

#### Artículo

Recibido: 30/04/21

Rdo. de evaluación: 17/08/21

Aceptado: 01/11/21

# Transferibilidad de marcadores SSR de tomate (*Solanum lycopersicum*) al chilto (*Solanum betaceum*) para la evaluación de la diversidad genética de dos poblaciones del Noroeste Argentino

## Transferability of SSR markers from tomato (*Solanum lycopersicum*) to chilto (*Solanum betaceum*) for the evaluation of the genetic diversity of two populations from the Northwest of Argentina

**M. Florencia Yañez-Yazlle**

Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI),  
Universidad Nacional de Salta (UNSa)  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET),  
Salta, Argentina.

**Viviana G. Broglia**

Banco de Germoplasma de Especies Nativas,  
Instituto de Ecología y Ambiente Humano,  
Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta (UNSa).  
Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta.

**Graciela B. Caruso**

Banco de Germoplasma de Especies Nativas,  
Instituto de Ecología y Ambiente Humano,  
Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta (UNSa).  
Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta.  
Autor correspondiente: gbcarus67@gmail.com

### RESUMEN

El tomate árbol o chilto, *Solanum betaceum* Cav., es una solanácea que crece en las yungas del Noroeste Argentino (NOA), donde es frecuente encontrarla en lugares abiertos, bordes del bosque y huertas. Sus frutos, con alta calidad nutricional, se consumen en las comunidades locales, con una revalorización de su cultivo en los últimos años. El avance de la frontera agropecuaria en la región amenaza a la diversidad y al potencial adaptativo de las especies, y entre ellas al tomate árbol, por lo que resulta imperioso estudiar la variabilidad de poblaciones locales de chilto para adoptar estrategias de conservación, manejo y mejora del cultivo. Nuestros objetivos fueron evaluar la transferibilidad de microsatélites de tomate (*S. lycopersicum* L.) a *S. betaceum* y utilizarlos para estudiar la diversidad genética de dos poblaciones silvestres del NOA. Se evaluaron 30 microsatélites (SSR), de los que se seleccionaron 13 para estimar las frecuencias genotípicas y génicas, heterocigosis media, proporción de loci polimórficos y número efectivo de alelos. Para cada locus se verificó el equilibrio. La diversidad genética se evaluó con los índices de fijación de Wright y se estimó el Coeficiente de Aislamiento Reproductivo. Se observó una elevada transferibilidad (53%); los SSR105, SSR223, SSR192, SSR295 y SSR237 fueron los más adecuados para la evaluación de la diversidad genética debido a su repetibilidad y simplicidad de patrones que facilitó su interpretación.

La proporción de loci polimórficos fue 76,92%. En la población de San Francisco se observó deficiencia de heterocigotos para tres loci, lo cual podría ser indicativo de deriva genética y/o endogamia. La población de San Lorenzo presentó mayor variabilidad genética que San Francisco, con exceso de heterocigotos en cuatro loci, lo que podría indicar algún grado de flujo génico desde otras poblaciones.

**Palabras clave:** Chilto, SSR, diversidad genética, poblaciones del NOA

#### ABSTRACT

The tree tomato or chilto, *Solanum betaceum* Cav., is a *Solanum* species that grows in the Yungas of the Argentine Northwest (NOA), particularly in open places, forest edges, and orchards. Its fruits, with high nutritional quality, are consumed by the local populations. In recent years there has been a revalorization of this crop. However, in the region, the agricultural frontier advance threatens the diversity and adaptative potential of species, including tree tomato. This situation makes it essential to study the variability of local chilto populations in order to adopt strategies for conservation, management, and improvement of the crop. Therefore, it is essential to study the variability of local chilto populations to adopt conservation and management strategies, and for the improvement of orphan crops. Our objectives were to evaluate the transferability of microsatellites from tomato (*S. lycopersicum*) to chilto and to evaluate the genetic diversity of two wild populations from the Northwest Argentina. Out of 30 evaluated SSRs, 13 were selected to estimate genotype and gene frequencies, mean heterozygosity, the proportion of polymorphic loci, and the effective number of alleles. For each locus, equilibrium was verified. Genetic diversity was evaluated with the Wright's fixation indices and the reproductive isolation coefficient was estimated. High transferability (53%) was observed; SSR105, SSR223, SSR192, SSR295, and SSR237 were the most suitable for the evaluation of genetic diversity due to their repeatability and easiness of band pattern interpretation. The proportion of polymorphic loci was 76.92%. In the San Francisco population, the heterozygous deficiency was observed for three loci, which could be indicative of genetic drift and/or inbreeding. The San Lorenzo population presented higher genetic variability than San Francisco, with an excess of heterozygotes in four loci, which could indicate some degree of gene flow from other populations.

**Keywords.** Chilto, SSR, genetic diversity, NOA populations

## INTRODUCCIÓN

El chilto o tomate árbol, *Solanum betaceum* (Cav. Sendt.), es una solanácea arbustiva nativa de los Andes subtropicales que crece en las selvas de montaña entre los 800 y 1800 m (Ayarde 2020). Se encuentra en condiciones naturales en lugares abiertos, bordes de bosque de las “yungas” y en huertas de viviendas rurales del Noroeste Argentino (NOA) (Ayarde 2020).

El fruto, una baya grande y ovalada, con coloración de amarillo a púrpura, es utilizado como alimento en las comunidades locales, que lo colectan de las poblaciones silvestres o lo cultivan en pequeña escala (Buono et al. 2018). El chilto fue introducido en países como Nueva Zelanda, Australia, Italia, Haití, el sudeste asiático y es cultivado en gran parte de Sudamérica, principalmente en Ecuador, Colombia y Perú (Ramírez y Kallarackal 2019). La alta calidad nutricional de sus frutos (Buono et al. 2018; Orqueda et al. 2020, 2017), la posibilidad de recolectarlos todo el año e implantar cultivos, entre otras características positivas, han conducido a la revalorización del chilto como una alternativa a los cultivos tradicionales (Morandini y Moro 2015).

Sin embargo, el avance de la frontera agrícola y el cambio de uso del suelo en las zonas bajas de las Yungas han incrementado la deforestación, el deterioro de los suelos y la fragmentación del hábitat, reduciendo las poblaciones de especies nativas (FAO 2008). Estos fenómenos afectan los tamaños efectivos poblacionales, intensifican la erosión genética y aceleran la diferenciación poblacional, con consecuencias negativas sobre la diversidad y el potencial adaptativo de las especies (Van De Wouw et al. 2010). Dado el potencial del chilto como recurso biológico, resulta indispensable estudiar su variabilidad fenotípica y genética para adoptar medidas de conservación y estrategias para el manejo y la mejora de los cultivos incipientes. Se han elaborado descriptores morfológicos y de rasgos agrónomicamente importantes, caracterizándose accesiones de la región andina (Acosta-Quezada et al. 2011, 2016). En las poblaciones silvestres del NOA, se ha estudiado la diversidad morfológica para caracteres de frutos y semilla (Lamas et al. 2021).

La diversidad genética del chilto y en particular de sus poblaciones silvestres, es menos conocida. Acosta-Quezada et al. (2012) encontraron una gran diversidad en accesiones y cultivares de Ecuador, Colombia, Perú, Bolivia, España y Nueva Zelanda, utilizando marcadores AFLP. Enciso-Rodríguez et al. (2010) observaron un alto grado de homocigosis y una alta diferenciación genética entre accesiones de Colombia, Costa Rica, Venezuela y Perú, utilizando marcadores nucleares polimórficos ortólogos (COS II). Entre los marcadores moleculares, los microsatélites (SSR) son ampliamente usados porque presentan ventajas como un alto grado de polimorfismo, codominancia, segre-

gación mendeliana y porque la mayoría se consideran selectivamente neutros, destacándose la posibilidad de utilizarlos entre especies del mismo género (Bron-dani et al. 2003; Gupta y Gopalakrishna 2010; Almeida et al. 2014). Haynes et al. (2017) utilizaron SSR de papa (*S. tuberosum*) para evaluar la diversidad en accesiones de *S. chacoense* y Singleton et al. (2020) utilizaron EST-SSR de tomate (*S. lycopersicum*) y *S. lycopersicoides* para evaluar la variación genética en poblaciones de *S. elagnifolium*. A su vez, Peñafiel Loaiza (2007) y Tapia et al. (2006) evaluaron la transferibilidad de SSR de papa al chilto, obteniendo amplificaciones exitosas, aunque baja proporción de loci polimórficos, por lo que estos marcadores no se consideran adecuados para revelar variabilidad en chilto.

Debido a la importancia de abordar estudios genéticos poblacionales en el chilto, se propuso utilizar un set de EST-SSR de tomate cultivado (*S. lycopersicum*), especie con la que está relacionada genéticamente (Bohs, 2007; Bedoya-Reina y Barrero, 2009). Los EST-SSR de tomate, además de presentar polimorfismos intraespecíficos muestran evidencia de conservación en otras especies de *Solanum* (Sol Genomics Network, SGN), por lo que se consideró evaluar su transferibilidad al chilto y seleccionar aquéllos que permitieran estudiar la estructura y variabilidad genética de poblaciones silvestres del NOA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo con poblaciones silvestres de chilto próximas a la localidad de San Lorenzo, Salta (24° S- 65° W) y a la localidad de San Francisco, Jujuy (23° S- 64° W), ubicadas en la República Argentina. Las muestras de brotes de plantas y de plántulas provenientes de semillas extraídas de los frutos colectados fueron molidas con nitrógeno líquido, extrayendo el ADN con un kit comercial (Master Pure Plant leaf DNA Purification Kit- EPICENTRE Biotechnologies). Cada población fue caracterizada con base en la información de 20 individuos.

De un set de aproximadamente 100 marcadores microsatélites disponibles para el tomate cultivado se seleccionaron 30 SSR, compartidos por otras especies del género y que se encuentran distribuidos en diferentes cromosomas, según la información provista por SGN (<https://solgenomics.net/>). Para la amplificación y electroforesis en geles de poliacrilamida se utilizó el protocolo de Frary et al. (2005). Como control positivo de amplificación, para determinar calidad de los geles y comparar alelos se incluyeron muestras de *S. lycopersicum* cv Uco Plata y *S. habrochaites* accesión FCN3-5 caracterizadas previamente (Caruso 2009). En cada calle se sembraron 4 µl de una mezcla 1:1 de producto de PCR y buffer de carga (NaOH 10mM; Bromo Phenol Blue 0,05%; Xilene Cyanoleff 0,05%; Formamida 95% v/v). Se sembraron dos calles con marcador de peso molecular de 100-300 pb (10bp DNA Weight Lad-

der INVITROGEN). Los fragmentos de amplificación fueron leídos e interpretados luego de la tinción con nitrato de plata según Benbouza et al. (2006).

Se utilizaron muestras de ADN de cinco plantas para seleccionar SSR con una amplificación repetible y analizable para la posterior caracterización de la totalidad del material colectado. Para los loci polimórficos se estimaron las frecuencias genotípicas y génicas en cada población y se verificó el equilibrio mediante la prueba de  $X^2$ , utilizando la fórmula de Levene (Fontdevila y Moya 1999) con corrección de la heterocigosis esperada para muestras pequeñas. Para cada población se estimaron: Proporción de loci polimórficos ( $P$ ), Número de alelos por microsatélite ( $na$ ) y promedio, número efectivo de alelos ( $ne$ ) (Fontdevila y Moya 1999). La Heterocigosis media observada de las poblaciones se comparó con una prueba  $t$  apareada (Di Rienzo et al. 2008). La diversidad genética se evaluó a través de los índices  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  y  $F_{IT}$  y del Coeficiente de aislamiento reproductivo ( $N_m$ ) (Fontdevilla y Moya 1999). El índice  $F_{IS}$ , representa la correlación entre los genes de los individuos y los de la subpoblación, el índice  $F_{IT}$ , la correlación entre los genes de los individuos y los de la población total y el índice  $F_{ST}$ , representa la correlación entre los genes de la subpoblación y los de la población total, evaluando la diferenciación entre poblaciones. El Coeficiente de Aislamiento Reproductivo ( $N_m$ ) se estimó en función de las frecuencias genotípicas y de

$F_{ST}$  (Acreche 2007). El análisis genético se realizó utilizando el programa PopGene32 (Yeh et al. 1999).

## RESULTADOS

De los 30 microsatélites evaluados, amplificaron 16 y de estos últimos, 13 presentaron patrones de bandas consistentes, por lo que fueron utilizados para analizar la totalidad de las muestras de chilto de las dos poblaciones. De los 13 SSR evaluados, 10 (77%) fueron polimórficos (Tabla 1), aunque cada población presentó 9 loci polimórficos (69%). Los microsatélites SSR450, SSR555 y SSR603 resultaron monomórficos en ambas poblaciones. SSR295 y SSR60800 en San Lorenzo y SSR223 en San Francisco presentaron alelos específicos de cada población (alelos privados) (Tabla 2).

Tres de los loci polimórficos en San Francisco y dos en San Lorenzo no presentaron equilibrio Hardy-Weinberg. En ambas poblaciones, SSR214 y SSR56555, mostraron exceso de heterocigotos y se los excluyó de los siguientes análisis, ante la posibilidad de que el exceso observado fuera resultado de una interpretación errónea en la lectura de los geles, con la consecuente definición incorrecta de genotipos y alelos (Tabla 3). Al evaluar ambas poblaciones en conjunto, cuatro loci no presentaron equilibrio: SSR105, SSR192, SSR237 y SSR345.

**Tabla 1.** SSR seleccionados para evaluar las poblaciones de *S. betaceum*

| SSR   | Cr | T°; [Cl <sub>2</sub> Mg] | Sb          | Sl  | Sh  |
|-------|----|--------------------------|-------------|-----|-----|
| 105   | 1  | 52 [2,5]                 | 182/185     | 185 | 180 |
| 42    | 1  | 50 [2,5]                 | 100/95      | 185 | 178 |
| 192   | 1  | 50 [1,5]                 | 170/165     | 165 | 150 |
| 295   | 2  | 55 [2,5]                 | 230/225     | 205 | 200 |
| 214   | 4  | 50 [1,5]                 | 240/220     | 230 | 240 |
| 450   | 4  | 55 [2,5]                 | 219         | 270 | 270 |
| 555   | 4  | 41[2,5]                  | 270         | 235 | 198 |
| 603   | 4  | 50 [2,5]                 | 210         | 260 | 250 |
| 60800 | 4  | 55 [2,5]                 | 185/155/125 | 185 | 180 |
| 56555 | 9  | 55 [2,5]                 | 270/260     | 295 | 222 |
| 237   | 9  | 55 [2,5]                 | 168/150     | 175 | 165 |
| 223   | 10 | 55 [2,5]                 | 203/175     | 190 | 185 |
| 345   | 12 | 60 [1,5]                 | 210/215     | 178 | 185 |

Cr: cromosoma; T°: Temperatura de hibridación; [Cl<sub>2</sub>Mg]: Concentración de cloruro de magnesio; Sb: Alelos descriptos (en pares de bases, pb) para *S. betaceum*; Sl: Alelos descriptos (en pares de bases, pb) para *S. lycopersicum* cv UP. Sh: Alelos descriptos (en pares de bases, pb) para *S. habrochaites* – FCN 3-5

**Tabla 2.** Frecuencias alélicas por población y total de los SSR polimórficos

| SSR   | San Francisco |      |   | San Lorenzo |      |      | Promedio |      |      |
|-------|---------------|------|---|-------------|------|------|----------|------|------|
|       | 1             | 2    | 3 | 1           | 2    | 3    | 1        | 2    | 3    |
| 105   | 0,50          | 0,50 |   | 0,68        | 0,32 |      | 0,59     | 0,41 |      |
| 42    | 0,32          | 0,68 |   | 0,39        | 0,61 |      | 0,35     | 0,65 |      |
| 192   | 0,45          | 0,55 |   | 0,45        | 0,55 |      | 0,45     | 0,55 |      |
| 295   | 0,00          | 1,00 |   | 0,05        | 0,95 |      | 0,05     | 0,95 |      |
| 214   | 0,36          | 0,64 |   | 0,32        | 0,68 |      | 0,34     | 0,66 |      |
| 60800 | 0,10          | 0,90 |   | 0,12        | 0,86 | 0,02 | 0,11     | 0,88 | 0,01 |
| 56555 | 0,32          | 0,68 |   | 0,50        | 0,50 |      | 0,41     | 0,59 |      |
| 237   | 0,29          | 0,71 |   | 0,21        | 0,79 |      | 0,25     | 0,75 |      |
| 223   | 0,02          | 0,98 |   | 0,00        | 1,00 |      | 0,01     | 0,99 |      |
| 345   | 0,18          | 0,82 |   | 0,32        | 0,67 |      | 0,25     | 0,75 |      |

\* 1, 2 y 3: denominación de los alelos considerando el tamaño de pares de bases en forma creciente.

**Tabla 3.** Equilibrio Hardy-Weinberg por población y total

| SSR   | San Francisco  |        | San Lorenzo    |        | Total          |        |
|-------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|
|       | X <sup>2</sup> | p      | X <sup>2</sup> | p      | X <sup>2</sup> | p      |
| 105   | 6,315          | 0,012* | 0,139          | 0,719  | 5,087          | 0,024* |
| 42    | 11,883         | 0,001* | 1,510          | 0,219  | 1,404          | 0,236  |
| 192   | 3,527          | 0,060  | 1,513          | 0,219  | 4,491          | 0,034* |
| 295   | Monomórfico    |        | 0,024          | 0,876  | 0,012          | 0,917  |
| 60800 | 26,057         | 0,000* | 0,476          | 0,924  | 6,761          | 0,080  |
| 237   | 2,924          | 0,087  | 5,706          | 0,017* | 7,147          | 0,007* |
| 223   | <0,001         | >0,999 | Monomórfico    |        | <0,001         | >0,999 |
| 345   | 0,933          | 0,334  | 4,222          | 0,040* | 4,409          | 0,036* |

X<sup>2</sup> Estadístico Chi cuadrado y probabilidad asociada (p); \*diferencias significativas respecto al equilibrio

En San Francisco, SSR105, SSR42 y SSR60800 no presentaron equilibrio. Estos loci junto a SSR237 y SSR192 mostraron deficiencia de heterocigotos (FIS positivo), mientras que en SSR345 se observó un exceso de heterocigotos no significativo (Tabla 4 y 5) con FIS negativo. En San Lorenzo dos loci no presentaron equilibrio SSR345 y SSR237. Cuatro loci mostraron valores negativos de FIS, lo que indica exceso de heterocigotos, mientras que dos, presentaron valores positivos indicadores de endogamia y otros dos valores próximos a cero, indicadores de panmixis. Del análisis de los índices de fijación de Wright se deduce un grado bajo de diferenciación entre ambas poblaciones (F<sub>ST</sub> positivos aunque cercanos a cero). La mayoría de los valores del Coeficiente de aislamiento reproductivo (*N<sub>m</sub>*) se estimaron entre 5 y 50, mostrando efectos moderados de la deriva e indicando un cierto grado

de aislamiento reproductivo entre ambas poblaciones. El particular valor elevado de *N<sub>m</sub>* para SSR192 refleja la similitud en frecuencias génicas y genotípicas de ambas poblaciones (F<sub>ST</sub><0,001). En San Francisco se obtuvo el mayor valor de *ne* en SSR105 y en San Lorenzo en SSR192. El menor *ne* se observó en SSR223 para las dos poblaciones (Tabla 4). Las poblaciones presentaron diferencias significativas en la heterocigosis media (*t*=2,15; *p*=0,03), siendo San Lorenzo la población con mayor variabilidad (Tabla 4).

## DISCUSIÓN

En el NOA, el aprovechamiento y cultivo del chilto se encuentra marginado a comunidades locales, aunque recientemente está siendo revalorizado dado

Tabla 4. Medidas de variabilidad genética para los loci polimórficos

| SSR   | San Francisco |      |       |      | San Lorenzo |      |       |      | Total |      |      |      |
|-------|---------------|------|-------|------|-------------|------|-------|------|-------|------|------|------|
|       | na            | ne   | ho    | he   | na          | ne   | ho    | he   | na    | ne   | ho   | he   |
| 105   | 2             | 2,00 | 0,24* | 0,51 | 2           | 1,95 | 0,41  | 0,45 | 2     | 1,95 | 0,32 | 0,49 |
| 192   | 2             | 1,98 | 0,30  | 0,51 | 2           | 1,98 | 0,37  | 0,51 | 2     | 1,98 | 0,33 | 0,50 |
| 295   | 1             | 1,00 | 0,00  | 0,00 | 2           | 1,05 | 0,09  | 0,09 | 2     | 1,05 | 0,04 | 0,04 |
| 223   | 2             | 1,04 | 0,04  | 0,04 | 1           | 1,00 | 0,00  | 0,00 | 2     | 1,02 | 0,02 | 0,02 |
| 237   | 2             | 1,70 | 0,26  | 0,42 | 2           | 1,62 | 0,14* | 0,35 | 2     | 1,62 | 0,21 | 0,39 |
| 214   | 2             | 1,86 | 0,72  | 0,47 | 2           | 1,80 | 0,61  | 0,44 | 2     | 1,80 | 0,67 | 0,45 |
| 56555 | 2             | 1,76 | 0,53  | 0,44 | 2           | 1,95 | 0,74  | 0,51 | 2     | 1,95 | 0,64 | 0,49 |
| 345   | 2             | 1,42 | 0,36  | 0,30 | 2           | 1,60 | 0,65* | 0,45 | 2     | 1,60 | 0,50 | 0,38 |
| 42    | 2             | 1,76 | 0,10* | 0,44 | 2           | 1,85 | 0,61  | 0,49 | 2     | 1,85 | 0,38 | 0,46 |
| 60800 | 2             | 1,22 | 0,00* | 0,18 | 3           | 1,30 | 0,28  | 0,26 | 3     | 1,28 | 0,15 | 0,22 |
| Media | 1,7           | 1,44 | 0,20  | 0,26 | 1,77        | 1,50 | 0,30  | 0,27 | 1,85  | 1,47 | 0,25 | 0,27 |

na: número de alelos observado; ne: número efectivo de alelos; ho: heterocigosis observada; he: heterocigosis esperada. En el cálculo de las medias se incluyeron los loci monomórficos. \*diferencias significativas.

Tabla 5. Índices de fijación de Wright (Fis, FIT y Fst) y Coeficiente de Aislamiento Reproductivo (Nm)

| Locus    | FIS           |             | FIT    | FST    | Nm    |
|----------|---------------|-------------|--------|--------|-------|
|          | San Francisco | San Lorenzo |        |        |       |
| SSR105   | 0,524         | 0,059       | 0,329  | 0,032  | 7,53  |
| SSR192   | 0,394         | 0,255       | 0,324  | <0,001 | 1000  |
| SSR295   | -             | -0,048      | -0,023 | 0,023  | 10,50 |
| SSR223   | -0,022        | -           | -0,011 | 0,011  | 22,50 |
| SSR237   | 0,360         | 0,576       | 0,461  | 0,007  | 33,08 |
| SSR345   | -0,222        | -0,481      | -0,339 | 0,027  | 8,98  |
| SSR42    | 0,756         | -0,278      | 0,219  | 0,006  | 39,83 |
| SSR60800 | >0,999        | -0,140      | 0,338  | 0,003  | 77,82 |

su potencial económico y productivo. El objetivo del trabajo fue evaluar la transferibilidad de marcadores microsatélites del tomate al chilto y utilizarlos para caracterizar la diversidad genética en dos poblaciones del NOA.

La evaluación de la diversidad de poblaciones locales no sólo tiene aplicaciones en las decisiones de conservación, sino que permite conocer el reservorio genético de la especie para su futuro mejoramiento (Castillo et al. 2020). El uso de marcadores moleculares contribuye a comprender los procesos pasados de domesticación, determinar el tamaño efectivo de las poblaciones y evaluar los procesos de domesticación futura (Arias et al. 2012).

El éxito de las técnicas moleculares para la evalua-

ción de la diversidad genética depende de la obtención de ADN de alta calidad. En coincidencia con lo informado por Peñafiel Loaiza (2007), la mejor calidad de ADN se obtuvo de plántulas germinadas en condiciones controladas. En relación a los objetivos planteados, los SSR de tomate mostraron una elevada transferibilidad (53%) al chilto y permitieron evaluar la diversidad genética en dos poblaciones del NOA. Los SSR105, SSR223, SSR192, SSR295 y SSR237 fueron los más adecuados para la evaluación de la diversidad genética debido a la nitidez, repetibilidad e interpretación de las amplificaciones.

En general, la transferibilidad está limitada a especies del mismo género, reportándose niveles medios a altos (50- 100%), aunque su utilidad depende princi-

palmente de la cantidad de polimorfismo que muestran, variando entre el 20-100% (Peakall et al. 1998). La transferibilidad al chilto de los microsatélites de tomate cultivado (53%) fue superior a la descrita por Peñafiel Loaiza (2007) y Tapia et al. (2006) en los de papa (28%), que además revelaron escasa variabilidad (7,5% de loci polimórficos) respecto al 77% de loci polimórficos informados y analizados en este trabajo. Nuestros resultados indican que existe variabilidad intra e interpoblacional destacándose que el uso de marcadores codominantes ofrece mayor información genotípica y polimorfismos muy elevados (Belaj et al. 2003; Garcia et al. 2004). Otros autores como Acosta-Quezada et al. (2012), Ordoñez (2007) y Vargas (2008) utilizando marcadores dominantes como AFLP encontraron entre 40% y 60% de polimorfismo en materiales de Ecuador y otros países, mientras que Chalampiente y Prado (2005) concluyeron que la variabilidad morfológica observada no tenía contrapartida con la escasa variabilidad genética detectada con RAPDs. El carácter dominante de estos marcadores trae aparejado una pérdida de información, respecto al uso de los SSR codominantes utilizados en este trabajo.

Las diferencias entre poblaciones en las frecuencias alélicas y genotípicas de marcadores considerados neutros, como los SSR, puede explicarse por la deriva genética resultante de tamaños poblacionales pequeños, cuellos de botellas, efecto fundador y/o aislamiento prolongado (Eguiarte et al. 2010). En este trabajo, se encontraron alelos privados del SSR60800 en San Lorenzo, y del SSR223 en San Francisco indicadores de la diferenciación.

El exceso de heterocigotos para los SSR214 y SSR56555 en ambas poblaciones indicaría la necesidad de evaluar la segregación de estos marcadores antes de hacer extensivo su uso a otras poblaciones, de manera de eliminar la posibilidad de interpretación errónea de los patrones de bandas. En San Francisco se observó una tendencia hacia la deficiencia de heterocigotos, con valores positivos y más elevados de FIS, indicadores de deriva genética y/o endogamia. Estos resultados son similares a los obtenidos por Enciso Rodríguez et al. (2010), con un promedio de FIS igual a 0,86 por accesión, encontrando una alta homocigosis. En San Lorenzo la mayoría de los loci muestran la tendencia opuesta y sólo SSR237 presenta una deficiencia significativa. Valores negativos de FIS fueron obtenidos por Cárdenas Contreras (2009) trabajando con híbridos intervarietales.

Considerando globalmente todos los parámetros: heterocigosis por locus y promedio, número efectivo de alelos por locus, etc. en general menores en San Francisco que en San Lorenzo, los mismos indican que San Lorenzo presenta mayor variabilidad genética y muestra algunos indicios de flujo génico desde otras poblaciones (algunos loci con FIS negativos). San Francisco, con menor variabilidad genética y más loci con FIS positivos presentaría las consecuencias de la

deriva/ endogamia. Al analizar el conjunto San Francisco-San Lorenzo como una sola población, la falta de equilibrio en cuatro loci, el déficit de heterocigotos, valores de FST en general positivos pero bajos y de  $Nm$  entre 5 y 50 para la mayoría de los loci, indican algún grado de diferenciación poblacional y moderada sujeción a deriva. El valor de FST menor que los de FIS y FIT (Tabla 5), indica que las diferencias entre individuos estarían contribuyendo más a la variabilidad total que las diferencias entre las subpoblaciones. Es decir que en la estructura jerárquica del conjunto San Francisco-San Lorenzo, el bajo grado de subdivisión poblacional permitiría proponer a San Francisco como una suerte de población marginal respecto a San Lorenzo, lo que se evidencia en la menor variabilidad observada.

## CONCLUSIONES

La transferibilidad de microsatélites de tomate al chilto fue exitosa. Se recomienda, en particular, el uso de los microsatélites SSR105, SSR223, SSR192, SSR295 y SSR237 debido a la nitidez, repetibilidad e interpretación de las amplificaciones. La población de San Lorenzo presentó mayor variabilidad genética que San Francisco, observándose en esta última mayores efectos de deriva. El análisis conjunto de ambas poblaciones indica algún grado de diferenciación entre San Francisco y San Lorenzo. San Lorenzo contendría mayor variabilidad genética que San Francisco, proponiéndose las siguientes hipótesis: San Francisco constituye un relicto poblacional, semiaislado y con efectos de cuello de botella, o se comporta como una población marginal en incipiente diferenciación.

## REFERENCIAS

- Acosta-Quezada, P.G., Martínez-Laborde, J.B., Prohens, J., 2011. Variation among tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) accessions from different cultivar groups: Implications for conservation of genetic resources and breeding. *Genet. Resour. Crop Evol.* 58, 943–960.
- Acosta-Quezada, P.G., Riofrío-Cuenca, T., Rojas, J., Vilanova, S., Plazas, M., Prohens, J., 2016. Phenological growth stages of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an emerging fruit crop, according to the basic and extended BBCH scales. *Sci. Hortic.* 199, 216–223.
- Acosta-Quezada, P.G., Vilanova, S., Martínez-Laborde, J.B., Prohens, J., 2012. Genetic diversity and relationships in accessions from different cultivar groups and origins in the tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). *Euphytica* 187, 87–97.
- Almeida, N.F., Leitão, S.T., Caminero, C., Torres, A.M., Rubiales, D., Vaz Patto, M.C., 2014. Transferability of molecular markers from major legumes

- to *Lathyrus* spp. for their application in mapping and diversity studies. *Mol. Biol. Rep.* 41, 269–283.
- Arias, R.S., Borrone, J.W., Tondo, C.L., Kuhn, D.N., Irish, B.M., Schnell, R.J., 2012. Genomics of Tropical Fruit Tree Crops, in: R.J. Schnell and P.M. Priyadarshan (Ed.), *Genomics of Tree Crops*. Springer Science+Business Media, pp. 1–369.
- Ayarde Hugo, 2020. Universo Tucumano 50 - *Solanum betaceum* (Ayarde). *Universo Tucumán*. 50, 3–12.
- Bedoya-Reina, O., Barrero, L.S., 2009. Phylogeny of lulo, tree tomato and their wild relatives Filogenia de lulo, tomate de árbol y sus parientes silvestres. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 10(2), 180-190.
- Belaj, A., Satovic, Z., Cipriani, G., Baldoni, L., Testolin, R., Rallo, L., Trujillo, I., 2003. Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. *Theor. Appl. Genet.* 107, 736–744.
- Benbouza, H., Jacquemin, J.M., Baudoin, J.P., Mergeai, G., 2006. Optimization of a reliable, Fast, Cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Société Environ.* 10, 77–81.
- Brondani, C., Rangel, P. H. N., Borba, T. C. O., & Brondani, R. P. V., 2003. Transferability of microsatellite and sequence tagged site markers in *Oryza* species. *Hereditas*, 138(3), 187-192.
- Buono, S., Aguirre, C., Abdo, G., Perondi, H., Ansonaud, G., 2018. Tomate árbol, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 18 pp.
- Cárdenas Contreras Z. E., 2009. Identificación de híbridos en lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y tomate árbol (*Solanum betaceum* Cav.) mediante el uso de marcadores Cos II. Trabajo de grado para Magister en Cs. Biológicas. Bogotá, Colombia. 121pp.
- Caruso, G., 2009. Caracterización y evaluación del grado de introgresión de *Solanum habrochaites* en dos líneas seleccionadas de tomate (Segunda parte). Informe final Trabajo N°1812. Consejo de Investigación, Universidad Nacional de Salta.
- Castillo, N.R., Ambachew, D., Melgarejo, L.M., Blair, M.W., 2020. Morphological and agronomic variability among cultivars, landraces, and genebank accessions of purple passion fruit, *passiflora edulis* f. *edulis*. *HortScience* 55, 768–777.
- Chalampunte D. y Prado P., 2005. Caracterización morfoagronómica y molecular de la colección de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt) del banco de germoplasma del INIAP, Ecuador. Pontificia Universidad Católica de Ecuador. Tesis de grado. 153 pp.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W., 2008. InfoStat, versión 2008. Grupo Infostat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 115.
- Enciso-Rodríguez F., Martínez R., Lobo M. y Barrero L. S., 2010. Genetic variation in the Solanaceae fruit bearing species lulo and tree tomato revealed by Conserved Ortholog (COSII) markers. *Genetics and Molecular Biology*, 33 (2):271-278.
- Eguiarte, L., Aguirre, E., Scheinvar, E., González, A., & Souza, V., 2010. Flujo génico, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en especies de plantas mexicanas. Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, 1-30.
- FAO, 2008. Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. 45 pp.
- Fontdevila, A., Moya, A., 1999. Introducción a la genética de poblaciones. Ed. Síntesis. Madrid. 349 pp.
- Frary, A., Xu, Y., Liu, J., Mitchell, S., Tedeschi, E., Tanksley, S., 2005. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theor. Appl. Genet.* 111, 291–312.
- García, A.A.F., Benchimol, L.L., Barbosa, A.M.M., Geraldini, I.O., Souza, C.L., Souza, A.P. de, 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines Antonio. *Genet. Mol. Biol.* 27, 3069–3075.
- Gupta, S.K., Gopalakrishna, T., 2010. Development of unigene-derived SSR markers in cowpea (*Vigna unguiculata*) and their transferability to other *Vigna* species. *Genome* 53, 508–523.
- Haynes, K. G., Zaki, H. E., Christensen, C. T., Ogden, E., Rowland, L. J., Kramer, M., & Zotarelli, L., 2017. High levels of heterozygosity found for 15 SSR loci in *Solanum chacoense*. *American journal of potato research*, 94(6), 638-646.
- Lamas, C.Y., Urtasun, M.M., Giamminola, E.M. et al. Fruit and seed characterization of wild populations of a traditional Andean crop: *Solanum betaceum* Cav. (Solanaceae) in the Argentinian Yungas. *Genet Resour Crop Evol* (2021). <https://doi.org/10.1007/s10722-021-01223-3>.
- Morandini, M.N., Moro, J.P., 2015. Uso sustentable: una herramienta para la conservación de la biodiversidad y la inclusión social. Equipo territorial Eco-región Yungas. Proyecto Uso Sustentable de la Biodiversidad.
- Ordoñez, S., 2007. Diferenciación de variedades en cultivos de Tomate de Árbol, *Solanum betaceum* mediante la técnica molecular AFLP. Tesis de Licenciatura. Quito: USFQ, 2007. 84 pp.
- Orqueda, M.E., Rivas, M., Zampini, I.C., Alberto, M.R., Torres, S., Cuello, S., Sayago, J., Thomas-Valdes,



- S., Jiménez-Aspee, F., Schmeda-Hirschmann, G., Isla, M.I., 2017. Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilto (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. Phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress. *Food Chem.* 216, 70–79.
- Orqueda, M.E., Torres, S., Zampini, I.C., Cattaneo, F., Di Pardo, A.F., Valle, E.M., Jiménez-Aspee, F., Schmeda-Hirschmann, G., Isla, M.I., 2020. Integral use of Argentinean *Solanum betaceum* red fruits as functional food ingredient to prevent metabolic syndrome: effect of in vitro simulated gastroduodenal digestion. *Heliyon* 6. 13 pp.
- Peakall, R., Gilmore, S., Keys, W., Morgante, M., Rafalski, A., 1998. Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: Implications for the transferability of SSRs in plants. *Mol. Biol. Evol.* 15, 1275–1287.
- Peñafiel-Loaiza N., 2007. Evaluación de la variabilidad genética del tomate árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en los cultivos de tres provincias de Ecuador por medio de marcadores microsatélites. Proyecto final presentado para la obtención del título de B.S. en Biotecnología y Ecología aplicada. Quito, Ecuador. 97pp.
- Ramírez, F., Kallarackal, J., 2019. Tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) reproductive physiology: A review. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 248, 206–215.
- Singleton, J.J., Mangat, P.K., Shim, J., Vavra, C., Col-dren, C., Angeles-Shim, R.B., 2020. Cross-species transferability of *Solanum* spp. DNA markers and their application in assessing genetic variation in silverleaf nightshade (*Solanum elaeagnifolium*) populations from Texas, USA. *Weed Sci.* 68, 396–404.
- Tapia C., Zambrano E., and Morillo E., 2006. Tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt.), frutal promisorio para la diversificación del agro andino. Informe de Proyecto ejecutado por INIAP/DENAREF.
- Van De Wouw, M., Kik, C., Van Hintum, T., Van Treuren, R., Visser, B., 2010. Genetic erosion in crops: Concept, research results and challenges. *Plant Genet. Resour. Characterization Util.* 8, 1–15.
- Vargas, L.E.L., 2008. Caracterización de dos poblaciones segregantes de Tomate de Árbol (*Solanum betaceum*) mediante marcadores moleculares AFLP Tesis de Licenciatura. Quito: USFQ, 2008. 102 pp.
- Yeh, F.C., Yang, R., Boyle, T., Ye, Z., Xiyan, J., 1999. POPGENE 32, Microsoft Window-based Free-ware for Population Genetic Analysis.