

ESTUDIO DE LA VARIACION MORFOLOGICA E ISOENZIMATICA
DE 78 ENTRADAS DE MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.).
"SANTA CATALINA"- INIAP

ALVARO RICARDO MONTEROS ALTAMIRANO

TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCION DEL
TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

QUITO

1996

VIL RESUMEN

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.) es un tubérculo cuyo origen está en los Andes. Posee un alto nivel nutricional reflejado en el contenido de proteínas, carbohidratos y vitamina C, así como interesantes cualidades medicinales y alta productividad en condiciones de bajo cuidado. A pesar de esto, la especie está sufriendo un alto grado de erosión genética debido a la introducción de nuevos hábitos alimenticios alimenticias, tecnologías agrícolas y a la desvalorización de los cultivos tradicionales frente a los importados.

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental "Santa Catalina" del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), en los laboratorios del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología (DENAREF), ubicados en la provincia de Pichincha, Cantón Quito, Parroquia Cutuglahua, a 3058 msnm, con una temperatura media de 11.6 °C y una precipitación anual de 1407.3 mm.

El Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología (DENAREF) cuenta con una colección de 78 entradas de mashua, de las cuales 74 fueron colectadas en el Ecuador, mientras que tres provienen de Colombia y una de Bolivia. De las entradas originarias del Ecuador, 19 provienen de la zona sur del país (Cañar, Azuay y Loja); 33 de las provincias centrales (Chimborazo, Bolívar, Tungurahua y Cotopaxi) y 17 de las provincias del norte (Pichincha, Carchi e Imbabura).

El principal objetivo de este estudio fue identificar la variabilidad genética existente en las 78 entradas de mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. y P.) del Banco de Germoplasma de INIAP, utilizando características morfológicas y agronómicas, y el método de patrones electroforéticos de isoenzimas.

Los análisis estadísticos abarcaron dos fases: la primera en base a rangos, frecuencias y porcentajes; y, la segunda utilizando análisis multivariados: Análisis de agrupamiento y Componentes Principales para las características morfológicas y agronómicas, utilizando el programa estadístico SAS y, Análisis de agrupamiento del programa NTSYS para la información isoenzimática.

En la evaluación en campo se utilizaron 44 descriptores tanto agronómicos como morfológicos. Un total de 78 entradas de mashua fueron evaluadas en campo y en laboratorio.

La colección presentó amplia variabilidad en los siguientes caracteres morfológicos: longitud del pecíolo, color primario y secundario de la piel del tubérculo, distribución del color secundario y formas de coloración secundaria de la piel del tubérculo, color secundario y distribución del color secundario de la pulpa del tubérculo; no así en color del tallo, longitud y ancho de la hoja, relación L/A de la hoja, diámetro del entrenudo, color secundario del envés de la hoja y forma del tubérculo que, presentaron escasa variabilidad.

En cuanto a los descriptores agronómicos se determinaron los siguientes promedio para la colección: 29.59 días para emergencia de las plántulas, 146.15 días para días a la tuberización, 154.71 días para número de días a la floración, y 252.28 días para madurez fisiológica. Para rendimiento en kilogramos por planta, el promedio fue de 1.81 kg, determinándose como entradas promisorias con 3.1 kg por planta a ECU-8562 y ECU-8563, que alcanzarían un rendimiento de hasta 67 600 kg por hectárea. Del análisis de contenido de materia seca se pudo determinar que la colección de mashua presenta una variación desde 7.20 % (ECU-8558) hasta 19.70 % (ECU-1091) con un promedio para la colección de 12.47 %. Combinando estas características hacen de la mashua un cultivo adecuado para explotarlo industrialmente.

Para el estudio electroforético se usaron: geles de 12.0 % de almidón más 3.0 % de sucrosa. El sistema de corrida Histidina - citrato, pH 7.0 fue adecuado para teñir los sistemas isoenzimáticos PGM (Fosfoglucomatasa) y MDH (Malato dehidrogenasa). Las condiciones de corrida fueron 45 mA por el lapso de 6 horas. Las muestras fueron preparadas con el tampón de extracción Glutathione 2 %, pH 7.5, con relación tejido:tampón de 1:1. Se encontró polimorfismo isoenzimático para las enzimas MDH (en la cual se identificaron tres zimotipos) y PGM (nueve zimotipos), con los cuales se discriminó a cada una de las 78 entradas de mashua.

La colección de mashua fue agrupada en seis grupos principales y 15 subgrupos, definidos por caracteres morfológicos y agronómicos particulares, y 10 grupos fueron definidos al usar la información isoenzimática.

De los resultados de caracterización isoenzimática se concluye que existe un 34.6 % de polimorfismo isoenzimático dentro de las 78 entradas de mashua. Combinando los resultados isoenzimáticos con los de análisis de agrupamiento se obtienen 62 grupos diferentes, lo que significaría que hay un 79.5 % de variabilidad dentro de la colección de mashua de INIAP, es decir existe un bajo porcentaje de duplicidad dentro de ésta.

Esta información está disponible para mejoradores y botánicos interesados en la especie. Investigaciones adicionales utilizando marcadores morfológicos ayudarán a clarificar este polimorfismo.

Se recomienda realizar estudios a nivel de ADN para determinar con precisión la estructura genética de este cultivo.

SUMMARY

Mashua (*Tropaelum tuberosum* R. & P.) is an Andean tuber crop, it has high nutritional values of proteins, carbohydrates and ascorbic acid. Mashua also contains interesting medicinal qualities and high yields under low agriculture management. In spite of these characteristics this species is suffering a high rate of genetic erosion, due to new food usage and agricultural techniques, or low value given to our products compared with foreign ones.

This research was developed at "Santa Catalina" Experimental Station of The National Autonomous Institute for Agricultural Research (INIAP), in the laboratories of the National Department of Plant Genetic Resources and Biotechnology (DENAREF), which is located in Pichincha province, Quito canton, Cutuglahua parish, 3 058 masl, with average temperature of 11.6 °C and 1 407.3 mm of annual rainfall.

DENAREF maintains a collection of 78 mashua accesions, 74 from Ecuador, 3 from Colombia and 1 from Bolivia. 19 Ecuador's accesions were collected from the southern provinces (Cañar, Azuay and Loja), 33 from the central provinces (Chimborazo, Bolivar, Tungurahua and Cotopaxi), and 17 from the northern provinces (Pichincha, Carchi and Imbabura).

The main objective of this study was to identify the genetic variability of 78 mashua accesions from INIAP's Gene Bank, using morphological and agronomical characteristics and the electrophoresis of isozyme patterns method.

Statistical analysis were developed in two phases: first using ranges, frecuencies and percentages, and second using multivariate analysis: Cluster analysis and Principal components analysis (PCA) for morphological and agronomical characteristics. The analysis was done using SAS statistical package, and the Cluster analysis was performed in NTSYS for isozymic information.

Fourty four morphological and agronomical descriptors were taken in the field, adding a total of 78 mashua accesions for field and Laboratory.

High variability was found for morphological characteristics such as petiole length, main and secondary color for tuber skin, distribution and shape for secondary skin color; color and distribution for secondary flesh color. Less variability was found for predominant vine color, leaf's length and width, relation L/W of leaf, internode diameter, abaxial color leaf and tuber's shape.

The following averages were identified for agronomical descriptors: 29.59 days for number of days to field emergence, 146.15 days for tuberization, 154.71 days for flowering and 252.28 days for physiological mature. An average of 1.81 kg per plant was established for the collection, ECU-8562 and ECU-8563 were the highest producers accessions with (3.1 kg/pl) (67 600 kg/ha). Dry matter content varies from (7.20%) (ECU-8558) to 19.70 % (ECU-1091) with average of 12.47 %. These characteristics made mashua a proper crop for industrial exploitation.

The following protocol was used for the isozymes electrophoresis: 12 % starch gel plus 3 % of sucrosa. Histidine-citrate pH 7.0 was the best electrophoresis buffer system for staining PGM (Phosphoglucomutase) and MDH (Malate dehydrogenase) isozymes. The gel was placed at 45 mA for 6 hours. Tissue homogenization was developed using Glutathion 2 %, pH 7.5 extraction buffer in 1:1 relation between tissue and buffer.

Isozymic polymorphisms were found for MDH (3 isozymic patterns) and PGM (9), which were useful for establishing isozymic differences among the 78 mashua accessions.

The whole collection of mashua was clustered in to six main groups and 15 subgroups defined by their morphological and agronomical characteristics, and 10 groups were established by using the isozymic information. This information might be useful for breeders and botanist interested in mashua.

Information using electrophoresis patterns found 34.6 % of isozymic polymorphism between 78 mashua accessions. Sixty two different groups were found mixing information from Cluster analysis and isozymic patterns. It means that INIAP's collection has 79.5 % of variability and a low percentage of duplication.

In general, this collection presents high polymorphism related with morphological descriptors. Further research using morphological marks might help to clarify this polymorphism.

For now, it is recommended to carry out studies at the level of DNA, in order to determine (precisely, accurate) the genetic structure of this crop.