACTGTAATCG	53.0
		R CAAAGTGGTGTGAAGCTGTGA	57.0
STM 1106	(ATT) _n	F TCCAGCTGATTGGTTAGGTTG	51.0
		R ATGCGAATCTACTCGTCATGG	55.0
STM 5114	(ACC) _n	F AATGGCTCTCTGTATGCT	60.0
		R GCTGTCCCAACTATCTTTGA	57.0
STPoAc58	(TA) _n	F TTGATGAAAGGAATGCAGCTTGTG	57.0
		R ACGTTAAAGAAGTGAGAGTACGAC	

¹F (Forward) = Cebador Directo, ²R (Reverse) = Cebador Reverso

T^h °C= Temperatura de hibridación.

Ghislain *et al.*, (2009); Feingold *et al.*, (2005) y Milbourne *et al.* (1998)

Resultados

A continuación se describe los resultados encontrados para cada una de las especies de papa analizadas.

Solanum tuberosum subsp. *andigena*

Para esta especie fueron seleccionadas 90 accesiones (9%) para la colección núcleo, de un total de 970 (Tabla 3). El número de accesiones seleccionadas conservan el 100% de los alelos registrados en la caracterización molecular y morfológica. Producto de la caracterización molecular en esta especie se generó 286 alelos en total, mayores detalles se encuentran en el trabajo de Cadima *et al.* (2013).

Tabla 3. Número de accesiones por especie de la colección núcleo, seleccionados a través de la maximización en el muestreo de la colección original

Especie	NAT	CN	PTE	PAC
<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigena</i>	970	90	9	100
<i>S. x ajanhuiri</i>	56	25	45	100
<i>S. x curtilobum</i>	78	33	42	100
<i>S. x juzepczukii</i>	115	52	45	100
<i>S. stenotomum</i>	209	66	32	100
<i>S. goniocalyx</i> + <i>S. phureja</i>	4	4	100,0	100
TOTAL	1432	270	19	

Leyendas: NAT-Número de accesiones total; CN-Colección Núcleo; PTE-Porcentaje de la colección núcleo por especie; PAC-Porcentaje de Alelos Conservados.

Solanum x ajanhuiri

Se seleccionaron 25 accesiones (45%) para la colección núcleo, de las 56 que corresponde a esta especie (Tabla 3). El alto número de accesiones elegidas, es la resultante de que esta especie contiene menor redundancia de variedades en la colección (Figura 1). Igualmente el número de accesiones seleccionadas retuvieron un 100 % de la diversidad de alelos de

la matriz de entrada. Observándose la generación de 117 alelos con un rango que va de 79 a 311 pb.

Solanum x juzepczukii

Se seleccionaron 52 accesiones (45%) de un total de 115 accesiones (Tabla 3). Esta especie, al igual que *S. x ajanhuiri*, aparentemente presenta menor redundancia de variedades en la colección de papa cultivada y por ello se seleccionó un alto porcentaje de accesiones para la colección núcleo (Figura 2). En esta especie se generaron un total de 135 alelos con valores que van de 116 a 186 pb.

Solanum goniocalyx* y *S. phureja

Todas las accesiones en el estudio de estas dos especies, fueron consideradas como parte de la colección núcleo, porque se observó que no hubo redundancia, y todas las accesiones fueron genéticamente diferentes entre sí (Tabla 3). Las herramientas del programa también confirmaron esta decisión. Con el set de microsatélites se encontraron un total de 72 alelos en un rango de 79 a 318 pb.

Solanum stenotomum

Se eligió 66 accesiones (32%) de un total de 209 (Tabla 3), denotando la alta diversidad genética de esta especie. El 100 % de los alelos fueron retenidos en las accesiones seleccionadas. El análisis con el set de microsatélites permitió generar 240 alelos con un rango de 87 a 318 pb.

Solanum curtilobum

Fueron seleccionados 33 accesiones de un total de 78, representando un 42.3 % del total. Se observó una alta diversidad en la colección estudiada para esta especie. Se ha retenido también, la máxima diversidad en un mínimo de accesiones representativas. Para esta especie se logró encontrar un total de 145 alelos con valores que van de 86 a 318 pb.

En todas las especies se observa que se ha representado la diversidad total en cuanto a los alelos presentes en toda la colección. Las especies con menor número de accesiones

Figura 1. Dendrograma generado por el programa NTSYS PC 2.10 mediante el análisis de UPGMA y coeficiente de similitud de Jaccard en base a datos moleculares de 56 accesiones de *S. × ajanhuiri*, donde se marcan con asteriscos las 25 accesiones seleccionadas para la colección núcleo

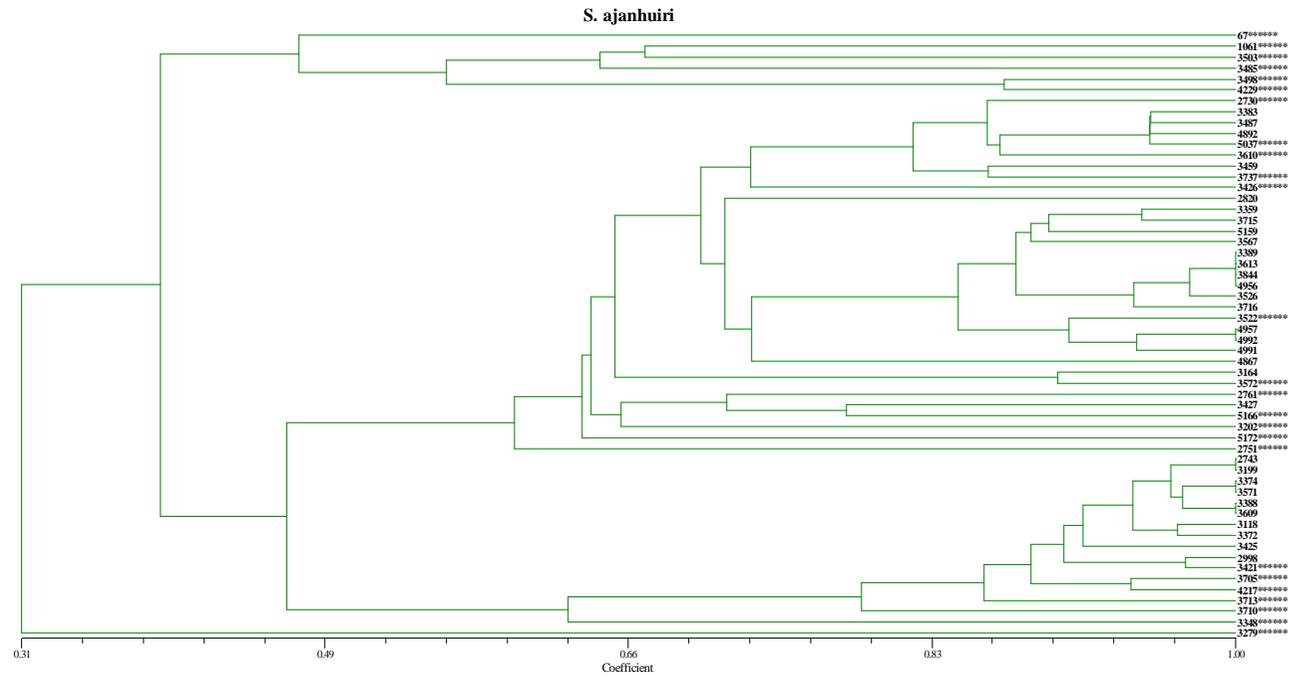
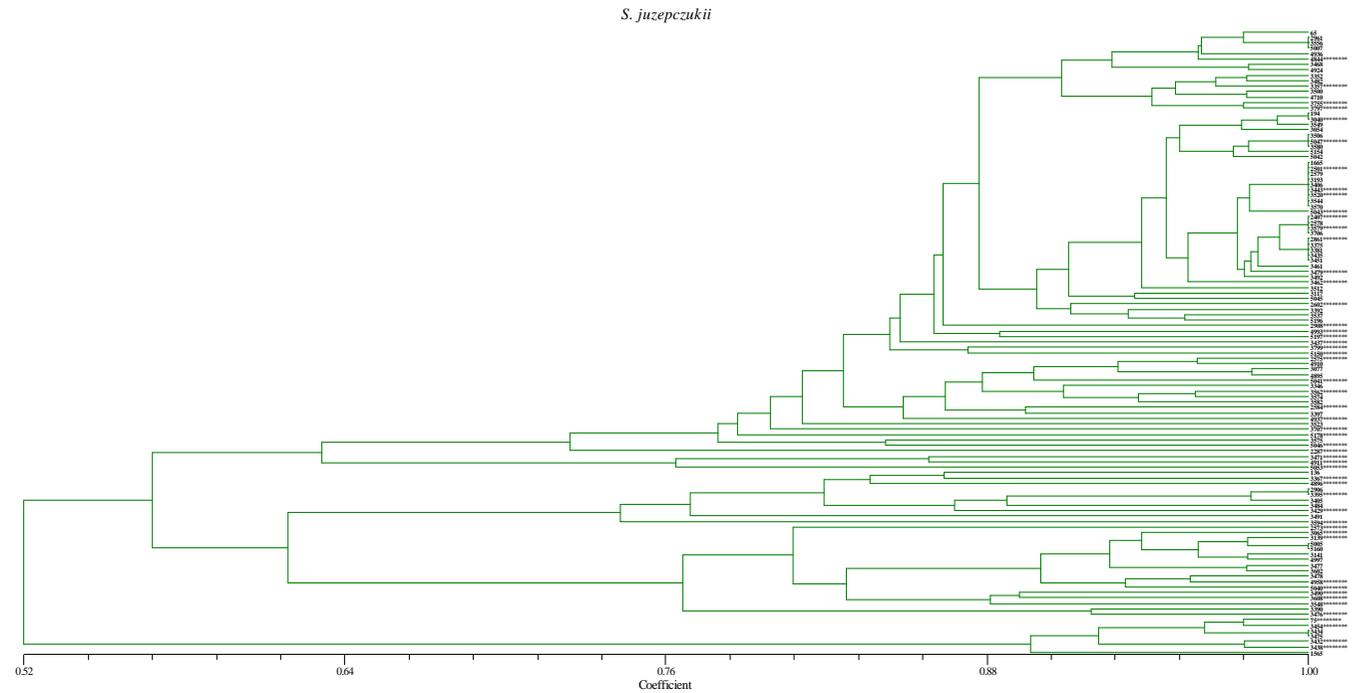


Figura 2. Dendrograma de 115 accesiones de papa de la especie *S. × juzepczukii* generado a partir de datos moleculares mediante el programa NTSYS-pc 2.10 por el método UPGMA y Coeficiente de similitud de Jaccard, donde se presenta marcadas con asterisco las 52 accesiones para la colección núcleo



cuentan con un mayor porcentaje en el muestreo, principalmente a causa de tener pocos individuos, y también por la diversidad alélica contenida en las accesiones.

Discusión

En un estudio anterior (Durán *et al.*, 2003), las comparaciones estadísticas realizadas para los casos de *S. tuberosum* subsp. *andigena* y *S. x juzepczukii* aparentemente no fueron suficientemente representados. Sin embargo, en nuestro estudio ocurrió lo contrario observándose una amplia diversidad genética entre las accesiones. Esto probablemente se debe a que en el primer caso el algoritmo de selección por su forma de proceder, dio mayor chance de selección a las accesiones más extremas, por tener éstas mayor contribución a la variabilidad general, y menor a las cercanas al baricentro, llegando estas últimas a ser sub-representadas. Al utilizar los microsatélites, éstos detectaron secuencias cortas de pares de base en el ADN, diferenciables entre accesiones, lo que confirió al análisis mayor precisión.

Se considera que, con los estudios complementarios realizados en la formación de la colección núcleo, se dio un importante paso de complementariedad entre los datos morfológicos y moleculares, de manera tal que se dispone de una colección núcleo bien representada y que contiene el 100% de los alelos de la colección original. Esto se ha logrado gracias al avance en el desarrollo de la bioinformática, cada vez es más preciso y amigable, pero que también requiere de un buen entrenamiento y de un equipamiento tecnológico moderno.

La especie que presentó la mayor cantidad de alelos fue *S. tuberosum* subsp. *andigena* con 286, alelos, detectados para los 22 microsatélites, le sigue en orden descendente *S. stenotomum*, *S. x curtilobum*, *S. x juzepczukii*, *S. x ajanhuiri*, *S. x goniocalyx* y *S. phureja* con 240, 145, 135, 117 y 72 alelos respectivamente. La mayor cantidad de alelos detectados en *S. tuberosum* subsp. *andigena*, tiene relación con el mayor número de accesiones analizadas (n=970) en comparación con las otras especies *S. stenotomum* (n=209), *S. x ajanhuiri* (n=56), *S. x*

juzepczukii (n=115), *S. goniocalyx* y *S. phureja* (n=4) y *S. x curtilobum* (n=78), ya que aumenta la probabilidad de identificar nuevos alelos con una frecuencia más baja dentro de una población. Es decir que el número de alelos detectados depende de la cantidad y diversidad del germoplasma muestreado (Pérez, 2004.).

Las implicaciones de conformar una buena colección núcleo es importante principalmente para que los fitomejoradores hagan un uso más apropiado y frecuente de esta rica variabilidad conservada en los bancos de germoplasma, para buscar fuentes y genes valiosos de resistencia a factores abióticos, bióticos y de calidad, para luego incorporarlas y por selección generar nuevas variedades que se adapten al cambio climático, y garanticen la seguridad alimentaria. Estos aspectos permitirán que se incremente el porcentaje de uso del banco de germoplasma de tubérculos y raíces andinas de Bolivia, cuya utilización no ha pasado del 5% en varios años de investigación, tal como lo mencionan Estrada (2000) y Gabriel (2010). Pero, también dará la oportunidad para que en la colección núcleo se busque variedades con atributos de calidad con potencial para modernos mercados nicho de alimentos gourmet.

Agradecimientos

Se agradece el financiamiento del ex Sistema Nacional de Recursos Genéticos para la Agricultura y la Alimentación (SINARGEAA) de Bolivia, el actual Instituto Nacional de Innovación Agrícola y Forestal (INIAF) y FONTAGRO. Agradecemos de igual manera las contribuciones al presente trabajo del Dr. Jorge Rojas Beltrán y el Ing. Fidel Cortez Álvarez.

Literatura citada

Cadima, X.; F. Terrazas; A. Gandarillas. 2009. Los sistemas de conservación de recursos genéticos de Tubérculos y Raíces Andinas: La experiencia de PROINPA. *Revista de Agricultura, Bolivia* 43 (60): 31-36.

Cadima, X; S. Veramendi; J. Gabriel. 2013. Uso de marcadores moleculares microsatélite para el análisis de la diversidad genética de papa nativa de Bolivia. *J. Selva Andina Res. Soc.* (En revisión)

Cortez, F. 2011. Construcción de una colección núcleo de *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* conservada en el banco nacional de tubérculos y raíces andinas en base a marcadores morfológicos y moleculares. Tesis de Maestría. Posgrado Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias Martín Cárdenas. Cochabamba, Bolivia.

Durán, G.; X. Cadima; J. Zeballo. 2003. Desarrollo de una colección núcleo de la colección de papa cultivada (*Solanum ssp.*) del banco de germoplasma de raíces y tubérculos andinos de Bolivia. Centro de Estadística Aplicada - CESA, UMSS, *Bolivia*: 1-7.

www.fcyt.umss.edu.bo/investigacion/cesa/articulos/desarrollo.pdf
(Consultado: 05 de Oct. de 2012).

Estrada, N. 2000. La Biodiversidad en el Mejoramiento Genético de la papa. Bill Hardy, Emma Martinez (Ed.) La Paz, Bolivia. 372 p.

Feinglod, S.; J. Lloyd; N. Norero; M. Bonierbale; J. Lorenzen. 2005. Mapping and characterization of new EST-derived microsatellites for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theo. Appl. Gen.* 111:456-466.

Gabriel, J. 2010. Documento marco: Estrategias y perspectivas del mejoramiento genético de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Bolivia. Fundación PROINPA, Cochabamba, Bolivia. 60 p.

García, W. y X. Cadima (eds.). 2003. Manejo sostenible de la agrobiodiversidad de tubérculos andinos: Síntesis de investigaciones y experiencias en Bolivia. Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). 1. Fundación para la Promoción y la Investigación de Productos Andinos (PROINPA), Alcaldía de Colomi, Centro Internacional de la Papa (CIP) Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). Cochabamba, Bolivia, 208 p.

Ghislain, M.; J. Nunez; M.d.R. Herrera; J. Pignataro; F. Guzmán; M. Bonierbale; D.M. Spooner. 2009. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Mol. Breed.* 23:377-388.

Ghislain, M.; D.M. Spooner; F. Rodriguez; F. Villamon; J. Nunez, C. Vasquez; R. Waugh; M. Bonierbale. 2004. Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato. *Theor. Appl. Genet.* 108:881-890.

Ghislain, M.; F. Rodríguez; F. Villamon; J. Núñez; R. Waugh; M. Bonierbale. 2000. Establishment of Microsatellite Assays for Potato Genetic Identification. CIP Program Report 1999 – 2000. 167 – 174 p.

Gouesnard, B.; T.M. Bataillon; G. Decoux; C. Rozale; D.J. Schoen; J.L. David. 2001. MSTRAT: An algorithm for building germplasm core collections by maximizing allelic or phenotypic richness. *J. Heredity* 2001:92 (1):93-94

Iriarte, V.; B. Condori; D. Parapo; D. Acuña. 2009. Catálogo etnobotánico de papas nativas del Altiplano Norte de La Paz-Bolivia. Cochabamba, Bolivia. 142 pp.

Kyu – Won, K.; K.H. Chung; G.T. Cho; K.H. Ma; D. Chandrabalan; G. Jae- Gyun; T.S. Kim; Ch. Eun – Gi; P. Yong- Jin. 2007. PowerCore: a program applying the advanced M strategy with a heuristic search for establishing core sets. *Bioinformatics* 23 (16):2155-2162

Milbourne, D.R.C.; A.J. Meyer; L.D. Collins; C. Ramsay; C. Gebhardt; R.Waugh. 1998. Isolation, characterisation and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Mol. Gen. Genet.* 259: 233-245.

Morales, F. 2007. Sociedades precolombinas asociadas a la domesticación y cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en Sudamérica. *Revista Latinoamericana de la Papa* 14 (1): 1-9.

Ochoa, C. 2001. Las papas de Sudamérica: Bolivia. Plural editores/CID, La Paz, Bolivia. 535 p.

Patiño, F.; B. Condori; L. Segales; X. Cadima. 2008. Distribución Potencial, Actual y Futura de Especies Silvestres de Papa Endémicas de Bolivia. *Revista de Agricultura, Bolivia* 44 (60): 37 – 44.

Patiño, F.; F. Terrazas; A. Salas; X. Cadima. 2007. Los parientes silvestres del cultivo de papa en Bolivia. *Revista de Agricultura, Bolivia* 40 (59): 19-28.

PASW. 2009. Predicción de resultados e identificación de relaciones en los datos categóricos. PASW® Categories 18 – Especificaciones, 8p.

Pérez, J.R. 2004. Evaluación de la diversidad genética de papas nativas (*Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* Hawkes) silvestres y cultivadas del sur de Chile, mediante el uso de marcadores microsatélites. Tesis de licenciatura en agronomía. Universidad Austral de Chile, Valdivia – Chile.

Rojas, J.; Y. Sánchez; E. Alba; X. Cadima; J. Franco; A. Gandarillas. 2007. Utilización de la tecnología de los marcadores moleculares en la conservación del germoplasma y el mejoramiento genético de la papa: Experiencias en Bolivia. *Revista de Agricultura, Bolivia* 59 (40): 29-36.

Rohlf, F.J. 2000. NTSYS-PC, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.10e., *Appl. Biostatistics*, Inc., New York.

Terrazas, F.; G. Valdivia. 1998. Spatial dynamics of *in situ* conservation: handling the genetic diversity of Andean tubers in mosaic systems. *Gen. Res. News.* (114): 9 -15.

Terrazas, F.; X. Cadima; R. García; J. Zeballos. 2008. Catálogo etnobotánico de papas nativas. Tradición y cultura de los Ayllus del Norte Potosí y Oruro. Ricerca & Cooperazione, Unión Europea, Centro de Apoyo a Desarrollo, GTZ, Fundación PROINPA, MDRyMA. Cochabamba - Bolivia. 189 p.

Valdez – Moctezuma, E. and G. Kahl. 2005. Huellas de ADN en genomas de plantas. Mundi-Prensa, México, S.A. de C.V. Universidad Autónoma de Chapingo. 147p.

van Hintum, Th.J.L.; A.H.D Brown; C. Spillane; T. Hodgkin. 2003. Colecciones núcleo de recursos fitogenéticos. Boletín Técnico No. 3 del IPGRI. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia.