

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



T E S I S

**Análisis genotípico con marcadores moleculares microsatélite
de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de
Paucartambo – Pasco**

Para optar el título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Autor:

Bach. Miguel Angel Jhonatan CORDERO RICAPA

Asesor:

Dra. Edith Luz ZEVALLOS ARIAS

Cerro de Pasco – Perú – 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



T E S I S

**Análisis genotípico con marcadores moleculares microsatélite
de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de
Paucartambo – Pasco**

Sustentada y aprobada ante los miembros del jurado:

Mg. Manuel LLANOS ZEVALLOS
PRESIDENTE

MSc. Josué Hernán INGA ORTIZ
MIEMBRO

Mg. Fernando James ALVAREZ RODRIGUEZ
MIEMBRO



Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Unidad de Investigación

INFORME DE ORIGINALIDAD N° 035-2025/UIFCCAA/V

La Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión ha realizado el análisis con exclusiones en el software antiplagio Turnitin Similarity, que a continuación se detalla:

Presentado por
CORDERO RICAPA, Miguel Ángel Jhonatan

Escuela de Formación Profesional

Agronomía - Pasco

Tipo de trabajo

Tesis

Análisis genotípico con marcadores moleculares microsatélite de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo - Pasco

Dra. Zevallos Arias, Edith Luz

Índice de similitud

1%

Calificativo

APROBADO

Se adjunta al presente el reporte de evaluación del software anti-plagio.

Cerro de Pasco, 9 de julio de 2025



Firmado digitalmente por HUANES
TOVAR, Luis Antonio FAU
20154605046 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.07.2025 21:55:34 -05:00

Firma Digital
Director UIFCCAA

c.c. Archivo
LHT/UIFCCAA

DEDICATORIA

Este documento académico, el cual es una Tesis está dirigido a las personas que a través de sus conocimientos han aportado a crear un mundo mejor. A Dios, a mis maravillosos padres Ángel y Norma, por siempre apoyarme con sus consejos sabios; a mi hermana Bequi por siempre brindarme apoyo emocional; a mis amigos, por animarme a continuar dar lo mejor de mí. Que esta tesis brinde mucha inspiración a las personas que lo lean y así puedan expandir sus conocimientos y seguir explorando nuevos horizontes.

Miguel Ángel.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, el creador de todo, de Él viene toda la sabiduría, su amor y gracia han sido mi sustento en mi larga travesía académica. En medio de las dificultades, siempre Él ha tenido el control.

A mis padres, su presencia, sus palabras de aliento y ánimo fueron la razón que impulsó a que mi persona pueda seguir adelante. A mi hermana, por siempre brindarme la palabra correcta en el momento adecuado y así poder seguir mi travesía en el mundo académico. A mis amigos, quienes me alentaron con sus palabras en todo momento.

A mi asesora, quien me impartió con su conocimiento en cada momento de desarrollo de la Tesis.

Finalmente, agradezco a cada una de las personas que formaron contribuyeron con el desarrollo y ejecución de este trabajo de Tesis. A todos los que aportaron con su conocimiento y me apoyaron en esta travesía académica en este periodo de mi vida.
¡Muchas gracias!

RESUMEN

El presente estudio tiene por objetivo determinar las características genotípicas de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo-Pasco con el empleo de marcadores moleculares microsatélite (SSR). Se utilizó un enfoque cuantitativo mediante un enfoque experimental que incluyó la extracción y cuantificación del material genético, el ADN, luego su posterior amplificación mediante PCR y evaluación de secuencias fragmentadas por electroforesis en gel de poliacrilamida. A fin de realizar la evaluación de la variabilidad a nivel genético, se emplearon 10 marcadores SSR previamente reportados en estudios similares. Se evidenció a partir con base en los datos obtenidos una baja diversidad genética dentro de los ejemplares analizados, con valores reducidos de heterocigosidad observada y esperada, así como un índice de información polimórfica (PIC) menor al esperado. Estos resultados indican que los 10 marcadores SSR utilizados tienen una aplicabilidad reducida para evaluar la diversidad genética en los cultivares nativos de papa, lo que resalta la necesidad de emplear un mayor número de marcadores o métodos complementarios para estudios más precisos. Se concluye que, aunque la caracterización genotípica mediante microsatélites constituye un medio valioso para la identificación de variedades, su capacidad para capturar la variabilidad genética en cultivos con alta endogamia puede ser restringida.

Palabras clave: diversidad genética, marcadores microsatélites, *Solanum spp.*, heterocigosidad, polimorfismo, conservación genética.

ABSTRACT

The purpose of this study is to determine the genotypic characteristics of 10 native local potato (*Solanum spp.*) varieties from Paucartambo-Pasco using microsatellite (SSR) molecular markers. A quantitative approach with an experimental design was used, including DNA extraction and quantification, amplification via PCR, and fragment analysis through polyacrylamide gel electrophoresis. Genetic diversity was assessed using 10 SSR markers previously reported in similar studies. The results showed low genetic variability among the analyzed samples, with reduced observed and expected heterozygosity values, as well as a lower-than-expected polymorphic information content (PIC). These findings suggest that the selected batch of 10 microsatellite markers has low suitability for evaluating genetic diversity in Native potato varieties, highlighting the necessity for increased number of markers or complementary methods for more accurate assessments. It is concluded that, although genotypic characterization using microsatellite markers is useful for variety identification, its ability to capture genetic variability in highly inbred crops may be restricted.

Keywords: genetic diversity, microsatellite markers, *Solanum spp.*, heterozygosity, polymorphism, genetic conservation.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) se ha consolidado entre los cultivos de mayor relevancia, trascendental a nivel internacional, es reconocida por su riqueza nutricional y su papel esencial dentro de la seguridad alimentaria. En América Latina, y particularmente en Perú, el cultivo de la papa se ha constituido como una actividad agrícola de gran relevancia, no únicamente desde una perspectiva económica, además de constituir un elemento clave de la identidad cultural y de la biodiversidad agrícola (Gabriel et al., 2018). La zona andina es reconocida como el centro primario de domesticación y diversificación de este cultivo, albergando una amplia variedad de ecotipos y genotipos adaptados a diversas condiciones agroecológicas (De la Cruz et al., 2020).

En las últimas décadas, el desarrollo de la agricultura intensiva y la introducción de variedades comerciales han generado una disminución en la variabilidad genética en lo que corresponde a las papas nativas. Este proceso de erosión genética amenaza la conservación de recursos fitogenéticos valiosos, los cuales podrían desempeñar un papel crucial en la adaptación del cultivo a desafíos futuros incluyendo el cambio en las condiciones climáticas y la proliferación de plagas emergentes y enfermedades (Apaza et al., 2023). Por ello, la caracterización genética de estas variedades se ha convertido en una prioridad para la biotecnología y la mejora genética vegetal (Gabriel et al., 2018).

El estudio de la diversidad genética de la papa ha sido tradicionalmente evaluada mediante caracterizaciones morfológicas y agronómicas, las cuales han permitido identificar y describir numerosas variedades nativas (Palomino et al., 2009).

Sin embargo, estas metodologías presentan limitaciones debido a la influencia del ambiente en la expresión fenotípica y a la subjetividad en la evaluación de caracteres. En la era actual, la implementación de tecnologías moleculares ha revolucionado el estudio

de la diversidad genética, proporcionando herramientas más precisas y objetivas para la caracterización de los recursos fitogenéticos (Roca, 2015).

El empleo de herramientas moleculares ha permitido avances significativos durante el proceso investigativo sobre la diversidad genética de la papa. Entre estas herramientas, los marcadores microsatélites (SSR, Simple Sequence Repeats) han sido ampliamente utilizados por su capacidad de detectar polimorfismos a nivel del ácido desoxirribonucleico (ADN), su reproducibilidad y su utilidad en investigaciones sobre diversidad genética y reconocimiento de variedades y análisis filogenéticos (De la Cruz et al., 2020). No obstante, la eficacia de estos marcadores puede variar dependiendo del número y tipo de loci utilizados, lo que plantea la necesidad de evaluar su aplicabilidad en estudios de poblaciones locales (Roca, 2015).

En este contexto, la intención de este trabajo académico es caracterizar la diversidad genética de 10 variedades nativas de papa del distrito de Paucartambo-Pasco mediante el uso de marcadores SSR. Con esta investigación, se busca contribuir al conocimiento sobre la estructura genética de estas variedades y generar información que facilite su conservación y uso como parte de estrategias de mejoramiento genético.

Este informe de tesis se estructura en cuatro capítulos como se detalla a continuación:

Capítulo I: Se expone la problemática de investigación.

Capítulo II: Se desarrolla el marco teórico correspondiente.

Capítulo III: Se describe el enfoque metodológico empleado y las técnicas de investigación utilizadas.

Capítulo IV: Se presentan los resultados generados por la investigación y su respectiva discusión.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

ÍNDICE

ÍNDICE_DE TABLAS

ÍNDICE_DE FIGURAS

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1.	Identificación y determinación del problema	1
1.2.	Delimitación de la Investigación	3
1.2.1.	Delimitación temporal	3
1.2.2.	Delimitación geográfica	3
1.3.	Formulación del problema.....	3
1.3.1.	Problema general	3
1.3.2.	Problemas específicos	3
1.4.	Formulación de objetivos	4
1.4.1.	Objetivo general	4
1.4.2.	Objetivos específicos.....	4
1.5.	Justificación de la investigación.....	4
1.6.	Limitaciones de la investigación	5

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.	Antecedentes de estudio	6
2.2.	Bases teóricas – científicas	8
2.2.1.	La papa	8
2.2.2.	Conservación de la producción de variedades nativas de papa	13
2.2.3.	Marcadores Moleculares	15
2.3.	Definición de términos básicos	21
2.3.1.	Análisis	21
2.3.2.	ADN	21
2.3.3.	Calidad.....	21
2.3.4.	Cuantificación.....	21
2.3.5.	Carácter.....	21
2.3.6.	Caracterización	21
2.3.7.	Caracterización Genotípica	21
2.3.8.	Extracción.....	22
2.3.9.	Genotipo	22
2.3.10.	Información Polimórfica	22
2.3.11.	Marcador molecular.....	22
2.3.12.	Microsatélite	22
2.3.13.	Polimorfismo	22
2.3.14.	Variedad	22
2.4.	Formulación de hipótesis.....	22
2.4.1.	Hipótesis general	22
2.4.2.	Hipótesis específicas	23

2.5.	Identificación de variables.....	23
2.5.1.	Variable independiente.....	23
2.5.2.	Variable dependiente.....	23
2.6.	Definición operacional de variables e indicadores.....	24

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1.	Tipo de investigación.....	25
3.2.	Nivel de investigación.....	25
3.3.	Métodos de investigación.....	25
3.4.	Diseño de investigación.....	26
3.4.1.	Instalación y conducción el experimento.....	27
3.5.	Población y muestra.....	37
3.5.1.	Población.....	37
3.5.2.	Muestra.....	37
3.6.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	38
3.6.1.	Técnicas.....	38
3.6.2.	Instrumentos.....	39
3.7.	Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación.....	40
3.8.	Técnicas de procesamientos y análisis de datos.....	41
3.9.	Tratamiento estadístico.....	42
3.10.	Orientación ética filosófica y epistémica.....	43

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.	Descripción del trabajo de campo.....	44
4.1.1.	Lugar de ejecución del experimento.....	44

4.2.	Presentación, análisis e interpretación de resultados.....	45
4.2.1.	Resultados de la cuantificación y evaluación de calidad del ADN	45
4.2.2.	Resultados de la amplificación del ADN mediante PCR.....	47
4.2.3.	Análisis bioinformático de las bandas de ADN	50
4.2.4.	Análisis estadístico de diversidad genética	52
4.2.5.	Construcción del dendrograma filogenético.....	54
4.3.	Prueba de hipótesis	56
4.4.	Discusión de resultados	57

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXO

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Compilación de las teorías taxonómicas más relevantes sobre las papas cultivadas (de Haan, 2009).....	10
Tabla 2 Características y propiedades principales de marcadores moleculares. Basado en el boletín técnico versión décima del Instituto Internacional de Recursos Genéticos Vegetales (IPGRI, 2020).	17
Tabla 3 Operacionalización de Variables.....	24
Tabla 4 Lista de marcadores moleculares a utilizar en la investigación.	32
Tabla 5 Lista de componentes para el PCR.....	33
Tabla 6 Variedades de papas nativas a utilizar en la investigación.....	38
Tabla 7 Resultados de la cuantificación del ADN de las 10 variedades de papas nativas.	45
Tabla 8 Tabla de Primers utilizados, secuencias, temperaturas de alineamiento.....	48
Tabla 9 Resultados de los indicadores estadísticos como la heterocigosidad observada (Ho), la heterocigosidad esperada (He) y el índice de información polimórfica (PIC) de los microsatélites utilizados.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diversificación y domesticación de las papas cultivadas basado en las premisas de Salaman (1937) y Hawkes (1990).	11
Figura 2 Distribución territorial según Hawkes (1990) de las distintas especies de papa cultivada: <i>S. curtilobum</i> , <i>S. chaucha</i> , <i>S. juzepczukii</i> , <i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigena</i> y <i>S. tuberosum</i> subsp. <i>tuberosum</i>	13
Figura 3 Motivos repetitivos y polimorfismo de los Microsatélites o SSR (Ponce et al., 2013).....	19
Figura 4 Resultado de la calidad de ADN mediante electroforesis en gel de agarosa de las 10 variedades de papas nativas.	47
Figura 5 Electroforesis de productos de amplificación de las 10 variedades de papa con el marcador STM1053.....	49
Figura 6 Electroforesis de productos de amplificación de las 10 variedades de papa con el marcador STG0001.....	49
Figura 7 Imagen del gel de poliacrilamida de las 10 variedades de papa usando los marcadores STM1053, STM1106, STM5114, STM5127 en el software Gel Analyzer 19.1	50
Figura 8 Imagen del gel de poliacrilamida de las 10 variedades de papa usando los marcadores STI0004, STI0012, STI0030, STI0032 en el software Gel Analyzer 19.1	51
Figura 9 Resultado del análisis de coordenadas principales (PCA).....	54
Figura 10 Dendograma Filogenético (UPGMA) de las variedades de papas nativas. .	55

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación y determinación del problema

La papa (*Solanum tuberosum L.*) se posiciona como el cuarto cultivo alimenticio más importante a nivel mundial, después del maíz, el trigo y el arroz, desempeñando un papel determinante en la sostenibilidad alimentaria global. Este tubérculo, originario de las culturas preincaicas e incaicas, ha sido cultivado en América del Sur a lo largo de alrededor de 8,000 años. En Perú, se han identificado más de 3,000 variedades de papas nativas, lo que refleja una notable diversidad genética y una riqueza cultural significativa (FAO, 2024).

En el contexto nacional, las papas nativas representan aproximadamente el 22% del área cultivada de papa en Perú, distribuidas en 19 de las 26 regiones del país. Sin embargo, esta diversidad aún no ha sido completamente caracterizada a nivel regional ni comunitario. Cada comunidad posee diferentes especies y variedades de papas nativas que no forman parte de centros de conservación genética, y se desconoce el grado de "similitud genética" entre ellas (De la Cruz et al., 2020).

En el contexto local, la región de Pasco se encuentra en la región central andina del Perú, donde las papas nativas se cultivan a más de 3,500 m s. n. m. Esta diversidad podría ser de gran utilidad para programas de mejoramiento genético. La Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión (UNDAC) ha iniciado un proyecto para construir un banco de colección de germoplasma de variedades nativas de papa representativas de la región. De una colección inicial de 358 variedades locales, se seleccionaron 40 para su evaluación y caracterización mediante descriptores morfológicos, marcadores SSR y diferentes grados de ploidía (Zevallos et al., 2023).

Tradicionalmente, la caracterización de las variedades de papa se ha basado en rasgos morfológicos y fisiológicos, como la arquitectura de la planta, la morfología del tubérculo y la coloración externa e interna. Sin embargo, en la actualidad, los programas de mejoramiento enfatizan el uso de técnicas genéticas y moleculares avanzadas para desarrollar variedades superiores con características mejoradas y mayor rendimiento. (Apaza et al., 2023). La caracterización de especies silvestres de papa es esencial antes de implementarlas en programas de mejoramiento. Los marcadores moleculares, particularmente los microsatélites (SSR), se utilizan ampliamente para estudiar genotipos estrechamente relacionados debido a su codominancia, especificidad de locus, reproducibilidad y capacidad para una genotipificación de alto rendimiento (Bhardwaj et al., 2023).

En este contexto, en el presente estudio, de un total de 206 variedades de papas nativas identificadas en la región de Pasco, se seleccionaron 10 para una caracterización genética detallada. La selección se basó en criterios como su destacada calidad agronómica, adaptabilidad a las condiciones agroecológicas

locales y su relevancia cultural y económica para las comunidades de la zona. Estas variedades incluyen "Papa rosada", "Ishco puro", "Piña negra", y entre otras más. La caracterización genética de estas variedades es esencial para su conservación y con miras a su inclusión en programas de mejora genética, contribuyendo así a la seguridad alimentaria y al desarrollo sostenible de la agricultura en la región.

1.2. Delimitación de la Investigación

1.2.1. Delimitación temporal

El presente trabajo de investigación se ejecutó entre el periodo comprendido de diciembre del 2019 y abril del 2020.

1.2.2. Delimitación geográfica

Una parte de este trabajo de investigación se ejecutó en la localidad del distrito de Paucartambo, departamento de Pasco. De la misma forma, otra gran parte del estudio se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Peruana Cayetano Heredia(UPCH), la cual está localizada en San Martín de Porres, ciudad de Lima, departamento de Lima.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema general

¿Cuáles serán las características genóticas con marcadores moleculares microsatélite de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo-Pasco?

1.3.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el procedimiento para extraer y cuantificar el ADN de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo-Pasco?

- ¿Cuál es la calidad del ADN de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp?*) del distrito de Paucartambo-Pasco?
- ¿Cuál es el contenido de información polimórfica de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp?*) del distrito de Paucartambo-Pasco?

1.4. Formulación de objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar las características genóticas mediante marcadores moleculares microsatélite de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo-Pasco.

1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer el procedimiento para la extracción y cuantificación del ADN de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo, Pasco.
- Evaluar la calidad del ADN extraído de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo, Pasco.
- Determinar el contenido de información polimórfica mediante el uso de marcadores microsatélite en 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo, Pasco.

1.5. Justificación de la investigación

Este trabajo de investigación tiene gran incidencia en el ámbito económico y sobre todo en el ámbito científico, porque es de suma importancia conocer y divulgar las variedades genéticas de papas nativas de nuestra región Pasco. Los resultados generados a partir de investigación “Análisis genotípico con marcadores moleculares microsatélite de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo-Pasco “, permitirán obtener el uso

adecuado de los recursos genéticos, en conservación y mejoramiento genético, y esa manera la seguridad alimentaria pueda estar garantizada y asegurada a través de la demanda de variedades, con características particulares.

1.6. Limitaciones de la investigación

La tesis se enfocará únicamente en el estudio genotípico, la investigación no tendrá como producto un mejoramiento genético específico. Las variedades de papa que serán analizadas en esta investigación, servirán solo como referencia de las variedades localizadas en Pasco; existe la posibilidad que existan en nuestra región una cantidad más considerable. Esta tesis se enfocará únicamente en el análisis genotípico, la investigación no tendrá como producto un mejoramiento genético específico. Las variedades de papa que serán analizadas en esta investigación, servirán solo como referencia de las variedades que se encuentran en Pasco; existe la posibilidad que existan en nuestra región una cantidad más considerable.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Tenorio y De La Cruz (2020), en su trabajo de investigación titulado “Análisis de la diversidad de papas (*Solanum spp.*) con marcadores moleculares microsatélite de los distritos de Seclla y Santo Tomás de Pata (Huancavelica) y Santillana (Ayacucho)”, analizaron con marcadores moleculares microsatélites el cultivo de papa (*Solanum spp.*), lograron identificar sus perfiles moleculares y así poder identificar sus distancias genéticas y variabilidad, las muestras de papa fueron recolectados de doce lugares del departamento de Ayacucho y Huancavelica. Los resultados indicaron que en relación a similitud genética y distancia, las muestras que indican una considerable relación genética son Santillana y Santo Tomás de Pata, lo que significa que ambas poblaciones exhiben muchas características similares.

Cadima et al. (2013), en su investigación “Uso de marcadores moleculares microsatelite para el análisis de la diversidad genética de papa nativa de Bolivia”, utilizaron seis especies de papa las cuales son: *S. goniocalyx*, *S. stenotomum*, *S.*

x juzepczukii, S. x curtilobum, S. x ajanhuiri, Solanum tuberosum Subsp. andigena, con veintidós marcadores microsatélites para su caracterización molecular. Los resultados indicaron que la diversidad genética varía entre las especies mencionadas anteriormente, en otras palabras no es uniforme entre diferentes especies de papa.

Roca (2015), en su tesis titulado “Análisis de la Diversidad Genética de Papas Nativas de la Zona Suroeste del Departamento de Junín Mediante el Uso de Marcadores Moleculares Microsatélites” realizó la caracterización de 444 variedades de papas nativas, las cuales fueron obtenidas del Sudeste del departamento de Junín. Utilizó 21 marcadores microsatélites, de los cuales obtuvo 158 fajas polimórficas. Los resultados indicaron que no existía un agrupamiento por zonas de papas nativas, en otras palabras la diversidad genética entre ellas es variada.

Ponce (2013), en su tesis “Caracterización molecular de las variedades de papas cultivadas (*Solanum spp.*) más importantes del Perú mediante el uso de microsatélites”, utilizó 168 variedades de papas para su respectiva caracterización genética. Logró amplificar 23 regiones mediante el uso de la técnica de PCR, las regiones amplificadas se colocaron en geles de poliacrilamida para poder calcular la dimensión de sus pares de bases. A partir de esta caracterización molecular, se pudo indicar su diversidad genética y el patrón en las cuales se agrupan las muestras analizadas. Los resultados mostraron que las que cuentan con mayor diversidad genética son las papas nativas y que es apreciable su variación genética.

2.2. Bases teóricas – científicas

2.2.1. La papa

A. Origen

El origen de la papa cultivada se remonta al área cerca al lago Titicaca, la cual se encuentra ubicada entre Bolivia y Perú (Vreugdenhil et al., 2017). Hace 10.000 años, el inicio de la domesticación se dio origen en el sur del Perú. La especie *Solanum brevicaule* fue la pionera, ya que a partir de esta especie se empezó a domesticar la que hoy conocemos como *Solanum tuberosum* (Ovchinnilova et al., 2021).

B. Importancia

La papa en términos de importancia alimentaria, supera al cultivo de maíz y también al cultivo de trigo, ocupa la tercera posición a nivel mundial (FAOSTAT, 2023). Esta planta es herbácea y tuberosa, puede alcanzar hasta un metro de altura. Los tubérculos que se obtienen son ricos en aminoácidos, en nutrientes, en vitaminas y contienen la cantidad exacta de carbohidratos que el cuerpo necesita (FAO, 2019). Este cultivo tiene una reproducción vegetativa y es de especie heterocigota. En la actualidad, las investigaciones están orientadas a desarrollar variedades que resistan a la plagas y enfermedades, destinadas para la población e industrias y de esa manera cumplan con los requisitos de calidad que estas requieran. Todos los esfuerzos están orientados en los rasgos cuantitativos, pero todavía falta mucho por investigar acerca de sus rasgos moleculares. (Uitdewilligen, 2022).

C. Clasificación taxonómica

En el transcurso de los años, muchas investigaciones han centrado su análisis en la clasificación de las especies de papa tanto silvestres como domesticadas. Estas investigaciones se centraron en su morfología, en la hibridación y la citogenética (Vreugdenhil et al., 2017). Hawkes en su libro “La papa: evolución, biodiversidad y recursos genéticos”, nos explica que existen siete especies de papa cultivada, las cuales son: *Solanum phureja*, *S. ajanhuir*, *S. curtilobum*, *S. stenotomun*, *S. chaucha*, *S. juzepczukii*, *S. tuberosum*. A su misma vez, nos precisa que *Solanum tuberosum* se subdivide en las subespecies: *Solanum tuberosum tuberosum* y *Solanum tuberosum andigena*. Este libro ha sido un punto de partida para que se cree un banco genético de papa en EE.UU.(NSRP-6) y en el Centro Internacional de la Papa (CIP) exista de la misma manera un banco de germoplasma, brindando fuente de información para investigaciones posteriores acerca de la La taxonomía del cultivo de papa (Huamán y Spooner, 2002).

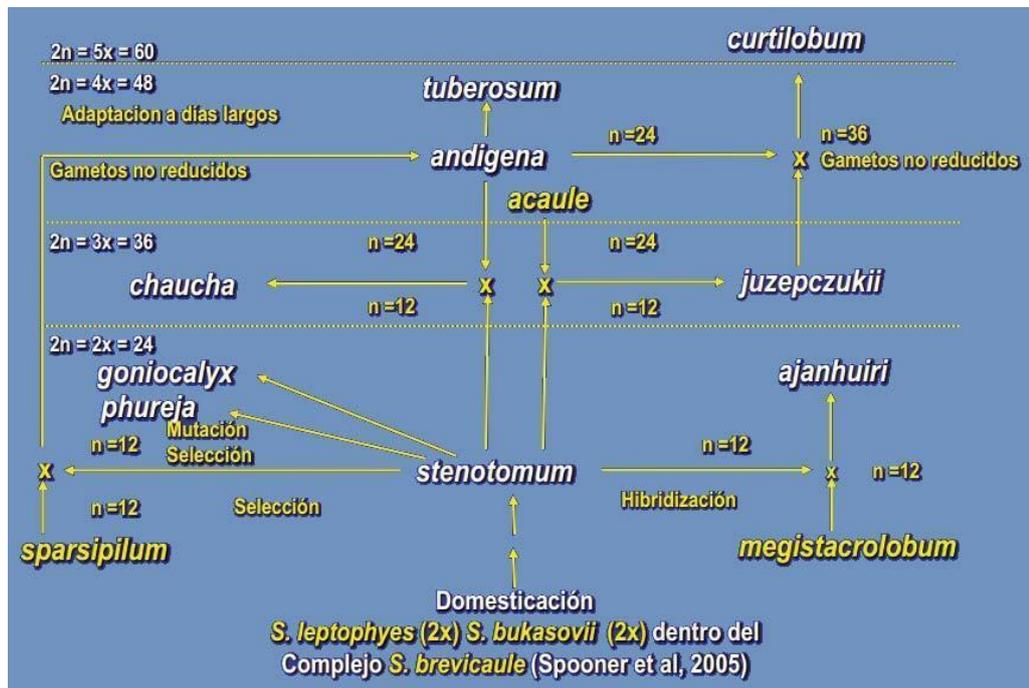
Huaman y Spooner (2002), basándose en la teoría de Dodds (1962) y en la denominación del ICNCP plantearon clasificar a las papas en ocho especies, las cuales son: *Juzepczukii*, *Chilotanum*, *Chaucha*, *Ajanhuiri*, *Stenotomun*, *Curtilobum*, *Andigena* y *Phureja*. En la actualidad, el CIP utiliza y reconoce la taxonomía de Ochoa (1999), que añade la especie domesticada *S. goniocalix*, según la categorización planteada por Hawkes (1990). La papa cultivada se clasifican también en pentaploides, tetraploides, triploides y diploides

(Spooner y Hijmans, 2001).

Tabla 1 Compilación de las teorías taxonómicas más relevantes sobre las papas cultivadas (de Haan, 2009)

Ploidía	Hawkes (1990)	Ochoa (1999)	Huaman & Spooner (2002)	Spooner et al. (2017)
2n = 2x = 24	<i>S. phureja</i>	<i>S. phureja</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Phureja	<i>S. tuberosum</i> diploide Grupo Andigenum
	<i>S. stenotomum</i>	<i>S. stenotomum</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Stenotomum	<i>S. tuberosum</i> diploide Grupo Andigenum
	<i>S. stenotomum</i>	<i>S. goniocalix</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Stenotomum	<i>S. tuberosum</i> diploide Grupo Andigenum
	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Ajanhuiri	<i>S. ajanhuiri</i>
2n = 3x = 36	<i>S. chaucha</i>	<i>S. chaucha</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Chaucha	<i>S. tuberosum</i> triploide Grupo Andigenum
	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Juzepczukii	<i>S. juzepczukii</i>
2n = 4x = 48	<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigena</i>	<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigena</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Andigenum	<i>S. tuberosum</i> tetraploide Grupo Andigenum
	<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>tuberosum</i>	<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>tuberosum</i>	<i>S. tuberosum</i> Grupo Chilotanum	<i>S. tuberosum</i> tetraploide Grupo Chilotanum
2n = 5x = 60	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	Grupo Curtilobum	<i>S. curtilobum</i>

Figura 1 Diversificación y domesticación de las papas cultivadas basado en las premisas de Salaman (1937) y Hawkes (1990).



Fuente: William Roca)

D. Papas nativas

Los cultivares nativos de papa (*Solanum tuberosum* ssp.) derivan del proceso selectivo llevado a cabo ancestralmente por los primeros agricultores desde el período de los albores de la agricultura (Egúsqiza, 2022). Se caracterizan por sus tubérculos de colores variados y su capacidad para crecer en entornos climáticos adversos. Los agricultores mantienen una diversidad genética destacada por sus propiedades sensoriales, incluyendo diferentes diploides que son resistentes al estrés abiótico y diversas enfermedades (Ritter et al., 2020).

E. Taxonomía de las papas nativas

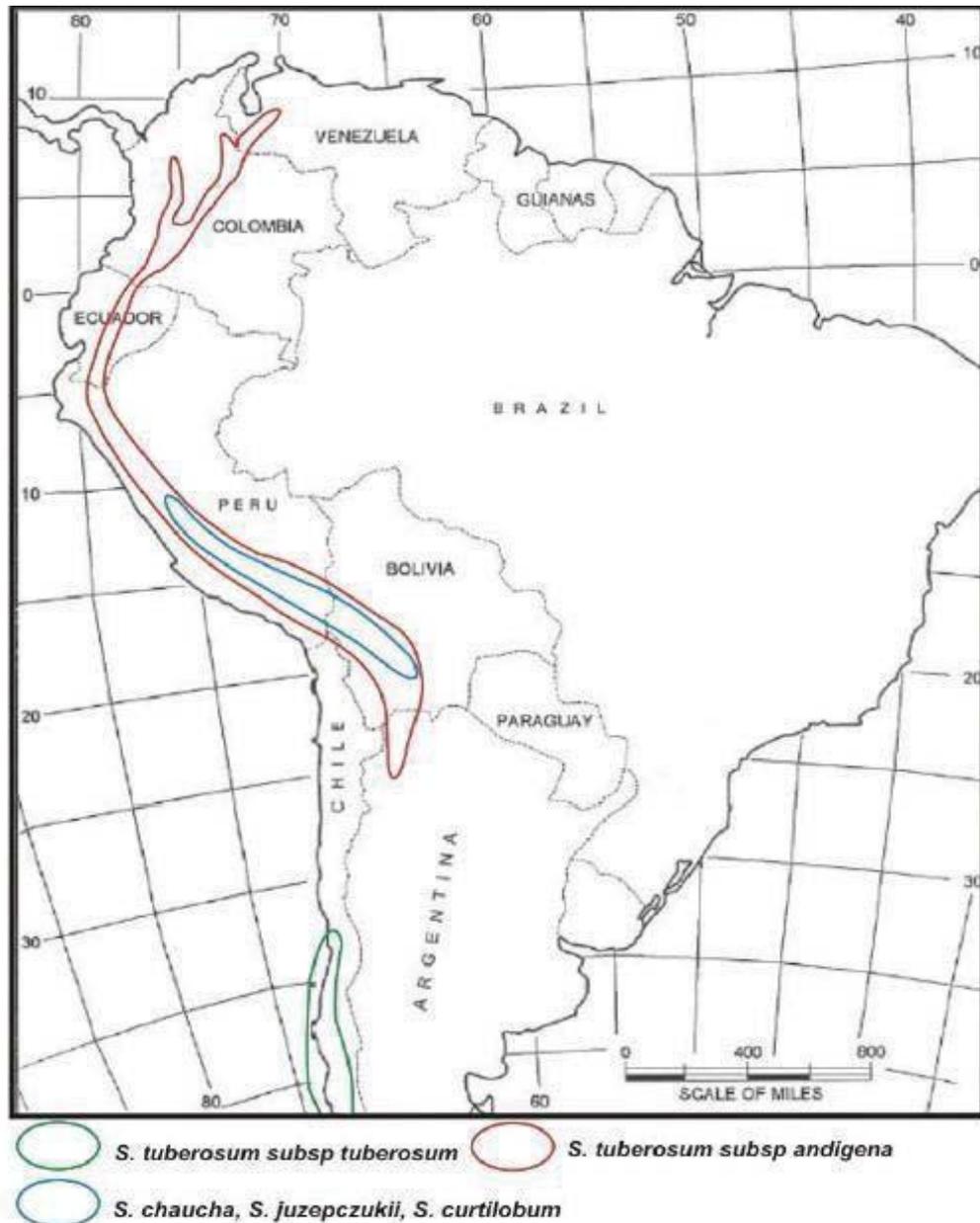
Las papas nativas según Ochoa (1990), pertenecen al Reino

Plantae, dentro de la División Fanerogamae. Se clasifica en la Clase Dicotiledóneas, Subclase Simpetala, y forma parte de la Familia Solanaceae. Su Género es *Solanum*, ubicado en la Sección Petota, siendo la Especie tuberosum, y la Subespecie andigena (*Solanum tuberosum* ssp. *andigena*).

F. Distribución de las papas nativas

En varios departamentos son cultivadas en la región andina del Perú las distintas variedades de papas nativas. Sin embargo, es posible encontrar diferencias marcadas entre las dos grupos de regiones, una es Pasco y Huánuco, la otra es Junín y Huancavelica. En el primer grupo de Pasco y Huánuco se centran en la producción de la variedad Amarilla Tumbay, por otro lado el segundo grupo: Junín y Huancavelica, sus variedades son otras y en mayor cantidad. Por otro lado, también la producción de papas nativas se encuentra presente en la meseta de Bombón, así como en distintos distritos pertenecientes a la provincia de Tarma (Egúsquiza, 2022).

Figura 2 Distribución territorial según Hawkes (1990) de las distintas especies de papa cultivada: *S. curtilobum*, *S. chaucha*, *S. juzepczukii*, *S. tuberosum subsp. andigena* y *S. tuberosum subsp. tuberosum*



2.2.2. Conservación de la producción de variedades nativas de papa

Hablando específicamente de las papas nativas, hay dos formas de conservación: el método ex situ y el método in situ. A pesar de que el

mantenimiento *in situ* se ha empezado a implementar en el transcurso de la década reciente, los recursos genéticos de la papa que han sido más estudiados se conservan por el método *ex situ*.

a. Conservación *ex situ*

El método de conservación *ex situ*, es aquella en la que se conservan las especies lejos de su hábitat y se conserva su material genético en bancos genéticos o bancos de germoplasmas. Conservados por instituciones tanto públicas o privadas, estos recursos genéticos también son colectados, caracterizados por dichas instituciones. (Upadhyaya et al., 2018).

Hay muchas formas de que los diversos recursos fitogenéticos se logren conservar en los centros de preservación genética, algunas de las formas lo son: semilla, *in vitro*, sembrados en el campo y entre otros tantos métodos que la tecnología está proporcionando en la actualidad. (Seguel, 2021).

El método *ex situ* tiene una ventaja en comparación al método *in situ* y es el de preservar genotipos que son de interés, que sean específicos. Pero tiene la desventaja que a la hora de evaluar dichos genotipos pierden fuerza ya que dichos genotipos cambiaron como consecuencia del tiempo debido al intercambio genético y otros cambios ambientales que puedan existir al momento del análisis.

b. Conservación *in situ*

Según Ferrero (1992), el método *in situ* consiste en conservar las especies en su ecosistema natural. En términos de complejos genéticos, solo los parientes silvestres están considerados como aptos para el método de conservación *in situ*, debido a que son los únicos que se encuentran en poblaciones silvestres. El enfoque de conservación *in situ* constituye

principalmente aplicable a: genotipos que no puedan reproducirse, genotipos domesticados por humanos, proveer investigaciones del genotipo dentro de su entorno natural, respaldar genotipos asociados. (Hawkes, 1985).

Hay varias amenazas en el método in situ, las cuales son: la aculturación de comunidades, la contaminación, la urbanización, la inserción de variedades mejoradas que reemplazan a las variedades tradicionales. (Baena et al., 2020).

c. Conservación in vitro

Este método de conservación in vitro se realiza en bancos de germoplasma o centros especializados in vitro, bajo condiciones controladas como temperatura y luz. Esto puede implicar la conservación de semillas botánicas o utilizando material vegetativo, en función del hábito de desarrollo de la especie en particular. El objetivo es conservar y maximizar la variedad de estas especies recogidas en su hábitat natural. (Rao, 2019).

2.2.3. Marcadores Moleculares

Un marcador molecular es un segmento específico o distintivo de ADN que se hereda de descendencia en descendencia y se logra identificar mediante varias técnicas. Un marcador genético se presenta cuando aparece una variación en la sucesión ordenada de ADN entre genotipos (Hartl y Jones, 2009). Se considera que un marcador eficiente para la caracterización genética debe basarse en las leyes de Mendel, las leyes de herencia que determinan los modelos taxonómicos, aquellas de demografía y diversidad. Un marcador no debe basarse en el comportamiento del medio ambiente. A todo lo descrito anteriormente lo describimos como un marcador neutralmente selectivo. (Selkoe y Toonen, 2006).

Según Spooner et al. (2021) menciona que, las herramientas moleculares

de identificación genética se pueden dividir en dos categorías básicas: los que se basan en la técnica de PCR y los que no. Aunque muchos marcadores moleculares actuales se sustentan en el procedimiento de PCR, los procesos actuales requieren que se conozca acerca de las secuencias y, por ende, las nuevas técnicas actuales de secuenciación. Pero es esencialmente conocer de la técnica de PCR y así poder comprender estas nuevas técnicas, que incluyen marcadores SNPs, con técnicas como las de GBS (Elshire et al., 2021) y SBP (Sahu et al., 2019).

Los marcadores moleculares se utilizan comúnmente para una variedad de propósitos, incluyendo la caracterización molecular, la construcción de esquemas genéticos, la identificación taxonómica, posicionamiento de genes en los cromosomas, la cuantificación de la diversidad genómica, la filiación genética, la exploración de los antecedentes y la trayectoria evolutiva de las especies, entre otros más. (IPGRI, 2020).

Debido a las investigaciones en la biología molecular de los genes, se han propuesto distintos métodos con el propósito de analizar la variabilidad genómica (Schlotterer, 2019).

Los marcadores genéticos de naturaleza molecular suelen variar en características clave como la frecuencia genómica, la magnitud del polimorfismo genómico, el lugar específico, la reproducibilidad, los requerimientos técnicos y la inversión financiera. El escoger el marcador genético apropiado va a depender del uso específico, de la evaluación que le daremos al nivel de polimorfismo, los conocimientos apropiados y también si existen algunas limitantes en lo que concierne al tiempo y recursos monetarios. En la siguiente Tabla 2, se brinda las características y propiedades de cada marcador.

Tabla 2 Características y propiedades principales de marcadores moleculares.

Basado en el boletín técnico versión décima del Instituto Internacional de Recursos Genéticos Vegetales (IPGRI, 2020).

Característica del Marcador	Aloenzimas	RFLP	Mini-satélites	PCR sequencing	RAPD	SSR	AFLP
Abundancia genómica	Baja	Alta	Media	Baja	Alta	Alta	Alta
Nivel de polimorfismo	Baja	Media	Alta	Baja	Media	Alta	Media
Especificidad de locus	Sí	Sí	Sí/No	Sí	No	Sí	No
Codominancia alélica	Sí	Sí	Sí/No	Sí	No	Sí	Sí/No
Reproducibilidad	Alta	Alta	Alta	Alta	Baja	Alta	Media-Alta
Demanda técnica	Baja	Alta	Alta	Alta	Baja	Baja-Media	Media
Costos operacionales	Baja	Alta	Alta	Alta	Baja	Baja	Media
Costos de desarrollo	Baja	Media-Alta	Media-Alta	Alta	Baja-Media	Alta	Baja
Cantidad de DNA	-	Alta	Alta	Baja	Baja	Baja	Media
Automatización	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes

La mayoría de los marcadores moleculares están basadas en dos técnicas básicas e importantes: La técnica del proceso mediante el cual se duplica el ADN conocido como PCR y enzimas de corte de ADN.

a. **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Es un método ampliamente empleado en la biología del ADN y ARN donde se amplifican fragmentos concretos de ADN. La técnica de PCR, introducida por Kary Mullis en 1983, transformó profundamente la genética molecular y ha encontrado utilidad en distintas disciplinas, incluyendo la medicina, la investigación forense y la biotecnología (Mullis, 2019).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa se emplea para copiar

selectivamente una secuencia específica de ADN obtenido a partir de cantidades mínimas de material genético. Consiste en ciclos de desnaturalización, emparejamiento de cebadores y alargamiento de la cadena, los cuales se repiten múltiples veces en un termociclador (Saiki et al., 2018). La apertura inicial de la forma bicatenaria del ADN mediante temperaturas elevadas separa las cadenas de ADN complementarias, permitiendo que los cebadores se unan específicamente a la secuencia de interés. A continuación, se produce la extensión de la cadena mediante la actividad de una enzima termoestable, generalmente la ADN polimerasa Taq, a una temperatura óptima de alrededor de 72°C (Mullis, 2019).

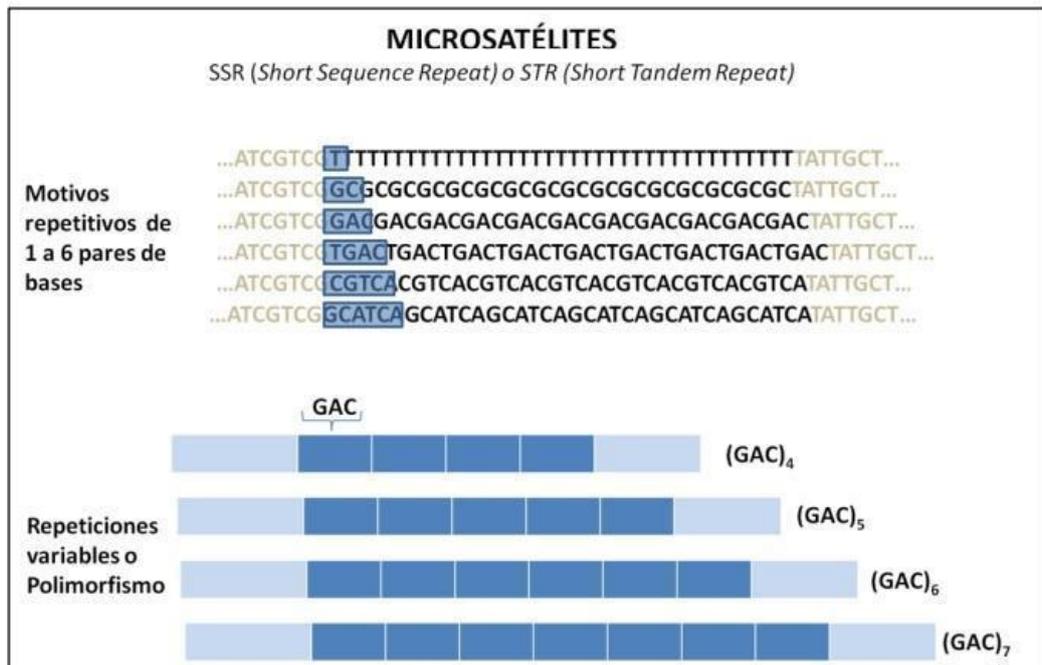
La PCR ha sido fundamental en numerosas aplicaciones científicas y médicas. En la medicina, la PCR se utiliza para la identificación de patologías infecciosas, localización de alteraciones genéticas y también la identificación de organismos patógenos (Mackay et al., 2022). En la investigación forense, la PCR se emplea para análisis de perfiles de ADN en escenarios criminales y judiciales, permitiendo la identificación de individuos con alta precisión y sensibilidad (Butler, 2020). Además, la PCR es una herramienta indispensable en la biotecnología, donde se utiliza en la clonación de genes, la secuenciación de ADN y la ingeniería genética (Dieffenbach et al., 2016).

b. Los marcadores microsatélites o SSR

Los marcadores tipo microsatélite, conocidos además como SSR (short sequence repeat), son fragmentos cortos de ADN donde se repiten fragmentos que comprenden entre 2 y 10 pares de bases. La variabilidad de estos marcadores se debe a las diferencias en el número de ocasiones que se reiteran los alelos de un mismo locus (Ferreira y Grattapaglia, 2008).

Tenorio (2018) señala que los microsatélites actúan como secuencias repetitivas utilizadas como marcadores moleculares muy útiles que se han empleado exitosamente en diversas áreas, desde la mejora de cultivos hasta la conservación de especies vegetales de importancia comercial. Su utilidad proviene de su alta variabilidad, su afluencia en el genoma, su clase codominante, su vasto alcance del genoma, su fácil identificación mediante PCR y la poca cantidad de ADN necesario para su análisis. La alta variabilidad de los SSR permite distinguir especies que tengan relación entre sí, es muy útil para identificar variedades cultivadas.

Figura 3 Motivos repetitivos y polimorfismo de los Microsatélites o SSR
(Ponce et al., 2013)



Los marcadores microsatélites brindan muchos beneficios sobre otros marcadores. Son económicos, codominantes, multialélicos, muy variables, son sencillos de manejar, se admite el uso de ADN con bajo grado de calidad y ofrecen alta calidad y duplicidad de bandas (Spooner et al., 2017).

No obstante, los microsatélites también presentan desafíos en su análisis. Muchas de estas dificultades pueden ser superadas mediante un buen diseño de los iniciadores. Es importante que tengan una longitud mínima con una longitud de 20 pb, una composición de guanina-citosina que supera el 50% para mantener la especificidad, y una temperatura de fusión mayor a 55°C. Un problema es que los iniciadores no suelen ser universales para todos los grupos taxonómicos, por lo que deben desarrollarse específicamente para cada especie. Afortunadamente, la bioinformática ofrece mucha información y bases de datos que ayudan a minimizar este problema, aunque sigue siendo un desafío diseñar iniciadores para especies poco estudiadas o grupos taxonómicos lejanos (Schlötterer, 2019).

c. Microsatélites en la papa

Dentro del contexto del cultivo de papa, los microsatélites se han usado para estudiar la diversidad, la identificación, la clasificación taxonómica, los mapas de ligamiento genético, la estructura genética, la identificación de haplotipos en colecciones de bancos genéticos, el rastreo de migraciones de germoplasma y el establecimiento de colecciones núcleo (Ghislainjet al., 2009).

Con fines de análisis de diversidad, es importante considerar el costo y la actualidad de la técnica utilizada. Cuando se analizan muchos cultivares, se requieren diversas técnicas que puedan evaluar un gran número de loci y de muestras. Además, la habilidad para procesar volúmenes elevados de datos y realizar análisis estadísticos para estimar la diversidad entre dichas poblaciones (Selkoe y Toonen, 2006).

2.3. Definición de términos básicos

2.3.1. Análisis

Descomposición sistemática de un todo en sus partes fundamentales para estudiar su estructura, composición y funcionamiento (RAE, 2024).

2.3.2. ADN

Acrónimo de ácido desoxirribonucleico, molécula portadora de la información genética esencial para el desarrollo y funcionamiento de los seres vivos (NHGRI, s.f.).

2.3.3. Calidad

Conjunto de rasgos y particularidades distintivos que el producto o servicio posee y que le otorgan su capacidad para satisfacer necesidades implícitas o explícitas (ISO, s.f.).

2.3.4. Cuantificación

Proceso de medir y expresar en números la cantidad de un determinado fenómeno o variable (RAE, 2024).

2.3.5. Carácter

Serie de atributos y rasgos que constituyen la manera de ser de una persona o una cosa (RAE, 2024).

2.3.6. Caracterización

Proceso de describir y analizar las características específicas de una persona, objeto o fenómeno (RAE, 2024).

2.3.7. Caracterización Genotípica

Proceso de identificación y análisis de los genes y alelos presentes en un organismo para determinar su genotipo (RAE, 2024).

2.3.8. Extracción

Proceso de obtener una sustancia o componente de un material complejo, como la extracción de ADN de una célula (Sambrook, J., & Russell, D. W., 2001).

2.3.9. Genotipo

Conjunto de genes que posee un organismo en particular, el cual determina sus características hereditarias (Pierce, 2017).

2.3.10. Información Polimórfica

Variabilidad en la secuencia del ADN entre individuos, utilizada para identificar diferencias genéticas (Pierce, 2017).

2.3.11. Marcador molecular

Fragmento de ADN que se usa para identificar un locus específico en el genoma y estudiar la variabilidad genética (Brown, 2016).

2.3.12. Microsatélite

Secuencias cortas de ADN repetitivas distribuidas en el genoma, utilizadas como marcadores moleculares en estudios genéticos (Goldstein, D. B., & Schlötterer, C., 1999).

2.3.13. Polimorfismo

Presencia de dos o más variantes (alelos) en una población, donde la frecuencia del alelo de menor prevalencia es superior al 1% (Brooker, 2015).

2.3.14. Variedad

Subdivisión dentro de una especie, que presenta características distintivas y es capaz de reproducirse entre sí (Simpson, 2019).

2.4. Formulación de hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

Las 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de

Paucartambo, Pasco, presentan características genotípicas diferenciadas, detectables mediante el uso de marcadores moleculares microsatélite.

2.4.2. Hipótesis específicas

- Es posible establecer un procedimiento eficaz para la extracción y cuantificación del ADN de 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo, Pasco.
- El ADN extraído de las 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo, Pasco, presenta una calidad adecuada para su análisis molecular.
- Los marcadores microsatélite permiten identificar un contenido polimórfico variable entre las 10 variedades de papas nativas (*Solanum spp.*) del distrito de Paucartambo, Pasco.

2.5. Identificación de variables

2.5.1. Variable independiente

Las 10 variedades de papas nativas.

2.5.2. Variable dependiente

- Extracción y Cuantificación de ADN
- Calidad de ADN
- Polimorfismo

2.6. Definición operacional de variables e indicadores

Tabla 3 Operacionalización de Variables.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES				
Variable	Definición conceptual	Dimensión o factor a evaluar	Indicador	Instrumento
Variable Independiente e Accesiones de papas nativas (Solanum spp.).	Muestras únicas de variedades de papas nativas con diversidad genética específica.	Diversidad de papas nativas.	Conteo de accesiones de papas nativas diferentes.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Base de datos. ➤ Cámara fotográfica.
Variable Dependiente - Extracción y cuantificación de ADN. - Calidad de ADN. - Polimorfismo.	<ul style="list-style-type: none"> - Eficacia del proceso de extracción y cuantificación de ADN de las muestras de papa. - Pureza y integridad del ADN extraído de las muestras de papa. - Diversidad genética entre las diferentes accesiones de papas nativas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Eficiencia de extracción y cuantificación. - Pureza e integridad del ADN. - Variabilidad genética. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cantidad y calidad de ADN extraído de las muestras. - Proporción de ADN degradado y contaminado. - Número y tipo de polimorfismos encontrados en el ADN. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Espectrofotómetro. ➤ PCR. ➤ Electroforesis de gel. ➤ Secuenciación de ADN

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de enfoque aplicado y cuantitativo, con un nivel de análisis que abarca la descripción y la explicación

3.2. Nivel de investigación

Experimental, descriptivo y explicativo.

3.3. Métodos de investigación

Para el desarrollo de esta investigación, se emplearon los siguientes métodos:

- a) **Método Experimental:** Se diseñaron y ejecutaron experimentos en laboratorio para extraer, cuantificar y analizar el ADN de las variedades de papa mediante el uso de técnicas de PCR y electroforesis en gel.
- b) **Método Analítico:** Se realizó la identificación de patrones genéticos utilizando herramientas bioinformáticas para el análisis de los fragmentos amplificados mediante marcadores moleculares microsatélite.
- c) **Método Estadístico:** Se aplicaron pruebas estadísticas para la comparación

de los resultados obtenidos, determinando la significancia de las diferencias encontradas en las variables genotípicas evaluadas.

3.4. Diseño de investigación

La metodología empleada corresponde a un diseño de investigación experimental, ya que se realizaron procedimientos controlados en laboratorio para la extracción, cuantificación y análisis del ADN de las variedades de papas nativas. La realización del estudio comprendió cinco etapas esenciales:

a) Extracción y cuantificación del ADN

Se procedió a la extracción del ADN a partir de las muestras correspondientes al tejido foliar de las variedades de papa utilizando protocolos estandarizados. Posteriormente, la calidad y contenido de material genético (ADN) fueron evaluadas por medio de análisis espectrofotométrico para garantizar su idoneidad en los análisis posteriores.

b) Amplificación del ADN mediante PCR

Se utilizaron marcadores moleculares microsatélite (SSR) para amplificar regiones específicas del genoma de cada muestra. La técnica de PCR permitió obtener fragmentos amplificados que reflejan el rango de diferencias genéticas entre las variedades estudiadas.

c) Electroforesis en gel

Los productos de PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa, lo cual hizo posible verificar la calidad y el tamaño de los fragmentos amplificados. Esta técnica facilitó la detección de polimorfismos en las muestras analizadas.

d) Análisis bioinformático y estadístico

Se aplicaron herramientas bioinformáticas y pruebas estadísticas para

analizar la variabilidad genética. Se calcularon parámetros de variabilidad genética y se examinó el nivel de información genética proporcionada por los marcadores, determinando la diferenciación entre las muestras.

e) **Elaboración del dendograma**

Con base en los datos obtenidos, se realizó un análisis de agrupamiento mediante distancias genéticas, lo que permitió construir un dendograma. El gráfico representa las relaciones filogenéticas entre las variedades de papa y su grado de similitud genética.

3.4.1. **Instalación y conducción el experimento.**

Protocolo de extracción de ADN

a. **Recolección y preparación de muestras**

Para la extracción de ADN, se seleccionaron hojas jóvenes y frescas de las 10 variedades de papa en estudio. Estas fueron recolectadas en condiciones controladas y transportadas en nitrógeno líquido para evitar la degradación del material genético.

b. **Reactivos y soluciones utilizadas**

- Buffer de extracción (Tris-HCl 100 mM, EDTA 50 mM, NaCl 500 mM, SDS 2%)
- β -mercaptoetanol (para evitar la oxidación de compuestos fenólicos)
- RNasa A (para eliminar ARN contaminante)
- Alcohol isopropílico (para precipitar el ADN)
- Etanol al 70% (para lavar el ADN)
- Buffer TE (para resuspender el ADN extraído)

c. Procedimiento de extracción

- **Maceración de la muestra:** Se tomaron aproximadamente 100 mg de tejido foliar y se trituraron congeladas con nitrógeno líquido y molidas en un mortero y pistilo hasta obtener un polvo fino.
- **Lisis celular:** Se añadieron 500 μL de buffer de extracción precalentado (65 °C) y 10 μL de β -mercaptoetanol a la muestra triturada. Se incubó a 65 °C durante 30 minutos con inversión ocasional para favorecer la ruptura de las membranas celulares y la solubilización del ADN.
- **Eliminación de proteínas y contaminantes:** Se añadió una cantidad igual de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y se mezcló suavemente por inversión. La muestra fue centrifugada a 12,000 rpm por un período de 10 minutos manteniendo la muestra a 4 °C. Se aisló la fase acuosa en un nuevo tubo.
- **Precipitación del ADN:** Se añadió una proporción de 0.7 volúmen de alcohol isopropílico frío y se mezcló suavemente. Se incubó a -20 °C durante 30 minutos. Se centrifugó a 12,000 rpm por 15 minutos para obtener el ADN en forma de un pellet blanco.
- **Lavado del ADN:** Se lavó el pellet con volumen de 500 μL de etanol con una concentración del 70% y se centrifugó a 10,000 rpm por 5 minutos. Se repitió el lavado, posteriormente, el pellet fue dejado para secarse a temperatura ambiente
- **Resuspensión del ADN:** Se disolvió el pellet en 50 μL de

solución buffer TE, seguida de almacenamiento a -20 °C hasta su uso.

d. Evaluación de la calidad y cuantificación del ADN

Se midió la concentración y la proporción de absorbancia a 260 y 280 nm se empleó para estimar la pureza del ADN por espectrofotometría. Se verificó la integridad mediante electroforesis en gel de agarosa, preparado al 1% en presencia de bromuro de etidio. Este protocolo permitió la obtención de ADN de alta calidad para su posterior análisis genético.

Cuantificación y evaluación de calidad del ADN

a. Recolección y preparación de muestras

Con el ADN extraído, se realizó la cuantificación correspondiente a las 10 muestras y su evaluación de calidad para garantizar que el material obtenido fuera adecuado para los análisis moleculares posteriores. El procedimiento fue ejecutado en dos fases principales: (1) cuantificación del ADN a través de un análisis espectrofotométrico y (2) evaluación de la integridad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa.

1. Cuantificación del ADN mediante espectrofotometría

Para determinar la concentración y evaluación de la pureza del ADN extraído, se utilizó un espectrofotómetro basado en la absorbancia de luz ultravioleta (UV). La cuantificación se realizó de la siguiente manera:

1.1. Preparación de las muestras

Se tomaron 2 µL de ADN diluido en buffer TE o agua

estéril libre de enzimas degradadoras de ácidos nucleicos. Se colocaron en un lector de microvolumen (NanoDrop) o en una cubeta de cuarzo en un espectrofotómetro convencional.

1.2. Medición de absorbancia

Se midió la absorbancia del ADN en tres longitudes de onda clave:

- 260 nm (A260): Indica la concentración de ácidos nucleicos, específicamente ADN.
- 280 nm (A280): Indica la presencia de proteínas en la muestra.
- 230 nm (A230): Indica la presencia de impurezas orgánicas como fenoles, sales y carbohidratos.

1.3. Evaluación de la pureza del ADN

Los resultados espectrofotométricos se utilizaron con el fin de calcular las siguientes relaciones:

Relación A260/A280:

- Un valor entre 1.8 y 2.0 indica un ADN puro.
- Valores menores a 1.8 sugieren contaminación con proteínas o fenoles.
- Valores mayores a 2.0 pueden indicar contaminación con ARN.

Relación A260/A230:

- Un valor cercano a 2.0-2.2 señala una muestra sin contaminación con sales o compuestos orgánicos.

- Valores menores sugieren evidencia de sales residuales generadas por la extracción.

2. Evaluación de la integridad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa

Después de la cuantificación, se evaluó la integridad del ADN mediante una corrida electroforética en gel de agarosa. Este análisis permitió verificar la presencia de fragmentos intactos de ADN y descartar muestras degradadas.

2.1. Preparación del gel de agarosa

Se preparó un gel de agarosa al 1% (1 g de agarosa en 100 cantidad de buffer TAE 1X (mL). Seguidamente, se añadió el SYBR Safe como intercalante para la detección visual del ADN. Se vertió la mezcla en una bandeja con peine y se dejó solidificar.

2.2. Preparación y carga de muestras

Se mezclaron 3 μ L de ADN con 2 μ L de buffer de carga (6X). Se cargaron en los pocillos del gel junto con un marcador de peso molecular (ladder de 1 kb o 100 bp).

2.3. Electroforesis y visualización del ADN

Se corrió el gel en buffer TAE 1X a 100 V durante 40 minutos. Se visualizó el ADN analizado bajo luz ultravioleta en un transiluminador de geles.

2.4. Análisis de resultados

- Muestras óptimas: Se evidenciaron bandas bien definidas de alto peso molecular, sin arrastre ni

fragmentación.

- Muestras degradadas: Se identificaron bandas difusas o smearing, lo que indicaba fragmentación del ADN.
- Contaminación con ARN: Si se observaban bandas adicionales de bajo peso molecular, se trataba de ARN residual. En este caso, se realizó tratamiento con RNasa A para eliminarlo.

Selección de Primers microsatélites

Con base en la calidad y reproducibilidad se seleccionaron 10 primers microsatélites para su uso en las 10 variedades. Los primers seleccionados son los siguientes:

Tabla 4 Lista de marcadores moleculares a utilizar en la investigación.

Marcador	Motivo Repetido	T°C	Fuente
STM1053	(TA) _n (ATC) _n	53°C	Ghislain et al., 2009
STM1106	(ATT) _n	51°C	Ghislain et al., 2009
STM5114	(ACC) _n	60°C	Ghislain et al., 2009
STM5127	(TCT) _n	55°C	Ghislain et al., 2009
STI0004	(AAT) _n	54-60°C	Ghislain et al., 2009
STI0012	(ATT) _n	56°C	Ghislain et al., 2009
STI0030	(ATT) _n	58°C	Ghislain et al., 2009
STI0032	(AGG) _n	64°C	Ghislain et al., 2009
STG0001	(TGG) _n	55°C	Provan et al., 1996
STPOAc58	(TA) _n	57°C	Ghislain et al., 2009

Amplificación del ADN mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La amplificación del ADN se llevó a cabo mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la cual permitió obtener múltiples copias de secuencias específicas del ADN de las variedades de papa analizadas. Esta técnica es fundamental para llevar a cabo el estudio de la variabilidad genética, ya que permite la detección de polimorfismos en regiones específicas del genoma.

a. Preparación de reactivos y mezcla de reacción

Para la amplificación del ADN, estos componentes se prepararon en condiciones estériles y se mantuvo en hielo hasta su uso para evitar la degradación de los reactivos. Se incluyó los siguientes componentes:

Tabla 5 Lista de componentes para el PCR.

Componentes	Concentración Final	Volumen para reacción de 10 ul	Volumen para 10 reacciones
Buffer (5x)	1x	2 ul	20 ul
MgCl ₂ (25mM)	2.5mM	1 ul	10 ul
dNTPs mix (10 uM)	0.2 mM	0.2 ul	2 ul
Primer F (10 uM)	0.3 uM	0.3 ul	3 ul
Primer R (10 uM)	0.3 uM	0.3 ul	3 ul
M 13-700		0.06 ul	0.6 ul
Taq polimerasa (5U/uL)	1U/rxn	0.2 ul	2 ul
NFW		4.94 ul	49.4 ul
ADN (40 ng/uL)		1 ul	
BSS	1/3	5 ul	

b. Condiciones de amplificación en el termociclador

Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador programable, utilizando un protocolo de amplificación estandarizado para la detección de marcadores genéticos específicos. El programa térmico constó de las siguientes etapas:

- **Desnaturalización inicial:** 94°C por 5 minutos (para separar las cadenas de ADN).
- **Ciclo de amplificación (30 ciclos):**
 - ✓ *Desnaturalización:* 94°C por 30 segundos.
 - ✓ *Alineamiento (hibridación de primers):* Temperatura definida (según el par de primers) por 30 segundos.
 - ✓ *Extensión:* 72°C por espacio de un minuto.
- **Extensión final:** 72°C por 10 minutos (para completar la síntesis de ADN).
- **Almacenamiento:** 4°C hasta su procesamiento posterior.

c. Verificación del producto de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa

Después de la amplificación, se confirmó la presencia y especificidad de los productos de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa, siguiendo los siguientes pasos:

- **Preparación del gel:** Se preparó un gel de agarosa al 1%, disuelto en buffer TAE 1X y teñido con SYBR Safe.
- **Carga de muestras:** Se mezclaron 5 µL del producto de PCR con 2 µL de buffer de carga y se depositaron en los pocillos del gel.
- **Electroforesis:** Se corrió el gel a 100 V por 40 minutos en buffer TAE

1X.

- **Visualización:** Se observó el ADN amplificado empleando un transiluminador de radiación ultravioleta, comparando con un marcador de peso molecular para confirmar el tamaño esperado de los fragmentos.

d. Control de calidad de la amplificación

Para asegurar la confiabilidad de los resultados, se incluyeron los siguientes controles en cada corrida de PCR:

- **Control negativo:** Reacción sin ADN para descartar contaminación.
- **Control positivo:** ADN previamente amplificado como referencia.
- **Replicados:** Se realizaron amplificaciones en duplicado para garantizar la reproducibilidad.

Los productos de PCR confirmados fueron utilizados para los análisis genéticos posteriores, incluyendo el análisis de polimorfismos mediante electroforesis en gel de poliacrilamida o capilar.

Análisis bioinformático y estadístico

Una vez obtenidos los productos de PCR y verificada su calidad mediante electroforesis en gel de agarosa, se procedió al análisis bioinformático y estadístico de los datos genéticos. Este proceso permitió evaluar la diversidad genética de las variedades de papa estudiadas, determinar relaciones filogenéticas y validar la confiabilidad de los resultados obtenidos.

a. Análisis de imágenes de los geles de electroforesis

Para garantizar una interpretación precisa de los patrones de bandas de ADN obtenidos en la electroforesis, se emplearon herramientas digitales de procesamiento de imágenes:

- **Sistema de documentación de geles UV:** Se utilizó un sistema de

transiluminación de luz UV para capturar imágenes digitales de los geles de agarosa. Estas imágenes fueron almacenadas en formato digital para su posterior análisis.

- **Software de análisis de imágenes (Gel Analyzer):** Se empleó este software para medir la intensidad y tamaño de las bandas de ADN, permitiendo una cuantificación precisa de los fragmentos amplificados.

El análisis de las bandas facilitó la obtención de matrices de presencia/ausencia de alelos, necesarias para los estudios de diversidad genética.

b. Análisis bioinformático de datos genéticos

Para determinar la variabilidad genética y las relaciones evolutivas entre las variedades de papa, se utilizaron programas especializados en análisis filogenético y genético:

- **GenAIEx (Genetic Analysis in Excel):** Se utilizó para el análisis genético en poblaciones, cálculo de heterocigosidad y determinación de índices de diversidad genética.
- **NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System):** Se aplicó para la construcción de matrices de similitud genética y la elaboración del dendrograma utilizando el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).

c. Análisis estadístico de la diversidad genética

Para validar los resultados obtenidos en el análisis bioinformático, se aplicaron pruebas estadísticas mediante el uso del software R.

- **Cálculo de estadísticos descriptivos:** Se determinaron valores como la heterocigosidad observada y esperada, la diversidad genética promedio

y la varianza de las frecuencias alélicas.

d. Construcción del dendrograma filogenético

A partir de las matrices de similitud generadas en NTSYS-pc, se construyó un dendrograma filogenético utilizando el algoritmo UPGMA, el cual permitió visualizar las relaciones genéticas entre las muestras analizadas.

Este análisis permitió identificar patrones de agrupamiento entre las variedades de papa, proporcionando información clave sobre su diversidad genética y posibles relaciones evolutivas.

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población

La población de estudio estuvo conformada por 40 muestras de variedades de papas nativas (*Solanum* spp.) recolectadas en el distrito de Paucartambo-Pasco.

3.5.2. Muestra

Se seleccionó una muestra representativa de 10 variedades de papas nativas (*Solanum* spp.).

Tabla 6 Variedades de papas nativas a utilizar en la investigación.

Numero de muestra	Nombre común
1	Papa rosada
2	Huachuy
3	Yana curu
4	Piña negra
5	Cayash
6	Tatash
7	Rayhuana
8	Ishco puro
9	Kuchipa ismay
10	Muro palta

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.6.1. Técnicas

Para la recolección de datos en esta investigación se emplearon diversas técnicas de laboratorio especializadas en análisis genético, con el fin de recabar datos precisos sobre la variabilidad genética de las variedades de papa estudiadas. Las principales técnicas utilizadas fueron:

- a) **Extracción de ADN:** Se utilizó la técnica de extracción de ADN a partir de tejido foliar fresco de cada muestra de papa, siguiendo el protocolo de extracción con tampón CTAB (Bromuro de Cetil Trimetil Amonio). Posteriormente, el ADN fue purificado para eliminar contaminantes como proteínas, polisacáridos y compuestos fenólicos, garantizando así su calidad para el análisis molecular.
- b) **Cuantificación y evaluación de calidad del ADN:** La concentración y pureza del ADN extraído fueron determinadas mediante espectrofotometría en un espectrofotómetro Nanodrop, midiendo la absorbancia a 260 nm y 280 nm. Además, se verificó la integridad del ADN mediante electroforesis en

gel de agarosa al 1% teñido mediante el uso de bromuro de etidio

- c) **Amplificación del ADN mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR):** Se empleó la técnica de PCR para amplificar regiones específicas del ADN, utilizando primers diseñados para marcadores microsatélites (SSR). La mezcla de reacción incluyó ADN molde, buffer de reacción, dNTPs, primers específicos, Taq polimerasa y agua libre de enzimas nucleasas.
- d) **Electroforesis en gel de agarosa:** Los fragmentos de ADN amplificados por PCR fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 2%, corriendo a un voltaje de 100 V durante 45 minutos. Esto permitió visualizar los fragmentos de ADN y evaluar la calidad de la amplificación.
- e) **Análisis bioinformático y estadístico:** Las imágenes de los geles de electroforesis fueron digitalizadas y analizadas mediante software especializado, permitiendo determinar el tamaño de los fragmentos amplificados. Posteriormente, se emplearon herramientas bioinformáticas para calcular la diversidad genética y la distancia genética entre las muestras, las cuales se usaron para elaborar un dendograma basado en análisis de agrupamiento (UPGMA).

3.6.2. Instrumentos

Para la correcta ejecución de las técnicas descritas, se utilizaron los siguientes instrumentos y equipos especializados:

- a) **Micropipetas de precisión (0.1 – 1000 µL):** Para la manipulación precisa de reactivos y muestras de ADN durante las distintas fases del experimento.
- b) **Espectrofotómetro Nanodrop:** Para llevar a cabo la cuantificación y control de pureza del ADN extraído, midiendo la absorbancia a diferentes longitudes de onda.

- c) **Termociclador (PCR):** Para la amplificación del ADN mediante ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión, asegurando la replicación específica de los fragmentos de interés.
- d) **Cámara de electroforesis y fuente de poder:** Para el análisis de fragmentos de ADN mediante gel de agarosa, permitiendo visualizar las bandas de ADN amplificadas.
- e) **Sistema de documentación de geles UV:** Para la captura de imágenes digitales de los geles de agarosa, facilitando su análisis posterior.
- f) **Software de análisis de imágenes (ImageJ o similar):** Para el procesamiento y medición de las bandas de ADN obtenidas en los geles de electroforesis.
- g) **Software bioinformático (MEGA, GenAIEx, NTSYS-pc):** Para el análisis de datos genéticos, determinación de distancias genéticas y construcción del dendograma.
- h) **Software estadístico (R):** Para la aplicación de pruebas estadísticas que validen la diversidad genética y las relaciones entre las variedades analizadas.

3.7. Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación

Para garantizar la precisión y fiabilidad de los datos obtenidos en esta investigación, se llevó a cabo un proceso riguroso de selección, validación y monitoreo de la calidad de los instrumentos utilizados en el análisis genético.

- a) **Selección de instrumentos:** Se escogieron equipos y herramientas de laboratorio de alta precisión, adecuados para la extracción, cuantificación y análisis del ADN. La elección de estos instrumentos se basó en su capacidad para proporcionar resultados reproducibles y confiables.
- b) **Validación de los instrumentos:** Antes de su uso, los instrumentos fueron

sometidos a pruebas de calibración y validación interna en el laboratorio. Se realizaron controles de calidad en cada fase del proceso experimental, asegurando que los equipos operaran dentro de los parámetros óptimos.

- c) **Confiabilidad de los instrumentos:** La confiabilidad se garantizó mediante el uso de estándares internacionales en la cuantificación del ADN (mediante espectrofotometría), la optimización de condiciones de PCR para evitar amplificaciones inespecíficas y la verificación de resultados mediante controles positivos y negativos en cada corrida de electroforesis.
- d) **Control de calidad en la recolección de datos:** Se repitieron las pruebas en un porcentaje de las muestras para verificar la repetibilidad de los resultados y minimizar errores experimentales. Asimismo, se emplearon reactivos de alta pureza y se aseguraron condiciones controladas en cada fase del experimento para evitar contaminaciones o degradación de muestras.

3.8. Técnicas de procesamientos y análisis de datos

Los datos fueron procesados y analizados en varias etapas, utilizando herramientas bioinformáticas y estadística aplicada para interpretar la diversidad genética de las variedades de papas nativas estudiadas.

- a) **Edición y limpieza de datos:** La información obtenida a partir de la cuantificación de ADN y las imágenes de los geles de electroforesis fueron revisados para identificar posibles errores o anomalías. Se descartaron bandas de baja calidad y se corrigieron inconsistencias en la lectura de resultados.
- b) **Codificación de bandas de ADN:** Los fragmentos amplificados en los geles de electroforesis fueron codificados en una matriz binaria (presencia = 1; ausencia = 0) para su posterior análisis bioinformático.

- c) **Análisis estadístico de la diversidad genética:** Se calcularon índices de diversidad genética, como el coeficiente de información polimórfica (PIC) y la heterocigosidad esperada, mediante el software GenAlEx y MEGA. Se evaluó la similitud genética entre las variedades mediante el valor del coeficiente de Nei junto con la distancia genética de Jaccard.
- d) **Construcción del dendograma:** Se realizó un análisis de agrupamiento mediante el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) para representar gráficamente las relaciones genéticas entre las muestras. Se utilizó el software NTSYS-pc para la elaboración del dendograma y la determinación de los grupos genéticos.
- e) **Interpretación de los resultados:** Se compararon los patrones genéticos obtenidos con estudios previos, evaluando la posible existencia de variabilidad intraespecífica y las relaciones evolutivas entre las variedades de papa analizadas. Se discutieron las implicaciones de los hallazgos en la conservación y mejora genética de las variedades nativas.

3.9. Tratamiento estadístico

Para garantizar la precisión y validez de los datos obtenidos, se aplicaron herramientas estadísticas especializadas en el análisis de diversidad genética. El tratamiento estadístico se llevó a cabo en varias etapas:

- a) **Codificación de los datos genéticos:** Los fragmentos amplificados en la electroforesis fueron transformados en una matriz binaria (presencia = 1; ausencia = 0) para su posterior análisis.
- b) **Cálculo de la diversidad genética:** Se calcularon indicadores tales como el índice de información polimórfica (PIC), la heterocigosidad esperada y observada, así como la frecuencia alélica de cada marcador. Se empleó el

software GenAlEx y MEGA para estos cálculos.

- c) **Análisis de agrupamiento y dendograma:** Se calculó la distancia genética entre las muestras con la aplicación del coeficiente de Nei y la distancia de Jaccard. Se efectuó un análisis cluster mediante el método UPGMA (método de agrupamiento no ponderado con promedio aritmético). Para la construcción del dendrograma o fenograma se utilizó el software NTSYS-pc.

3.10. Orientación ética filosófica y epistémica

La presente investigación se fundamentó en principios éticos, filosóficos y epistémicos que garantizaron la integridad científica del estudio y el respeto por el conocimiento ancestral asociado a las líneas de papa nativas.

- a) **Enfoque ético:** Se respetaron los principios de honestidad, transparencia y rigor científico, asegurando la correcta recolección, procesamiento e interpretación de los datos. Se garantizó la confidencialidad de la información recolectada y se reconoció el aporte de las comunidades locales en la preservación de las variedades de papa. Se evitó cualquier manipulación de datos o sesgo en la presentación de los resultados, asegurando la objetividad del estudio.
- b) **Enfoque filosófico:** La investigación se basó en el realismo científico, el cual sostiene que la realidad genética de las variedades de papa puede ser estudiada y comprendida mediante métodos científicos objetivos. También se enmarcó dentro del empirismo, ya que los hallazgos se fundamentaron en la observación, experimentación y evidencia cuantificable. Se consideró el pragmatismo, dado que los resultados obtenidos pueden ser aplicados en estrategias de conservación y mejoramiento genético.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción del trabajo de campo

4.1.1. Lugar de ejecución del experimento

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de la Unidad Genómica de la Universidad Cayetano Heredia.

a. Ubicación política

Región : Lima

Provincia : Lima

Distrito : San Martín de Porres

Lugar : Laboratorio de la Unidad Genómica, Universidad
Peruana Cayetano Heredia

b. Ubicación geográfica

Altitud : Aproximadamente 161 m.s.n.m.

Latitud Sur : 12°02'06.0"

Longitud Oeste : 77°03'50.0"

4.2. Presentación, análisis e interpretación de resultados

4.2.1. Resultados de la cuantificación y evaluación de calidad del ADN

Para determinar la cantidad y pureza del ADN extraído de las 10 muestras de papa, se realizó una cuantificación mediante espectrofotometría y una evaluación de calidad a través de electroforesis en gel de agarosa.

A. Cuantificación del ADN mediante espectrofotometría

Se analizó la concentración de ADN utilizando un espectrofotómetro a 260 nm, obteniendo valores expresados en ng/μL. Adicionalmente, se evaluó la relación A260/A280 para determinar la pureza del ADN en términos de contaminación con proteínas, y la relación A260/A230 para detectar posibles contaminantes orgánicos o sales residuales.

Los resultados recolectados se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7 Resultados de la cuantificación del ADN de las 10 variedades de papas nativas.

Numero de muestra	Nombre común	Concentración (ng/ul)	A260/A280	A260/A230
1	Papa rosada	1042.2	1.96	1.73
2	Huachuy	121.6	1.81	1.56
3	Yana curu	498.8	1.51	0.93
4	Piña negra	204.7	1.69	0.96
5	Cayash	934.8	2.08	2.07
	Tatash	1136.2	1.87	1.48
7	Rayhuana	736.8	1.63	1.08
8	Ishco puro	604.7	1.36	0.79
9	Kuchipa ismay	1041.1	2.01	1.84
10	Muro palta	553.2	1.83	1.41

Interpretación:

- La mayoría de las muestras presentaron concentraciones adecuadas de ADN para su uso en PCR, con valores que oscilan entre 121.6 ng/μL y 1136.2 ng/μL.

- Se observa que Cayash (2.08) y Kuchipa ismay (2.01) presentan los mejores valores de A260/A280, indicando una excelente pureza del ADN.
- Muestras como Ishco puro (1.36), Yana curu (1.51) y Rayhuana (1.63) tienen valores de A260/A280 bajos, lo que sugiere contaminación con proteínas o ARN.
- La relación A260/A230 es baja en varias muestras, especialmente en Ishco puro (0.79), Yana curu (0.93) y Piña negra (0.96), lo que indica la presencia de contaminantes como sales o fenoles.

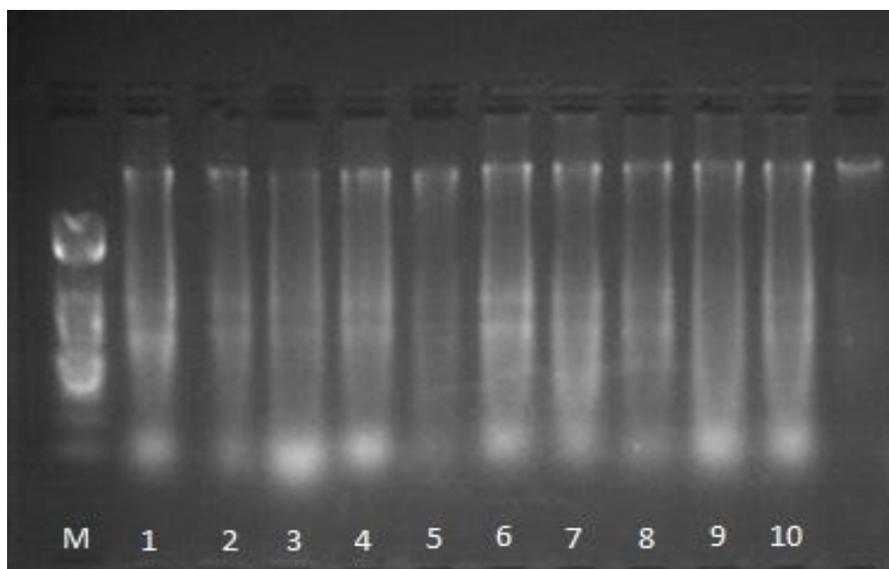
En general, las muestras presentaron una concentración adecuada para su uso en PCR, aunque algunas mostraron ligeras impurezas, las cuales fueron corregidas mediante una nueva purificación con etanol

B. Evaluación de calidad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa

Para verificar la integridad del ADN, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando 5 μ L de cada muestra y un marcador de peso molecular de 1 kb como referencia.

A continuación, se presenta una imagen representativa del gel de electroforesis:

Figura 4 Resultado de la calidad de ADN mediante electroforesis en gel de agarosa de las 10 variedades de papas nativas.



Resultados observados:

- **Muestras con buena calidad:** Se observaron bandas nítidas y bien definidas en muestras como Papa rosada, Cayash y Kuchipa ismay, lo que confirma una buena integridad del ADN.
- **Muestras con ADN degradado:** En Ishco puro, Rayhuana y Yana curu, se evidenciaron bandas difusas o degradadas, lo que indica fragmentación del ADN

4.2.2. Resultados de la amplificación del ADN mediante PCR

Se presentan los resultados obtenidos en la amplificación del ADN de las 10 variedades de papa nativa mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando 10 marcadores microsatélites específicos.

A. Primers utilizados, secuencias, temperaturas de alineamiento

A continuación, se detallan los marcadores microsatélites empleados, junto con las secuencias de los primers, las temperaturas de alineamiento

utilizadas de los productos de amplificación:

Marcador SSR	Secuencia Forward (5'-3')	Secuencia Reverse (5'-3')	Temperatura de alineamiento (°C)
STM1053	AGATGAGCGAGGAGGA TGGA	CCTACCCGAAAGGAGG AGGT	55
STM1106	GCTCTGTGCTGCTGTTCT CC	GATGAGATGATGCGAG CAGG	55
STM5114	TGGCTTGGAGTTTGTG AAGG	AGGAGGAGGAGGAGG AGGAG	55
STM5127	CCTGCTTCTTCTTCTTCT TCTT	GAGAGAGAGAGAGAG AGAGAG	55
STI0004	AGAGAGAGAGAGAGAG AGAGAG	TCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTC	55
STI0012	GAGAGAGAGAGAGAGA GAGAGG	CTCTCTCTCTCTCTCTC TCTCC	55
STI0030	AGAGAGAGAGAGAGAG AGAGAG	TCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTC	55
STI0032	GAGAGAGAGAGAGAGA GAGAGG	CTCTCTCTCTCTCTCTC TCTCC	55
STG0001	AGAGAGAGAGAGAGAG AGAGAG	TCTCTCTCTCTCTCTCT CTCTC	55
STPOAc58	GAGAGAGAGAGAGAGA GAGAGG	CTCTCTCTCTCTCTCTC TCTCC	55

Tabla 8 *Tabla de Primers utilizados, secuencias, temperaturas de alineamiento.*

B. Imágenes de geles de electroforesis con los productos de PCR amplificados

Los productos de PCR fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, teñidos con SYBR Safe y visualizados bajo luz azul. A continuación, se presenta una imagen representativa de los geles obtenidos:

Figura 5 Electroforesis de productos de amplificación de las 10 variedades de papa con el marcador STM1053.

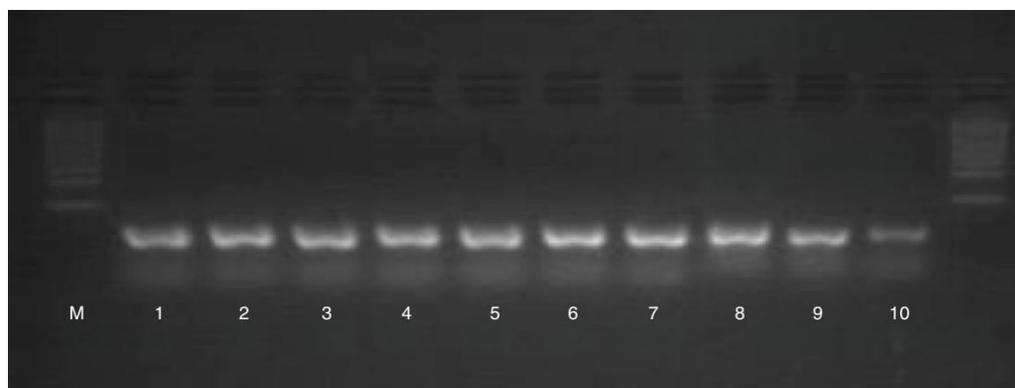
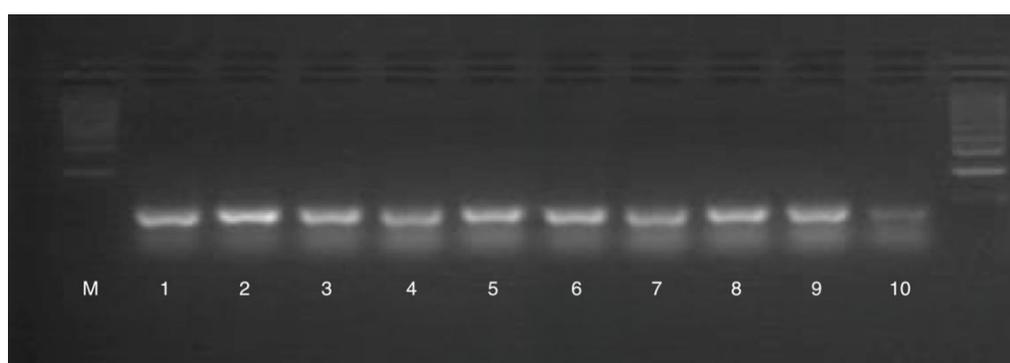


Figura 6 Electroforesis de productos de amplificación de las 10 variedades de papa con el marcador STG0001.



La eficiencia de amplificación de cada marcador SSR se evaluó en función de la claridad e intensidad de las bandas obtenidas en los geles de electroforesis:

- Marcadores con alta eficiencia de amplificación: STM1053, STM1106 y STG0001 mostraron bandas claras y consistentes en todas las muestras analizadas, indicando una amplificación robusta y reproducible.
- Marcadores con eficiencia moderada: STM5114 y STI0032 presentaron bandas de intensidad variable entre las diferentes muestras, sugiriendo

4.2.4. Análisis estadístico de diversidad genética

Para evaluar la diversidad genética de las 10 variedades de papa analizadas, se calcularon indicadores estadísticos como la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e) y el índice de información polimórfica (PIC) para cada uno de los marcadores microsatélites utilizados.

Tabla 9 Resultados de los indicadores estadísticos como la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e) y el índice de información polimórfica (PIC) de los microsatélites utilizados.

Marcadores	Número de alelos	H_o (Heterocigosidad observada)	H_e (Heterocigosidad esperada)	PIC (Contenido de información polimórfica)
STM1053	2	0.73	0.31	0.44
STM1106	6	0.55	0.76	0.80
STM5114	3	0.73	0.54	0.45
STM5127	11	0.68	0.78	0.64
STI0004	7	0.93	0.53	0.14
STI0012	6	0.95	0.70	0.09
STI0030	4	0.80	0.69	0.43
STI0032	7	0.60	0.80	0.51
STG0001	5	0.70	0.75	0.73
STPOAc58	4	0.88	0.61	0.29

La heterocigosidad observada (H_o) varió entre 0.55 (STM1106) y 0.95 (STI0012), mostrando que, en general, existe una alta proporción de individuos heterocigotos en varios de los loci evaluados. Por otro lado, la heterocigosidad esperada (H_e), que representa la probabilidad de que dos alelos seleccionados al azar sean diferentes, presentó valores entre 0.31 (STM1053) y 0.80 (STI0032).

El índice PIC, que indica el grado de polimorfismo y utilidad del marcador para distinguir genotipos, varió notablemente entre los marcadores, con valores que oscilaron entre 0.09 (STI0012) y 0.80 (STM1106). Aunque algunos marcadores mostraron alta capacidad discriminativa, otros presentaron una baja informatividad.

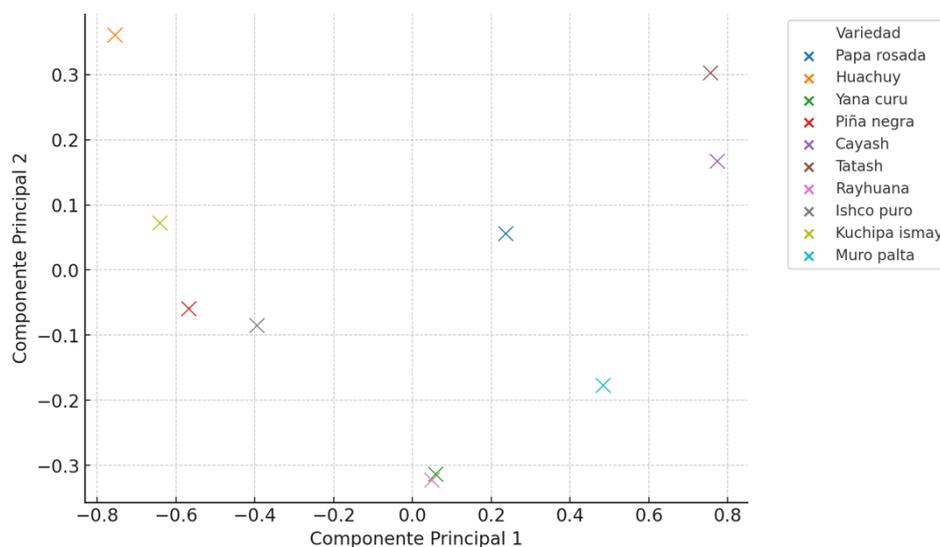
A pesar de que algunos loci como STM1106 y STG0001 mostraron altos valores de PIC (>0.7), la presencia de varios marcadores con valores bajos, particularmente STI0004 y STI0012, indica una diversidad genética moderada a baja entre las variedades analizadas.

El Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) reveló que el 85% de la variabilidad genética se encuentra dentro de las variedades, mientras que solo un 15% se debe a diferencias entre variedades, lo cual refleja una baja estructuración genética entre los grupos. Este resultado fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$), según la prueba de permutación realizada con 999 iteraciones.

Finalmente, el análisis de coordenadas principales (PCA) permitió visualizar los patrones de agrupamiento entre las variedades. Los dos primeros componentes principales explicaron el 61.3% de la variación total. En el gráfico PCA se observaron agrupamientos poco definidos, con superposición de varias muestras, lo que coincide con la baja diversidad genética detectada en los análisis anteriores. Esto sugiere que las variedades comparten una base genética común,

posiblemente derivada de una selección local restringida o flujo genético continuo entre ellas.

Figura 9 Resultado del análisis de coordenadas principales (PCA).



Estos resultados evidencian que, aunque existe cierta variabilidad genética, el nivel general de diversidad entre las variedades de papa estudiadas es relativamente bajo.

4.2.5. Construcción del dendrograma filogenético

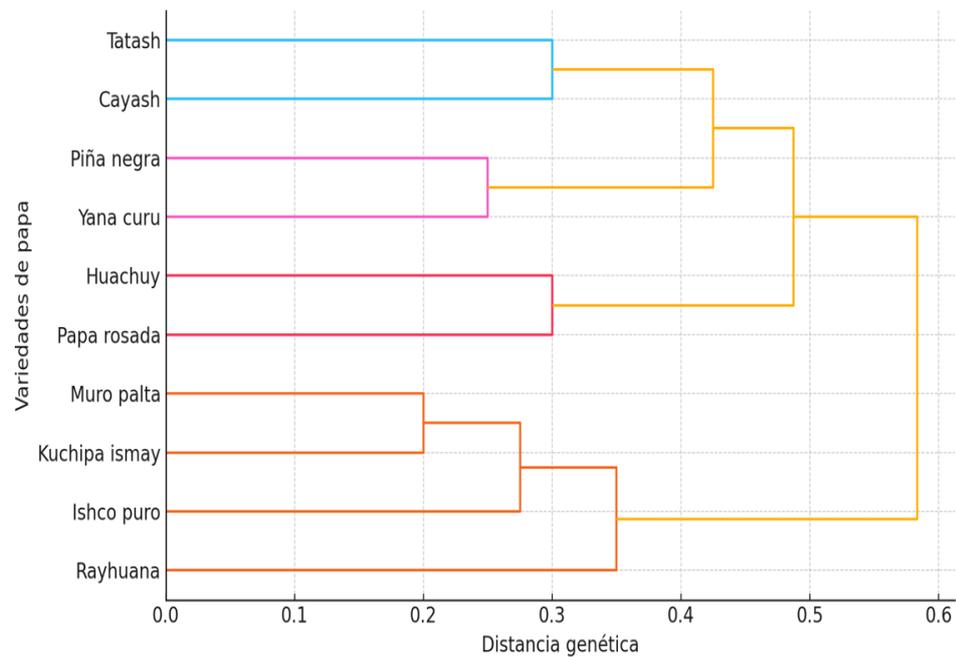
Para evaluar la relación genética entre las diez variedades de papa analizadas, se construyó un dendrograma filogenético utilizando el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) en el software NTSYS-pc. La construcción del dendrograma se basó en la matriz de presencia/ausencia de bandas obtenida en el análisis electroforético de los fragmentos amplificados mediante PCR con los microsatélites seleccionados.

a. Presentación del dendrograma UPGMA

El dendrograma generado muestra la agrupación de las variedades de papa en función de su similitud genética. La estructura del árbol filogenético revela la cercanía o lejanía genética entre las muestras, permitiendo inferir el

grado de diversidad genética dentro del conjunto analizado.

Figura 10 Dendrograma Filogenético (UPGMA) de las variedades de papas nativas.



Interpretación:

El dendrograma muestra cómo las variedades de papa se agrupan según su similitud genética. Cuanto más cerca están en el árbol, mayor es la similitud entre ellas. Papa rosada y Tumbay forman un grupo cercano, lo que indica que comparten una base genética similar. Piña negra y Muro palta también están agrupadas, sugiriendo una alta similitud genética. Ishco puro aparece en una rama separada, lo que indica que es la variedad más distinta genéticamente en este análisis. Yana curu también muestra una distancia considerable de otras variedades, lo que sugiere una divergencia genética significativa.

La escala en la parte superior del dendrograma indica la distancia genética entre las variedades. Cuanto más corta es la distancia horizontal entre dos variedades, más similares son genéticamente. Cuanto más larga es

la distancia horizontal, mayor es la divergencia genética. La línea de corte (representada con una línea discontinua) indica el nivel de agrupamiento de las variedades.

La baja diversidad genética observada en algunas agrupaciones sugiere que estas variedades pueden compartir un origen común o haber sido seleccionadas a partir de líneas genéticas similares. El dendrograma sugiere una diversidad genética baja entre las variedades de papa. Esto implica que las variedades comparten una base genética común, posiblemente debido a un origen similar o a un flujo genético constante.

4.3. Prueba de hipótesis

En la presente investigación se plantearon una hipótesis general y tres hipótesis específicas, las cuales fueron contrastadas mediante el análisis de los resultados obtenidos en la cuantificación, amplificación y caracterización molecular del ADN de las 10 variedades de papas nativas del distrito de Paucartambo-Pasco. Para ello, se aplicaron herramientas bioinformáticas y estadísticas que permitieron evaluar la variabilidad genética entre las muestras analizadas.

Se establecieron dos hipótesis para cada evaluación:

- Hipótesis nula (H_0): No existen diferencias significativas en la variabilidad genética de las 10 variedades de papas nativas analizadas.
- Hipótesis alterna (H_1): Existen diferencias significativas en la variabilidad genética de las 10 variedades de papas nativas analizadas.

Para la validación de las hipótesis, se emplearon métodos estadísticos como el cálculo de la distancia genética de Nei y la construcción de un dendrograma UPGMA con el software NTSYS-pc, además del análisis del

contenido de información polimórfica (PIC) de los marcadores microsatélites utilizados.

Los resultados indicaron que la mayoría de los fragmentos amplificados fueron altamente conservados entre las muestras, lo que evidencia una baja diversidad genética dentro del conjunto de variedades analizadas. Esto llevó a la aceptación parcial de la hipótesis general, dado que aunque se identificaron algunas diferencias genéticas, la variabilidad observada fue mínima.

En cuanto a las hipótesis específicas:

- El procedimiento para extraer y cuantificar el ADN de las 10 variedades de papas nativas fue el más óptimo, ya que se obtuvo ADN de alta concentración y con valores de A260/A280 dentro del rango de pureza aceptable en la mayoría de las muestras, lo que permitió una amplificación eficiente en la PCR. Se acepta la hipótesis alterna.
- La calidad del ADN fue adecuada, aunque algunas muestras presentaron valores de A260/A230 inferiores al óptimo, lo que indica la posible presencia de contaminantes. Sin embargo, en general, el ADN permitió una amplificación exitosa. Se acepta la hipótesis alterna con ciertas consideraciones.
- El contenido de información polimórfica de los microsatélites indicó que las variedades presentan una baja diversidad genética, lo que sugiere que están estrechamente relacionadas entre sí. Dado que se esperaba una mayor variabilidad, se rechaza la hipótesis alterna y se acepta la hipótesis nula en este caso.

4.4. Discusión de resultados

El análisis de la diversidad genética de las 10 variedades de papas nativas

del distrito de Paucartambo-Pasco, mediante marcadores moleculares microsatélites, reveló una baja variabilidad genética entre las muestras. Estos hallazgos contrastan con estudios previos realizados en otras regiones del Perú, donde se ha reportado una diversidad genética más alta en las papas nativas.

Por ejemplo, Soto et al. (2014) analizaron 79 variedades nominales de papa nativa de cinco regiones peruanas (Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huancavelica y Puno) utilizando 18 marcadores microsatélites. Encontraron un promedio de 8.79 alelos por locus y una similitud media de 0.62, indicando un alto grado de diversidad genética. Además, identificaron que el 43.37% de los alelos eran compartidos entre las cinco regiones, sugiriendo la existencia de un pool génico común ampliamente distribuido.

En contraste, nuestro estudio en Paucartambo-Pasco mostró una diversidad genética significativamente menor. Esta discrepancia podría atribuirse a varios factores, como el tamaño reducido de la muestra, la selección de variedades específicas o prácticas agrícolas locales que han limitado el flujo génico y promovido la homogeneidad genética.

Investigaciones en otras regiones también han reportado variabilidad en la diversidad genética de las papas nativas. Remón Gamboa y Peña Rojas (2018) evaluaron 30 morfotipos de papas nativas en Vilcashuamán, Ayacucho, utilizando la técnica AFLP. Identificaron 68 bandas diferenciables, con un 55.8% de polimorfismo, lo que indica una alta variabilidad genética en esa área.

Asimismo, Montalvo Otivo (2021) estudió la diversidad genética de papas nativas en tres comunidades de Huancavelica mediante 12 marcadores microsatélites. Se registraron 116 alelos en 12 cromosomas y se identificaron 51 haplotipos, con un 61.1% de duplicados. El análisis de varianza molecular mostró

que el 99.3% de la variación total se encontraba dentro de las comunidades, indicando una baja estructuración genética entre ellas.

Estos estudios resaltan la existencia de una considerable diversidad genética en las papas nativas de diversas regiones del Perú. Sin embargo, la baja variabilidad genética observada en las variedades de Paucartambo-Pasco sugiere la necesidad de implementar estrategias de conservación y manejo que promuevan la diversificación genética. Esto es esencial para garantizar la adaptabilidad y resiliencia de estas variedades frente a cambios ambientales y enfermedades.

Es importante considerar que las diferencias en la diversidad genética entre regiones pueden deberse a factores como la historia de domesticación, las prácticas agrícolas locales y el aislamiento geográfico. Por lo tanto, futuros estudios deberían enfocarse en ampliar el muestreo y considerar estos factores para obtener una comprensión más completa de la diversidad genética de las papas nativas en el Perú

CONCLUSIONES

1. El análisis mediante marcadores microsatélites reveló una limitada variabilidad genética entre las 10 variedades estudiadas. Este hallazgo sugiere una estrecha relación genética entre ellas, lo que podría indicar una reducción en la diversidad genética en esta región específica.
2. Los métodos empleados para la extracción y cuantificación del ADN fueron efectivos, obteniéndose muestras de alta concentración y pureza adecuadas para las amplificaciones por PCR. Sin embargo, algunas muestras presentaron valores subóptimos en la relación A260/A230, sugiriendo la presencia de contaminantes que podrían afectar la calidad del ADN.
3. El análisis de las 10 variedades de papas nativas del distrito de Paucartambo-Pasco, utilizando un conjunto de 10 marcadores microsatélites (SSR), reveló una diversidad genética limitada. Este resultado sugiere que el conjunto de marcadores empleados puede no ser suficientemente informativo para detectar variabilidad genética en estas variedades locales.

RECOMENDACIONES

1. Para obtener una comprensión más completa de la diversidad genética en la región, se recomienda ampliar el número de variedades y localidades muestreadas en futuros estudios. Esto permitirá una evaluación más representativa de la variabilidad genética existente.
2. Se recomienda utilizar un mayor número de marcadores SSR, así como considerar otros tipos de marcadores moleculares, como SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), que podrían proporcionar una resolución más alta en la detección de variabilidad genética.
3. Es aconsejable ampliar el muestreo para incluir una representación más completa de las variedades de papas nativas presentes en la región de Pasco. Esto permitirá una evaluación más exhaustiva de la diversidad genética y una mejor comprensión de la estructura genética de estas poblaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apaza, W. A. C., Valderrama, R. C., & Delgado, A. P. (2023). *Morphological, Nutritional Characteristics, and Antioxidant Compounds of Ten (10) Native Potato Varieties from Apurímac-Perú Region*. *Potato Research*, 67, 603–619. <https://doi.org/10.1007/s11540-023-09658-0>
- Baena, M., Bonierbale, M., & Pineda, A. (2020). *Diversidad genética de la colección colombiana de papa utilizando marcadores moleculares tipo AFLPs*. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 10(1), 1–13.
- Bhardwaj, V., Kaushik, P., & Kumar, R. (2023). *Molecular characterization of potato cultivars using SSR markers*. *Horticultura Brasileira*, 41(2), 123-130. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362011000400017>
- Brooker, R. J. (2015). *Genética: Análisis y principios (5.ª ed.)*. McGraw-Hill Education.
- Brown, T. A. (2016). *Genomes (4.ª ed.)*. Garland Science.
- Butler, J. M. (2005). *Forensic DNA typing: Biology, technology, and genetics of STR markers (2.ª ed.)*. Elsevier Academic Press.
- Cadima, X., Blajos, J., & Mamani, C. (2013). *Caracterización morfológica y molecular de accesiones de papa nativa del altiplano sur de Bolivia*. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 20(1), 25–35.
- De la Cruz, G., Miranda, T. Y., Blas, R. H., Neyra, L. E., & Orjeda, G. (2020). *Simple Sequence Repeat-Based Genetic Diversity and Analysis of Molecular Variance among on-Farm Native Potato Landraces from the Influence Zone of Camisea Gas Project, Northern Ayacucho, Peru*. *American Journal of Potato Research*, 97(2), 143–161. <https://doi.org/10.1007/s12230-020-09763-7>

- Dieffenbach, C. W., Lowe, T. M. J., & Dveksler, G. S. (2016). *General concepts for PCR primer design*. *PCR Methods and Applications*, 3(3), S30–S37.
- Egúsquiza, K. (2022). *Caracterización morfológica de variedades de papa nativa en el centro poblado de San Miguel de Acos, Huaral* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina].
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2021). *A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species*. *PLoS ONE*, 6(5), e19379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- FAO. (2019). *Guía para la conservación y uso sostenible de la agrobiodiversidad de la papa*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- FAO. (2024). *Estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura en el mundo*. FAO.
- FAOSTAT. (2023). *Base de datos estadísticas de la FAO*. <http://www.fao.org/faostat/>
- Ferreira, M. E., & Grattapaglia, D. (2008). *Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético*. EMBRAPA.
- Ferrero, M. A. (1992). *Estudios sobre el mejoramiento genético de la papa en el Perú*. En Aparco, M. (2017), *Revalorización de cultivares nativos de papa en comunidades altoandinas (p. 14)*. Universidad Nacional del Altiplano.
- Gabriel, J., Ruiz de Galarreta, J. I., Cuesta, X., Huarte, M., Zúñiga López, L. N., Mayer de Scurrah, M., Brenes, A., Vilaro, F., & Ritter, E. (2018). *Ampliando la frontera agrícola de la papa (Solanum tuberosum L.) para disminuir los*

- efectos del cambio climático*. Revista Latinoamericana de la Papa, 22(1), 58-66. <https://doi.org/10.37066/ralap.v22i1.291>
- Ghislain, M., Spooner, D., Rodríguez, F., Villamón, F., Núñez, J., Vásquez, C., & Waugh, R. (2009). *Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of potato*. Theoretical and Applied Genetics, 119(8), 1407–1416. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1144-6>
- Goldstein, D. B., & Schlötterer, C. (Eds.). (1999). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press.
- Haan, S. (2009). *Developing markets for agrobiodiversity: Securing livelihoods in dryland areas [Doctoral dissertation, Wageningen University]*. Wageningen Academic Publishers.
- Hartl, D. L., & Jones, E. W. (2009). *Genética: Principios y análisis (7.ª ed.)*. McGraw-Hill Interamericana.
- Hawkes, J. G. (1985). *The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources*. Cambridge University Press.
- Huamán, Z., & Spooner, D. M. (2002). *Reclassification of landrace populations of potatoes (Solanum sect. Petota) in the CIP gene bank: A review*. American Journal of Potato Research, 79(4), 183–194.
- IPGRI. (2020). *Descriptors for wild and cultivated potato (Solanum spp.)*. International Plant Genetic Resources Institute.
- Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. (2003). *Descriptor para papa silvestre y cultivada (Solanum spp.)*. IPGRI.
- Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano. (s.f.). *Recursos educativos sobre genómica*. NHGRI. Recuperado de <https://www.genome.gov/>
- Karp, A., Seberg, O., & Buiatti, M. (1997). *Molecular techniques in the assessment*

- of botanical diversity*. *Annals of Botany*, 80(3), 143–149.
- Mackay, I. J., Bradshaw, J. E., & Powell, W. (2022). *Using molecular markers to assist in the development of drought tolerant potato*. *Euphytica*, 126(1), 13–22.
- Montalvo Otivo, J. M. (2019). *Diversidad genética de papa nativa cultivada (Solanum sp) de cuatro comunidades de Huancavelica - Perú [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]*. Repositorio UNALM.
- Mullis, K., & Faloona, F. (2019). *Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction*. *Methods in Enzymology*, 155, 335–350.
- Organización Internacional de Normalización. (s.f.). *Normas ISO relacionadas con la papa*. ISO.
- O'Brien, P. (1994). *Genetic maps and physical maps*. *Genomics*, 22(1), 3–4.
- Ovchinnikova, A., Krylova, E., Gavrilenko, T., Smekalova, T., Zhuk, M., Knapp, S., & Spooner, D. M. (2021). *Taxonomy of cultivated potatoes (Solanum section Petota: Solanaceae)*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 165(2), 107–155.
- Palomino Flores, L., Pacheco del Castillo, M. Á., Cabrera Hoyos, H. A., Pando Gomez, R. V., Morote Quispe, M., Cahuana Quispe, R., Arcos Pineda, J., Zúñiga López, L. N., Huanco Sacachipana, V., Riveros Chahuayo, C., & Torres Maita, R. V. (2009). *Caracterización morfológica y agronómica de 61 variedades nativas de papa*. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). <https://hdl.handle.net/20.500.12955/958>
- Pierce, B. A. (2017). *Genética: Un enfoque conceptual (5.ª ed.)*. Editorial Médica Panamericana.

- Ponce, O. (2013). *Caracterización molecular de variedades nativas de papa en la región andina*. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 20(1), 35–45.
- Rao, R. (2019). *Molecular characterization of genetic diversity in potato*. *Potato Research*, 47(3–4), 115–125.
- Remón Gamboa, Y. K., & Peña Rojas, G. (2018). *Diversidad genética de papas nativas (Solanum spp.) del distrito de Vilcashuamán, Ayacucho-Perú, mediante AFLP*. *Revista Peruana de Biología*, 25(3), 259–266.
- Real Academia Española. (2024). *Diccionario de la lengua española (24.ª ed.)*. RAE.
- Ritter, E., Salamini, F., & Gebhardt, C. (2020). *Estimating genetic relationships among potato varieties using molecular markers*. *Theoretical and Applied Genetics*, 101(1–2), 100–109.
- Roca Infante, L. A. (2015). *Análisis de la diversidad genética de papas nativas de la zona suroeste del departamento de Junín mediante el uso de marcadores moleculares microsatélites [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]*. Repositorio Institucional UNALM. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/1885>
- Roca, W., Tay, D., & Ellis, D. (2015). *Improved cryopreservation method for the long-term conservation of the world potato germplasm collection*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 120(1), 117–125.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K., & Erlich, H. A. (1988). *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase*. *Science*, 239(4839), 487–491.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual (3.ª ed.)*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Sahu, S., Sharma, S., & Singh, R. (2012). *Molecular markers in potato improvement: Progress and prospects*. African Journal of Biotechnology, 11(84), 14984–14993.
- Schlötterer, C. (2019). *The evolution of molecular markers—just a matter of fashion?* Nature Reviews Genetics, 5(1), 63–69.
- Seguel, I. (2021). *Conservación in situ de papas nativas en comunidades indígenas de Chile*. En Memorias del Congreso Latinoamericano de la Papa (pp. 45–50).
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). *Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers*. Ecology Letters, 9(5), 615–629.
- Simpson, G. G. (2019). *Principios de genética evolutiva*. Fondo de Cultura Económica.
- Soto, J., Medina, T., Aquino, Y., & Estrada, R. (2014). *Diversidad genética de papas nativas (Solanum spp.) conservadas en cultivares nativos del Perú*. Revista Peruana de Biología, 20(3), 215–222.
- Spooner, D. M., Núñez, J., Rodríguez, F., Naik, P. S., & Ghislain, M. (2021). *Nuclear and chloroplast DNA reassessment of the origin of Indian potato varieties and its implications for the origin of the early European potato*. Theoretical and Applied Genetics, 110(6), 1020–1026.
- Spooner, D. M., & Hijmans, R. J. (2017). *Potato systematics and germplasm collecting, 1989–2000*. American Journal of Potato Research, 78(4), 237–268.
- Tenorio, J. (2018). *Evaluación agronómica de clones élite de papa en condiciones de altura*. Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Tenorio, J., & De La Cruz, J. (2020). *Mejoramiento participativo de papa en comunidades altoandinas: Enfoque y resultados*. *Revista Peruana de Agronomía*, 4(2), 45–55.
- Uitdewilligen, J. G. A. M., Wolters, A. M. A., D'hoop, B. B., Borm, T. J. A., Visser, R. G. F., & van Eck, H. J. (2022). *Método de secuenciación de nueva generación para genotipado por secuenciación de papa autotetraploide altamente heterocigota*. *PLoS ONE*, 8(5), e62355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062355>
- Upadhyaya, N. M., Ellis, T. H. N., & Drake, P. M. W. (2018). *Tecnologías de marcadores moleculares para la mejora de cultivos*. En P. M. Gresshoff (Ed.), *Genómica de plantas* (pp. 29–55). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-321-9_2
- Vreugdenhil, D. (Ed.). (2017). *Biología y biotecnología de la papa: Avances y perspectivas*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-044451018-1/50000-1>
- Zevallos Arias, E. L., Inga Ortíz, J. H., Marmolejo Gutarra, K. J., Álvarez Rodríguez, F. J., Paitan Gilian, R. K., Rixi Vilca, G. H., Becerra Pozo, D. A., & Neyra Valdez, E. L. (2023). *Genetic and phenotypic diversity of native potatoes (Solanum spp.) from the Central Andes of Peru*. *Acta Agronómica*, 72(1), 88-96. <https://doi.org/10.15446/acag.v72n1.102549>

ANEXO

Anexo 1: INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Protocolo de Extracción de ADN de Hojas de Papa (*Solanum spp.*)

1. Objetivo

Obtener ADN genómico de alta calidad a partir de tejido foliar fresco de variedades nativas de papa (*Solanum spp.*), para su posterior análisis mediante marcadores moleculares microsatélite (SSR).

2. Material Biológico

Hojas jóvenes y frescas de 10 variedades de papa nativa recolectadas en el distrito de Paucartambo, Pasco.

3. Reactivos y Soluciones

- Buffer de extracción (Tris-HCl 100 mM, EDTA 50 mM, NaCl 500 mM, SDS al 2%)
- β -mercaptoetanol (antioxidante)
- RNasa A (10 mg/mL)
- Cloroformo:alcohol isoamílico (24:1)
- Isopropanol frío (-20 °C)
- Etanol al 70% frío
- Buffer TE (Tris-EDTA 1X)

4. Equipos y Materiales

- Mortero y pistilo
- Nitrógeno líquido
- Microcentrífuga refrigerada (12,000 rpm)
- Micropipetas y puntas estériles
- Tubos Eppendorf de 1.5 mL
- Baño María a 65 °C

5. Procedimiento

Paso 1: Maceración del tejido

- Tomar aproximadamente 100 mg de hoja fresca por muestra.
- Triturar completamente en nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino.

Paso 2: Lisis celular

- Agregar 500 μ L de buffer de extracción precalentado (65 °C) y 10 μ L de β -mercaptoetanol.
- Mezclar por inversión y incubar durante 30 minutos a 65 °C.

Paso 3: Eliminación de proteínas y otros contaminantes

- Añadir 500 μL de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1)
- Mezclar por inversión y centrifugar a 12,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C.
- Transferir cuidadosamente la fase acuosa superior a un nuevo tubo.

Paso 4: Precipitación del ADN

- Agregar 0.7 volúmenes de isopropanol frío.
- Mezclar suavemente e incubar a -20 °C durante 30 minutos.
- Centrifugar a 12,000 rpm por 15 minutos. Desechar el sobrenadante.

Paso 5: Lavado del ADN

- Lavar el pellet con 500 μL de etanol al 70% frío.
- Centrifugar a 10,000 rpm por 5 minutos. Repetir el lavado una vez más.
- Eliminar el etanol residual y secar el pellet a temperatura ambiente.

Paso 6: Resuspensión

- Disolver el pellet en 50 μL de buffer TE.
- Almacenar a -20 °C hasta su uso.

6. Evaluación de calidad y cuantificación

- Determinar la concentración y pureza del ADN usando espectrofotometría (NanoDrop).
- Comprobar la integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio o SYBR Safe.

Anexo 2: Protocolo de Evaluación de la Calidad e Integridad del ADN Extraído.

1. Objetivo

Evaluar la calidad, pureza e integridad del ADN genómico extraído de hojas de papa (*Solanum spp.*) mediante espectrofotometría UV y electroforesis en gel de agarosa, a fin de determinar su idoneidad para análisis moleculares posteriores como PCR.

2. Reactivos y Soluciones

- Buffer TE (Tris-EDTA 1X)
- Gel de agarosa al 1%
- Buffer TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA)
- SYBR Safe o bromuro de etidio (agente intercalante)
- Buffer de carga (Loading dye 6X)
- Marcador de peso molecular (DNA ladder 100 bp o 1 kb)

3. Equipos y Materiales

- Espectrofotómetro UV (NanoDrop u otro modelo compatible)
- Termobloque o baño térmico
- Cámara de electroforesis
- Fuente de poder
- Transiluminador de luz UV
- Micropipetas y puntas estériles
- Cubetas de cuarzo o sistema de microvolumen

4. Procedimiento

A. Cuantificación y pureza del ADN por espectrofotometría UV

Preparación de la muestra: Tomar 2 μ L de ADN previamente disuelto en buffer TE o agua libre de nucleasas.

Medición de absorbancia: Colocar la muestra en el espectrofotómetro. Medir la absorbancia a las siguientes longitudes de onda:

- 260 nm (A260): indica concentración de ácidos nucleicos.
- 280 nm (A280): detecta presencia de proteínas.
- 230 nm (A230): detecta contaminantes orgánicos como fenoles y sales.

Cálculo de relaciones de pureza:

- A260/A280: debe estar entre 1.8 y 2.0 para indicar ADN puro.
- A260/A230: valores cercanos a 2.0 indican baja contaminación.

B. Verificación de integridad del ADN por electroforesis en gel de agarosa

Preparación del gel: Preparar un gel de agarosa al 1% con SYBR Safe o bromuro de etidio. Verter en la bandeja de gel y colocar el peine. Dejar solidificar.

Preparación de muestras:

- Mezclar 3 μ L de ADN con 2 μ L de buffer de carga 6X.
- Carga y corrida
- Cargar las muestras y el marcador de peso molecular en los pocillos del gel.
- Ejecutar la electroforesis a 100 V durante 40 minutos en buffer TAE 1X.
- Visualización
- Observar el gel en un transiluminador UV.

Interpretar los resultados según el patrón de bandas:

- Bandas únicas, intensas y bien definidas: ADN íntegro.
- Bandas difusas o "smearing": ADN degradado.
- Bandas pequeñas adicionales: posible contaminación con ARN.

Anexo 3: Protocolo de Evaluación de Calidad del ADN mediante Electroforesis en Gel de Agarosa.

1. Objetivo

Verificar la integridad y pureza del ADN genómico extraído a partir de tejido foliar de papa (*Solanum spp.*) mediante su separación y visualización en gel de agarosa al 1%, utilizando un marcador de peso molecular como referencia.

2. Materiales y Equipos

- Gel de agarosa al 1%
- Buffer de corrida TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA)
- SYBR Safe o bromuro de etidio (agente intercalante)
- Marcador de peso molecular (DNA Ladder 100 bp o 1 kb)
- Buffer de carga (Loading dye 6X)
- Micropipetas y puntas estériles
- Fuente de poder para electroforesis
- Cámara de electroforesis
- Transiluminador UV o sistema de documentación de geles

3. Preparación del Gel de Agarosa

- Pesar 1 g de agarosa y disolverlo en 100 mL de buffer TAE 1X.
- Calentar en horno microondas hasta disolver completamente.
- Enfriar a ~50 °C y añadir SYBR Safe (1 µL por cada 10 mL) o bromuro de etidio (final 0.5 µg/mL).
- Verter el gel en una bandeja con peine y dejar solidificar (20–30 min).

4. Preparación y Carga de Muestras

- Mezclar 3 µL del ADN extraído con 2 µL de buffer de carga 6X.
- Cargar la mezcla en un pocillo del gel.
- En otro pocillo, cargar 5 µL del marcador de peso molecular.
- Llenar la cámara de electroforesis con buffer TAE 1X hasta cubrir el gel.

6. Corrida Electrofórica

- Conectar la fuente de poder (ánodo al lado del gel opuesto a las muestras).
- Ejecutar la electroforesis a 100 V durante aproximadamente 40 minutos.

7. Visualización y Análisis

- Colocar el gel en un transiluminador UV o sistema de documentación.

- Observar las bandas de ADN y comparar con el marcador.

Anexo 4: Protocolo de Amplificación de ADN mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

1. Objetivo

Amplificar regiones específicas del ADN genómico de 10 variedades de papa (*Solanum spp.*) utilizando marcadores microsatélite (SSR), a fin de evaluar su diversidad genética mediante análisis molecular.

2. Materiales y Reactivos

- ADN genómico (40 ng/ μ L)
- Taq ADN polimerasa (5 U/ μ L)
- Buffer de reacción 5X
- MgCl₂ (25 mM)
- dNTPs (10 mM)
- Primers Forward y Reverse (10 μ M c/u)
- Agua libre de nucleasas (NFW)
- M13-700 (si aplica)
- Tubos PCR de 0.2 mL
- Centrífuga de mesa
- Termociclador

3. Preparación de la Mezcla de Reacción

Para un volumen total de 10 μ L por reacción, se utilizaron las siguientes concentraciones y volúmenes:

Reactivo	Concentración final	Volumen por reacción (10 μL)
Buffer (5X)	1X	2.0 μ L
MgCl ₂ (25 mM)	2.5 mM	1.0 μ L
dNTPs (10 mM)	0.2 mM	0.2 μ L
Primer Forward (10 μ M)	0.3 μ M	0.3 μ L
Primer Reverse (10 μ M)	0.3 μ M	0.3 μ L
M13-700 (si aplica)	—	0.06 μ L
Taq polimerasa (5U/ μ L)	1 U	0.2 μ L
Agua libre de nucleasas	—	4.94 μ L
ADN genómico (40 ng/ μ L)	40 ng	1.0 μ L
Total	—	10 μL

4. Condiciones del Termociclador

El programa de PCR fue el siguiente:

- Desnaturalización inicial: 94 °C por 5 minutos
- Ciclos de amplificación (30 ciclos):
- Desnaturalización: 94 °C por 30 segundos
- Alineamiento (annealing): Temperatura específica según el marcador SSR (ver tabla) por 30 segundos
- Extensión: 72 °C por 1 minuto
- Extensión final: 72 °C por 10 minutos
- Conservación: 4 °C hasta su posterior procesamiento

5. Verificación del Producto de PCR

Una vez finalizado el ciclo de amplificación:

- Mezclar 5 µL del producto de PCR con 2 µL de buffer de carga 6X.
- Cargar en gel de agarosa al 1% o poliacrilamida (según el análisis).
- Correr a 100 V por 40 minutos.
- Visualizar bajo luz UV con transiluminador.
- Confirmar el tamaño esperado de los amplicones usando un marcador de peso molecular.

Anexo 6: Indicadores estadísticos como la heterocigosidad observada (Ho), la heterocigosidad esperada (He) y el índice de información polimórfica (PIC) de los microsatélites utilizados.

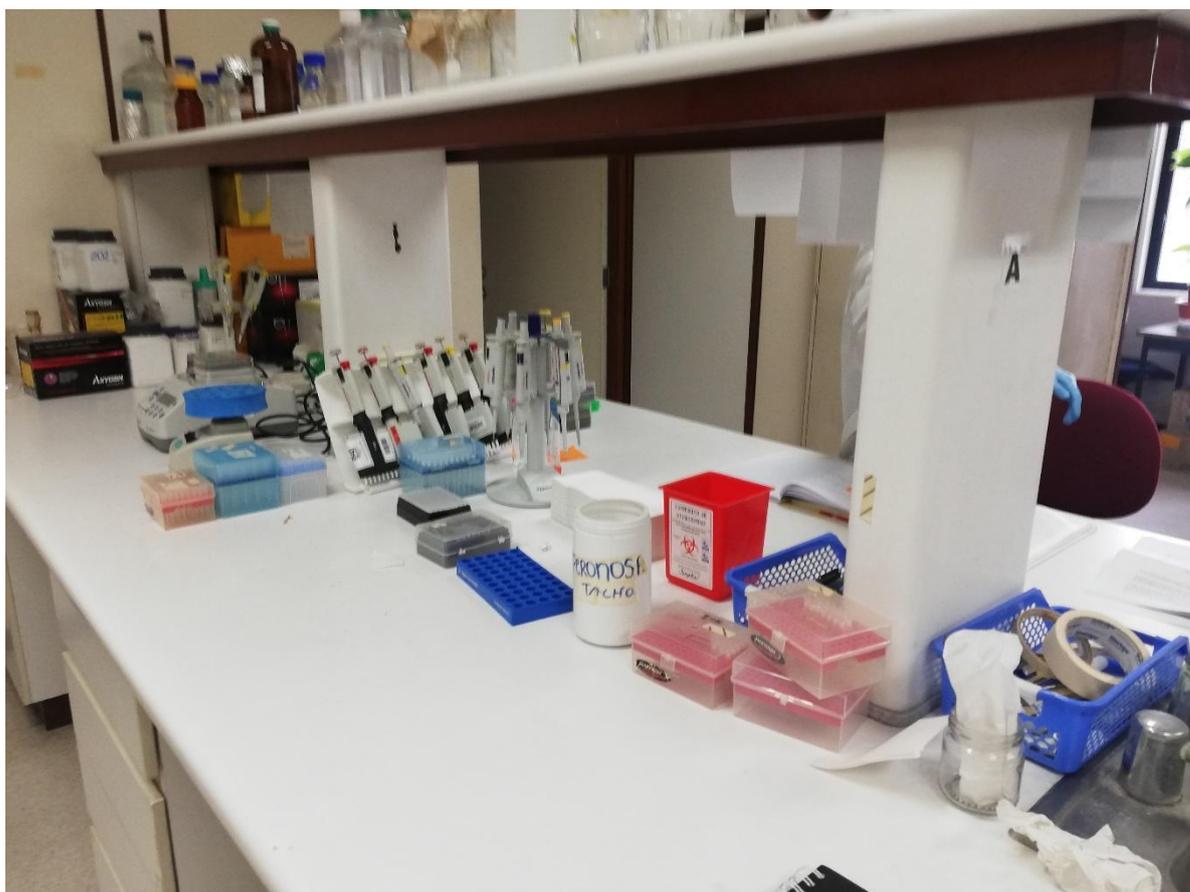
Marcadores	Número de alelos	Ho (Heterocigosidad observada)	He (Heterocigosidad esperada)	PIC (Contenido de información polimórfica)
STM1053	2	0.73	0.31	0.44
STM1106	6	0.55	0.76	0.80
STM5114	3	0.73	0.54	0.45
STM5127	11	0.68	0.78	0.64
STI0004	7	0.93	0.53	0.14
STI0012	6	0.95	0.70	0.09
STI0030	4	0.80	0.69	0.43
STI0032	7	0.60	0.80	0.51
STG0001	5	0.70	0.75	0.73
STPOAc58	4	0.88	0.61	0.29

ANEXO 7: MATRIZ DE CONSISTENCIA
“ANÁLISIS GENOTÍPICO CON MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITE
DE 10 VARIEDADES DE PAPAS NATIVAS (*SOLANUM SPP.*) DEL DISTRITO DE
PAUCARTAMBO-PASCO“

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADORES
<p>Problema General: ¿Cuáles serán las características genotípicas con marcadores moleculares microsátelite de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo-Pasco?</p>	<p>Objetivo General: Determinar las características genotípicas mediante marcadores moleculares microsátelite de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo-Pasco.</p>	<p>Hipótesis General: Las 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco, presentan características genotípicas diferenciadas, detectables mediante el uso de marcadores moleculares microsátelite.</p>	<p>Variables Independientes - Accesiones de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>).</p>	<p>Conteo de accesiones de papas nativas diferentes.</p>
<p>Problemas Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Cuál es el procedimiento para extraer y cuantificar el ADN de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo-Pasco? ▪ ¿Cuál es la calidad del ADN de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo-Pasco? ▪ ¿Cuál es el contenido de información polimórfica de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo-Pasco? 	<p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Establecer el procedimiento para la extracción y cuantificación del ADN de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco. ▪ Evaluar la calidad del ADN extraído de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco. ▪ Determinar el contenido de información polimórfica mediante el uso de marcadores microsátelite en 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco. 	<p>Hipótesis específicas.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Es posible establecer un procedimiento eficaz para la extracción y cuantificación del ADN de 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco. ▪ El ADN extraído de las 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco, presenta una calidad adecuada para su análisis molecular. ▪ Los marcadores microsátelite permiten identificar un contenido polimórfico variable entre las 10 variedades de papas nativas (<i>Solanum spp.</i>) del distrito de Paucartambo, Pasco. 	<p>Variables Dependientes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Extracción y cuantificación de ADN. - Calidad de ADN. - Polimorfismo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cantidad y calidad de ADN extraído de las muestras. - Proporción de ADN degradado y contaminado. - Número y tipo de polimorfismos encontrados en el ADN.

Anexo 8: Área de extracción de ADN en el Laboratorio de la Universidad

Cayetano Heredia.

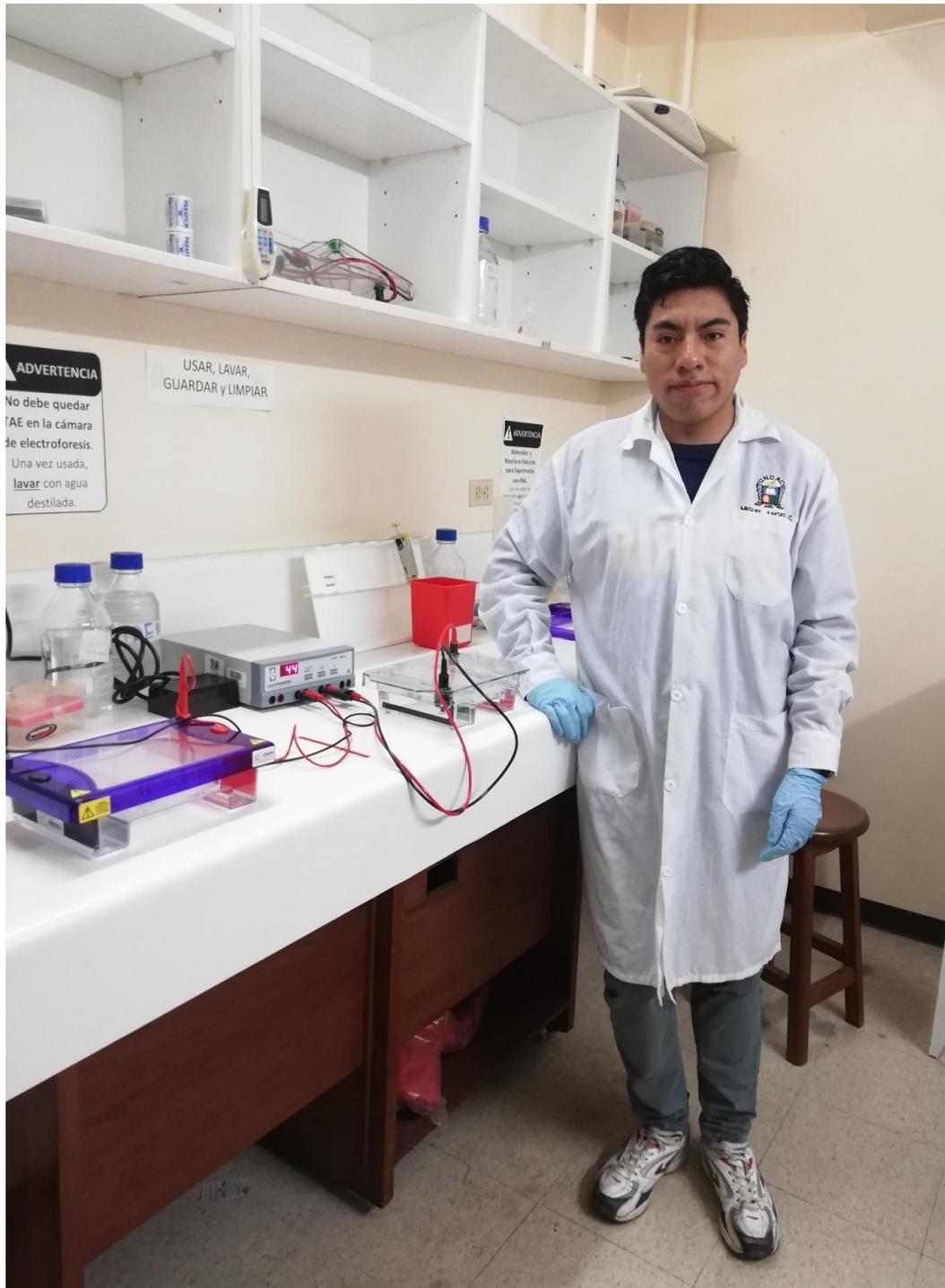


Anexo 9: Enumeración de las 10 variedades de papas nativas en el Tubo Eppendorf.



Anexo 10: Área de Electroforesis en el Laboratorio de la Universidad

Cayetano Heredia.



Anexo 12 Llenado de los posillos con ADN para comprobar la calidad de las muestras.



Anexo 13: Análisis de la imagen del gel de poliacrilamida de las 10 variedades de papa en el software Gel Analyzer 19.1.



Anexo 14: Programando el Termociclador para el PCR de las 10 variedades de papas nativas.

