

Caracterización morfológica y molecular de *Oxalis tuberosa* Mol. en el departamento de Boyacá

Morphological and molecular characterization of *Oxalis tuberosa* Mol. in the department of Boyacá

Morillo C. Ana Cruz*, Morillo, C. Yacenia**, Leguizamo, M. María Fernanda***

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.57356

RESUMEN

Dentro de los tubérculos andinos de mayor importancia, después de la papa, se encuentra la ibia (*Oxalis tuberosa* Mol.) ya que constituye un alimento básico para las comunidades campesinas. Boyacá es uno de los departamentos de Colombia, en donde todavía existe la tradición de cultivar y consumir tubérculos como los cubios, ullucus y rubas o ibias, sin embargo están amenazados por la erosión genética. No existen estudios sobre estos recursos fitogenéticos en Boyacá, por lo cual el objetivo de esta investigación fue coleccionar y caracterizar morfológica y molecularmente materiales de ibias en este departamento. El análisis morfológico mostró que las características más discriminantes fueron: color de los tallos aéreos, pigmentación de las axilas, color del follaje, color de la flor, color del pedúnculo y pedicelo, color predominante de la superficie del tubérculo, color secundario de la superficie del tubérculo, color predominante y secundario de la pulpa, distribución del color secundario de la pulpa y forma de los tubérculos. El análisis de similitud diferenció a los materiales en dos grandes grupos, de acuerdo principalmente a características morfológicas como el color y hábito de floración. El valor de heterocigosidad promedio para la población total fue de 0.39 el cual se considera alto al compararse con otros estudios de diversidad genética en ibias. El análisis de varianza molecular y el Fst (coeficiente de diferenciación genética) muestran que existe una alta variabilidad genética entre los materiales de ibias evaluados la cual debe ser conservada y aprovechada dentro de futuros programas de mejoramiento.

Palabras clave: Tubérculos andinos, diversidad genética, microsatélites RAMs.

ABSTRACT

Among the most important Andean tubers, after potato, is the ibia (*Oxalis tuberosa* Mol.) because it is a staple food for peasant communities. Boyacá in one of the departments of Colombia, where there is still tradition to grow and consume tubers like cubios, ullucus and rubas or ibias; however, they are threatened by genetic erosion. There are no studies on these plant genetic resources in Boyacá, therefore the goal of this research was to collect and morphological and molecularly characterize ibias in this department. Morphological analysis showed that the most discriminate characteristic were color aerial stems, pigmentation arm-

* Profesor Asociado. PhD. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad Ciencias Agropecuarias-Programa Ingeniería Agronómica. Avenida Central Norte N° 39-115- Tunja. ana.morillo@uptc.edu.co.

** Asistente de Investigación. Ing. Agrónomo. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad Ciencias Agropecuarias-Programa Ingeniería Agronómica. Avenida Central Norte N° 39-115- Tunja. maria.leguizamo@uptc.edu.co.

*** Profesor Ocasional. PhD. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias-Programa Ingeniería Agronómica. Calle 65 N°26-10 Manizales. yacenia.morillo@ucaldas.edu.co.

pits, foliage color, flower color, color peduncle and pedicel, predominant color of the tuber surface, secondary color of the surface tuber, dominant and secondary color of the pulp, distribution of secondary pulp color and shape of tubers. The similarity analysis discriminate the materials in two groups according mainly to morphological characteristics such as color and flowering habit. The value of average heterozygosity for the total population was 0.39, which is considered high when compared with other studies of genetic diversity in ibias. The analysis of molecular variance and F_{st} (coefficient of genetic differentiation) show that existed a high genetic variability among the ibias evaluated which it should be maintained and exploited in future breeding programs of Andean tubers.

Key words: Andean tubers, genetic diversity, microsatellites RAMs.

Recibido: mayo 16 de 2018

Aprobado: mayo 10 de 2019

INTRODUCCIÓN

Oxalis tuberosa Molina, conocida como oca en Perú, Ecuador y Bolivia, cuiba o quiba en Venezuela, ibia en Colombia, truffette acide en Francia o papa extranjera en México es después de la papa, el tubérculo más conocido en la región Andina, en donde sus tubérculos amiláceos constituyen un componente básico para la alimentación. Hoy en día es cultivada en países como México y Nueva Zelanda en donde son apreciadas por presentar colores y sabores muy particulares. Es una planta dicotiledónea, herbácea, anual, de sabor dulce y consistencia harinosa; cultivada en altitudes comprendidas entre los 2800 y 4000 msnm, toleran climas fríos, fotoperiodo óptimo es de 9 horas y prosperan en suelos con pH de 5.3 a 7.8, presenta resistencia a plagas y otros problemas fitosanitarios, por lo tanto tiene una mayor adaptación a ambientes en donde otros cultivos no pueden sobrevivir (Rosero, 2010; Clavijo y Pérez, 2014).

Las ibias presentan alta variación en sus niveles nutritivos dependiendo de la variedad, con un contenido de proteína de aproximadamente el 9%, altos porcentajes de almidón (13.2%), minerales y ácidos orgánicos los cuales facilitan su uso en procesos industriales tales como la panificación, deshidratación y extracción de alcohol mediante fermentación (Moscoe *et al.*, 2016). El tubérculo presenta altas concentraciones de ácido oxálico y de una proteína de almacenamiento llamada ocatina, las cuales juegan un papel importante en la resistencia a los patógenos (Bradbury & Emswiller, 2011). A pesar de su potencial económico promisorio, debido a sus propiedades agroindustriales y medicinales y gran adaptabilidad a condiciones ambientales difíciles, es una especie marginal por factores tales como las dificultades en el mercadeo del producto, bajo prestigio social (constituyen un alimento básico para las comunidades pobres de los Andes), laboriosos procesos de cocción y bajo retorno económico (Clavijo *et al.*, 2011; Malice *et al.*, 2010; Jiménez *et al.*, 2015).

Históricamente los países en donde se han realizado más estudios sobre colecta, conservación y utilización de estos recursos genéticos son Bolivia, Perú y Ecuador, por el hecho de que estos países presentan la mayor diversidad de estas especies (Rosero, 2010, Clavijo *et al.*, 2015). En Colombia estos cultivos se encuentran distribuidos en los pisos térmicos fríos de los departamentos de Nariño, Cauca, Cundinamarca y Boyacá, en donde hacen parte del patrimonio cultural heredado por los Paeces, Muisca y Laches, entre otros. En la provincia de Sugamuxi, departamento de Boyacá se conservan aún los cubios o nabos, rubas o chuguas e ibias como parte fundamental de su alimentación; sin embargo, se encuentran las mayores producciones en los municipios de Sogamoso, Aquitania y Gámeza (Clavijo *et al.*, 2011; Aguirre *et al.*, 2012).

Las ibias han sido propagadas exclusivamente a través de tubérculos, dando origen a un gran número de variedades clonales que pueden ser distinguidas especialmente por el color, textura y la forma del tubérculo (Bradbury & Emswiller, 2011). Por lo tanto, el uso de tan pocos criterios de selección podría explicar la confusión entre plantas que comparten fenotipos similares pero diferentes genotipos y lo tanto, la existencia de la diversidad genética intravarietal ya observada por Pissard *et al.* (2007). *Oxalis tuberosa*, podría considerarse una especie modelo para los estudios de diversidad genética en plantas marginales y propagadas vegetativamente, como se les conoce a los tubérculos andinos. Esta diversidad está dada por el sistema de reproducción, la prevalencia de variedades tradicionales, la falta de mejoramiento, la introducción inconsciente de materiales producto de la reproducción sexual y su adaptación a condiciones extremas, entre otros (Clavijo *et al.*, 2015; Moscoe *et al.*, 2016).

La diversidad genética de *Oxalis tuberosa* no ha sido estudiada suficientemente en Colombia y no existen bancos de germoplasma que conserven una muestra representativa de su variabilidad (Rosero, 2010). Estu-

Tabla 1. Sitios de colecta de los materiales de Ibias (*Oxalis tuberosa* M.) usados para la caracterización morfológica y molecular.

Nº	PROCEDENCIA	ALTURA (msnm)	LATITUD	LONGITUD
1	Soracá	2799	5.50°N	-73.33°W
2	Ventaquemada	2630	5.36°N	-73.52°W
3	Tuta	2600	5.68°N	-73.22°W
4	Combita	2820	5.63°N	73.32°O
5	Soracá	2799	5.50°N	-73.33°W
6	Ventaquemada	2630	5.36°N	-73.52°W
7	Tuta	2600	5.68°N	-73.22°W
8	Combita	2820	5.63°N	73.32°O
9	Ventaquemada	2630	5.36°N	-73.52°W
10	Combita	2820	5.63°N	73.32°O

dios de caracterización morfológica en diferentes tubérculos andinos muestran que los descriptores cualitativos que permiten una mejor diferenciación de los materiales son el color de los tallos aéreos, pigmentación de las axilas, color del follaje, color de la flor, color del pedúnculo y pedicelo, color predominante en la superficie de los tubérculos, color de la pulpa, color y forma de los tubérculos, lo cual ha permitido la selección y la identificación de las variedades por parte de los agricultores, quienes usan como criterio único de selección características morfológicas asociadas principalmente al tubérculo (Cadima 2006; Malice *et al.*, 2007; Iriondo *et al.*, 2008; Rosero, 2010).

Las ibias son un cultivo que se propaga vegetativamente y que por procesos antrópicos y ambientales se han generado variedades clonales, sin embargo, se hace necesario una caracterización más objetiva del germoplasma de este recurso fitogenético, que nos permita entender mejor la evolución de los cultivos clonales dentro de los sistemas agrícolas tradicionales considerando el papel cultural, económico y ecológico de ambiente, el impacto del intercambio de material de siembra y la influencia de la reproducción sexual en la generación de su diversidad genética (Malice *et al.*, 2010). Hoy en día, existen herramientas de la biología molecular, que nos permiten identificar esa variación a nivel

del ADN, como son los marcadores moleculares los cuales no están sujetos a la variación ambiental y nos permiten una estimación más objetiva de la diversidad genética presente en el germoplasma (Kuchma *et al.*, 2011). Los estudios de caracterización molecular que usan marcadores dominantes y codominantes en *O. tuberosa* muestran que hay una alta diversidad genética y que no hay relación entre los morfotipos y los genotipos, que algunos agrupamientos pueden estar determinados por la mayor o menor cantidad de ácido oxálico presente en los materiales evaluados y que también éstos se corresponden con los niveles de ploidía (Pissard *et al.*, 2006, 2007a, b, 2008; Emshwiller *et al.*, 2009; Malice *et al.*, 2007, 2009, 2010; Morillo *et al.*, 2016).

Los marcadores moleculares conocidos como los RAMs o ISSR (Intersimple Sequence Repeat) son útiles para medir la diversidad genética en plantas y animales, permiten identificar diferencias entre familias, entre especies y al interior de las especies muestran la base misma de la variación de los individuos, permiten analizar la información que se expresa como la que no lo hace (Muñoz *et al.*, 2008). Esta metodología es factible para pequeños laboratorios, no requiere el conocimiento previo de la secuencia y se ha utilizado para la determinación de la diversidad genética en plantas cultivadas como en tubérculos andinos (Mora *et al.*, 2013; Morillo

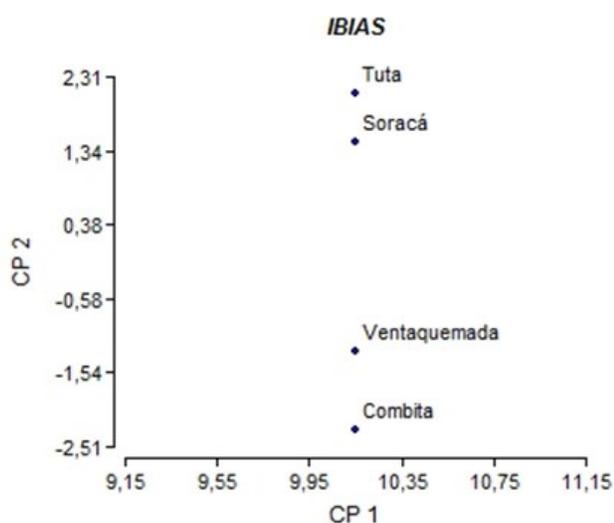


Figura 1. Dispersión de los materiales de ibias evaluados con base en los caracteres para tallos, hojas, flores y tubérculos asociados a CP1 y CP2 por localidad.

et al., 2015; Morillo et al., 2016). La caracterización molecular usando diferentes tipos de marcadores ha permitido sentar las bases para la investigación y conservación de materiales propagados vegetativamente, el análisis comparativo del cariotipo y la identificación de me-

tabolitos de interés, entre otros (Bonna et al., 2017; Moscoe et al., 2016, Zhang et al., 2017).

Considerando que los tubérculos andinos son cultivos relegados pero que tienen una gran importancia social a nivel de las poblaciones rurales andinas y que hay diversidad en estos materiales, la cual está amenazada por la pérdida de la diversidad genética, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal la caracterización morfológica y molecular de materiales de ibias en el departamento de Boyacá, como una primera aproximación hacia el mejoramiento genético de esta especie en esta región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta

Los materiales utilizados para la caracterización morfológica y molecular fueron colectados en los principales municipios productores del departamento de Boyacá: Soracá, Ventaquemada, Tuta y Combita. Se seleccionaron plantas con buen porte, arquitectura, buen rendimiento, con ausencia de síntomas causados por factores bióticos o abióticos. Los materiales colectados se sembraron en una parcela demostrativa en la finca "Asuazan" ubicada en el municipio de Combita-Boyacá (5° 38' 30.27" N, 73° 19' 34.84" E), la cual presenta

Tabla 2. Descriptores cualitativos y cuantitativos utilizados en la caracterización morfológica de *Oxalis tuberosa*.

DESCRIPTORES CUALITATIVOS	
Color de los tallos aéreos (CTA)	Color predominante de la superficie de los tubérculos (CPST)
Pigmentación de las axilas (PA)	Color secundario de la superficie de los tubérculos (CSST)
Color del envés de los folíolos (CEF)	Distribución del color secundario del tubérculo (DCSST)
Color del peciolo (CP)	Color predominante de la pulpa de los tubérculos (CPPT)
Color del follaje (CF)	Color secundario de la pulpa de los tubérculos (CSPT)
Hábito de floración (HFL)	Presencia de color secundario de los tubérculos (PCST)
Color de la flor (CFL)	Forma general de los tubérculos (FT)
Forma de la corola (FCO)	
DESCRIPTORES CUANTITATIVOS	
Número de folíolos por hoja (NFH)	Longitud del peciolo (LP) en cm
Longitud de la lámina foliar (LLF) en cm	Peso de tubérculos por planta (PTP) en gr.
Ancho de la lámina foliar (ALF) en cm	Número de tubérculos por planta (NTP)

Tabla 3. Cebadores RAMs utilizados en la caracterización molecular de los materiales de ibias.

CEBADORES	SECUENCIA (5´ a 3´)	PESO MOLECULAR g/mol
CCA	DDB(CCA) ₅	5338.4
CGA	DHB(CGA) ₅	5523
ACA	BDB(ACA) ₅	5451
AG	HBH(AG) ₇ A	5620.5
CT	DYD(CT) ₇ C	5310.9
TG	HVH(TG) ₇ T	5587.5
CA	DBDA(CA) ₇	5410.5

una precipitación promedio de 870 mm/año, temperatura promedio anual de 15°C y una humedad relativa entre el 70 y 80%; en donde cada uno de los materiales colectados se sembró en diferentes sitios de la parcela, para lograr así tener cuatro plantas por genotipo para posteriormente hacer las evaluaciones correspondientes (tabla 1) y poder tener así una colección *in situ* de la variabilidad genética colectada.

Caracterización morfológica

La caracterización morfológica de los materiales colectados se hizo de acuerdo con los descriptores evaluados por Rosero (2010). Para la medición de las variables cualitativas como fue el color, se utilizó un colorímetro digital marca Minolta, donde se determinaron los parámetros del sistema CIELab "L", "a" y "b", a cada fruto se le hicieron tres lecturas en el diámetro ecuatorial, donde L indica la luminosidad, tomando valores de 0 que es negro y 100 es blanco; para los valores de "a" donde menor a 0 es verde y mayor a 0 es rojo, para "b" los valores menores de 0 indican azul y mayores de 0 amarillo (tabla 2).

Caracterización molecular

La caracterización molecular se llevó a cabo en los laboratorios de investigación en Biología Molecular de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. La extracción del ADN se hizo utilizando tejido foliar joven siguiendo el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983), y se visualizó en geles de agarosa al 0.8% teñidos con Gel Red en una cámara Maxicell Primo EC-340 Electroforesis Gel System; se cuantificó mediante curva de dilución con el ADN del bacteriófago Lambda (20 ng/μl). El ADN cuantificado se diluyó en agua tipo

HPLC a un volumen total de 100 μl a 10 ng/μl y se almacenó a -20 °C. Para la caracterización molecular se utilizaron siete cebadores RAMs sintetizados por Technologies Inc. (tabla 3). Para la reacción de amplificación con RAMs se preparó el cóctel en un tubo estéril de microcentrífuga (1.5 ml) para un volumen final de 25 μl. La mezcla de reacción se preparó con buffer1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTPs 0.2 mM, *Taq* Polimerasa 1U, cebador 2 μM y ADN genómico 10ng.

Las siguientes designaciones son usadas para los sitios degenerados: H (A ó T ó C); B (G ó T ó C); V (G ó A ó C) y D (G ó A ó T).

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador PTC 100 Programmable Thermal Controller (MJ. Research, Inc.). La desnaturalización inicial fue a 95 °C durante 5 minutos; desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, hibridación a una temperatura de 50 °C (cebador AG y CA), 55 °C (cebador CCA-TG-CT) y 58 °C (cebador CGA) durante 45 segundos, una extensión de 72 °C por 2 minutos, 37 ciclos desde la desnaturalización a extensión y por último una extensión a 72 °C durante 7 minutos. Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa de alta resolución al 1.5% a 90 voltios durante 3 horas, tenidos con gelred y se visualizó en un transiluminador.

Análisis de la información

Con los datos obtenidos de la caracterización morfológica se realizaron análisis multivariados usando el programa estadístico InfoStat versión 2015; se obtuvo la matriz de correlaciones y se hizo el Análisis de Compo-

nentes Principales, para determinar las características más discriminantes dentro del conjunto de variables evaluadas. Con los datos moleculares se generó una matriz binaria de ausencia (cero) y presencia (uno) de alelos, la similitud genética se calculó utilizando el coeficiente de similitud de Nei y Li (1979). El análisis cluster se realizó por el método UPGMA y se generó un dendrograma considerando los datos morfológicos y moleculares, utilizando el paquete estadístico NTSYS (Numerical Taxonomy System for personal Computer, versión 2.02 PC). Para evaluar la variabilidad genética se estimó la heterocigosidad insesgada y el porcentaje de loci polimórficos utilizando el paquete estadístico TFPGA (Tools For Population Genetic Analices, versión 1.3, 1997). Se determinó el f estadístico insesgado con un intervalo de confianza del 95 % en los materiales de ibias colectados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la colecta realizada en la zona de estudio se encontraron 10 materiales de ibias con características fenotípicas distintas y clasificadas como variedades por parte de los agricultores (tabla 1). En el análisis de componentes principales se encontró que los cuatro primeros componentes explican más del 70% de la variación fenotípica observada en los materiales de ibias evaluados, siendo el Componente principal 1 (CP1) y el dos (CP2) los que tienen una contribución de más del 90%. Las variables que aportan de manera significativa en cada uno de estos componentes son para el CP1: Color del peciolo (CP), distribución del color secundario de los tubérculos (DCSST) y CP2: Color de los tallos aéreos (CTA), color del envés de los foliolos (CEF), hábito de floración (HFL), color secundario de la superficie de los tubérculos (CSST), peso de tubérculos por planta (PTP) y número de tubérculos por planta (NTP) (figura 1).

En la tabla 4 se muestran la contribución de cada una de las variables a los primeros componentes principales, en el primero se puede observar que las variables distribución del color secundario en la superficie del tubérculo (DCSST, 0.39), color del peciolo (CP, 0.49) y la forma del tubérculo son las variables que mayor aporte están haciendo a la variabilidad fenotípica observada. En cuanto al componente principal 2, las variables más discriminantes son el color de los tallos aéreos (CTA, 0.46), peso de los tubérculos por planta (PTP, 0.41), número de tubérculos por planta (NTP, 0.36), color secundario de la superficie del tubérculo (CSST, 0.34), color del envés del foliolo (CEF, 0.31) y hábito de floración (HFL, 0.31), características que deben ser tenidas en cuenta en estudios de la

Tabla 4. Vectores propios y la contribución a la varianza total explicada por los componentes principales uno y dos.

VARIABLES	COMPONENTES PRINCIPALES	
	CP1	CP2
CTA	0	0.46
CEF	0	0.31
CP	0.49	0
CF	0	0.19
HFL	0	0.31
CSST	0	0.34
DCSST	0.39	0
ALF	0	0.29
PTP	0	0.41
NTP	0	0.36

identificación de la variabilidad fenotípica en materiales de ibias, especialmente el color característica asociada a la presencia de metabolitos secundarios de interés industrial y/o farmacéutico (Cruz *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017).

En Colombia se han venido realizando estudios de caracterización morfológica en papa en donde Moreno y Valbuena (2006) encontraron que cinco caracteres cualitativos a nivel del tubérculo y de la flor discriminaron la colección. Bernal *et al.* (2007), observaron que las variables que más discriminan la colección Colombiana de papa son el color primario de la piel del tubérculo y su intensidad, color secundario de la flor y su distribución, color secundario de la piel del tubérculo y su distribución, color secundario de la pulpa del tubérculo y su distribución, color primario de la flor y color del pedicelo, características que han mostrado ser discriminantes en diferentes especies tuberosas. Los resultados encontrados en este estudio concuerdan con las observaciones realizadas en otros estudios de caracterización morfológica en materiales de ibias en donde se consideran que las características asociadas al color y forma del tubérculo son determinantes a la hora de evaluar morfológicamente los materiales y es el único criterio de selección usado por los agricultores para la determinación e identificación de variedades (Cadima, 2006; Bernal *et al.*, 2007; Morillo *et al.*, 2016).

Estudios de colecta, caracterización y conservación de la variabilidad de la ibia en agroecosistemas paramunos del departamento de Nariño muestran al igual que en este estudio que las características más discriminantes

Tabla 5. Valores de Heterocigosidad, Fst y Porcentaje de loci polimórficos para los cebadores RAMs evaluados en los diez materiales de ibias.

CEBADOR	Nº LOCI	He ESTIMADA	% Loci POLIMÓRFICOS (95%)	Fst	SD
ACA	23	0.39	95	0.24	0.07
AG	19	0.42	97	0.26	0.04
CA	22	0.46	98	0.11	0.05
CCA	33	0.32	97	0.31	0.05
CT	28	0.42	85	0.22	0.04
TG	39	0.42	98	0.16	0.04
CGA	25	0.40	98	0.32	0.02
TOTAL	190	0,39	96	0.23	0.02

están relacionadas con el color del tubérculo, que presenta una variación continua desde el blanco hasta el negro, pasando por diferentes tonalidades de amarillo, rosado y rojo. El color de la pulpa parece tener también una pequeña variación de tipo continuo, con rangos que van desde el blanco marfil, amarillo y púrpura-morado. Una gran cantidad de formas presenta el anillo vascular del tubérculo pigmentado con la misma coloración de la piel, seguido con la intensidad del color la médula (Rosero, 2010).

Como se había reportado ya en caracterizaciones anteriores las variables cualitativas que están diferenciando fácilmente los materiales de ibias son: color de los tallos aéreos, pigmentación de las axilas, color del follaje, color de la flor, color del pedúnculo y pedicelo, color predominante de la superficie del tubérculo, color secundario de la superficie del tubérculo, color predominante y secundario de la pulpa, distribución del color secundario de la pulpa y forma de los tubérculos (Pissard *et al.*, 2007; Pissard *et al.*, 2008; Rosero, 2010; Malice *et al.*, 2007, 2009, 2010).

El análisis mediante el coeficiente de Nei-Li a un nivel de similaridad de 0.65 permitió diferenciar a los materiales de ibias en dos grandes grupos (figura 1). En el grupo I se encuentran las ibias que fueron colectadas en los municipios de Soracá, Tuta y Ventaquemada y que presentan características similares en cuanto a la floración que va de moderada a abundante, el color de

la superficie del tubérculo presenta una distribución alrededor de las yemas y el color predominante de la pulpa es blanco amarillento (Morillo *et al.*, 2016). En el grupo II a una similaridad de 0.75 hay una distribución de materiales de diferente origen geográfico, lo cual refleja el intercambio de material de siembra entre los diferentes municipios productores, lo cual hace que estas ibias no difieran mucho morfológicamente unas de otras, especialmente en características como color y forma del tubérculo, longitud y ancho de la lámina foliar, color de la pulpa sin embargo, los materiales de Combita fueron los que presentaron los menores valores de similitud en comparación con las otras ibias evaluadas, esto puede deberse a que presentan características morfológicas altamente diferenciables como hábito de floración abundante, la distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos se ubican directamente en las yemas, el color predominante de la pulpa es blanco amarillento con una longitud y ancho de la lámina foliar de 4.3 cm y 4.8 cm, respectivamente (Morillo *et al.*, 2016).

En términos generales los agrupamientos de los materiales evaluados con marcadores RAMs y los descriptores usados por Rosero (2010), no se corresponden a los sitios geográficos donde fueron colectadas las ibias, sino más bien son las características morfológicas asociadas al color de los tallos, foliolos y tubérculos, hábito de floración, entre otros los que están determinando dichos agrupamientos, características las cuales ya habían

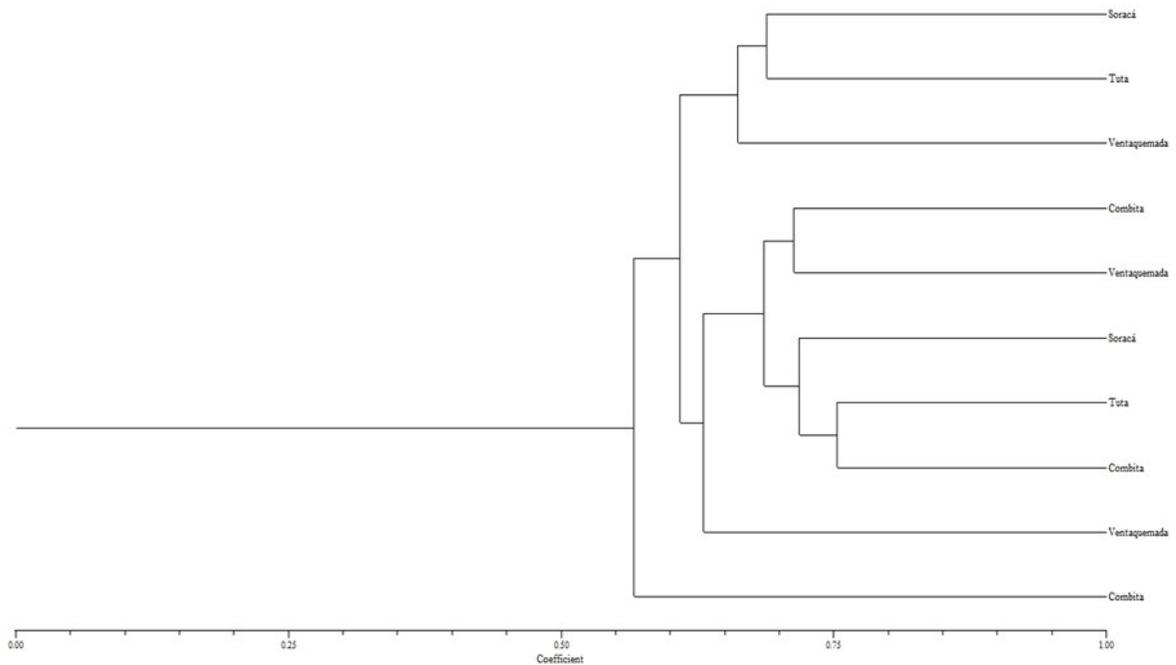


Figura 2. Dendrograma de ibias, basado en el coeficiente de similitud de Nei-Li y calculado con siete marcadores RAMs, con el método de cal con el método de clasificación UPGMA, SAHN y TREE de NTSYs-pc Versión 1.8 [Exeter Software, Y, USA].

sido reportadas en otros estudios de caracterización de la diversidad genética en esta especie como altamente discriminantes (Bernal *et al.*, 2007; Rosero, 2010). Las distancias genéticas son menores a los encontrados en otros estudios de diversidad genética en ibias (Pissard *et al.*, 2006; Malice *et al.*, 2007, 2010), lo cual revela un menor grado de variabilidad en los materiales evaluados.

El análisis de la caracterización molecular usando los marcadores Microsatélites Amplificados al Azar (RAMs) en ibias mostraron que el cebador CGA fue el que mayor aporte hizo a la variabilidad genética observada, Fst de 0.32, lo cual significa que es un marcador discriminante que puede ser tenido en cuenta a la hora de evaluar la diversidad genética en otras especies tuberosas (tabla 5).

De acuerdo con otros estudios, tanto las repeticiones di y trinucleótidas son más útiles para la amplificación de las bandas polimórficas (Parra *et al.*, 2015). Los cebadores con repeticiones AG y GA son más eficientes ya que producen patrones de bandas más definidos y polimórficos, estos motivos parecen ser más abundantes en el genoma de la ibia (Ruas *et al.*, 2003, Malice *et al.*, 2007).

El valor de heterocigosidad promedio para toda la población fue de 0.39, el cual puede ser bajo si se compara con los valores obtenidos en estudios de diversidad genética en otras especies tuberosas como la papa (Navarro *et al.*, 2010; Onamu *et al.*, 2015); pero más alto que lo encontrado por Pissard *et al.* (2006), al evaluar 32 accesiones de ibias (*O. tuberosa* M.) con marcadores ISSR (He= 0.28), y en los estudios realizados por Malice *et al.* (2010), en el microcentro de Huanuco en Perú (Ht= 0.33). Lo anterior muestra que existe diversidad genética en los materiales de ibias (*O. tuberosa* M.) colectados en el departamento de Boyacá que debe ser conservada como parte de la seguridad alimentaria. Los resultados anteriores son corroborados con el valor de Fst (0.23) el cual muestra una gran diferenciación genética, lo cual es debido al nivel de estructuración de la población como al proceso de propagación vegetativa que han venido sufriendo estos materiales ciclo tras ciclo. El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró que gran parte de la variación genética observada en los materiales de ibias colectados (89%) se encuentra dentro de cada grupo, lo cual indica niveles de subdivisión y jerarquización mayores a los evaluados en este estudio.

La existencia de variabilidad genética en cultivos propagados vegetativamente ya había reportado anteriormente y en el caso de la oca se atribuye al sistema de reproducción el cual es clave en la creación y conservación de la diversidad genética, las plantas han desarrollado sistemas de mejoramiento diametralmente opuestos en términos de creación por el contrario, la conservación de genotipos existente, por una parte la reproducción sexual que permite la creación de nuevos genotipos a través de la recombinación y segregación de cromosomas y la propagación clonal que asegura la conservación de los mejores genotipos (Jarvis *et al.*, 2011). La ibia es propagada vegetativamente y tiene un sistema de incompatibilidad heteromórfico lo cual le favorece la reproducción sexual. Por lo tanto, la existencia simultánea de ambos sistemas reproductivos permite tanto la creación de nuevos genotipos como el mantenimiento de los ya existentes a través de la propagación vegetativa. Lo cual juega un papel importante en el entendimiento de la diversidad genética de esta especie, la cual está influenciada por la incorporación de individuos derivados de la reproducción sexual dentro del germoplasma que manejan los agricultores (Bonnavé *et al.*, 2014) lo cual también ya sido reportado en papa (*Solanum* spp.) en Perú y Bolivia (Quiros *et al.*, 1992), yuca (*Manihot esculenta* Crantz) (Elías *et al.*, 2001), ñame (*Dioscorea* sp.) en Benin (Scarcelli *et al.*, 2006) y otros cultivos menores (McKey *et al.*, 2010).

Otros factores que están influenciando la diversidad genética de los materiales de ibias es su nivel de ploidia ya que es considerada un octaploide con origen interespecífico (Malice *et al.*, 2007); los arreglos espaciales que utilizan los agricultores en sus fincas, en los cuales existen polivariedades (mezcla de variedades) (Malice *et al.*, 2010); el intercambio de material de siembra así como la alta variación intraespecífica ya identificada anteriormente por estudios moleculares realizados con otros genotipos de *Oxalis* (Emswiller, 2006). El conocer los procesos que generan variación en especies de reproducción asexual, es una herramienta importante que debe tenerse en cuenta a la hora de plantear estrategias de conservación y mejoramiento genético.

CONCLUSIONES

El análisis de caracterización morfológica y molecular en los materiales de ibias evaluados, permitieron formar dos grupos de acuerdo principalmente a características relacionadas con el color y la forma de las hojas, tallos y tubérculos.

A pesar de que la ibia es un material que se ha venido propagando vegetativamente ciclo tras ciclo, se pudo observar que existe variación a nivel fenotípico y genotípico que deber conservada y usada para la generación de nuevos y mejores materiales que respondan a los intereses de los agricultores, productores y consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus más sinceros agradecimientos al grupo de investigación Competitividad, Innovación y Desarrollo Empresarial (CIDE), a los laboratorios de Biología Molecular GEBIMOL y BIOPLASMA.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, S.; Piraneque, N.; Pérez, I. (2012). Sistema de producción de tubérculos andinos en Boyacá, Colombia. *Cuad. Des. Rur.*, 9 (69), 257-273.
- Bernal, A.; Arias, J.; Moreno, J.; Valbuena, I.; Rodríguez, L. (2007). Detección de posibles duplicados en la Colección Central Colombiana de papa *Solanum tuberosum* subespecie *andigena* a partir de caracteres morfológicos. *Agron. Colom.*, 24(2), 226-237.
- Bonna, I.; Afroz, M.; Sharmeen, S.; Shamimul, S. (2017). Comparative karyotype and RAPD analysis of four *Oxalis* L. Species. *Cytol.*, 82(5), 527-533. <https://doi.org/10.1508/cytologia.82.527>.
- Bonnavé, M.; Bleeckx, G.; Rojas, J.; Beltrán, P.; Flamand, M.; Terrazas, F.; Bertin, P. (2014). Farmers 'unconscious incorporation of sexually-produced genotypes into the germplasm of a vegetative-propagated crop (*Oxalis tuberosa* Ml.). *Gen. Res. Crop. Evol.* 61(4), 61-73. <http://dx.doi.org/10.1007%2Fs10722-013-0068-z>.
- Bradbury, E.; Emswiller, E. (2011). The role of organic acids in the domestication of *Oxalis tuberosa*: a new model for studying domestication resulting in opposing crop phenotypes. *Econ. Bot.*, 65(1), 76-84. <http://doi:10.1007/s12231-010-9141-0>.
- Cadima, X. (2006). Tubérculos. In: Moraes R., Ollgaard B., Kvist L., Borchsenius F and Balslev H. eds, Botánica Económica de los Andes Centrales, Universidad Mayor de San Andrés. (Bolivia).369p.
- Clavijo, N.; Combariza, J.; Barón. M.T. (2011). Recognizing rural territorial heritage: characterization of Andean tuber production systems in Boyacá. *Agron. Colom.* 29(2), 361-371.

- Clavijo, Ponce; N., Pérez; Martínez, M. (2014). Tubérculos andinos y conocimiento agrícola local en comunidades rurales de Ecuador y Colombia. *Cuad. Des. Rur Il.*, 2(74), 149-166.
- Clavijo, N.; Combariza, J.; Barón, M.T. (2015). Conservación de tubérculos andinos en sistemas productivos de Boyacá. Una investigación participativa con perspectiva agroecológica. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. (Bogotá). 134p.
- Dellaportas, S.; Wood, J.; Hicks, J. (1983). A plant DNA minipreparation: Versión II. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 14(1), 19-21.
- Elias, M.; Penet, L.; Vindry, P.; Mckey, D.; Panaud, O.; Robert, T. (2001). Unmanaged sexual reproduction and the dynamics of genetic diversity of a vegetatively propagated crop plant, cassava (*Manihot esculenta* Crantz), in a traditional farming system. *Mol. Ecol.*, 10(8), 1895-1907.
- Emshwiller, E.; Theim, T.; Grau, A.; Nina, V.; Terrazas, F. (2009). Origins of domestication and polyploidy in oca (*Oxalis tuberosa*; Oxalidaceae). 3. AFLP data of oca and four wild, tuber-bearing taxa. *Amer. Jour. Bot.*, 96 (10), 1839-1848. <http://doi:10.3732/ajb.0800359>.
- Iriondo, J.; Maxted, N.; Dulloo, E. (2008). Conserving plant genetic diversity in protected areas: Population management of crop wild relatives. *CABI Publishing*. (Wallingford).144p.
- Jarvis, D.; Hodgking, T.; Sthapit, B.; Fadda, C.; López, I. (2011). A heuristic framework for identifying multiple ways of supporting the conservation and use traditional crop varieties within the agricultural production system. *Crit. Rev. Plant. Sci.*, 30(1-2), 125-176. <https://doi.org/10.1080/07352689.2011.554358>.
- Jiménez, M.; Rossi, A.; Sammán, N. (2015). Health properties of oca (*Oxalis tuberosa*) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Food. Funct.*, 6 (10), 3266-3271. <https://doi.org/10.1039/c5fo00174a>.
- Kuchma, O.; Vornam, B.; Finkeldey, R. (2011). Mutation rates in scots pine (*Pinus silvestre's* L.) from the Chernobyl exclusion zone evaluated with amplified fragment-length polymorphism (AFLPs) and microsatellite markers. *Mutat. Respon.*, 725(1), 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.07.003>.
- Malice, M. (2009). Genetic diversity and structure of three Andean tubers: *Oxalis tuberosa* Molina, *Ullucus tuberosus* Caldas and *Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pav. Thesis of PhD. *Gembloux Agricultural University*. (Belgium).185p.
- Malice, M.; Bizoux, J.; Blas, R.; Baudoin, J. (2010). Genetic diversity of Andean tuber crop species in the *in situ* microcenter of Huanuco, Perú. *Crop. Sci.*, 50(5), 1915-1923. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2009.09.0476>.
- Malice, M.; Martin, N.; Pissard, A.; Rojas, J.; Gandarillas, A.; Bertin, P.; Baudoin, J. (2007). A preliminary study of the genetic diversity of Bolivian oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) varieties maintained *in situ* and *ex situ* through the utilization of ISSR molecular markers. *Gen. Res. Crop. Evol.*, 54(4), 685-690. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9180-7>.
- Mckey, D.; Elías, M.; Pujol, B.; Duputié, A. (2010). The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New. Phytol.*, 186(2), 318-332. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03210.x>.
- Mora, S.; Morillo, Y.; Morillo, A.; Caicedo, A.; Muñoz, J. (2013). Caracterización molecular con Microsatélites aleatorios RAMs de 30 accesiones de mandarina (*Citrus reticulata*) del Banco de Germoplasma de Corpoica-Palmira. *Invest. Agrop.*, 10(2), 161-172.
- Moreno, J.; Valbuena, I. (2006). Colección central colombiana de papa la mayor riqueza de variabilidad genética para el mejoramiento del cultivo. Centro de investigación Tibaitata. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Tibaitatá. Bogotá. 9p.
- Morillo, A. Morillo, Y., Leguizamo M. (2016). Diversidad genética de ibias (*Oxalis tuberosa* Molina) y cubios (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón) en Boyacá. *Revista Temas Agrarios*, 21(1), 44-53. <https://doi.org/10.21897/rta.v21i1.869>.
- Morillo, A.; Morillo, Y.; Pinzón, H. (2015). Molecular characterization of the plum collection (*Prunus domestica* L. Borkh) of the Pedagogical and Technological University of Colombia. *Afri. Jour. Biotech.*, 14(3), 257-263. <https://doi:10.5897/AJB2014.14003>.
- Moscoe, L.; Blas, R.; Huamán, D.; Modesto, M.; Emshwiller, E. (2016). Genetic basis for folk classification of oca (*Oxalis tuberosa* Molina; Oxalidaceae): implications for research and conservation of clonally propagated crops. *Gen. Res. Crop. Evol.*, 63(1), 1-21. <https://dx.doi.org/10.1007/s10722-016-0407>.

- Muñoz, J.; Morillo, A.; Morillo, Y. (2008). Microsatélites Amplificados al Azar (RAMs) en estudios de diversidad genética vegetal. *Act. Agron.*, 57(4), 219-226.
- Navarro, C.; Bolaños, L.; Lagos, T. (2010). Caracterización morfoagronómica y molecular de 19 genotipos de papa guata y chaucha (*Solanum tuberosum* L. y *Solanum phureja* Juz et Buk) cultivados en el departamento de Nariño. *Rev. Agron.*, 27(1), 27-39.
- Nei, M.; Li, W. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restricción endonucleasa. *Proceed. Nat. Acad. Sci.*, 79(10), 5267 – 5273.
- Onamu, R.; Legaria, P.; Sahagún, J.; Rodríguez, J.; Pérez, J. (2015). Diversidad genética entre variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivadas en México. *Rev. Fitotec. Mex.*, 38(1), 7-15.
- Parra, M.; Quintero, P.; Hernández, J. (2015). Selección de marcadores microsatélites (SSR's) para el análisis de variabilidad genética en siete cultivares de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). *Mutis. Journ.*, 5(2), 39-45.
- Pissard, A.; Arbizu, C.; Ghislain, M.; Bertin, P. (2008). Influence of the geographical provenance on the genetic structure and diversity of the vegetatively propagated Andean tuber crop, mashua (*Tropaeolum tuberosum*), highlighted by ISSR markers and multivariate analysis methods. *Plant. Sci.*, 169(9), 1248-1260. <https://doi.org/10.1086/591979>.
- Pissard, A.; Arbizu, C.; Ghislain, M.; Faux, A.; Paulet, S.; Bertin, P. (2007a). Congruence between morphological and molecular markers inferred from the analysis of the intra-morphotype genetic diversity and the spatial structure of *Oxalis tuberosa* Mol. *Genet.*, 132(1), 71-85. <https://doi.org/10.1007/s10709-007-9150-9>.
- Pissard, A.; Ghislain, M.; Bertin, P. (2006). Genetic diversity of Andean tuber-bearing species, oca (*Oxalis tuberosa* Mol.), investigated by inter-simple sequence repeats. *Genom.*, 49(1), 8-16. <https://doi.org/10.1139/g05-084>.
- Pissard, A.; Rojas, J.; Faux, A.; Paulet, S.; Bertin, P. (2007b). Evidence of intra-variability in the vegetatively propagated crop oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) in the Andean traditional farming system. *Plant. Syst. Evol.*, 270(1), 59-74. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0605-3>.
- Quiros, C.; Ortega, R.; Van Raamsdonk, L.; Herrera, M.; Cisneros, P.; Schmidt, E.; Brish, S. (1992). Increase of potato genetic resources in their center of diversity: the role of natural outcrossing and selection by the Andean farmer. *Gen. Res. Crop.*, 39(2), 107-113. <https://doi.org/10.1007/BF00051229>.
- Rosero, M. (2010). Colección, caracterización y conservación de variabilidad genética de oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) en agroecosistemas paramunos del departamento de Nariño-Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 134p.
- Ruas, P.; Ruas, C.; Rampin, L.; Carvalho, V.; Ruas, E.; Sera, T. (2003). Genetic relationship in *Coffea* species and parentage determination of interspecific hybrids using ISSR (inter-simple sequence repeats) markers. *Gen. Mol. Biol.*, 26(3), 319-327. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572003000300017>.
- Scarcelli, N.; Tostain, S.; Vigouroux, Y.; Agbangla, C.; Däinou, O.; Pham, J. (2006). Farmer 'use of wild relative and sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case of yam in Benin. *Mol. Ecol.*, 15(9), 2421-2431. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02958.x>.
- Zhang, L.; Li, G.; Wang, S.; Weirong, Y.; Zhu, F. (2017). Physicochemical properties of maca starch. *Food. Chem.*, 218(1), 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.123>.