

Asociaciones de marcadores moleculares con la resistencia a enfermedades, caracteres morfológicos y agronómicos en familias diploides de papa (*Solanum tuberosum* L.)

Associations of molecular markers with diseases resistance, morphological and agronomic characters in potato diploid families (*Solanum tuberosum* L.)

Julio Gabriel*, Silene Veramendi**, Linett Pinto***, Leslie Pariente***, Ada Angulo**

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.57712

Resumen

Quince familias de papa (824 genotipos) provenientes de cruza inter-específicas entre especies de *Solanum stenotomum*, *S. goniocalyx* y *S. phureja* fueron genotipadas, con el objetivo de asociar seis marcadores moleculares (GP94, HC, NI25, Gro 1-4, RYSC3 y CP60) con genes mayores de resistencia para tizón tardío (*Phytophthora infestans*), verruga (*Synchytrium endobioticum*), nematodo - quiste (*Globodera pallida* y *G. rostochiensis*) y virus PVY y PVX. Los resultados mostraron que cinco de los marcadores aplicados fueron polimórficos y amplificaron en más del 80% de las familias. El marcador RYSC3 que co-localiza con el gen Ry_{adg} no amplificó en ninguna de las familias evaluadas. La familia 8 amplificó la banda para tres marcadores (CP60, GP94 y NI25) en la totalidad de sus clones. La prueba de χ^2 se utilizó para determinar el ajuste de las proporciones de segregación de cada familia para cada marcador y genotipar los progenitores. Nueve caracteres agronómicos y morfológicos fueron evaluados en la cosecha. Mediante agrupamiento cluster fueron seleccionados 107 clones con resistencia a PVX, *P. infestans*, *G. rostochiensis* y *S. endobioticum*, alto rendimiento y volumen de tubérculos, elevado número de tubérculos y ojos superficiales. Sobre la base de estos resultados, aspectos prácticos para la aplicación eficiente de la selección asistida por marcadores moleculares son discutidos en este artículo.

Palabras clave: Tizón, verruga, virus, nematodos, polimórficos, genes mayores.

Abstract

Fifteen families of potato (824 genotypes) originated from inter-specific crosses among *Solanum stenotomum*, *S. goniocalyx* and *S. phureja* were genotyped in order to associate six molecular markers (GP94, HC, NI25, Gro 1-4, RYSC3 and CP60). These molecular markers are linked to major genes for resistance to late blight (*Phytophthora infestans*), wart (*Synchytrium endobioticum*), root cyst nematode (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) and viruses PVY and PVX. Results showed that five of six molecular markers were polymorphic and primers amplified in more than 80 % of the families. Molecular marker RYSC3 that is linked to Ry_{adg} gene did not amplify in any family. All individuals in Family 8 scored positive for three markers (CP60, GP94, and NI25). χ^2 test was used to determine the significance of the segregation ratios of each marker in every single family; so to the possible genotype of its parents was inferred. Nine morphological and agronomical characters were assessed during the harvest. Cluster analysis classified and selected 107 genotypes by putative resistance to PVX, *P. infestans*, *G. rostochiensis* and *S. endobioticum*, high yield, tuber volume and tuber number and shallow eyes. According to our results, practical aspects of efficient use of marker assisted selection in potato are discussed in this paper.

Key words: Late blight, wart, virus, nematodes, polymorphic, major genes.

Recibido: abril 10 de 2015

Aprobado: abril 13 de 2016

* Investigador Ph.D. Fundación PROINPA, Casilla 4285, Cochabamba, Bolivia. j.gabriel@proinpa.org

** Investigadoras M.Sc. Fundación PROINPA, Casilla 4285, Cochabamba, Bolivia.

*** Investigadoras. Facultad de Bioquímica, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia.

Introducción

Las plagas y enfermedades son los principales problemas para el cultivo de papa en todo el mundo, sobre todo en las parcelas de los agricultores de escasos recursos en los países menos desarrollados, donde la certificación de cultivos y la protección química no son generalmente accesibles, y también en la agricultura orgánica en los países industrializados (Gebhardt *et al.*, 2006). Se estima que las plagas y enfermedades del cultivo de papa causan 30 % de pérdidas antes de la cosecha y 20 % en poscosecha en los países en desarrollo en comparación con 5 y 10 % en países desarrollados (FAO, 2010).

El mejoramiento convencional para resistencia a plagas y enfermedades consiste en la identificación de fuentes de resistencia, que a menudo se encuentran en las especies emparentadas y silvestres de papa. La introgresión de los genes de resistencia de éstas especies por retrocruzamiento recurrente a diferentes clones de *Solanum tuberosum* L., generó en los últimos 50 años muchos genotipos y clones resistentes (Ross, 1986).

En las últimas dos décadas, varios de estos genes de resistencia se han localizado en el mapa genético de la papa utilizando marcadores moleculares. Se han identificado genes mayores (genes R), así como loci de resistencia cuantitativa (QTR) (Gebhardt y Valkonen, 2001). El conocimiento de la posición de los genes de resistencia en el mapa genético; así como, la existencia de marcadores moleculares estrechamente ligados a dichos genes facilita ahora la localización y combinación de factores de resistencia de diferentes fuentes (Gebhardt *et al.*, 2006).

Al momento, ya se han integrado caracteres cualitativos en los mapas genéticos de la papa (Ritter *et al.*, 2005), como la resistencia monogénica a PVY (*Ry_{sto}*, Brigneti *et al.*, 1997, *Ry_{adg}*, Hämäläinen *et al.*, 1997), a PVX (*Rx1*, *Rx2*, Ritter *et al.*, 1991; *Nb*, De Jong *et al.*, 1997, *Nx_p*, Tommiska *et al.*, 1998), a los nematodos (*Gro1*, Barone *et al.*, 1990, *H1*, Gebhardt *et al.*, 1993, *Gpa1*, Kreike *et al.*, 1996, *Gpa2*, Rouppe van der Voort *et al.*, 1997, *Gpa5*, Rouppe van der Voor *et al.*, 2000) y al tizón tardío (*R1*, Leonards-Schippers *et al.*, 1994, *R3*, El-Kharbotly *et al.*, 1994, *R2*, Li *et al.*, 1998, *R6* y *R7*, El-Kharbotly *et al.*, 1996). Asimismo, también se han integrado caracteres cuantitativos como la resistencia poligénica a tizón (*Rpi-phu1*, Sliwka *et al.*, 2010) y nematodo-quiste (*RGp5-vrnHC*, Sattarzadeh *et al.*, 2006).

El virus de la papa PVY (género Potyvirus) es uno de los patógenos virales más importantes de la papa cultivada. Se identificó un solo gen dominante de resistencia extrema (RE) *Ry_{adg}* a PVY en *S. andigena* (Muñoz *et al.*, 1975), que se encuentra en el cromosoma XI (Hämäläinen *et al.*, 1997). El gen *Ry_{adg}* está estrechamente vinculado a una familia de genes con una alta homología de secuencia con el gen N del tabaco que confiere resistencia al virus del mosaico del tabaco

(Leister *et al.*, 1996; Vidal *et al.*, 2002). El gen N es el prototipo de los genes de resistencia de la familia de las solanáceas que tienen en común los dominios proteicos: sitio de unión al nucleótido (NB) y repeticiones ricas en leucina (LRR) (Whitham *et al.*, 1994; Leister *et al.*, 1996; Hämäläinen *et al.*, 1997; Hehl *et al.*, 1999; Vidal *et al.*, 2002). El marcador SCAR RYSC3 se obtuvo en base a polimorfismos localizados en secuencias similares al gen de resistencia (RGL). Estas RGL están ligadas al locus *Ry_{adg}* (Sorri *et al.*, 1999; Kasai *et al.*, 2000). RYSC3 también funciona como un marcador para el gen *Na_{adg}* que está estrechamente ligado a *Ry_{adg}* (en el mismo grupo de genes) (Hämäläinen *et al.*, 1997). *Na_{adg}* confiere resistencia hipersensitiva al virus A de la papa.

El nematodo-quiste de la raíz de la papa es una de las enfermedades del suelo más importante en muchos países del mundo. Existen dos especies de nematodos: *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*. Lamentablemente ni la rotación de cultivos ni el control químico tienen un efecto significativo sobre el desarrollo de la enfermedad. Por tanto, el cultivo de variedades resistentes y la incorporación de genes de resistencia en variedades comerciales es la mejor opción para el control de nematodos (Asano *et al.*, 2012). Muchos factores de resistencia provenientes de *S. andigena*, *S. vernei* y *S. spgazzinii* se introdujeron en el pasado dentro de clones y variedades (Ross, 1986). El gen dominante *Gro1* da resistencia a todos los patotipos conocidos de *G. rostochiensis*, probablemente se originó a partir de *S. spgazzinii* y fue localizado en el cromosoma VII de papa (Barone *et al.*, 1990). *Gro1* es probablemente idéntico al gen *Fb* descrito por primera vez por Ross (1962). A nivel molecular, el locus *Gro1* consiste en una familia con grupos de genes del tipo NB-LRR. Uno de los miembros de esta familia, *Gro1-4*, demostró que confiere resistencia a *G. rostochiensis* patotipo Ro1 (Paal *et al.*, 2004). El marcador molecular *Gro1-4* puede detectar al gen *Gro1-4* (Biryukova *et al.*, 2008, Gebhardt *et al.*, 2006). El marcador HC detecta al gen *RGp5-vrnHC*, el cual confiere resistencia parcial a *G. pallida* patotipo Pa2/3 (Sattarzadeh *et al.*, 2006). HC es un SNP (Single-nucleotide polymorphism) y el marcador más utilizado para diagnosticar resistencia a *G. pallida*. El origen del alelo *RGp5-vrnHC* fue *S. vernei*.

Genes mayores de resistencia extrema (RE) para el virus X de la papa (PVX, género Potexvirus) fueron identificados en clones diploides. El gen dominante *Rx1* fue mapeado en el cromosoma XII de la papa (Ritter *et al.*, 1991). El origen de *Rx1* no está claro. RE a PVX se ha introducido de *S. andigena* y *S. acaule* (Ross, 1986). Lo más probable es que *Rx1* corresponda al gen *Ry_{adg}* de *S. andigena* (Ritter *et al.*, 1991). El marcador CAPS CP60 es utilizado para detectar al gen *Rx1* (Bendahmane *et al.*, 1997).

La resistencia a verruga (*Synchytrium endobioticum*) está gobernada por genes R mayores, por lo que se

trata de un tipo de resistencia monogénica. Este carácter está gobernado por un gen dominante y fue detectado en el cromosoma XI en una posición similar al gen *Ry^{adg}* (Hehl et al., 1999) y el gen *Sen1* está ligado a genes homólogos N.

La herencia de la resistencia a tizón (*Phytophthora infestans*) es compleja y es gobernada por muchos genes (carácter poligénico), tal como lo indicaron Wastie (1991) y Ross (1996). Ritter et al. (2009) y Gabriel et al. (2011) encontraron resistencia parcial al tizón conferida por genes menores en cruzas realizadas entre especies silvestres como *S. okadae*, *S. canacense*, *S. bukasovii*, *S. jamezii* y *S. raphanifolium* con especies cultivadas de *S. phureja* y *S. goniocalyx*. Sin embargo, estudios realizados por Colon et al. (1995) observaron resistencia parcial conferida por genes R provenientes de especies silvestres como *S. arnezii*, *S. holdelmanni*, *S. leptophyes*, *S. berthaultii* y *S. microdontum*. Por otra parte, Sliwka et al. (2010) desarrollaron el marcador GP94 para detectar el gen de resistencia a tizón *Rpi-phu1* de *S. phureja*, que está ubicado en el cromosoma IX del genoma de papa. Este gen se origina de un híbrido interespecífico entre *S. stenotomum* y *S. phureja*, y confiere un elevado nivel de resistencia a *P. infestans*.

Gebhardt et al. (2006), aplicaron marcadores moleculares para seleccionar plantas que combinen el gen *Ry^{adgr}*, que confiere resistencia extrema a PVY, el gen *Gro1* para resistencia al nematodo *G. rostochiensis*, el gen *Rx1* para resistencia extrema al PVX y el gen *Sen1* para resistencia a verruga. Los clones resultantes mostraron resistencia a uno o más de los patógenos mencionados.

En este estudio se describe la implementación de la selección asistida por marcadores (SAM) con el objeto de asociar marcadores moleculares con los genes de resistencia para tizón tardío (*P. infestans*), verruga (*S. endobioticum*), nematodo - quiste (*G. pallida* y *G. rostochiensis*) y virus PVY y PVX en 15 familias diploides de papa del tercer ciclo de selección recurrente del programa de biofortificación para alta concentración de Fe y Zn, generadas por el programa de mejoramiento genético del Centro Internacional de la Papa (CIP), de los cuales no se cuenta con los antecedentes de resistencias a patógenos.

Materiales y métodos

Material biológico

En invernadero fueron sembradas, 15 familias de papa diploide (824 genotipos) del tercer ciclo de selección recurrente para incrementar las concentraciones de Fe y Zn (tabla 1), obtenidas en el Programa de Mejoramiento Genético de Papa del CIP en Lima, Perú. Estas familias provienen de la cruce interespecífica entre especies nativas de *Solanum stenotomum*, *S. goniocalyx* y *S. phureja*. Antes de la siembra se sumergió la semi-

lla sexual en una solución de ácido giberélico a 1500 ppm, disolviendo 0.75 g x 0.5 litro de agua destilada esterilizada, por 24 horas, para romper la dormancia y uniformizar la germinación.

Luego de secar la semilla bajo condiciones de ambiente, fueron sembradas 100 semillas/familia, en bandejas de almácigo utilizando un sustrato esterilizado de musgo, arena y tierra en una proporción 2:1:1. Los almácigos se regaron tres veces al día. Al mes de la siembra, las plantas fueron trasplantadas a macetas de 500 g de capacidad en sustrato esterilizado para su crecimiento.

Se utilizaron como controles positivos en la reacción PCR a las variedades Isabel y P'alta Chola, y un control negativo de reacción en base a agua destilada (Veramendi et al., 2011).

Condiciones del experimento

El experimento se implementó en un invernadero y los análisis moleculares se realizaron en el laboratorio de Biología Molecular y Bioinformática de la Fundación PROINPA, ubicada a 13 km en la zona de El Paso de la provincia Quillacollo en Cochabamba, a 17° 21' 01.91" de Latitud Sud y 66° 15' 44.34" de Longitud Oeste, a una altura de 2613 msnm, una precipitación media anual de 512 mm y una temperatura promedio de 17.4 °C.

Extracción de ADN

En invernadero se colectaron folíolos tiernos y sanos de cada planta de las 15 poblaciones de papa, debidamente identificadas y refrigeradas a -20 °C, que fueron molidas en nitrógeno líquido (-195 °C). De este molido, se utilizaron 100 mg para el proceso de extracción de ADN genómico mediante el protocolo de CTAB 2X (hexadecil bromuro de trimetil amonio) (Doyle y Doyle, 1990).

Cuantificación de ácidos nucleicos

La cuantificación de ADN genómico se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1 %. Las muestras se migraron durante 45 min en cubetas de electroforesis a una potencia de 70 V (5v/cm) y fueron visualizadas a través de un transluminador UV marca Biorad.

La calidad y concentración del ADN genómico extraído se verificaron por comparación de intensidad de las bandas de las muestras con cada una de las bandas del marcador de peso molecular de concentración conocida (10000 bp Eurogentec).

Análisis de marcadores

Se utilizaron seis diferentes marcadores que están ligados y co-localizados con genes de resistencia para *P.*

Tabla 1. Código, genealogía, número de clones y origen de 15 familias de papa utilizadas para SAM. El Paso, 2013.

Familia	Código	Genealogía	No. de clones
1	311022	MN-5.58XMN-1.78	48
2	311024	MN-5.58XMN-13.62	75
3	311035	MN-5.58XMN-3.68	20
4	311028	MN-5.58XMN-15.55	57
5	311047	MN-13.62XMN-1.78	54
6	311080	MN-3.68XMN-13.62	73
7	311081	MN-3.68XMN-13.65	53
8	311083	MN-3.68XMN-7.53	34
9	311085	MN-3.68XMN-15.55	43
10	311100	MN-15.55XMN-13.65	81
11	311102	MN-15.55XMN-3.68	67
12	311200	703294XMN-2.106	39
13	311209	703294XMN-7.53	47
14	311340	703597XMN-15.55	66
15	311423	704120XMN-15.55	67
Total			824

Leyendas: 311022=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311024=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311035=[(stn-stn)x(stn-gon)]xphu; 311028=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311047=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311080=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311081=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311083=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311085=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311100=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311102=[(stn-stn)x(stn-gon)]x[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311200=phux[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311209=phux[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311340=phux[(stn-stn)x(stn-gon)]; 311423=phux[(stn-stn)x(stn-gon)].

infestans, *G. pallida*, *G. rostochiensis*, *S. endobioticum*, PVX y PVY en un mapa referencial de papa (Ritter *et al.*, 2005; 2008; 2009). En la tabla 2 se describen los genes de resistencia a tizón (*P. infestans*), nemátodo-quiste (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*), PVY, PVX, verruga (*Synchytrium endobioticum*) y marcadores flanqueantes (MF) para cada gen/QTL, recopilados en los 12 cromosomas de la papa. La tabla 3 muestra la

secuencia de los cebadores utilizados para amplificar los correspondientes marcadores para el cribado de los genes de resistencia.

Condiciones de la PCR

Se determinó la temperatura de hibridación específica para cada marcador, realizando una PCR Hot Start en

Tabla 2. Cromosoma, marcador flanqueante, factor de resistencia y referencia para seis genes mayores de resistencia recopilados en los 12 cromosomas de la papa.

Nº	Crom	Gen	MF	Factor	Referencia
1	XI	Ryadg	RYSC3	PVY	Gebhardt <i>et al.</i> , (2006)
2	V	RGp5-vrnHC	HC	G. p.	Sattarzadeh <i>et al.</i> , (2006)
3	VII	Gro 1-4	Gro1-4	G. r.	Gebhardt <i>et al.</i> , (2006)
4	IX	Rpi-phu 1	GP94	P.i.	Sliwka <i>et al.</i> , (2010)
5	XI	Sen1	NL25	S.e.	Bormann (2004)
6	XII	Rx1	CP60	PVX	Bendahmane <i>et al.</i> , (1997)

Leyendas: MF=Intervalos de marcadores flanqueantes para cada QTL/gen. P.i.=*Phytophthora infestans*, G.r.=*Globodera rostochiensis*, G.p.=*G. pallida*, S.e.=*Synchytrium endobioticum*.

Tabla 3. Secuencia de los cebadores utilizados para amplificar los correspondientes marcadores para el cribado de QTL/genes conocidos en 15 familias diploides de papa.

Marcador	Cebador	T° A (°C)	Tamaño (bp)	Protocolo
HC	D: ACACCACCTGTTTGATAAAAACT R: GCCTTACTTCCCTGCTGAAG	58	276	PCR
Gro1-4	D: TCTTTGGAGATACTGATTCTCA R: CGACCTAAAATGAAAAGCATCT	60	602	PCR
GP 94	D: ATGTATCACAATCACATTCTTGCTC R: TGTA AAAACCAACAAGTAGTGTTC	56	350	PCR
NL-25	D: TAT TGT TAA TCG TTA CTC CCT C R: AGA GTC GTT TTA CCG ACT CC	58	1000	CAPS
RYSC3	D: ATA CAC TCA TCT AAA TTT GAT GG R: AGG ATA TAC GGC ATC ATT TTT CCG A	58	320	SCAR
CP60	D: CAGCCTACCGCGAAAGTGCCTTCG R: GCCAACCCACGAGTTTCTCACTGAC	56	350	CAPS

Leyendas: D: Cebador directo, R: Cebador reverso, T°A: Temperatura de anillamiento, bp: Pares de bases, PCR: Polimeraza Chain Reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa), SCAR: Sequence Characterized Amplified Region (Secuencia caracterizada de la región de amplificada); CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic Sequency (Secuencia polimórfica amplificada y cortada).

gradiente en la que se seleccionó la banda para cada caso (tabla 4).

Se utilizaron 15 µL de mezcla con 15 ng de ADN Molde, 1X de Tampón PCR 10X, 0,2 mM dNTP, 1 pmol/µL de cada iniciador y 0,025 U/µL de la enzima Taq Polimerasa. El programa de amplificación fue realizado en un termociclador (modelo PTC-100, MJ Research, Ramsey, Minnesota, USA), que consistió en un tiempo de desnaturalización inicial de 5 min del ADN a 94 °C, 35 ciclos a 94 °C por 1 min, temperatura de anillamiento en °C por 45 seg, y extensión a 72 °C por 2 min, más una extensión final de 7 min, según el marcador. Luego, los productos de amplificación fueron resueltos mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,8 %, aplicando una corriente de 5 V/cm. Los geles se visualizaron en un transluminador marca Biorad.

Análisis de alelos

Las huellas genéticas generadas por hibridación o por PCR, son heredadas a la descendencia de acuerdo a las leyes mendelianas (Valdez-Moctezuma y Kahl, 2005). Los geles fueron analizados de forma visual, utilizando una matriz de presencia-ausencia del fragmento amplificado para el QTA-genotyping (Gabriel, 2008). Los datos de presencia o ausencia para cada marcador segregante en cada progenie, se almacenaron en archivos con formato Excel para su posterior análisis estadístico. Se utilizó la prueba de χ^2 para determinar la significancia de la desviación para los dos tipos de segregación esperada (3:1 y 1:1) cuando se tiene un marcador dominante en un diploide.

Este análisis sirvió; asimismo, para identificar aquellas poblaciones que presentaron las bandas de los marcadores (que indicarían resistencia en caso de validar los marcadores en las poblaciones caracterizadas en este trabajo) en la totalidad de sus genotipos para la mayoría de las enfermedades (falta de segregación). Estas poblaciones serán buenas fuentes de resistencia conjunta a varias enfermedades.

Caracterización morfológica y agronómica

Al momento de la cosecha se caracterizó cada genotipo con los descriptores mínimos recomendados por el INIA (INIA, 2009), considerando las variables morfológicas (uniformidad, tamaño, color de piel, color de pulpa, profundidad de ojos y forma de tubérculos) y agronómicas (número, peso y volumen de los tubérculos).

Para el análisis de integración entre los caracteres morfológicos, agronómicos y moleculares se realizó un análisis de agrupamiento clúster utilizando el algoritmo de Ward en el SPSS.15 (SPSS, 2012), lo que permitió seleccionar el grupo con mejores características.

Análisis de correlación

Para determinar si existe asociación entre la resistencia a estas cinco enfermedades y los caracteres morfológicos y agronómicos deseables. Previo al análisis de correlación se realizaron pruebas de normalidad y la homogeneidad de varianzas. Los caracteres morfológicos, agronómicos y moleculares posteriormente

Tabla 4. Determinación del patrón de segregación esperada para seis marcadores aplicados en 15 familias híbridas de papa.

Marcador/Patógeno	Familia	Mejor modelo	Cromosoma	Prob X ² 3:1	Prob X ² 1:1
HC/G.p.	Fam1	3:1	V	1,78ns	
	Fam2	1:1	V	21,16**	0,12ns
	Fam3	?	V	26,67**	5,00*
	Fam4	3:1	V	1,69ns	24,02**
	Fam5	3:1	V	2,99ns	4,74*
	Fam6	Todas resistentes	V	24,33**	73,00**
	Fam7	1:1	V	24,96**	0,47ns
	Fam8	?	V	65,92**	16,94**
	Fam9	3:1	V	2,24ns	3,93*
	Fam10	3:1	V	1,49ns	11,86**
	Fam11	1:1	V	10,07**	1,80ns
	Fam12	3:1	V	6,23ns	27,92**
	Fam13	1:1	V	23,04**	0,53ns
	Fam14	3:1	V	0,18ns	19,64**
	Fam15	?	V	7,57**	41,93**
Gro1-4/G.r.	Fam1	?	VII	9,00**	36,75**
	Fam2	3:1	VII	0,04ns	20,28**
	Fam3	1:1	VII	6,67*	0ns
	Fam4	3:1	VII	0,01ns	14,75**
	Fam5	3:1	VII	0,62ns	18,96**
	Fam6	?	VII	9,25**	47,68**
	Fam7	1:1	VII	21,89**	0,17ns
	Fam8	?	VII	53,69**	11,76**
	Fam9	1:1	VII	25,19**	1,14ns
	Fam10	No amplifico			
	Fam11	?	VII	43,03**	2,52*
	Fam12	1:1	VII	14,37**	0,03ns
	Fam13	1:1	VII	17,03**	0,02ns
	Fam14	No amplifico			
	Fam15	No amplifico			
CP60/ PVX	Fam1	?	XII	13,44**	44,08**
	Fam2	?	XII	11,56**	52,92**
	Fam3	3:1	XII	0,27ns	7,2**
	Fam4	3:1	XII	0,29ns	10,96**
	Fam5	3:1	XII	0,62ns	18,96**
	Fam6	?	XII	12,83**	54,37**
	Fam7	?	XII	12,74**	45,30**
	Fam8	Todas resistentes	XII	11,33**	34,00**
	Fam9	3:1	XII	5,65ns	28,49**
	Fam10	3:1	XII	0,50ns	15,12**
	Fam11	?	XII	10,99**	48,49**
	Fam12	3:1	XII	0,08ns	11,31**
	Fam13	3:1	XII	5,17ns	29,13**
	Fam14	?	XII	7,29**	40,97**
	Fam15	3:1	XII	2,63ns	30,22**

Marcador/Patógeno	Familia	Mejor modelo	Cromosoma	Prob χ^2 3:1	Prob χ^2 1:1
GP94/P.i.	Fam1	Todas resistentes	IX	16,00**	48,00**
	Fam2	?	IX	17,64**	63,48**
	Fam3	Todas resistentes	IX	6,67*	20,00**
	Fam4	?	IX	14,04**	49,28**
	Fam5	Todas resistentes	IX	18,00**	54,00**
	Fam6	Todas resistentes	IX	24,33**	73,00**
	Fam7	?	IX	15,10**	49,08**
	Fam8	Todas resistentes	IX	11,33**	34,00**
	Fam9	Todas resistentes	IX	14,33**	43,00**
	Fam10	?	IX	21,93**	73,20**
	Fam11	?	IX	10,99**	48,49**
	Fam12	Todas resistentes	IX	13,00**	39,00**
	Fam13	3:1	IX	5,17ns	29,13**
	Fam14	?	IX	16,99**	58,24**
	Fam15	?	IX	19,75**	63,06**
NL25/S.e.	Fam1	?	XI	9,00**	36,75**
	Fam2	?	XI	17,64**	63,48**
	Fam3	Todas resistentes	XI	6,67*	20,00**
	Fam4	?	XI	11,84**	45,63**
	Fam5	3:1	XI	2,00ns	6,00*
	Fam6	?	XI	10,96**	50,97**
	Fam7	?	XI	6,85*	34,89**
	Fam8	Todas resistentes	XI	11,33**	34,00**
	Fam9	3:1	XI	1,74ns	19,56**
	Fam10	3:1	XI	3,00ns	9,00**
	Fam11	3:1	XI	1,80ns	27,60**
	Fam12	3:1	XI	3,09ns	21,56**
	Fam13	3:1	XI	3,75ns	26,06**
	Fam14	?	XI	16,99**	58,24**
	Fam15	?	XI	9,20**	45,15**

Leyendas: ?=Desconocido, Crom=Cromosoma, G.p.=*G. pallida*, G.r.=*G. rostochiensis*, P.i.=*P. infestans*, S.e.=*S. endobioticum*.

fueron correlacionados mediante los algoritmos de Pearson y Spearman (SAS, 2004).

Resultados

Mediante el protocolo utilizado para la extracción de ADN genómico se obtuvo ADN en una concentración que fluctuó de 40 ng/ μ L a 100 ng/ μ L de buena calidad.

Análisis de alelos

Con un patrón de segregación de alelos de ab, bb=1 para presencia de banda, aa=0 para ausencia de banda y ?=patrón de bandas desconocidas (tabla 4), se determinaron los porcentajes en cada familia para los dos tipos esperados de segregación. Asimismo, se determinaron los posibles genotipos de los progenitores

para cada tipo de segregación: aa x ab (50 % resistente y 50 % susceptible) y ab x ab (75 % resistente y 25 % susceptible). También se determinaron los genotipos de los progenitores en caso de no segregación: aa x aa (Toda la progenie susceptible) y aa x bb, ab x bb o bb x bb (Toda la progenie resistente). Se debe mencionar que en nuestro trabajo no se hizo un análisis fenotípico de reacción a los patógenos.

Resistencia a *Globodera* sp.

El marcador HC que co-localiza con el gen *RGp5-vmHV* de resistencia a *G. pallida*, amplificó una banda de 276 bp (figura 1A). El análisis de χ^2 de ajuste de frecuencia para la segregación del marcador HC que co-segrega junto al gen mayor *RGp5-vmHV* (tabla 4), mostró que un 46,7 % de las familias (Fam 1, Fam 4,

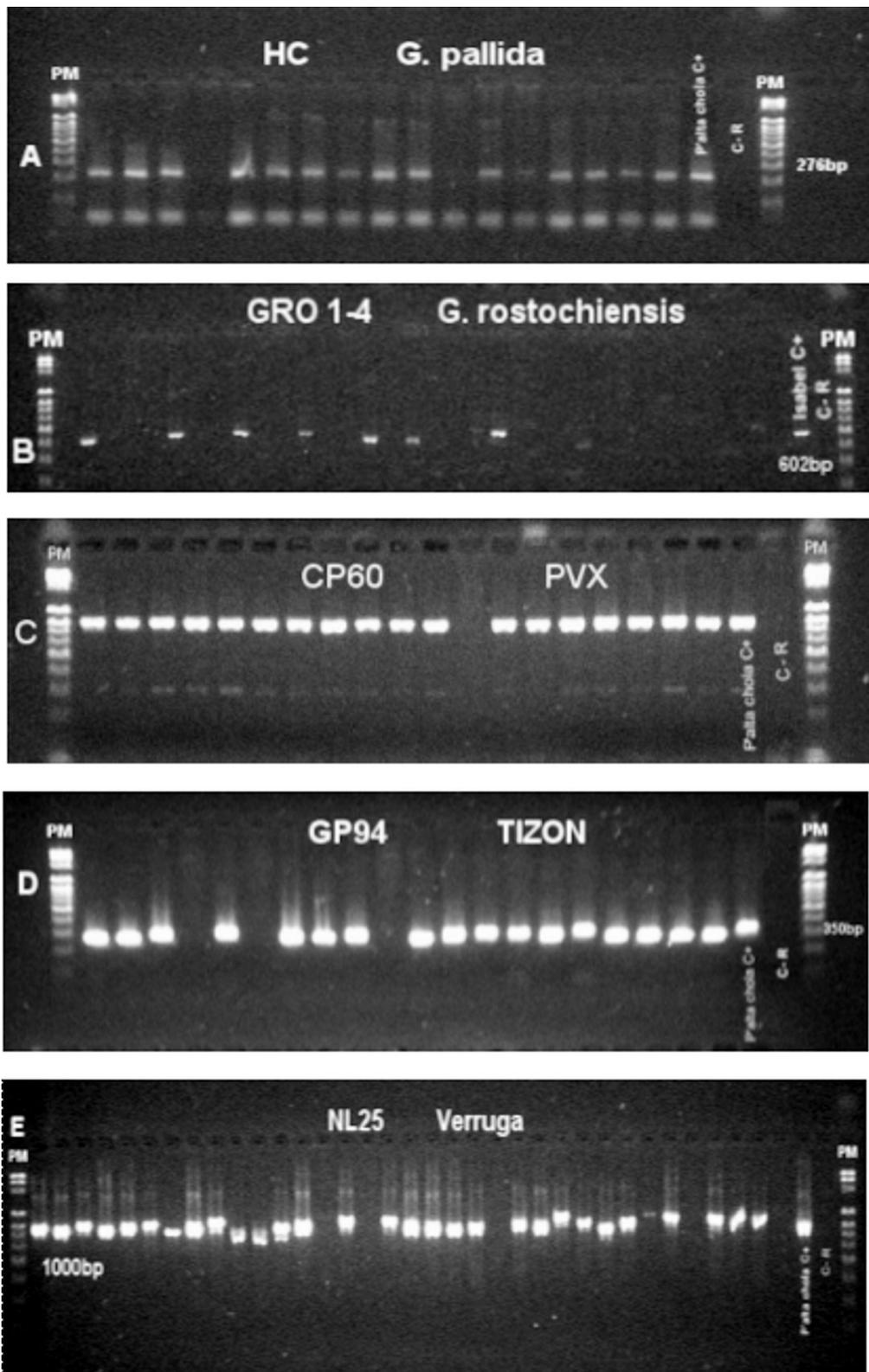


Figura 1. Amplificación de ADN para los diferentes marcadores utilizados: (A) Marcado HC co-localizado con el gen R-cRGp5-vrn para *G. pallida*; (B) Marcador Gro1-4 co-localizado con el gen R-Gro1-4 para *G. rostochiensis*.; (C) Marcador CP60 co-localizado con el gen Rx1 de resistencia al virus PVX; (D) Marceado GP 94 co-localizado con el gen R-Rpi-phu 1 para *P. infestans* y (E) Marcador NL25 co-localizado con el gen R-Sen1 para *S. endobioticum*.

Fam 5, Fam 9, Fam 10, Fam 12 y Fam 14) se ajustaron a la proporción 3:1 y el genotipo de ambos padres sería ab, 26,7% de las familias (Fam 2, Fam 7, Fam 11 y Fam 13) se ajustaron a la proporción 1:1 y los genotipos de los progenitores serían aa y ab, 20 % de las familias (Fam 3, Fam 8 y Fam 15) no se ajustaron a ninguna proporción esperada y un 6,7 % (Fam 6) no segregó para este marcador (tabla 4) siendo los posibles genotipos de los progenitores aa y bb, ab y bb o bb y bb. La familia 6 sería una excelente fuente de resistencia para *G. pallida* al presentar la totalidad de su progenie (73 clones) la presencia del marcador y; por tanto, presentarían a su vez el gen de resistencia de amplio espectro a *RGp5-vmHV*.

El marcador Gro1-4 que co-localiza con el gen mayor *Gro1-4* de resistencia a *G. rostochiensis* amplificó una banda de 602 bp (figura 1B) en solamente doce de las 15 familias. En las restantes tres familias no hubo amplificación (todas susceptibles) y; por tanto, el genotipo de ambos progenitores sería aa. El análisis de χ^2 de ajuste de frecuencia para la segregación del marcador Gro1-4 que está ligado al gen mayor *Gro1-4* (tabla 4), mostró que un 25% de las familias (Fam 2, Fam 4, Fam 5) se ajustaron a la proporción esperada 3:1 y el genotipo de ambos padres sería ab, un 50% (Fam 3, Fam 7, Fam 9, Fam 11, Fam 12 y Fam 13) se ajustaron a la proporción 1:1 y los genotipos de los progenitores serían aa y ab. Por otra parte, el 25% de las familias (Fam 1, Fam 6 y Fam 8) no se ajustaron a ninguna proporción esperada.

Resistencia a PVX

El marcador CP60 que co-localiza con el gen *Rx1* de resistencia al virus PVX, amplificó una banda de 1000 bp (figura 1C). El análisis de χ^2 de ajuste de frecuencia para la segregación del marcador CP60 ligado al gen mayor *Rx1* (tabla 4), mostró que un 53,3 % de las familias (Fam 3, Fam 4, Fam 5, Fam 9, Fam 10, Fam 12, Fam 13, Fam 15) se ajustaron a la proporción esperada de alelos 3:1 y el genotipo de ambos padres sería ab, un 40 % (Fam 1, Fam 2, Fam 6, Fam 7, Fam 11, Fam 14) no se ajustaron a la proporción esperada y un 6,7 % (Fam 8) no segregó para este marcador, siendo los posibles genotipos de los progenitores aa y bb, ab y bb o bb y bb. La Fam 8 sería una excelente fuente de resistencia para PVX al presentar la totalidad de su progenie (34 genotipos) la presencia del marcador y por tanto presentarían a su vez el gen de extrema resistencia a PVX.

Resistencia a *S. endobioticum*

El marcador NI25 que co-localiza con el gen *Sen1* de resistencia a *S. endobioticum*, amplificó una banda de 1000 bp (figura 1D). El análisis de χ^2 de ajuste de frecuencia para la segregación del marcador NI25 ligado al gen mayor *Sen1* (tabla 4), mostró que un 40 % de las familias (Fam 5, Fam 9, Fam 10, Fam 11, Fam 12 y Fam 13) se ajustaron a la proporción esperada de

alelos 3:1 y el genotipo de ambos padres sería ab, un 53,3 % (Fam 1, Fam 2, Fam 6, Fam 7, Fam 11, Fam 14) se ajustaron a la proporción esperada 1:1 y los genotipos de los progenitores serían aa y ab y un 6,7% (Fam 8) no segregó para este marcador, siendo los posibles genotipos de los progenitores aa y bb, ab y bb o bb y bb. La Fam 8 sería una excelente fuente de resistencia para verruga al presentar la totalidad de su progenie (34 genotipos) la presencia del marcador y por tanto presentarían a su vez el gen de resistencia a verruga.

Resistencia a *P. infestans*

El marcador GP94 que co-localiza con el gen *Rpi-phu1* de resistencia a *P. infestans*, amplificó una banda de 350 bp (figura 1E). No hubo un ajuste a ninguna proporción esperada en 46,7% de las familias (Fam 2, Fam 4, Fam 7, Fam 10, Fam 11, Fam 14 y Fam 15), un 6,7% de las familias (Fam 13) segregó y se ajustó a la proporción 3:1 y el genotipo de ambos padres sería ab (tabla 4). Finalmente, otro 46,7 % de las familias no segregó para este marcador (Fam 1, Fam 3, Fam 5, Fam 6, Fam 8, Fam 9 y Fam 12). Las familias que no segregaron serían una excelente fuente de resistencia para tizón al presentar la totalidad de su progenie (311 genotipos) la presencia del marcador y por tanto presentarían a su vez el gen de resistencia a tizón.

Finalmente, el marcador RYSC3 que co-localiza con el gen *Ry_{adg}* de resistencia al virus PVY y amplifica una banda de 320 bp, no amplificó en ninguna de las familias evaluadas.

Análisis de correlación

En la publicación se reportaron únicamente las correlaciones altamente significativas ($p < 0,01$).

El análisis de correlación para los caracteres evaluados en cada familia (tabla 5) mostró que en la Fam1 existe una correlación negativa y moderada ($r = -0,69$) entre la resistencia al virus PVX y la uniformidad de tubérculos (Uttub). Esto estaría indicando que los clones con resistencia a PVX, no mostraron Uttub. Así mismo, se observó una correlación positiva y moderada ($r = 0,53$) entre la resistencia a *G. rostochiensis* (Gro1-4) y *S. endobioticum* (NL25), indicando esto que los clones de esta familia amplificaron ambos marcadores y probablemente tengan resistencia conjunta a ambos factores.

La Fam 4 mostró una correlación positiva y alta ($r = 0,73$) entre la resistencia a *G. rostochiensis* y el Virus PVX. Asimismo, se observó una correlación positiva y moderada ($r = 0,43$) entre *P. infestans* y *G. pallida*. Esto está indicando que varios de los clones de esta familia con resistencia a *G. rostochiensis* serían a su vez resistentes al Virus PVX y que los clones resistentes a *G. pallida* también serían resistentes a PVX.

En la Fam 5 se observó una correlación moderada y negativa ($r = -0,59$) entre la resistencia a PVX y el número

ro de tubérculos (Ntub), correlaciones altas y negativas ($r=-0,81$ y $-0,74$) entre la resistencia a PVX y el peso (Ptub) y volumen de tubérculos (Vtub) respectivamente y una correlación alta y positiva ($r=0,74$) entre la resistencia a PVX y la forma del tubérculo (Ftub). Esto significa, que los clones con resistencia a PVX en la Fam 5, presentan a su vez bajo número, peso y volumen de tubérculos y forma de tubérculos alargados.

La Fam 6 mostró una correlación positiva y moderada ($r=0,48$) entre la resistencia a *G. rostochiensis* y PVX. Esto indicó que los clones en esta familia tuvieron resistencia conjunta al nematodo dorado y virus PVX.

La Fam 8 mostró una correlación perfecta y positiva ($r=1$) entre la resistencia al virus PVX, tizón (*P. infestans*) y verruga (*S. endobioticum*), lo que indica que todos los clones de esta familia tendrían resistencia conjunta a estos tres factores bióticos.

La Fam 10 mostró una correlación moderada y negativa ($r=0,42$) entre la resistencia a *G. pallida* y Ntub, lo que denota que clones resistentes al nematodo blanco mostraron menos tubérculos.

La Fam 12 presentó una correlación moderada y positiva ($r=0,53$) entre la resistencia a nematodo-quiste

(*G. pallida*) y la verruga (*S. endobioticum*). Esto indica que los clones resistentes al nematodo blanco en esta familia serían a su vez resistentes a verruga.

La Fam 13 mostró una correlación moderada positiva y significativa ($r=0,49$) correlación entre la resistencia a verruga (*S. endobioticum*) y el virus PVX. Esto muestra que los clones resistentes a verruga presentarían también resistencia a PVX.

La Fam 14 presentó una correlación moderada y positiva ($r=0,48$) entre la resistencia a tizón (*P. infestans*) y verruga (*S. endobioticum*). Esto indica que los clones resistentes a tizón en esta familia presentarían resistencia conjunta a verruga.

Finalmente la Fam 15 presentó una correlación moderada y positiva ($r=0,44$) entre la resistencia a verruga (*S. endobioticum*) y el virus PVX. Así mismo presentó una correlación moderada y negativa ($r=-0,43$) entre la resistencia a la verruga y Uttub. Finalmente se observó una correlación moderada y positiva ($r=0,43$) entre la resistencia a *G. pallida* y Vtub. Esto significa que los clones con resistencia a verruga también son resistentes a PVX; sin embargo, presentarían mala uniformidad del tamaño de los tubérculos. Por otra parte, los clones

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson y Spearman para cinco marcadores moleculares de diagnóstico para resistencia a cinco factores bióticos en 15 familias híbridas de papa y seis características agronómicas y morfológicas.

Marcador	Familia	GP94	NL25	CP60	Gro 1-4	HC	Ntub	Ptub	Vtub	Cctub	Uttub	Ftub
HC.	Fam10						-0,42**					
	Fam12		0,53**									
Gro1-4	Fam1		0,56**									
	Fam4			0,73**								
	Fam6			0,48**								
CP60	Fam1										-0,69**	
	Fam5						-0,59**	-0,81**	-0,74**			0,74**
	Fam8	1**	1**									
GP94	Fam4					0,43**						
	Fam8		1**									
	Fam14		0,48**									
NL25	Fam1									0,35**		
	Fam13			0,49**								
	Fam15			0,44**					0,43**		-0,43**	

Leyendas: GP94= Marcador para gen R a *Phytophthora infestans*, NL25= Marcador para gen R a *Synchytrium endobioticum*, Cp60= Marcador para gen R a PVX, Gro1-4= Marcador para gen R a *Globodera rostochiensis*, HC= Marcador para gen R a *Globodera pallida*, G.p.=*G. pallida*, G.r.=*G. rostochiensis*, P.i.=*P. infestans*, S.e.=*S. endobioticum*, Ntub= Número de tubérculos, Ptub= Peso de tubérculos, Vtub= Volumen de tubérculos, TTub= Tamaño de tubérculos, Cptub= Color de piel del tubérculo, Cctub= Color de carne del tubérculo, Protub= Profundidad de ojos del tubérculo, Uttub= Uniformidad de tamaño del tubérculo y Ftub= Forma del tubérculo

resistentes al nematodo blanco presentarían un mayor volumen de tubérculos.

Genotipos seleccionados

El agrupamiento clúster de los 824 genotipos, generó siete grupos, de los cuales, el grupo 4 que esta representado en la tabla 6; mostró 107 genotipos con resistencia a PVX, *P. infestans*, *G. rostochiensis* y *S. endobioticum*, alto rendimiento, mayor número de tubérculos, mayor volumen de tubérculos y ojos superficiales. Estos genotipos, serán sembrados en campo para su posterior evaluación.

Discusión

En este estudio se utilizó marcadores moleculares co-localizados con genes de resistencia a los virus PVY, PVX, al nematodo-quiste (*G. pallida*, *G. rostochiensis*), al tizón (*P. infestans*) y la verruga (*S. endobioticum*) que se encuentran en los cromosomas: V, VII, IX, XI y XII (Brigneti et al., 1997, Hämäläinen et al., 1997, Ritter et al., 1991, Barone et al., 1990, Gebhardt et al., 1993).

Los resultados mostraron que cinco de los marcadores moleculares utilizados (HC, Gro 1-4, NL25, GP94 y CP60) amplificaron la banda en más del 80 % de las poblaciones. Por lo que parece, fue un método eficiente para identificar clones con posible resistencia a estas enfermedades; sin embargo, existe la probabilidad de que no haya correspondencia entre la expresión esperada para el marcador y el fenotipo. Es decir que aquellos genotipos que presentan la banda no expresen el gen de resistencia y sean en realidad susceptibles o que aquellos que no la presenten expresen el gen de resistencia. Desde la perspectiva de un mejorador, es peor conservar material susceptible clasificado como resistente, que haberse deshecho de genotipos resistentes clasificados como susceptibles (López-Pardo et al., 2013). El primer caso tiene una explicación en que la obtención de variedades mejoradas está basada en la obtención de cientos y miles de genotipos de diferentes cruzamientos. En tal poza genética amplia, la predicción de un fenotipo resistente basado en el genotipo del marcador no es sencilla, debido a las múltiples generaciones de recombinación meiótica que separaron a los individuos en dicha poza genética, un equilibrio de ligamiento podría haberse alcanzado entre un gen específico de resistencia y un marcador estrechamente ligado a dicho gen; en otras palabras, un alelo marcador conocido por co-heredarse con el gen de resistencia en una cruce dada podría no co-heredarse con dicho gen en una poza genética amplia (Niewöhner et al., 1995).

Otro aspecto que hace que los marcadores ligados al rasgo de interés en poblaciones de mapeo sean inefectivos en otras poblaciones es que la papa es una especie difícil para la mejora genética, debido a que es poliploide, autoincompatible y altamente heterociga.

Además, muchos rasgos de interés en papa son poligénicos y altamente influenciados por el medio ambiente (Mullins et al., 2006). Si las funciones de otros genes tales como genes complementarios son esenciales para la expresión de la resistencia, algunas variedades seleccionadas solo en base a marcadores moleculares podrían no mostrar resistencia. Por lo anterior mencionado, en nuestro caso es muy importante evaluar la resistencia de los genotipos que presentan el marcador. Esto se realizará en un siguiente ciclo bajo condiciones de campo. Esto debido a que la expresión de la resistencia puede ser difícil de evaluar dado que factores ambientales, de desarrollo, estado fisiológico de la planta y la concentración del inoculo influenciarían el fenotipo. Es por ello que es muy importante evaluar la resistencia bajo condiciones de campo o bajo condiciones controladas que reflejen las condiciones de campo (Bernaola, 2008).

La resistencia al virus PVY, es simple y está gobernada por genes R mayores que le confiere un tipo de resistencia monogénica (Fernández – Northcote, 1991; Mendoza et al., 1996; Mihovilovich et al., 1998). En el presente trabajo se observó que ninguna de las 15 poblaciones evaluadas amplificó la banda de 320 bp del marcador RYSC3 que co-localiza con el gen *Ry^{adg}* de resistencia al virus PVY. Esto podría deberse a que entre las líneas parentales utilizadas para generar estas poblaciones no se involucró a variedades de *S. andigena* (tabla 1), en la cual se ha identificado este gen de resistencia. En nuestro caso habría sido mejor utilizar el marcador GP122₅₆₄ que también confiere extrema resistencia a PVY pero cuya fuente de resistencia es *S. stoloniferum*. La utilidad de un sistema de marcadores disminuiría al aumentar la distancia filogenética de la especie en estudio con la especie en la que se identificó originalmente los marcadores (Oberhagemann et al., 1999). Cuando un marcador se utiliza fuera de la especie originaria, el locus puede ser monomórfico o puede no amplificar. Collins et al. (1999) reportan que existen especies a las cuales es difícil transferir marcadores de otras especies.

En referencia a las segregaciones para PVX, verruga (*S. endobioticum*) y tizón (*P. infestans*), solamente la Fam 8 no exhibió segregación para la amplificación de las bandas del marcador en las tres enfermedades. Esta familia presentaría ambos progenitores resistentes y su progenie sería 100 % resistente. Sin embargo, falta confirmar esta resistencia en el fenotipo. En el caso particular del tizón, siete familias no presentaron segregación para el marcador GP94. Esto tiene explicación en que el gen *Rpi-phu1* se origina de un híbrido inter específico entre *S. stenotomum* y *S. phureja*, especies que son parte del origen genético de estas familias.

Por otra parte, para todos los marcadores, se observaron poblaciones cuyas proporciones de segregación estuvieron significativamente desviadas. Las proporciones de segregación desviadas son usualmente ob-

Tabla 6. Ciento siete clones provenientes de 15 familias interespecíficas agrupados de acuerdo a la presencia de cinco marcadores ligados a genes de resistencia a factores bióticos y características agronómicas y morfológicas.

Clon	GP94	NI25	CP60	Gro1-4	HC	Ntub	Ptub	Vtub	Ttub	Cptub	Cctub	Potub	Uttub	Ftub
311209.16	1	1	1	1	0	54	0,08	203	5	6	6	5	2	3
311100.19	1	0	1	0	1	52	0,08	201	3	6	2	5	2	2
311024.31	1	1	1	0	0	37	0,09	206	3	1	2	5	2	2
311209.30	1	0	1	1	0	38	0,08	200	3	1	2	5	2	2
311024.56	1	1	1	1	0	37	0,09	208	3	6	6	5	2	2
311024.65	1	1	1	1	0	32	0,08	210	5	1	2	5	2	2
311024.66	1	1	1	0	1	32	0,09	208	5	5	2	5	2	2
311209.17	1	1	1	1	1	30	0,09	209	5	1	4	5	2	2
311024.18	1	1	1	0	1	31	0,08	206	3	6	2	5	2	2
311209.03	1	1	1	1	1	30	0,09	208	3	6	2	5	2	2
311022.14	1	1	1	1	1	32	0,10	210	3	6	4	5	2	2
311209.32	1	1	1	1	0	37	0,09	217	3	5	2	5	2	1
311080.35	1	1	1	1	1	24	0,07	190	3	8	2	5	2	6
311081.33	1	1	1	0	1	24	0,05	191	3	6	2	5	3	1
311024.55	1	1	1	1	0	24	0,07	190	3	1	2	5	2	2
311340.28	1	1	1	0	1	23	0,06	190	3	8	2	3	2	6
311340.44	1	1	1	0	1	23	0,08	190	3	5	1	3	2	6
311035.02	1	1	1	0	1	23	0,07	192	3	5	2	3	2	6
311340.05	1	1	0	0	0	21	0,07	192	3	5	2	3	2	6
311024.74	1	1	1	1	1	23	0,06	188	3	1	2	5	2	2
311340.06	1	1	1	0	1	22	0,06	187	3	5	2	5	2	2
311081.23	1	1	1	1	0	23	0,05	187	5	5	2	5	2	2
311024.59	1	1	1	1	0	21	0,07	190	3	6	1	5	2	2
311209.47	1	1	1	1	0	20	0,07	190	3	1	2	5	2	1
311209.36	1	1	1	0	1	21	0,07	190	3	5	2	5	2	2
311209.06	1	1	1	0	0	20	0,07	190	3	4	4	5	2	2
311102.36	1	0	1	0	1	19	0,07	190	3	8	1	5	2	5
311081.35	1	1	1	1	0	26	0,06	190	1	5	4	5	2	1
311209.11	1	1	1	0	1	27	0,07	190	3	6	4	5	2	2
311209.28	0	0	0	0	0	27	0,07	190	3	6	4	5	2	6
311022.03	1	1	1	1	1	26	0,09	191	3	5	2	5	2	2
311024.58	1	1	1	1	0	28	0,08	192	3	2	2	5	2	2
311102.56	1	1	1	1	0	27	0,06	189	3	8	1	5	2	5
311024.63	1	1	1	1	1	22	0,07	194	5	1	2	5	2	2
311081.28	1	1	1	1	1	21	0,06	195	5	6	2	5	3	6
311100.48	1	1	1	0	0	22	0,07	195	3	8	1	5	2	2
311022.01	1	1	1	1	0	22	0,07	193	3	1	2	5	2	2
311209.37	0	1	1	0	0	24	0,07	193	3	1	2	5	2	2
311022.10	1	1	1	1	1	27	0,08	195	3	5	2	3	2	6
311340.17	1	1	1	0	1	28	0,08	195	3	5	2	3	2	6
311340.04	1	1	1	0	1	27	0,07	197	3	1	2	3	2	6
311022.06	1	1	1	1	1	26	0,08	194	3	1	2	5	2	2
311209.33	1	0	1	1	1	26	0,07	195	3	7	4	5	2	1
311209.02	1	1	1	1	1	30	0,08	198	3	1	2	5	2	1
311209.38	0	1	1	0	0	31	0,08	200	3	5	2	5	2	6
311028.10	1	0	0	0	1	31	0,09	200	3	6	4	5	2	2
311024.39	1	1	1	0	1	34	0,08	198	3	5	1	5	2	2
311340.02	1	1	1	0	1	35	0,08	198	3	1	2	3	2	6
311022.08	1	1	0	1	1	32	0,08	196	3	5	1	5	3	2
311024.61	1	1	1	1	0	33	0,08	195	3	5	2	5	2	2
311100.51	1	0	1	0	1	31	0,08	200	3	8	2	5	2	2
311024.37	1	1	1	1	1	35	0,07	188	3	5	2	5	2	2
311209.09	1	1	1	0	1	35	0,07	191	3	6	2	5	2	1
311100.52	1	0	0	0	0	33	0,06	189	3	8	1	5	2	2
311340.01	1	1	0	0	0	32	0,06	189	3	1	2	3	2	6
311340.03	1	1	0	0	1	30	0,07	190	3	5	2	3	2	6
311022.09	1	1	1	1	1	30	0,07	192	3	2	2	5	2	2

Clon	GP94	NI25	CP60	Gro1-4	HC	Ntub	Ptub	Vtub	Ttub	Cptub	Cctub	Potub	Uttub	Ftub
311022.18	1	1	1	1	1	32	0,09	192	3	5	2	5	2	6
311022.05	1	1	1	1	1	31	0,08	190	3	2	2	5	2	2
311209.07	1	1	1	1	1	32	0,07	190	3	4	2	5	2	1
311081.36	1	1	1	1	1	31	0,06	189	1	5	4	5	2	1
311102.26	0	1	1	1	0	28	0,08	193	5	8	2	5	2	6
311209.39	1	1	1	0	0	31	0,07	189	3	1	4	5	2	6
311340.14	1	1	1	0	1	28	0,06	189	3	5	2	5	2	2
311024.04	1	1	1	1	1	23	0,06	178	3	1	2	5	2	2
311102.46	1	1	1	1	1	23	0,05	177	3	5	2	5	2	5
311340.11	1	1	1	0	1	22	0,05	178	3	1	2	3	2	6
311423.04	1	0	1	0	1	22	0,06	178	3	6	4	5	2	6
311022.20	1	1	1	1	0	23	0,06	182	3	5	2	5	2	2
311024.36	1	1	1	1	0	24	0,06	182	3	5	2	5	2	2
311102.37	1	1	1	0	0	25	0,07	180	3	5	3	5	2	6
311081.18	1	1	1	0	1	21	0,05	182	3	5	2	5	2	1
311340.45	1	1	1	0	1	22	0,06	182	3	1	1	5	2	2
311024.02	1	1	1	1	1	21	0,06	180	3	1	2	5	2	2
311024.12	1	1	1	1	1	21	0,06	180	5	1	2	5	2	2
311028.03	1	1	1	1	1	20	0,06	180	3	6	2	5	2	2
311102.16	1	0	1	0	1	21	0,05	180	3	8	1	5	2	6
311081.22	1	1	1	1	0	22	0,04	180	3	6	2	5	2	2
311024.72	1	1	1	1	1	30	0,06	184	3	6	2	5	2	2
311340.24	1	1	0	0	1	28	0,06	183	3	8	1	3	2	6
311081.47	1	1	1	1	0	28	0,05	178	1	8	2	5	2	1
311102.66	1	1	1	1	1	26	0,05	178	5	8	1	5	2	7
311340.09	1	1	1	0	0	26	0,05	178	3	6	1	3	2	6
311022.13	1	1	1	1	1	28	0,06	179	3	1	2	5	2	2
311028.60	1	1	1	1	1	28	0,06	180	1	5	2	5	2	2
311100.36	1	0	1	0	1	27	0,06	180	3	6	2	5	2	5
311022.22	1	0	1	1	1	28	0,06	178	3	6	2	5	2	6
311340.12	1	1	1	0	1	29	0,06	180	3	8	2	3	2	6
311340.15	1	1	1	0	0	27	0,06	180	3	1	2	3	2	6
311024.05	1	1	1	1	1	31	0,07	184	3	6	2	5	2	2
311340.16	1	1	1	0	1	29	0,06	183	3	5	2	3	2	6
311028.04	1	1	1	1	1	29	0,06	182	3	8	4	5	2	2
311024.21	1	1	1	0	1	26	0,06	184	3	5	2	5	2	2
311024.50	1	1	1	1	1	26	0,06	184	3	2	2	5	2	2
311340.22	1	1	1	0	0	26	0,06	186	3	5	2	3	2	6
311022.21	1	1	1	1	1	39	0,07	184	3	1	2	5	2	2
311209.13	1	1	1	0	0	43	0,07	188	1	1	2	5	2	1
311024.45	1	1	0	1	0	40	0,06	184	3	5	2	5	2	2
311100.61	1	0	1	0	0	43	0,08	190	3	5	2	5	2	2
311085.02	1	1	0	0	1	38	0,08	190	3	1	1	5	2	6
311340.08	1	1	1	0	1	40	0,06	171	1	8	2	5	2	2
311340.36	1	1	1	0	1	40	0,10	170	1	5	4	5	2	2
311022.23	1	1	1	1	0	31	0,06	180	3	5	4	5	2	2
311022.24	1	1	1	1	0	33	0,06	178	3	2	4	5	2	2
311024.06	1	1	1	1	1	36	0,05	174	3	6	2	5	2	2
311340.26	1	1	1	0	1	37	0,05	179	1	1	2	5	2	2
311102.05	1	1	1	1	1	43	0,06	178	3	5	1	5	2	6

Legendas: GP94= Marcador para gen R a *Phytophthora infestans*, NI25= Marcador para gen R a *Synchytrium endobioticum*, Cp60= Marcador para gen R a PVX, Gro1-4= Marcador para gen R a *Globodera rostochiensis*, HC0 Marcador para gen R a *Globodera pallida*, Ntub= Número de tubérculos, Ptub= Peso de tubérculos, Vtub= Volumen de tubérculos, Ttub= Tamaño de tubérculos, Cptub= Color de piel del tubérculo, Cctub= Color de carne del tubérculo, Potub= Profundidad de ojos del tubérculo, Uttub= Uniformidad de tamaño del tubérculo y Ftub= Forma del tubérculo

servadas en papa (Gebhardt *et al.*, 1991; van Eck *et al.*, 1995; El Kharbotly *et al.*, 1994) y podrían resultar del ligamiento con factores letales balanceados (Bianchi *et al.*, 1962). Asimismo, el parental susceptible o portador de alelos de susceptibilidad también juega un rol importante en la modificación y en la supresión del fenotipo de resistencia observadas en la progenie, dependiendo del parental susceptible con el que es cruzado (Ross, 1986; El Kharbotly *et al.*, 1996).

En progenies que segregan para resistencia cuantitativa (caso del tizón y nematodos) niveles de resistencias mayores o menores presentes en los parentales, pueden ser expresados (Ross, 1986; Leonards-Schippers, 1994). De igual manera puede pasar con la epistasia entre QTL de resistencia. Un ejemplo de este aspecto es la resistencia en *Capsicum annum* "pimienta" a *Phytophthora capsici* donde se detectó dos QTLs de efecto aditivo y al menos cuatro QTLs epistáticos provenientes del progenitor susceptible que eran favorables para la resistencia (Lefebvre *et al.*, 1996).

En el caso del nematodo-quiste, el análisis de la resistencia se complica porque estos son caracteres poligénicos gobernados por genes menores de herencia cuantitativa (Ross, 1996). En este estudio se observaron poblaciones que no se ajustaron a ninguna segregación esperada. Una de estas poblaciones presentaba mayor proporción de susceptibles (ausencia de banda) que de resistentes a *G. pallida*. Esto podría ser debido a que los parentales fueron homocigóticos susceptibles y contrariamente a lo esperado algunos individuos de la progenie amplificaron la banda. Esto concuerda con Asano (2006), quien encontró amplificación de bandas del marcador HC aún cuando los genotipos expresaron susceptibilidad. Sin embargo, en el caso del nematodo-quiste, también observamos una familia que presentó mayor proporción de susceptibles que de recesivos, tal como si el gen de susceptibilidad fuese dominante sobre el de resistencia. Algunos marcadores no son aplicables para la evaluación de accesiones resistentes. Esto tal vez debido al complejo origen genético de la papa como señalan Milczarek *et al.* (2011). Ellos evaluaron marcadores moleculares publicados y sugirieron que la mayoría de los marcadores no eran aplicables debido a orígenes genéticos complejos.

El análisis de correlación mostró relaciones interesantes entre caracteres comerciales y la presencia de estos cinco marcadores. Los marcadores que más asociaciones con caracteres comerciales expresaron fueron los marcadores CP60 y NL 25. Ambos marcadores estuvieron positivamente asociados con la presencia de los marcadores Gro 1-4 y GP94, uniformidad y menor número de tubérculos. Esto significaría que los genotipos con resistencia a PVX y verruga (*S. endobioticum*) podrían a su vez presentar resistencia a tizón (*P. infestans*) y nematodo-quiste (*G. rostochiensis*) y menor número pero mayor uniformidad del tamaño de tubérculos.

Asimismo, también se observó la relación entre la presencia del marcador GP94 y el marcador HC. Lo cual significaría que las resistencias tanto a tizón como al nematodo blanco podrían co-heredarse. Esto podría explicarse en el sentido de que uno o más miembros de la familia R1 de genes para resistencia al tizón, podrían estar compartiendo la base molecular con el gen *Rpi-phu1*; asimismo, son buenos candidatos posicionales para la base molecular de los genes para resistencia a nematodos ubicados en el cromosoma V (*RCp5-vrn*) donde está el gen *R1*. Se sabe que la mayoría de los genes R fueron introducidos de especies silvestres (Mosquera *et al.*, 2008). Catorce de ellos se encuentran en *hot spots* (puntos concentrados) para resistencia y confieren resistencia a varios patógenos. A la fecha se han identificado cinco *clúster* (grupos) de resistencia. En una planta se encuentra un gran repertorio de genes de resistencia R, ubicados en diferentes sitios del genoma (Mosquera *et al.*, 2008). Estos genes expresan diferentes proteínas que pueden ser agrupadas en varias familias. La mayoría de proteínas R contienen repeticiones en grupos, ricas en leucina (LRR). Se plantea la co-localización de genes R y QTLs en diferentes cromosomas. Una hipótesis señala que los QTLs son variantes alélicas con efecto menos extremo que los genes R y una segunda hipótesis plantea que los QTLs de resistencia mapean en regiones del genoma que contienen genes de función conocida involucrados en la respuesta general al ataque de patógenos.

Considerando que normalmente cada año, en un programa de mejoramiento genético se evalúan muchos miles de plántulas para iniciar un nuevo ciclo de selección, técnicas de extracciones de ADN, PCR y electroforesis son todavía relativamente costosas, a pesar de que los precios han bajado y las posibilidades de automatización han mejorado sustancialmente. En este sentido, Gebhardt *et al.* (2006) y López-Pardo (2013) recomiendan que la resistencia a patógenos se deba combinar con un buen desempeño de las progenies en campo. Por lo que progenies F₁ deberían seleccionarse en campo bajo presión de patógenos durante 2 a 3 años, lo que reduce drásticamente el número de clones para la aplicación de técnicas de detección molecular. La aplicación de SAM en un programa de mejoramiento genético de papa dependerá del análisis del costo-beneficio para cualquier esquema de mejoramiento particular (Ortega y López-Vizcón, 2012). En este contexto, es necesario reducir aún más los costos para SAM mediante el desarrollo de marcadores y protocolos, que permitan PCRs multiplex (Witek *et al.*, 2006; Asano *et al.*, 2006) e incluso otros métodos diagnóstico basados en la hibridación, como el DArTs que permite detectar muchos marcadores y sus alelos en un momento dado (Jing *et al.* 2009). En conclusión, la aplicación eficaz de la SAM en papa requiere el desarrollo de marcadores dentro de los genes de resistencia, así como la tecnología de costo eficiente (López-Pardo *et al.*, 2013).

Las familias en estudio provienen de un programa de biofortificación para incrementar los niveles de Fe y Zn, por lo que es muy probable identificar genotipos que reúnan las características de resistencias descritas y altos niveles de estos micronutrientes. No se conoce en papa aun si existe correlación entre la concentración de micronutrientes y resistencia a enfermedades. La determinación fenotípica de las concentraciones de Fe y Zn permitirá establecer si existe o no correlaciones con las resistencias previamente descritas.

Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado por la Fundación PROINPA, en el sub-proyecto “Desarrollo de variedades con tolerancia a factores bióticos” ejecutado en el marco del Programa Nacional de Papa del INIAF. Se realizó con ayuda financiera del Banco Mundial y el apoyo técnico del CIP-IssAndes. Las opiniones expresadas en el mismo no reflejan necesariamente la opinión oficial de estas instituciones.

Referencias bibliográficas

Asano, K.; Kobayashi, A.; Tsuda, S.; Nishinaka, M.; Tamiya, S. (2012). DNA marker-assisted evaluation of potato genotypes for potential resistance to potato cyst nematode pathotypes not yet invading into Japan. *Breeding Science*, 62(2),142-150.

Barone, A.; Ritter, E.; Schachtschabel, U.; Debener, T.; Salamini, F.; Gebhardt, C. (1990). Localization by restriction fragment length polymorphism mapping in potato of a mayor dominant gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Mol Gen Genet*, 224, 177-182.

Bendahmane, A.; Kanyuka, K.; Baulcombe, D.C. (1997). High-resolution genetical and physical mapping of the Rx gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. *Theoretical Applied Genetics*, 95, 153-162.

Bernaola, L. (2008). Caracterización molecular de la resistencia al tizón tardío en *Solanum paucissectum* Ochoa (Solanaceae) mediante el uso de la técnica NBS y marcadores para loci candidatos. Tesis de grado para obtener el título profesional de biólogo. 118 p.

Bianchi, A.; Morandi, A. (1962). A case of balanced lethal factors in maize. *Heredity*, 17, 409-414.

Bormann, C.A.; Rickert, A.M.; Castillo, R.A.; Paal, J.; Lübeck, J.; Strahwald, J.; Buhr, K.; Gebhardt, C. (2004). Tagging quantitative trait loci for maturity-corrected late blight resistance in tetraploid potato with PCR-based candidate gene markers. *Mol Plant Microbe Interactions*, 17(10), 1126-1138.

Brigneti, G.; García-Mas, J.; Baulcombe, D.C. (1997). Molecular mapping of the potato virus Y resistance locus Rysto in potato. *Theoretical Applied Genetics*, 94, 198-203.

Collins, A.; Milbourne, D.; Ramsay, L.; Meyer, R.; Chatot-Balandras, C.; Oberhagemann, P.; De Jong, W.; Gebhardt, C.; Bonnel, E.; Waugh, R. (1999). QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigour. *Molecular Breeding*, 5 (5), 387-398.

Colon, L.; Jansen, R.; Budding, D. (1995). Partial resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in hybrids progenies of four South American *Solanum* species crosses with diploid *S. tuberosum*. *Theoretical Applied Genetics*, 90, 691-698.

De Jong, W.; Forsyth, A.; Leister, D.; Gebhardt, C.; Baulcombe, D.C. (1997). A potato hypersensitive resistance gene against potato virus X maps to a resistance gene cluster on chromosome 5. *Theoretical Applied Genetics*, 95, 246-252.

Doyle, J.J.; Doyle, J.L. (1990). A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12,13-15.

El-Kharbotly, A.; Leonards-Schippers, C.; Huigen, D.J.; Jacobsen, E.; Pereira, A.; Stiekema, W.J.; Salamini, F.; Gebhardt, C. (1994). Segregation analysis and RFLP mapping of the R1 and R3 alleles conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in progeny of dihaploid potato parents. *Mol Gen Genet*, 242, 749-754.

El-Kharbotly, A.; Palomino-Sánchez, C.; Salamini, F. (1996). R6 and R7 alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the R3 locus on chromosome XI. *Theoretical Applied Genetics*, 92, 880-884.

FAO, World agriculture; towards (2010). An FAO study, N. Alexandratos, FAO John Wiley & Sons. Rome, Italy.

Fernandez-Northcote, E. (1991). Mejoramiento por resistencia a los principales virus de la papa. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 4,1-21.

Gabriel, J. (2008). Aplicación de marcadores moleculares para el cribado de QTLs en diferentes fuentes de resistencia a tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en papa. Tesis Doctoral, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España. 109 p.

Gabriel, J.; Ruiz de Galarreta, J.I.; Lopez-Pardo, R.; Barandalla, L.; Alvarado, C.; Ritter, E. (2011). Short communication. Introgression of late blight (*Phytophthora infestans* L.) resistance from tuber-bearing *Solanum* wild species into cultivated potato. *Spanish J Agric Res*, 9 (1), 193-197.

Gebhardt, C.; Bellin, D.; Henselewski, H.; Lehmann, W.; Schwarzfischer, J.; Valkonen, J.P.T. (2006). Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato. *Theoretical Applied Genetics*, 112, 1458-1464.

Gebhardt, C.; Mugniery, D.; Ritter, E.; Salamini, F.; Bonnel, E. (1993). Identification of RFLP markers closely linked to the H1 gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Theoretical Applied Genetics*, 85, 541-544.

Gebhardt, C.; Valkonen, J.P.T. (2001). Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. *Annu Rev Phytopathol*, 39, 79-102.

Hämäläinen, J.H.; Watanabe, K.N.; Valkonen, J.P.T.; Arihara, A.; Plaisted, R.L.; Pehu, E.; Miller, L.; Slack, S.A. (1997). Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to potato virus Y. *Theoretical Applied Genetics*, 94, 192-197.

Hehl, R.; Faurie, E.; Hesselbach, J.; Salamini, F.; Whitham, S.; Baker, B.; Gebhardt, C. (1999). TMV resistance gene N homologues are linked to *Synchytrium endobioticum* resistance in potato. *Theoretical Applied Genetics*, 98, 379-386.

INIA. (2009). Descriptores mínimos de papa (*Solanum* sp.). INIA, Lima, Perú. 19 p.

Jing, H. C.; Bayon, C.; Kanyuka, K.; Berry, S.; Wenzl, P.; Huttner, E.; Kilian, A.; Kosack, K.H. (2009). DArT markers: diversity analyses, genomes comparison, mapping and integration with SSR markers in *Triticum monococcum*. *BMC Genomics*, 2009, 458.

Kasai, K.; Morikawa, Y.; Sorri, V.A.; Valkonen, J.P.; Gebhardt, C.; Watanabe, K.N. (2000). Development of SCAR markers to the PVY resistance gene Ry_{adg} based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*, 43, 1-8.

Kreike, C.M.; Kok-Westeneng, A.A.; Vinke, J.H.; Stiekema, W.J. (1996). Mapping of QTLs involved in nematode resistance, tuber yield and root development in *Solanum* sp. *Theoretical Applied Genetics*, 92, 463-470.

Leister, D.; Ballvora, A.; Salamini, F.; Gebhardt, C. (1996). A PCR-based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nat Genet*, 14, 421-429.

Leonards-Schippers, C.; Gieffers, W.; Schäfer-Pregl, R.; Ritter, E.; Knapp S.J.; Salamini, F.; Gebhardt, C. (1994). Quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in potato: a case study for QTL mapping in an allogamous plant species. *Genetics*, 137, 67-77.

Levebvre, V.; Palloix, A. (1996). Both epistatic and additive effects of QTL are involved in induced resistance to disease: a case study,

- the interaction pepper-*Phytophthora capsici* Leonian. *Theoretical Applied Genetics*, 93, 503-511.
- López-Pardo, R.; Barandalla, L.; Ritter, E.; De Galarreta, J.I. (2013). Validation of molecular markers for pathogen resistance in potato. *Plant Breeding*, 246-251.
- Mendoza, H.A.; Mihovilovich, E.J.; Saguma, F. (1996). Identification of triplex (YYYy) Potato virus Y (PVY) immune progenitors derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Am. Potato J.*, 73, 13-19.
- Mihovilovich, E.J.; Salazar, L.F.; Saguma, F.; Bonierbale, M.W. (1998). Survey of the durability of extreme resistance to PVY derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. Pp. 123-128 in CIP program report 1997-1998, Lima Perú.
- Milczarek, D.; Flis, B.; Przetakiewicz, A. (2011). Suitability of molecular markers for selection of potatoes resistant to *Globodera* spp. *Am. J Potato Res*, 88, 245-255
- Mosquera, T.; Fernández, C.; Martínez, L.; Acuña, A.; Cuéllar, D. (2008). Genética de la resistencia de la papa (*Solanum tuberosum*) a patógenos. Estado de arte. *Agronomía Colombiana*, 26(1), 7-15.
- Mullins, E.; Milbourne, D., Petti, C.; Doyle-Prestwich, B.; Meade, C. (2006). Potato in the age of biotechnology. *Trends in Plant Sci*, 11, 254-260.
- Muñoz, F.J.; Plaisted, R.L.; Thurston, H.D. (1975). Resistance to potato virus Y in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Am Potato J.*, 52, 107-115.
- Niewöhner J, Salamini F, Gebhardt C. (1995). Development of PCR assays diagnostic for RFLP markers closely linked to alleles *Gro1* and *H1*, conferring resistance to the root cyst nematode *Globodera rostochiensis* in potato. *Mol. Breed.*, 1, 65-78
- Oberhagemann, P.; Chalot-Balandras, C.; Bonnel, E.; Schäfer-Pregl, R.; Wegener, D.; Palomino, C.; Salamini, F.; Gebhardt, C. (1999). A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: Towards marker assisted selection. *Mol Breeding*, 5, 399-415.
- Ortega, F.; López-Vizcón C.L. (2012). Application of molecular marker assisted selection (MAS) for disease resistance in a practical potato breeding programme. *Pot. Res.*, 54, 1-13.
- Paal, J.; Henselewski, H.; Muth, J.; Meksem, K.; Menéndez, C.M.; Salamini, F.; Ballvora, A.; Gebhardt, C. (2004). Molecular cloning of the potato *Gro1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *Plant J.*, 38, 285-297.
- Ritter, E.; Debener, T.; Barone, A.; Salamini, F.; Gebhardt, C. (1991). RFLP mapping on potato chromosomes of two genes controlling extreme resistance to potato virus X (PVX). *Mol Gen Genet*, 227, 81-85.
- Ritter, E.; Lucca, F.; Sánchez, I.; Ruiz de Galarreta, J.I.; Aragonés, A.; Castañón, S.; Bryan, G.; Waugh, R.; Lefebvre, V.; Rousseau-Bourgoise, F.; Gebhardt, C.; van Eck, H.J.; van Os, H.; Taco, J.; Bakker, J. (2005). Genomic resources in potato and possibilities for exploitation. Page 55-64 in *Potato in progress* (Eds.: Haverkort AJ & PC Struik), Wageningen Academic Publishers, Holanda.
- Ritter, E.; Ruiz de Galarreta, J.I.; Hernández, M.; Plata, G.; Barandalla, L.; Lopez, R.; Sanchez, I.; Gabriel, J. (2009). Utilization of SSR and cDNA markers for screening known QTLs for late blight (*Phytophthora infestans*) resistance in potato. *Euphytica*, 170, 77- 86.
- Ritter, E.; Ruiz de Galarreta, J.I.; van Eck, H.J.; Sánchez, I. (2008). Construction of a potato transcriptome map based on the cDNA-AFLP technique. *Theoretical Applied Genetics*, 7 (16), 1003-1013.
- Ross, H. (1962). Über die Vererbung der Resistenz gegen den Kartoffelnematoden (Heterodera rostochiensis Woll.) in Kreuzungen von *Solanum famatinae* Bitt. et Wittm. Mit *Solanum tuberosum* L. und mit *S. chacoense* Bitt. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 32(2), 74-80.
- Ross, H. (1986). Potato breeding-problems and perspectives. Page 1-132 in Horn, W y Röbbelen, G. (eds.). *Advances in Plant Breeding* 13. Berlin y Hamburgo.
- Roupe van der Voort, J.; van der Vossen, E.; Bakker, E.; Overmars, H.; van Zandvoort, P.; Hutten, R.; Klein Lankhorst, R.; Bakker, J. (2000). Two additive QTLs conferring broad spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theoretical Applied Genetics*, 101, 1122-30.
- Roupe van der Voort, J.; Wolters, P.; Folkertsma, R.; Hutten, R.; van Zandvoort, P.; Vinke, H.; Kanyuka, K.; Bendahmane, A.; Jacobsen, E.; Janssen, R.; Bakker, J. (1997). Mapping of the cyst nematode resistance locus *Gpa2* using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theoretical Applied Genetics*, 95, 874-880.
- Sattarzadeh, A.; Achenbach, U.; Lübeck, J.; Strahwald, J.; Tacke, E.; Hofferbert, H.; Rothsteyn, T.; Gebhardt, C. (2006). Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping as basis for developing a PCR-based marker highly diagnostic for potato varieties with high resistance to *Globodera pallida* pathotype Pa2/3. *Mol Breed*, 18, 301-312.
- Sliwka, J.; Jakuczun, H.; Kamiński, P.; Zimnoch, E. (2010). Marker-assisted selection of diploid and tetraploid potatoes carrying *Rpi-phu1*, a major gene for resistance to *Phytophthora infestans*. *J Appl Genet.*, 51(2), 133-140.
- Sorri, V.A.; Watanabe, K.N.; Valkonen, J.P.T. (1999). Predicted kinase 3a motif of a resistance gene like fragment as a unique marker for PVY resistance. *Theoretical Applied Genetics*, 99, 164-170.
- SPSS. (2006). Guía breve de SPSS 15.0. para windows. SPSS inc., Chicago, USA. 176 p.
- Tommiska, T.J.; Hämäläinen, J.H.; Watanabe, K.N.; Valkonen, J.P.T. 1998. Mapping of the gene *Nxphu* that controls hypersensitive resistance to potato virus X in *Solanum phureja* IvP35. *Theoretical Applied Genetics*, 96, 840-843.
- Valdez - Moctezuma, E.; Kahl, G. (2005). Huellas de ADN en genomas de plantas. Mundi-Prensa, México, S.A. de C.V. Universidad Autónoma de Chapingo. 147 p.
- Van Eck, H.J.; Roupe van der Voort, J.; Draaistra, J.; van Zandvoort, P.; van Enckevort, E.; Segers, B.; Peleman, J.; Jacobsen, E.; Helder, J.; Bakker, J. (1995). The inheritance and chromosomal location of AFLP markers in a non-inbred potato offspring. *Mol Breeding*, 1, 397-410.
- Veramendi, S.; Baldelomar, M.; Terán, A.; Gabriel, J. (2011). Marcadores moleculares asociados a genes/QTLs de resistencia para factores bióticos en nuevas variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) de Bolivia. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 16, (2), 209 - 232.
- Vidal, S.; Cabrera, H.; Andersson, R.A.; Fredriksson, A.; Valkonen, J.P.T. (2002). Potato gene Y-1 is an N gene homolog that confers cell death upon infection with Potato virus Y. *Mol Plant Microbe Interact*, 15,717-727.
- Wastie, R.L. (1991). Breeding for resistance. In: D.D. Ingram and P.H. Williams (eds.). *Phytophthora infestans*, the Cause of Late Blight of Potato. Vol 7. Academic Press, London. Pp. 192-224.
- Whitham, S.; Dinesh-Kumar, S.P.; Choi, D.; Hehl, R.; Corr, R.; Baker, B. (1994). The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to Toll and the interleukin-1 receptor. *Cell*, 78, 1101-1115.
- Witek, K.; Strzelczyk-Zyta, D.; Henning, J.; Marczewski, W. (2006). A multiplex PCR approach to simultaneously genotype potato towards the resistance alleles Ry-f sto and Ns. *Mol. Breed.*, 18, 273-275.