



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
VENEZUELA

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
POSTGRADO EN BIOLOGÍA CELULAR

www.bdigital.ula.ve

**Un aporte para la caracterización de las papas nativas
merideñas**

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito parcial para optar al
grado de **Magister Scientiae en Biología Celular**

DONACION

SERBIULA
Tullio Febres Cordero

Lic. Katherina Boscán
Tutor: Dr. Gustavo Fermín

Mérida, Noviembre de 2009

El presente trabajo fue realizado en la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro Jardín Botánico, bajo la tutoría del Dr. Gustavo Fermín, y en el Laboratorio de Fitopatología (IIAP-ULA), bajo la supervisión del M. Sc. Luis Cedeño, como requisito para optar al título de Magister Scientiae en Biología Celular. Esta investigación fue financiada parcialmente por los proyectos: FUNDACITE-Mérida CF-06-42 y BID-FONACIT II 26104; así mismo, la Lic. Boscán fue favorecida con el contrato de beca FONACIT para la formación de talento de alto nive: 200700974 y 200600547

www.bdigital.ula.ve **A mis hijos....,**
por impulsarme cada día a ser un mejor ser humano, por ellos y para
ellos....

Y a ti Robert, por estar a mi lado

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	1
Hipótesis.....	6
Justificación de la investigación.....	7
Objetivos.....	8
CAPÍTULO I	
LAS PAPAS COMO OBJETO DE ESTUDIO BIOLÓGICO, HISTÓRICO Y DE CONSUMO EN VENEZUELA.....	10
Evolución, domesticación y centros de origen de las plantas cultivadas..	10
La papa como cultivo.....	16
La papa como producto alimenticio.....	27
Papas silvestres.....	29
Especies de papas silvestres reportadas en Venezuela.....	31
Papas nativas.....	46
Enfermedades que afectan el cultivo de la papa: la candelilla tardía.....	50
CAPÍTULO II	
HISTORIA DEL CULTIVO DE LA PAPA EN LOS ANDES VENEZOLANOS.....	56
Argumentos que respaldan el cultivo de papas entre los habitantes de Los Andes.....	57
Evidencias de la producción y consumo de papas en Los Andes venezolanos por parte de civilizaciones prehispánicas.....	60
Cultivo de la papa en el estado Mérida durante el siglo XVI.....	68
Cultivo de papas durante el siglo XVII.....	74
Cultivo de papas durante el siglo XVIII.....	75
Cultivo de papas durante el siglo XIX.....	77
Cultivo de la papa en el estado Mérida durante el siglo XX.....	85
La introducción de papas extranjeras en el estado Mérida.....	85
Posible Relación entre las papas nativas Venezolanas y las papas nativas Canarias.....	93
Denominaciones de papas nativas merideñas reportadas.....	99
Discusión.....	104
Conclusiones.....	107
Recomendaciones.....	108
CAPÍTULO III	
USO DE HERRAMIENTAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA CARACTERIZACIÓN DE PAPAS NATIVAS MERIDEÑAS.....	109
Descripción de los marcadores moleculares seleccionados.....	111

Materiales y Métodos.....	115
Resultados.....	127
Discusión.....	150
Conclusiones.....	156
CAPÍTULO IV	
EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A <i>P. INFESTANS</i> EN PAPAS NATIVAS BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.....	157
Materiales y métodos.....	168
Resultados.....	176
Discusión.....	192
Conclusiones.....	195
DISCUSIÓN GENERAL.....	196
CONCLUSIONES GENERALES.....	210
RECOMENDACIONES.....	211
REFERENCIAS.....	213
ANEXOS.....	223

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1 Relaciones evolutivas entre las papas cultivadas y sus niveles de ploidía, según Hawkes (1990).....	18
2 Origen de las papas cultivadas según Grun.....	20
3 Ilustración botánica de <i>Solanum tuberosum</i>	23
4 Diversidad de especies de papas silvestres en el continente Americano	32
5 Hábitat de papas silvestres.....	33
6 Flores de papas silvestres y cultivadas.....	34
7 Formas de vida de papas silvestres.....	35
8 Frutos de papas silvestres.....	36
9 Tubérculos de papas silvestres.....	37
10 <i>Solanum paramoense</i>	38
11 Imágenes de <i>Solanum colombianum</i>	40
12 Fotografía de un ejemplar de herbario de <i>Solanum subpanduratum</i> ..	41
13 <i>Solanum otites</i> cultivada en invernadero del CIP.....	43
14 Ilustración botánica de <i>Solanum flahualtii</i>	44
15 Ilustración botánica de <i>Solanum woodsonii</i>	45
16 Ilustración botánica de <i>Solanum filamentum</i>	47
17 Imágenes de algunas papas nativas cultivadas actualmente en el páramo.....	49
18 Sembrado de papa en la localidad de Pueblo Hondo, Edo. Táchira afectado por <i>Phytophthora infestans</i>	53
19 Ciclo de vida de <i>Phytophthora infestans</i>	55
20 Mapa antiguo de Colombia siglo XVI-XIX.....	59

21	Mapa del norte de Suramérica desde 4° de latitud sur hasta el 12° de latitud norte, elaborado según referencias de mediados del siglo XVI prehispanicos donde se indican las áreas de cultivo de papa.....	62
22	Michiruy, <i>Draba bellardii</i>, planta utilizadas como acompañamiento de las papas.....	66
23	Fotografía de una zona del páramo andino; donde crece la mostaza negra <i>Brassica nigra</i>.....	67
24	Mapa antiguo de Colombia y Venezuela del siglo XVIII grabada por Guillermo Delisle.....	71
25	Mapa del Estado Mérida donde se recreo parte del camino seguido por los primeros conquistadores de Mérida y la ubicación aproximada del Valle de Las Turmas.....	72
26	Impresiones foliográficas de “Papa china”, “Papa negra” y “Papa surbarana” cultivadas en los alrededores de Mérida finales del siglo XIX.....	82
27	Impresiones foliográficas de Papa granada, Papa plancheta cultivadas en los alrededores de Mérida finales del siglo XIX.....	83
28	Gel de agarosa al 1,5% mostrando los fragmentos amplificados de ARN 5S de algunas de las variedades utilizadas en el ensayo.....	129
29	Fotografía de gel de agarosa 1% mostrando bandas obtenidas por 1µl de ADN ARNr 5S purificado.....	131
30	Gel de agarosa al 0,8% mostrando el producto de PCR obtenido a partir de la amplificación con los cebadores <i>rbcL</i>.....	134
31	Gel de agarosa al 0,8% mostrando los fragmentos amplificados con los cebadores <i>rp/16</i>.....	135
32	Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de <i>rbcL</i> Forward, por el método Neighbor Joining sin bootstrap.....	136
33	Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de nucleótidos <i>rbcL</i> Forward, por el método UPGMA.....	137
34	Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de <i>rbcL</i> Forward, por el método de máxima parsimonia.....	138

35	Alineamiento de las secuencias de aminoácidos del fragmento <i>rbcl</i> que muestra las diferencias con respecto a la secuencia de la variedad Rosada 2.....	139
36	Cladograma obtenido a partir de un alineamiento de secuencias de aminoácidos <i>rbcl</i>, utilizando el método de máxima parsimonia.....	140
37	Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de aminoácidos <i>rbcl</i>, por el método “Neigbord Joinin”.....	141
38	Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de aminoácidos <i>rbcl</i>, utilizando el método UPGMA.....	142
39	Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias del gen <i>rp16</i>, utilizando el método UPGMA.....	143
40	Cladograma de las secuencias <i>rp16</i> obtenido por el método de “Neighbor Joinig”.....	144
41	Cladograma de las secuencias <i>rp16</i> obtenido por el método de Máxima parsimonia.....	145
42	Gel de agarosa al 1,5% mostrando el producto de amplificación con el cebador STM 0030.....	147
43	Cladograma editado mostrando la ubicación de las papas nativas respecto a las papas silvestres y a las cultivadas.....	149
44	Modelo de la interacción molecular entre <i>Phytophthora infestans</i> y las plantas susceptibles y resistentes.....	163
45	Modelo esquemático del ciclo de infección de <i>P. infestans</i> en plantas. A; susceptibles, B y C; plantas resistentes.....	167
46	Mapa de los estados Mérida y Táchira indicando los lugares de procedencia de los aislados de <i>P. infestans</i> utilizados en el ensayo....	170
47	Micelio de <i>P. infestans</i> crecido en medio avena.....	171
48	Fotografía mostrando parte del procedimiento para la preparación de la suspensión de zoosporangios.....	173
49	Esquema general del procedimiento de inoculación.....	177
50	Folíolos del cultivar “Andinita” a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>.....	179

51	Folículos del cultivar “Petacona” a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	180
52	Hojas de <i>Physalis sp.</i> a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	182
53	Folículos del cultivar “Arbolona negra” a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	183
54	Folículos del cultivar “Granola” a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	185
55	Folículos del cultivar R4 (<i>S. tuberosum</i> X <i>S. demissum</i>) a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	187
56	Folículos del cultivar R1R2R4 (<i>S. tuberosum</i> X <i>S. demissum</i>) a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	188
53	Folículos del cultivar R9 (<i>S. tuberosum</i> X <i>S. demissum</i>) a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de <i>P. infestans</i>	190

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1 Diferencias entre formas silvestres y domesticadas que cambian durante el proceso de domesticación.....	14
2 Resumen de los tratamientos taxonómicos aplicados a las papas cultivadas a nivel de especies, con excepción de <i>S. tuberosum</i> en el cual se listan subespecies.....	25
3 Referencias a precios de las papas en el estado Mérida a finales del siglo XIX.....	79
4 Parroquias pertenecientes a los departamentos Rangel, Miranda, Rivas Dávila y Tovar del Estado Mérida, que cultivaban papas en 1877.....	80
5 Producción por rubro agrícola en la jurisdicción de la Diócesis de Mérida en 1909.....	86
6 Variedades de papas aptas para las distintas alturas cultivadas en Venezuela.....	94
7 Reportes de Papas nativas en algunas localidades del estado Mérida.....	101
8 Material vegetal utilizado en el ensayo.....	117
9 Secuencias ARNr 5S de <i>Solanum</i> reportadas en el “genebank” seleccionadas.....	120
10 Características de los cebadores microsatélites seleccionados.....	128
11 Aislados de <i>P. infestans</i> seleccionados para el ensayo de infección..	169
12 Origen del material vegetal utilizado en el ensayo de resistencia hacia <i>P. infestans</i>	175
13 Identificación de razas de <i>Phytophthora infestans</i> mediante el uso de los diferenciales R.....	191
14 Resultados de respuesta HR 36 horas luego de la inoculación con los aislados de <i>P. infestans</i>	192

INTRODUCCIÓN

QUIÉNES SON Y DE DÓNDE PROVIENEN LAS QUE ACTUALMENTE DENOMINAMOS PAPAS NATIVAS DE VENEZUELA

Desde la aparición de la agricultura se ha generado una enorme diversidad en el número de plantas empleadas en la producción agrícola. Basándose en esta diversidad, la mejora genética formal ha hecho posible un aumento muy importante de la productividad agrícola a nivel mundial. Sin embargo, el uso que se ha hecho de las herramientas de mejora disponibles ha contribuido, por otro lado, a la sustitución de las variedades locales tradicionales por cultivares modernos de amplia difusión y genéticamente uniformes, lo cual ha llevado a una pérdida de diversidad no sostenible. El mantenimiento de la biodiversidad en la producción agrícola es necesario ya que permite la salvaguarda de los recursos fitogenéticos, la explotación de las interacciones genotipo-medio y una mayor estabilidad de la producción; contribuye, asimismo, a la mejora de las condiciones de vida de muchos agricultores, conserva los conocimientos etnobotánicos y permite conservar el ambiente (Nuez *et al.* 1997).

Los recursos fitogenéticos constituyen la base biológica para la seguridad alimentaria mundial; están formados por la diversidad del material genético que contienen las variedades tradicionales y los cultivares modernos, así como por las plantas silvestres afines a las cultivadas. Estos recursos son la materia prima más importante para la generación de nuevas variedades y el mayor aporte para la producción y la diversidad genética que emplean los agricultores. También conforman un depósito de adaptabilidad y

estabilidad genética que sirve de salvaguarda ante el peligro potencial representado por los cambios medio ambientales, económicos, y por los patógenos, insectos y otras plagas nuevas o sus biotipos.

En el futuro se prevé un gran crecimiento de la población mundial, por lo cual será necesario mejorar el rendimiento de las variedades de manera segura y sana; por ello, la conservación y utilización sostenible de los recursos genéticos son fundamentales para mejorar la productividad y la sostenibilidad de la agricultura, contribuyendo de esta manera al desarrollo nacional, la seguridad alimentaría y al alivio de la pobreza.

El primer informe de la FAO en 1996 sobre el estado de los recursos fitogenéticos en el mundo, con base en los informes nacionales de 158 países, identificó deficiencias en su conservación y utilización. Se está perdiendo la diversidad genética, tanto en las fincas como en los bancos de germoplasma. La consecuencia, casi siempre involuntaria de la introducción de nuevas variedades de cultivo, ha sido la sustitución y pérdida de variedades tradicionales de los agricultores, de tal forma que es necesario implementar acciones que conlleven a la conservación y utilización sostenible de los recursos genéticos vegetales. En el reciente (2008) congreso internacional sobre la "candelilla tardía" celebrado en Beijing, representantes de la ONU estimaban que el cultivo que de manera más eficiente puede ayudar a salir de la pobreza a los habitantes menos favorecidos de los tres terceros mundos (el Tercer Mundo Agrícola representado por África, el Tercer Mundo Industrial representado por Asia, y el Tercer Mundo urbano representado por Latinoamérica) es la papa (Fermín, comunicación personal).

Como lo menciona Ligarreto en (2001), la papa es un cultivo de importancia mundial que satisface los requerimientos energéticos y de

nutrición de más de dos mil millones de personas en los países en desarrollo, papel que continuará desempeñando en las próximas dos décadas. La diversidad genética de este complejo, que incluye unos 4000 cultivares actualmente conservados y mantenidos en el Centro Internacional de la Papa (CIP), en Perú, la integran unas 200 especies silvestres con características de interés por su resistencia a enfermedades, plagas y a condiciones de agobio o estrés ambiental, y cuatro especies cultivadas con variabilidad importante dentro de cada una por características morfológicas y agronómicas como la precocidad y la calidad, según los parámetros Industriales.

Las especies de papas silvestres y cultivadas han sido utilizadas en programas de mejoramiento con buenos resultados, pero sólo una pequeña muestra de la biodiversidad disponible ha sido explotada. La existencia de nuevas tecnologías abre muchas posibilidades para la utilización de esos recursos genéticos (Bradshaw *et al.* 2006).

En Venezuela existen variedades de papa de uso local cultivadas tradicionalmente por productores de la región andina, conservadas hasta hoy como parte de la cultura y economía familiar. En el estado Mérida se han encontrado variedades utilizadas por los productores desde hace por lo menos 4 generaciones lo que equivale aproximadamente a 120 años, las cuales son conservadas en sus unidades de producción. Estas papas, cuyas variedades son conocidas bajo el nombre de "Papas Negras", se encuentran en una situación de ausencia total dentro de los sistemas productivos intensivos empresariales, y de presencia puntual en las huertas de familias campesinas y de pequeños productores (Pérez *et al.* 2007, Romero y Monasterio, 2005).

A partir de la asimilación del idioma español entre los grupos étnicos habitantes de la sierra, fueron asignados nombres castellanos a las diferentes variedades de papas que consumían los indígenas; de este modo pasaron a ser identificadas basándose en sus características morfológicas y en la región donde se cultivaban, utilizando para ello nombres comunes (Ispizúa *et al.* 2007). Según Romero y Monasterio (2005), la mayoría de ellas se han identificado como *Solanum tuberosum* L. grupo cultivar Andigenum, pero algunas muestran características de la especie *S. curtilobum* Juzepczuk. y Bukasov (A. Salas, comunicación personal, Septiembre 2007), y *S. goniocalix* Juzepczuk. y Bukasov (Ochoa, 1979).

Luego del establecimiento de la colonia europea, se produjo un intercambio de productos entre los dos continentes y la papa fue llevada a Europa donde fue adaptada a sus condiciones, y posteriormente reintroducida en Venezuela. Estas papas "Europeas", en un momento también llegaron a Los Andes desplazando a las variedades tradicionales ya que se mostraron más atractivas para el agricultor debido a su rendimiento y calidad. Sin embargo, la introducción de estas papas foráneas trajo al país algunas plagas que poco a poco fueron degenerando el germoplasma nativo. A pesar de ello, muchos agricultores mantuvieron el cultivo de algunas variedades para su consumo, las cuales pasaron de generación en generación, adoptando la denominación de papas nativas o criollas (Romero y Monasterio, 2005).

Muchas de estas papas, a pesar de recibir diversos nombres dependiendo de la localidad, puede tratarse de un reducido grupo de plantas que fueron introducidas en un tiempo que aún debe estimarse, visto que se desconoce su origen real, o incluso el momento en que fueron introducidas en Venezuela si fuese el caso. Sin embargo, se presume que muchas de ellas

pueden presentar características propias que son de interés en posibles programas de mejoramiento, o para ser cultivadas “*como son*” ya que reúnen características hortícolas que son atractivas para las comunidades andinas productoras y consumidoras. Para garantizar el éxito, el cultivo debe ser resistente o mostrar tolerancia a diversos patógenos de la papa ya presentes en las áreas de cultivo (G. Fermín, datos no publicados, 2007)

Ya que este germoplasma podría poseer genes con características de interés comercial (resistencia a heladas, sequías, plagas y/o enfermedades), además de un alto contenido de azúcares reductores, y capacidad de almacenamiento por largos períodos, es necesario emprender un verdadero inventario de papas nativas cultivadas y profundizar el inventario de sus parientes silvestres en Los Andes de Venezuela (Romero y Monasterio, 2005, Ortega *et al.* 2005).

Uno de los puntos más importantes dentro del estudio de estas papas nativas es su identificación como tales, ya que por no existir registros organizados de estos materiales, es poca la información que se puede obtener al respecto. Por ello, en el presente trabajo se describe el uso de herramientas de biología molecular, con el fin de complementar la identidad local con una identidad que las valore frente al mundo técnico-científico y comercial. Es decir, formalizar esas denominaciones que han tenido por muchos años, la cual sólo consiste en un nombre relacionado con parecidos, propietarios, o regiones donde se ha cultivado el material. Estos nombres no siempre son únicos y funcionan bien dentro de una cultura local, pero son inespecíficos si se pasa a una escala regional, nacional o internacional, ya que por pertenecer a la cultura tradicional de los campesinos andinos, se manejan según los intereses del productor.

Si se considera el proceso de hibridación al cual han estado sometidas las papas nativas a lo largo de muchos años, se entiende la importancia de diseñar estrategias que permitan establecer relaciones entre ellas, permitiendo su identificación. Estas estrategias deben llegar a lo más básico de su estructura como lo es el ADN, donde queda guardada toda la información necesaria para identificar un organismo, siempre y cuando se utilicen las herramientas adecuadas. Por esta razón en el presente trabajo se emplearon dos estrategias diferentes con la finalidad de de dar luces en la identificación de las papas nativas de Venezuela. Estas estrategias involucraron el uso del secuencias tales como la secuencia del gen ARN ribosomal 5S y la secuencia *rbcL*, las cuales, por ser altamente conservadas, se han utilizado en numerosos estudios filogenéticos. El otro método utilizado en el ensayo fue el uso de marcadores microsatélites, que por ser una herramienta fácil de utilizar permite identificar en el material genético de los individuos diferencias tangibles. En este último caso, el marcador permite observar diferencias a nivel de individuo, las cuales, al agruparse y analizarse con el método apropiado, debería arrojar *clusters* por tipo o variedad de papa.

Además de perseguir una identificación preliminar de estos materiales basado en métodos moleculares, el germoplasma muestreado fue sometido a ensayos de infección controlada con el oomicete *Phytophthora infestans*, con el propósito de evaluar fenotípicamente la respuesta de algunas variedades de papas nativas para complementar su caracterización. Finalmente, pero no menos importante, este trabajo pretendía brindar información referencial no disponible anteriormente, que permitiera conocer un poco mejor el origen y características de este importante cultivo en Venezuela.

HIPÓTESIS

Las variedades de papas nativas actualmente cultivadas en Los Andes merideños son descendientes de las cultivadas antes de la introducción masiva de semilla importada en el estado durante los años cincuenta. De ser así, debe existir evidencia, tanto documental como molecular, que lo respalde. Por otra parte, dentro de sus cualidades, estas papas podrían mostrar resistencia a la candelilla tardía producida por *Phytophthora infestans*, tal como aseguran cultivadores de la zona familiarizadas con el germosplasma bajo estudio.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Las papas nativas son un tesoro que está empezando a explorarse a partir del proyecto interdisciplinario denominado: Rescate del Circuito Agroalimentario de Las Papas Nativas de Los Andes Venezolanos¹, con una perspectiva integradora, histórico cultural agroecológica y alimentaria. Por ello, esta investigación se inicia con el proceso de identificar a estos materiales, tratando de establecer, antes que nada, qué tan relacionadas pueden estar con las papas referenciadas en la historia, y qué tan relacionadas están entre ellas y con los materiales modernos. Por otra parte, una de las características más importantes a tomar en cuenta al seleccionar material para un programa de mejoramiento es su resistencia hacia alguna plaga o enfermedad, lo cual es uno de los objetivos primordiales de los programas de mejoramiento de papas como una alternativa para disminuir el

¹ Proyecto FUNDACITE-Mérida CF-06-42

uso de agroquímicos en el control de éstas. La importancia de esta investigación radica en ser pionera en analizar molecularmente, y por reacción ante el ataque de *P. infestans*, algunas variedades de papas nativas aún cultivadas en Los Andes de Venezuela. En este caso se realiza una evaluación del comportamiento ante el ataque de *P. infestans*, agente causal de la candelilla tardía, con la finalidad de identificar entre las diferentes variedades de papas nativas, alguna que muestre resistencia a la enfermedad y así ampliar la base genética de los programas de mejoramiento, añadiendo como valor agregado el que el germoplasma es nativo de la región de cultivo, lo cual hace más fácil la adaptación de cualquier variedad nueva que se logre a partir de estos materiales.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar variedades de papas “nativas” merideñas cultivadas en la actualidad.

Objetivos específicos

- Recopilar información sobre las papas cultivadas en los páramos de Mérida en fechas anteriores a la introducción masiva de la semilla importada a partir de 1950.
- Reconstruir, a partir de referencias, una posible relación entre las papas nativas actuales y las papas cultivadas en períodos históricos.

- Realizar un análisis de la secuencia del gen ARNr 5S, y de secuencias de los marcadores de cloroplastos *rbcL* y *rpl16*, para dar una identificación a las papas nativas.
- Utilizar secuencias microsatélites identificadas en el genoma de *S. tuberosum* para establecer relaciones de variabilidad y parentesco entre las papas nativas, y con respecto a otros grupos (Silvestres y comerciales).
- Diseñar un sistema de condiciones controladas que permita reproducir los requerimientos necesarios para la interacción parásito-hospedador *P. infestans*-papas.
- Identificar en hojas de papas nativas inoculadas con *P. infestans*; síntomas visibles de respuesta HR ante el ataque del patógeno.
- Establecer posibles diferencias fenotípicas entre los diferentes aislados de *P. Infestans* y sus hospedadores, a partir de la respuesta observada en los ensayos *in vitro*.

CAPÍTULO I

LAS PAPAS COMO OBJETO DE ESTUDIO BIOLÓGICO, HISTÓRICO Y DE CONSUMO EN VENEZUELA

Evolución, domesticación y centros de origen de las plantas cultivadas

Evolución biológica

La evolución biológica es el proceso continuo de transformación de las especies a través de cambios producidos en sucesivas generaciones, el cual se ve reflejado en el cambio de las frecuencias alélicas en una población. Cuando aparece el hombre, se inician procesos de selección artificial con objetivos específicos; éstos resultan en la domesticación de plantas y en la formación de variedades primitivas. El proceso de evolución es una combinación de estos componentes, pero la selección cultural se fundamenta principalmente en el conocimiento y explotación de los recursos fitogenéticos, cuyo uso y aprovechamiento está determinada principalmente por el uso de la especie silvestre por parte del hombre, y el conocimiento del sistema reproductivo de ésta (Sevilla y Holle, 2004).

Diversificación y especiación

Uno de los procesos que afectan la evolución de las plantas es el aislamiento reproductivo. La primera condición para entenderlo es el

conocimiento profundo y detallado de la biología floral. Esto incluye la morfología de la flor, la variación genética que afecta esta morfología y los factores relevantes del medio ambiente. Los factores que contribuyen al aislamiento reproductivo pueden ser físicos o biológicos. Entre los factores físicos se pueden mencionar los obstáculos geográficos como montañas o islas, y las diferencias microecológicas. Los factores biológicos de aislamiento intra e interpoblacional incluyen a polinizadores, esterilidad masculina y de óvulos, esterilidad de los híbridos y autoincompatibilidad (Sevilla y Holle, 2004).

Poliploidización

La poliploidía es un mecanismo muy dinámico de formación de nuevas especies el cual es muy común en la naturaleza. La poliploidía rompe las barreras de aislamiento debido a la incompatibilidad y la infertilidad por irregularidades meióticas. Hay muchas especies que han tenido un origen alopoliploide; es decir, se han originado de un cruce entre especies relacionadas, seguido de una duplicación cromosómica. Las hibridaciones entre especies relacionadas se han producido en forma continua; muchos híbridos resultaron estériles o simplemente no se producía la fertilización. Unas cuantas plantas duplicaban el número cromosómico produciendo poliploides estables y autofértiles. La ploidía y el posible desbalance cromosómico funcionan como formadores de nuevas especies en la evolución de las plantas, o como mecanismos de aislamiento entre especies. En este último caso, pueden reducir el entrecruzamiento y la introgresión entre especies (Sevilla y Holle, 2004).

Introgresión

El concepto de introgresión fue desarrollado por el Dr. Edgar Anderson (Citado por Sevilla y Holle, 2004): dos especies se pueden cruzar directamente, y sus híbridos pueden ser viables si ocurre algún proceso como el de alopoliploidización. El cruzamiento en la naturaleza de dos especies distintas ocurre progresivamente; hay una incorporación gradual del germoplasma de una especie dentro de otra mediante retrocruces sucesivos, a lo largo de muchas generaciones. La hibridación interespecífica y la introgresión amplían el rango de adaptación de las especies. La introgresión es un mecanismo evolutivo importante de las especies cultivadas (Sevilla y Holle, 2004).

Domesticación

El proceso de domesticación integra la evolución y la intervención del hombre. Los cuatro estados principales del proceso de domesticación son: el estado silvestre, el de domesticación inicial, la variedad primitiva o selección local, y la variedad mejorada avanzada. Este proceso es continuo, y cualquier paso o momento es solamente el preludio a una etapa de domesticación posterior.

Las plantas pueden catalogarse como silvestres, malezas o cultivadas. Las plantas silvestres no necesitan del hombre para sobrevivir, las domesticadas sí porque han perdido su habilidad natural para dispersar su semilla, o en el caso de tubérculos o raíces, producen muy poca semilla sexual o son completamente estériles. Además, se han adaptado a suelos y ambientes cuidados por el hombre. Las malezas presentan una situación intermedia entre silvestres y cultivadas. Ellas provienen de las especies

colonizadoras que se van adaptando a los ambientes creados por el hombre para las especies domesticadas. Como lo explican Sevilla y Holle (2004), tanto las plantas cultivadas como las malezas se originan de las especies silvestres. Las diferencias morfológicas, fisiológicas y fenológicas entre plantas silvestres y cultivadas se pueden apreciar fácilmente porque hay características comunes que cambian durante el proceso de domesticación (Tabla 1).

El advenimiento de la mejora genética científica a principios del siglo XX ha posibilitado el desarrollo de variedades que han contribuido a un incremento espectacular de la producción mundial de alimentos, multiplicándose el rendimiento medio de los cultivos principales hasta en decenas, y en ocasiones en cientos y miles de veces. Sin embargo, por razones económicas, comerciales y de distribución, las técnicas disponibles de mejora genética han sido usadas con frecuencia de forma que han promovido la pérdida, en muchos casos irreversible, de la agrobiodiversidad al reemplazar cultivares locales genéticamente diversos por otros de alto rendimiento, genéticamente uniformes y de uso generalizado (Nuez *et al.* 1997).

El agrónomo ruso Nikolai I Vavilov, en los años 1925-1933, llevó a cabo una investigación sistemática sobre el origen de las plantas cultivadas, ampliando el concepto formulado por De Candolle de que las especies tenían origen geográfico específico, definiendo las regiones geográficas donde se habían originado la mayoría de las plantas cultivadas. Además de la verificación histórica, arqueológica o lingüística, Vavilov utilizó la clasificación taxonómica y la determinación de las áreas de mayor concentración de razas, especies, variedades cultivadas y silvestres relacionadas, y definió que los

Tabla 1.

Diferencias entre formas silvestres y domesticadas que cambian durante el proceso de domesticación

Características	Formas silvestres	Formas domesticadas
1. Competencia con otras especies	Buena	Pobre
2. Reservas alimenticias	Medianas, no suficientes	Grande, succulentas
3. Variabilidad del órgano utilizado por el hombre	Poca	Mucha
4. Órganos o partes protectoras		
a. Espinas	Presentes	Ausentes
b. Sabor amargo o venenoso	Presentes	Ausentes
c. Pubescencia dura	Presentes	Ausentes
5. Hábito	Perenne	Anual
6. Mecanismo de dispersión		
a. Raquis de cereales	Quebradizo	No quebradizo
b. Estolones de papa	Largos	Cortos
c. Vainas de <i>Arachis</i>	Meristemas largos	Sin meristemas o reducidos
d. Dehiscencia explosiva	Presente	Ausente
e. Poros para dispersión de semillas	Presentes	Ausentes
f. Arista en cereales	Presentes	Ausentes
7. Germinación de la semilla	No sincronizada	Sincronizada y uniforme
8. Formas de reproducción	Alógamas	Autógamas
9. Reproducción sexual	Presente	Ausente o reducida
10. Rango de adaptación	Rango estrecho a intermedio	Gran rango de adaptación

Nota. Tomado de Sevilla y Holle (2004).

caracteres gobernados por genes dominantes se encontraban en los centros de origen, y los recesivos en zonas periféricas (Vavilov, 1951; citado por Lujan, 1996).

Vavilov elaboró un método denominado “Método diferencial botánico geográfico”, para determinar los centros de origen. Según este método, un territorio puede ser centro de origen de una especie si:

- Presenta la mayor variabilidad de la especie, considerándose varios criterios para estimar la variabilidad, como el número de especies dentro del género, el mayor polimorfismo, y la mayor diversidad morfológica dentro de la especie.
- Presencia de especies silvestres relacionadas o antepasados de las cultivadas
- Endemismo de las especies.
- Presencia de parásitos especializados de las especies cultivadas.
- Existencia de una cultura agronómica antigua.

Más que centros de origen, lo que Vavilov definió fue centros de gran diversidad genética. La presencia de una gran diversidad genética de una especie en una región no es prueba de que la especie se originó allí; ni siquiera es prueba del sitio de domesticación, porque pueden existir factores que originan una gran diferenciación o diversificación de especies después de haberse domesticado en otros lugares (Sevilla y Holle, 2004).

La papa como cultivo

Orígenes de las papas cultivadas

En el altiplano entre Perú y Bolivia, alrededor del lago Titicaca, se encuentra la mayor variabilidad genética de especies silvestres y variedades cultivadas de papa. Los reportes arqueológicos más antiguos que respaldan la domesticación de la papa están basados en el estudio de papas fósiles con una antigüedad aproximada de 10.500 años, y verificada de 7.000; estos reportes se basan en los descubrimientos del antropólogo F. A. Ángel en la región central de Perú, dentro del área dominada por la cultura Huari, en el cañón de Chiica al Sur de Lima (Lujan, 1996). Dada la antigüedad de su cultivo y la diversidad de especies cultivables, la papa se presenta en un enorme número de variedades, de modo tal que, según se ha afirmado, “casi cada región y cada localidad cuenta con una propia”. Se estiman en 3.500 las variedades cultivadas (distribuidas en cuatro especies domesticadas) y en 199 las especies silvestres de papa (Hijmans y Spooner, 2001). La mayoría de las especies de papa conforman una serie poliploide natural cuyo número básico de cromosomas es 12.

El dilatado proceso de domesticación de esta solanácea tuberífera es cognoscible sólo por medio de inferencias. Es plausible que los orígenes de la domesticación de la papa estén vinculados a las actividades recolectoras de los antiguos habitantes andinos, que mediante procesos de reconocimiento y selección, eligiesen su alimento de entre las especies silvestres que ofrecían tubérculos aptos para el consumo (Neish, 1969). Posiblemente a través de procesos de selección de híbridos de polinización libre, los primitivos agricultores andinos lograron variedades que ofrecían tubérculos más grandes

y menos amargos y que se hallaban mejor adaptadas a las exigencias climáticas y edáficas de los distintos pisos ecológicos que constituyen el espacio andino. Ya para el siglo XVI, a la llegada de los españoles, la papa constituía un cultivo altamente evolucionado desde los puntos de vista genético, agrícola y alimentario (objeto de procesamiento, conservación y almacenamiento (Lujan, 1996).

Varias especies silvestres se han citado como posibles ancestros de las papas cultivadas, entre las que se cuentan *Solanum leptophyes*, *S. canarense*, *S. sparsipilum*, *S. brevicaulum* y *S. vernei* (Hawkes, 1978 y Grun, 1990; citados por Estrada, 2001).

Propuesta de Hawkes sobre evolución y origen de las papas cultivadas

Según Hawkes (1990), las primeras papas domesticadas pertenecieron a la especie *Solanum stenotomum*, la cual derivó de *S. leptophyes*. A su vez, *S. stenotomum* probablemente se cruzó con *S. sparsipilum*, una especie silvestre diploide, para producir *S. andigena*, precursora de las papas tetraploides actuales (*S. andigena*, *S. tuberosum*). La duplicación de los cromosomas pudo originarse por la producción de gametos 2n en los padres originales durante la formación de los gametos.

Posteriormente se desarrolló una mayor introgresión por cruzamientos en los cuales intervinieron *S. acaule* y *S. megistacrolobum*, que aportaron genes de resistencia a las heladas, tan necesarios en el altiplano andino, dando origen a una serie de papas poliploides (ver Fig. 1).

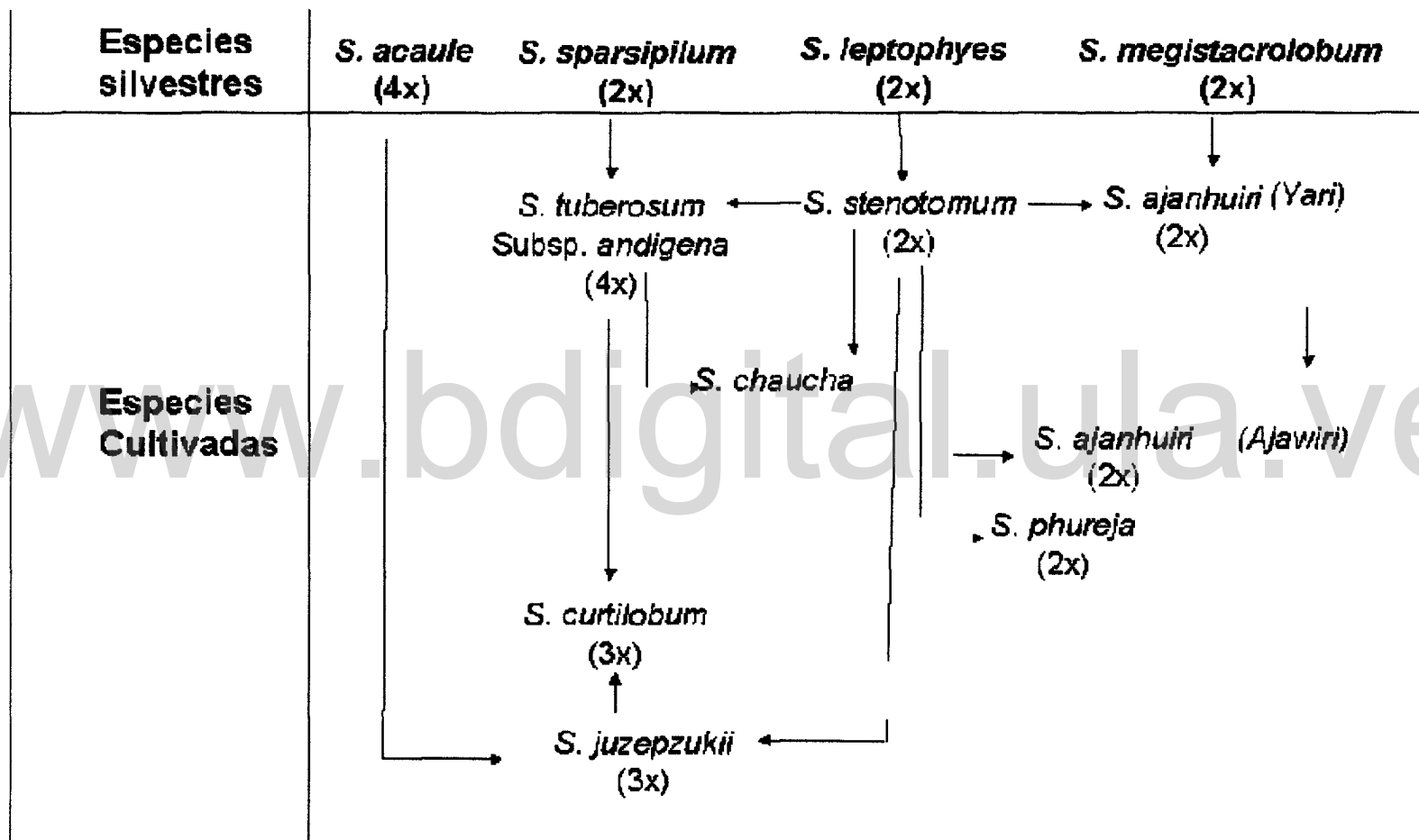


Figura 1. Relaciones evolutivas entre las papas cultivadas y sus niveles de ploidía, según Hawkes (1990).

Propuesta de Grun sobre evolución y origen de las papas cultivadas

Grun en 1990 (citado por Estrada, 2001); propuso que los primeros clones de *S. stenotomum* fueron seleccionados de un complejo de progenitores silvestres derivados de *S. brevicaule*. Por otro lado, mediante la fusión de gametos $2n$ del complejo *S. stenotomum* con una especie silvestre no identificada, se originó *S. tuberosum . andigena*, tetraploide. Posteriormente, *S. tuberosum* subsp. *andigena*, como progenitor masculino, se cruzó con otra especie silvestre, poseedora de factores para la esterilidad citoplásmica, y dio origen a *S. tuberosum . tuberosum* (ver Fig. 2). Sus derivados se extendieron por Argentina y Chile.

Propuesta de Spooner sobre el origen de las papas cultivadas

Spooner y colaboradores, en el año 2005, basándose en estudios filogenéticos, formularon una propuesta que establece como progenitor de las papas a un miembro del complejo *S. brevicaule*. Esta especie está pobremente definida y puede ser reducida a una simple especie de la cual el nombre válido asignado actualmente es *S. bukasovii*. El resultado de este proceso de domesticación fue la especie diploide *S. stenotomum*, la cual también es referida como una forma de *S. tuberosum* (Grupo Stenotomum), de la cual se derivaron otras especies- incluyendo la especie diploide *S. phureja* (o Grupo Phureja), la tetraploide *S. tuberosum . andigena* (o grupo Andígena) y la tetraploide *S. tuberosum tuberosum* (o grupo Tuberosum).

Propuesta de Hosaka y Sukhotu sobre el origen de las papas cultivadas

En 2006, Sukhotu y Hosaka formularon una hipótesis basada en

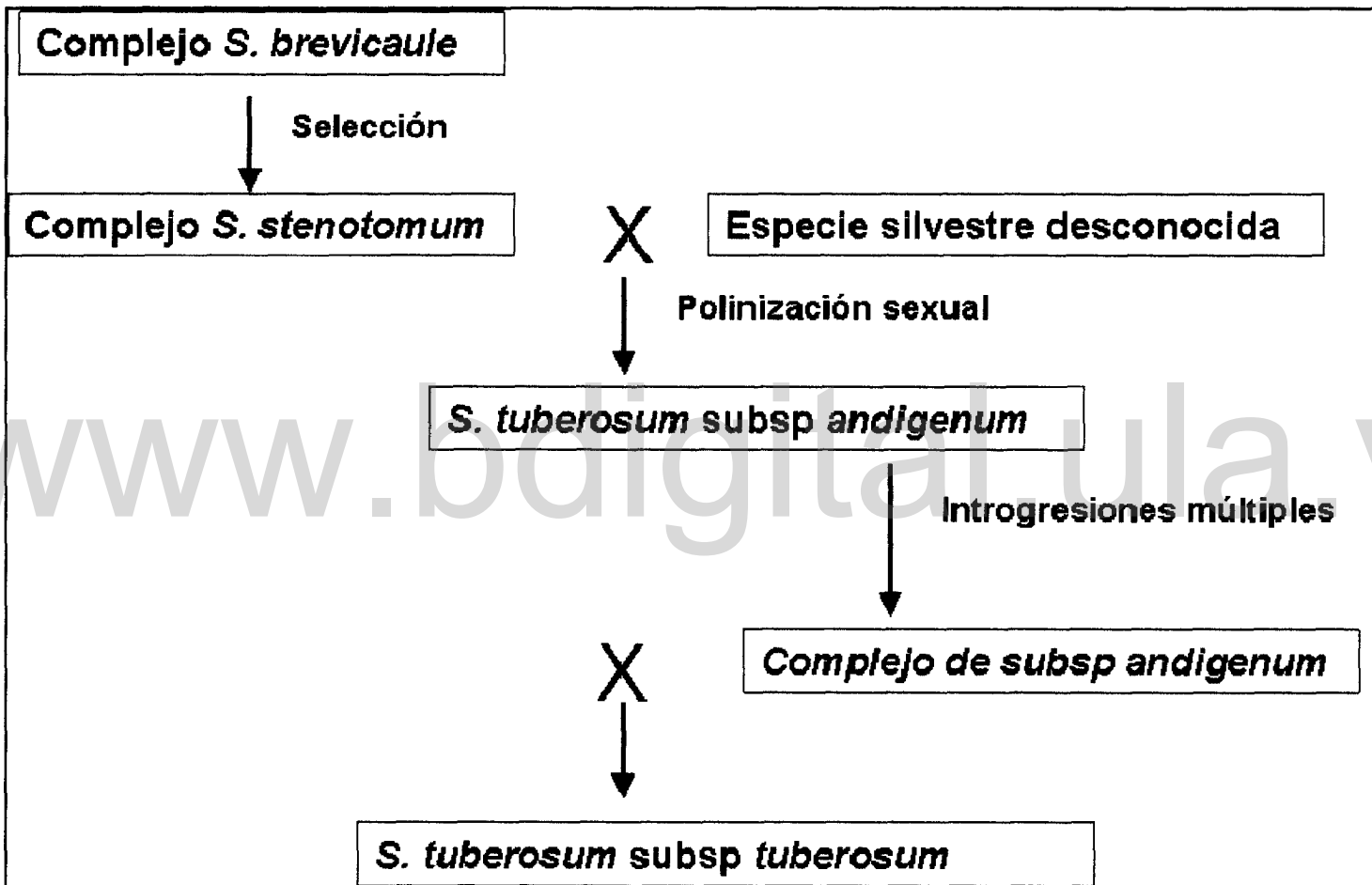


Figura 2. Origen de las papas cultivadas según Grun. Tomado de Estrada (2001).

estudios de marcadores moleculares nucleares y de cloroplastos: i) la especie que dio origen a las papas cultivadas fue *S. stenotomum*, la cual fue primero domesticada en Perú a partir de especies silvestres tales como *S. bukasovii*, *S. canarense* y *S. multidissectum*, la cual más tarde se extendería hacia Bolivia; ii) la especie *andigena* se originó a partir de una poliploidización sexual que se dio repetidas veces en muchos lugares; iii) una hibridación intervarietal a través de cruces 4x X 4x y (o) a través de poliploidización por medio de cruces 2x X 4x o 4x X 2x.

Descripción Botánica de las papas cultivadas

La papa, *Solanum tuberosum* L., es una planta semirosetada, erecta con una altura promedio entre 0,4 y 1,4 m, con tallos de un grosor de 5 -9 mm de diámetro en la base. El color de éstos puede variar de un color desde verde hasta púrpura. Las hojas son compuestas, exestipuladas, imparipinnadas, con 3 a 8 pares de folíolos laterales; en algunos casos poseen más de 20 pares de foliolulos intersticiales. Los folíolos poseen un contorno acuminado, con ápice agudo y base oblicua, los foliolulos pueden ser de ovados a elípticos dependiendo del grupo. Las hojas forman un ángulo de 25° con el tallo principal. Las flores son hermafroditas, y se disponen en inflorescencias terminales y laterales tipo cima, con 4-25 flores por inflorescencia, corola rotácea, pentagonal con acumen corto y un diámetro de 2 a 6 cm; en colores desde blanco hasta azul y de púrpura hasta rosado; anteras de 3-10 mm de longitud, ditecas conniventes. Gineceo bicarpelar, ovario súpero oblicuo sobre el plano medio de la flor, bilocular, estilo terminal; óvulos numerosos en cada lóculo, placentación axilar; frutos globosos a ovoides tipo baya que van desde verde medio a oscuro; tubérculos con piel de color blanco-crema a amarillo,

rosado a rojo- púrpura y púrpura, uniforme o con colores secundarios. La pulpa del tubérculo puede ser de blanco-crema hasta amarillo, naranja a rojo, púrpura o violeta, el tono puede ser uniforme o con colores secundarios distribuidos como un anillo alrededor de la médula (Huaman y Spooner, 2002; Ricardi, 1992). En la Fig. 3 se muestra una ilustración botánica de *S. tuberosum*.

La papa pertenece a la familia de las Solanáceas, a su vez dividida en dos subfamilias, Solanoideae y Cestroideae. Esta familia está conformada por 85 géneros y unas 2.800 especies; su distribución es cosmopolita, variando en hábitos, desde hierbas pequeñas, arbustos, trepadoras, epífitas, hasta árboles de más de 20 m de altura, las cuales ocupan diversos ambientes ecológicos, desde las sabanas hasta los páramos. El Oeste y el Sur de América del Sur son considerados como los centros principales de mayor diversidad en géneros y especies. En Venezuela, la familia está constituida por 36 géneros y 222 especies (Benítez, 1997).

El género *Solanum* contiene aproximadamente 1000 a 1100 especies (D'Arcy 1991; citado por Castillo y Spooner 1997). Las especies de *Solanum* formadoras de tubérculos se agrupan dentro de la sección *Petota* Dumont la cual según Hawkes (1990) incluye 232 especies; pero si se toma en cuenta la exclusión de nueve especies no formadoras de tubérculos, alternativamente ubicadas en la sección *Etuberosum* (Bukasov y Kameraz) A. Child, sección *Juglandifolium* (Rydb.) A. Child y sección *Lycopersicon* (Mill.) Wettst, pasan a ser 223 (Child, 1990 y Spooner *et al.* 1993; citados por Castillo y Spooner, 1997). Las especies formadoras de tubérculos están distribuidas desde el suroeste de los Estados Unidos hasta el sur de Chile, y desde el nivel del mar



Figura 3. Ilustración botánica de *Solanum tuberosum*
(<http://www.st.vith.be/neidinger-kartoffelfest/images/Kartoffel.jpg>)

hasta sobrepasar los 4.500 msnm, con la mayor concentración de diversidad en Los Andes. La sección *petota* contiene diploides ($2n=2x=24$), tetraploides ($2n=4x=48$) y hexaploides ($2n=6x=72$), con ocasionales triploides y pentaploides. Esta sección es taxonómicamente difícil debido a muchos desacuerdos entre los expertos con respecto a los límites entre especies, afiliación de especies a series, rango de taxa infraespecíficos e hipótesis de hibridación (Spooner y Van der Verg, 1992; citados por Castillo y Spooner, 1997).

Bukasov (1971), Lechnovich (1971), Hawkes (1990) y Ochoa (1990); (citados por Huaman y Spooner 2002), clasificaron las papas como especies diferentes basándose en el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (ICBN por sus siglas en inglés). En contraste (Doods en 1962; citado por Huaman y Spooner 2002) trató las especies cultivadas bajo el Código internacional de nomenclatura de plantas cultivadas (ICNPC por sus siglas en inglés), sugiriendo que existen pocos soportes morfológicos para la mayoría de las especies cultivadas, y reconoce como especie sólo a *S. X curtilobum*, *S. X juzepczukii*, y *S. tuberosum*, a la cual divide en cinco grupos cultivares (Huaman y Spooner 2002). En la tabla 2 se resumen los diferentes tratamientos taxonómicos según los diferentes autores.

Tanto la clasificación basada en el ICBN como la basada en el ICNPC han sido usadas indistintamente por los investigadores; por ello, Huamán y Spooner en 2002, realizaron una reclasificación de las especies de papas cultivadas basada en niveles de ploidía, estudios morfológicos y fisiológicos, tales como tolerancia a las heladas, adaptación a cambios en la duración del día, latencia de los tubérculos, entre otros.

Tabla 2.

Resumen de los tratamientos taxonómicos aplicados a las papas cultivadas a nivel de especies y subespecies

Ploidia	Bukasov (1971), Lechnovich (1971)	Doods (1962)	Hawkes (1990)	Ochoa (1990, 1999)
2x	<i>S. ajanhuiri</i> Juz. y Bukasov	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. ajanhuiri</i>	<i>S. X ajanhuiri</i>
	<i>S. canarense</i> Jiz. Y Bukasov	Grupo Stenotomum	<i>S. stenotomum</i>	<i>S. goniocalyx</i>
	<i>S. erlansonii</i> Bukasov	Sub grupo Goniocalyx	<i>S. phureja</i>	<i>S. stenotomum</i>
	<i>S. goniocalyx</i> Juz. y Bukasov	Subgrupo Stenotomum		<i>S. phureja</i>
	<i>S. macmillanii</i> Bukasov	Grupo Phureja		
	<i>S. phureja</i> Juz. y Bukasov	Subgrupo Amarilla		
	<i>S. rybinii</i> Juz y Bukasov	Subgrupo Phureja		
3x	<i>S. boyacense</i> Juz. y Bukasov	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. chaucha</i>	<i>S. X chaucha</i>
	<i>S. chaucha</i> Juz. y Bukasov	Grupo Chaucha	<i>S. juzepczukii</i>	<i>S. X juzepczukii</i>
	<i>S. choclo</i> Bukasov	<i>S. X juzepczukii</i>		
	<i>S. ciezae</i> Bukasov y Lech.			
	<i>S. cuencamum</i> Juz. y Bukasov			
	<i>S. juzepczukii</i> Bukasov			
	<i>S. mamilliferum</i> Juz. y Bukasov			
	<i>S. tenuifilamentum</i> Juz. y Bukasov			
4x	<i>S. andigenum</i> Juz. y Bukasov	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. tuberosum</i>	<i>S. tuberosum</i>
	<i>S. molinae</i> Juz.	Grupo Andigena	Subsp. <i>andigenum</i> Hawkes	Subsp. <i>andigenum</i>
	<i>S. Leptostigma</i> Juz.	Grupo Tuberosum	Subsp. <i>tuberosum</i>	Subsp. <i>tuberosum</i>
	<i>S. tuberosum</i> L			<i>S. hygrothermicum</i>
5x	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. X curtilobum</i>	<i>S. curtilobum</i>	<i>S. X curtilobum</i>

Tomado de Huaman y Spooner (2002)

En función de estos resultados, se ubicaron a todas las especies de papas cultivadas como pertenecientes a la especie *S. tuberosum*, reunidas en ocho grupos cultivares: Grupo Ajanhuiri, Grupo Curtilobum, Grupo Juzepczukii y Grupo Chilotanum, cuya clasificación está basada en soportes morfológicos, y Grupo Andigena, Grupo Chaucha, Grupo Phureja y Grupo Stenotomum, los cuales se caracterizan principalmente por los periodos de latencia de los tubérculos (grupo Phureja) y por los niveles de ploidía.

En 2007 Spooner y colaboradores realizaron un completo estudio de 742 variedades de todas las especies cultivadas (o grupos cultivares), y 8 progenitores silvestres estrechamente relacionados. Éste se llevó a cabo utilizando marcadores microsatélites, marcadores basados en deleciones en secuencias de plástidos, los cuales distinguen entre las variedades chilenas y las Andinas, los resultados obtenidos en el estudio llevaron a la reclasificación de las papas cultivadas en cuatro especies: (i) *S. tuberosum*, con dos grupos cultivares (grupo Andigena; el cual agrupa las papas de tierras altas conteniendo diploides, triploides y tetraploides, y el grupo Chilotanum que incluye las papas de las tierras bajas chilenas); (ii) *S. ajanhuiri* (diploide); (iii) *S. juzepczukii* (triploide); y (iv) *S. curtilobum* (pentaploide). Para las especies o grupos cultivares remanentes es imposible una identificación estable y consistente, ya que su delimitación como especie según Linneo es artificial, y su mantenimiento como especies y grupos cultivares sólo sirve para perpetuar confusiones en los mejoradores y los coordinadores de bancos de germoplasma, además de contribuir a la inestabilidad de nombres en la literatura especializada.

La taxonomía más reciente propuesta para la papa cultivada es la que se muestra a continuación:

Reino	Viridiplantae
Subreino	Tracheobionta
Súper división	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Sección	<i>Petota</i>
Serie	<i>Tuberosa</i>
Especie	<i>ajanhuii</i> <i>juzepczukii</i> <i>curtilobum</i> <i>tuberosum</i>
	Grupo cultivar Andigenum
	Grupo cultivar Chilotanum

La papa como producto alimenticio

“La papa es llamada, con razón, el vegetal que cambió la historia. Desde sus orígenes andinos hasta el lugar que ocupa a la vanguardia de la revolución de la comida rápida, ha proporcionado tanto la chispa como el combustible para siglos de cambio social. En su conquista del mundo, el humilde tubérculo ha sido estigmatizado y luego alabado; anatematizado y después ensalzado; temido y más tarde apreciado. Dondequiera que vaya, la papa gana terreno hasta que la humanidad termina dándole la bienvenida en su hogar y en su corazón.” (Portillo, 2006)

Dentro del complejo multidiverso de los tubérculos andinos, la papa constituye el legado de la civilización andina al patrimonio de la biodiversidad agrícola de la humanidad, y que ha alcanzado la mayor importancia económica y adaptación intercultural (Romero y Monasterio, 2005; Gopal et

al. 2006). Según datos de FAO-CIP 2008, la papa, luego de los cereales, es el cuarto cultivo alimenticio en orden de importancia a escala mundial con una producción global de 320 millones de toneladas en el año 2007. Luego de la caña de azúcar, produce más carbohidratos por hectáreas por año que cualquier otro cultivo, y después de la soya, la proteína de más alta calidad.

La papa posee un alto contenido en vitamina C: de este modo, una papa nueva cocida con piel contiene, por ejemplo, 15 mg de vitamina C por cada 100 gramos, se estima que una porción de 200 gramos de papa cubre el 28% de las necesidades diarias de vitamina C de un adulto, siendo esta concentración de vitamina C un coadyuvante en la asimilación de hierro en la sangre. La papa también aporta las vitaminas hidrosolubles B y B3. En lo que respecta al contenido de minerales vale la pena destacar su alto contenido en potasio y, simultáneamente, su bajo contenido en sodio. Una porción de papa de 200 gramos cubre aproximadamente el 10% de la ingesta de magnesio recomendada para un adulto; además el fósforo y el hierro están presentes en concentraciones significativas. Estos indicadores muestran que la contribución de la papa a la dieta diaria humana no es solamente de energía, sino además de proteínas, vitaminas y minerales (La papa- versátil y nutritiva, 2008).

La papa se cultiva en 130 de los 167 países del mundo, llegando a más de dos mil millones de personas, de los cuales, aproximadamente 500 millones pertenecen a los llamados países en vías de desarrollo (Romero y Monasterio, 2005; Gopal *et al.* 2006).

Introducción de la Papa a Europa

La primera introducción de las clones variedades de América del Sur

a Europa ocurrió probablemente en España en 1570, según los relatos de los cronistas españoles revisados por Hawkes en 1987 (citado por Estrada, 2001). En 1580 ya se compraba regularmente en el mercado de Sevilla en los meses de diciembre y enero, lo cual hace suponer que las primeras papas cultivadas en Europa eran *S. tuberosum* de la subsp. *andigena*, ya que es en esos meses cuando los días son cortos en Europa. A partir de los análisis y circunstancias descritos por Hawkes, estos primeros tubérculos eran recolectados en la parte central de Colombia y transportados por el río Magdalena hasta Cartagena, y de allí eran llevados a España con escala en las Islas Canarias y Sevilla. Otra posibilidad de recolección la constituyen las costas del Perú; pero para el traslado se habría usado una ruta muy larga y poco frecuente por el Cabo de Hornos, para que la papa pudiera llegar a Europa en buenas condiciones. Con intervención de factores geográficos, climáticos y humanos, se produjo una selección hacia el tipo o subespecie *tuberosum*, posiblemente durante un período de muchos años. Posteriormente, según Salamán, la papa posiblemente llegó a Inglaterra en 1590, llevada por Drake o Raleigh (Estrada 2001, Hawkes y Ortega, 1992). Finalmente Ghislain y colaboradores en 2009 mediante un estudio basado en el uso de marcadores moleculares realizado a 688 accesiones de papas tetraploides encontraron argumentos que apoyan un origen de los materiales inicialmente introducidos a Europa en el grupo Chilotanum mas que a partir del grupo Andigenum.

Papas silvestres

Se denominan papas silvestres a todas aquellas especies de *Solanum*

formadoras de tubérculos que no han sido domesticadas por el hombre. Éstas se encuentran desde el suroeste de Estados Unidos hasta el centro de Argentina y Chile (ver Fig. 4), desde el nivel del mar hasta los 4.500 msnm y en una amplia variedad de hábitat, incluyendo las altas tierras andinas (punas y páramos), bosques secos deciduos en México, cordón de vegetación a lo largo de las costas de Chile y los montes fríos lluviosos en el Este de Los Andes.

En México y los Estados Unidos, las papas silvestres comúnmente se encuentran en ambientes diferentes, tales como formaciones de cactus y chaparrales, bosque de pinos, abetos y robles, tal como se muestra en la Fig. 5 (Hawkes 1990). Todas las especies son terrestres con excepción de *S. morelliforme*, la cual es epífita y crece en bosques de pinos y robles desde el centro de México hasta Guatemala, y *S. clarum* la cual se encuentra desde el sur de México hasta Guatemala y crece sobre el suelo, o algunas veces como epífita facultativa (Hijmans *et al.* 2002).

La variabilidad de las especies silvestres es tan grande que sus genes pueden aprovecharse en diferentes disciplinas. En las especies silvestres se encuentra resistencia a patógenos y plagas como hongos, bacterias, virus, nemátodos e insectos dañinos, así como resistencia a heladas, sequías y caracteres para mejorar el procesamiento, la forma, el tamaño y el color de los tubérculos (Estrada, 2001).

Características generales de las papas silvestres

Muchas papas silvestres a simple vista se confunden fácilmente con algunas papas cultivadas ya que presentan una variedad de formas en lo

referente a flores (ver Fig. 6), hojas (ver Fig. 7), frutos (ver Fig. 8) y tubérculos (ver Fig. 9) (Hijmans *et al.* 2002).

Especies de papas silvestres reportadas en Venezuela

Papas silvestres pertenecientes a la Serie tuberosa

***Solanum paramoense* Bitter ex Pittier** (Papa brava o “papa de indio”). Ploidía: $2n=48(4EBN^2)$. Esta especie fue descrita a partir de un espécimen de herbario, carente de frutos, colectado en Venezuela en 1921 en el Páramo de La Sal en el estado Mérida. Su estatus de especie siempre ha sido controversial. Luego de realizar conteos cromosómicos y balance de endospermo, finalmente Ochoa, en 1992, la sinonimizó como *S. tuberosum* subsp. *andigena* (Spooner *et al.* 1995), y actualmente se designa como *S. tuberosum* . *andigena* var. *paramoense* (A. Salas, comunicación personal septiembre 2007). Todas las poblaciones identificadas de *S. paramoense* se han encontrado entre 3170 - 3750 msnm, en suelos orgánicos cerca de cultivos de papas y en zonas aisladas. Los tubérculos muestran un tono de piel desde blanco hasta púrpura oscuro, los frutos son globosos ovoides; ésta es una de las causas por las que se ubica en la serie *tuberosa*. Las flores son de un tono lila, como se muestra en la Fig. 10 (Spooner *et al.* 1995).

Serie Conicibaccata

***Solanum colombianum* Dunal.** Ploidía $4x$ (2EBN). (Spooner *et al.* 2001). Especie ampliamente distribuida entre Colombia y Venezuela. Como característica que la identifica se observan hojas compuestas formadas por

² EBN (Balance del endospermo)

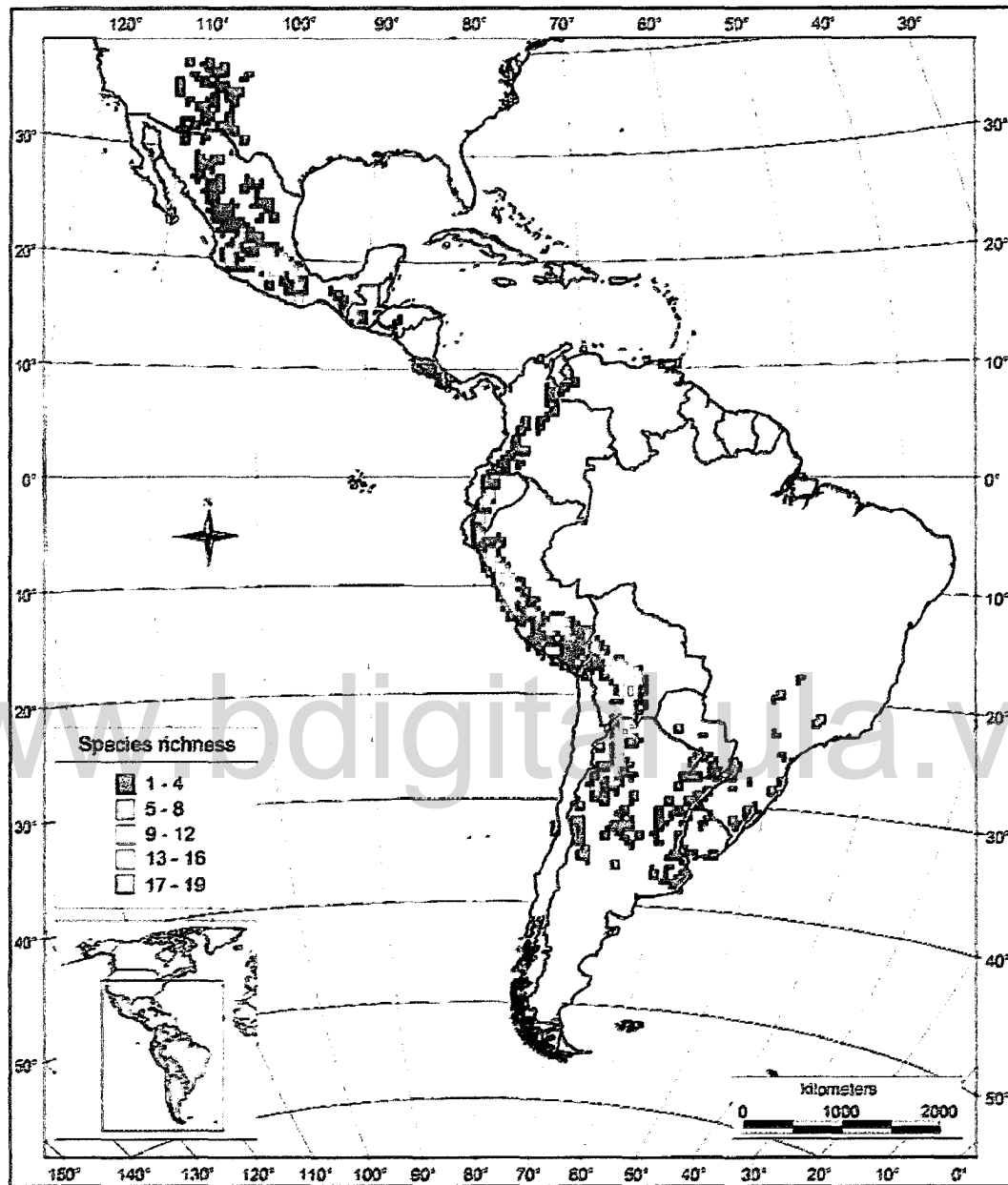


Figura 4. Diversidad de especies de papas silvestres en el continente Americano. Cada punto equivale a un área de 50 Km. Tomado de Hijmans y Spooner (2001).



Figura 5. Hábitat de papas silvestres. **A:** bosque seco deciduo en Jalisco, México (2080 msnm); **B:** páramo en el estado Mérida, Venezuela (3050 msnm); **C:** Orilla del mar en el archipiélago Chonos, región Aisén, Chile; **D:** Tierras altas húmedas en el Departamento de La Paz, Bolivia (3900 msnm). Tomado de Hijmans *et al.* (2002).



Figura 6. Flores de papas silvestres y cultivadas. **A:** *olanum. bulbocastanum*; **B:** *S. paucijugum*; **C:** *S. tuberosum* (especie cultivada); **D:** *S. colombianum*. Tomado de Hijmans *et al.* (2002).



Figura 7. Formas de vida de papas silvestres, **A:** *Solanum. hougasii*; **B:** *S. agromonifolium*; **C:** *S. morelliforme*; **D:** *S. infundibuliforme*. Tomado de: Hijmans et al. (2002).



Figura 8. Frutos de papas silvestres. **A:** *Solanum verrucosum*; **B:** *S. andreaeanum*; **C:** *S. schenckii*, **D:** *S. moscopanum* Tomado de: Hijmans et al. 2002.

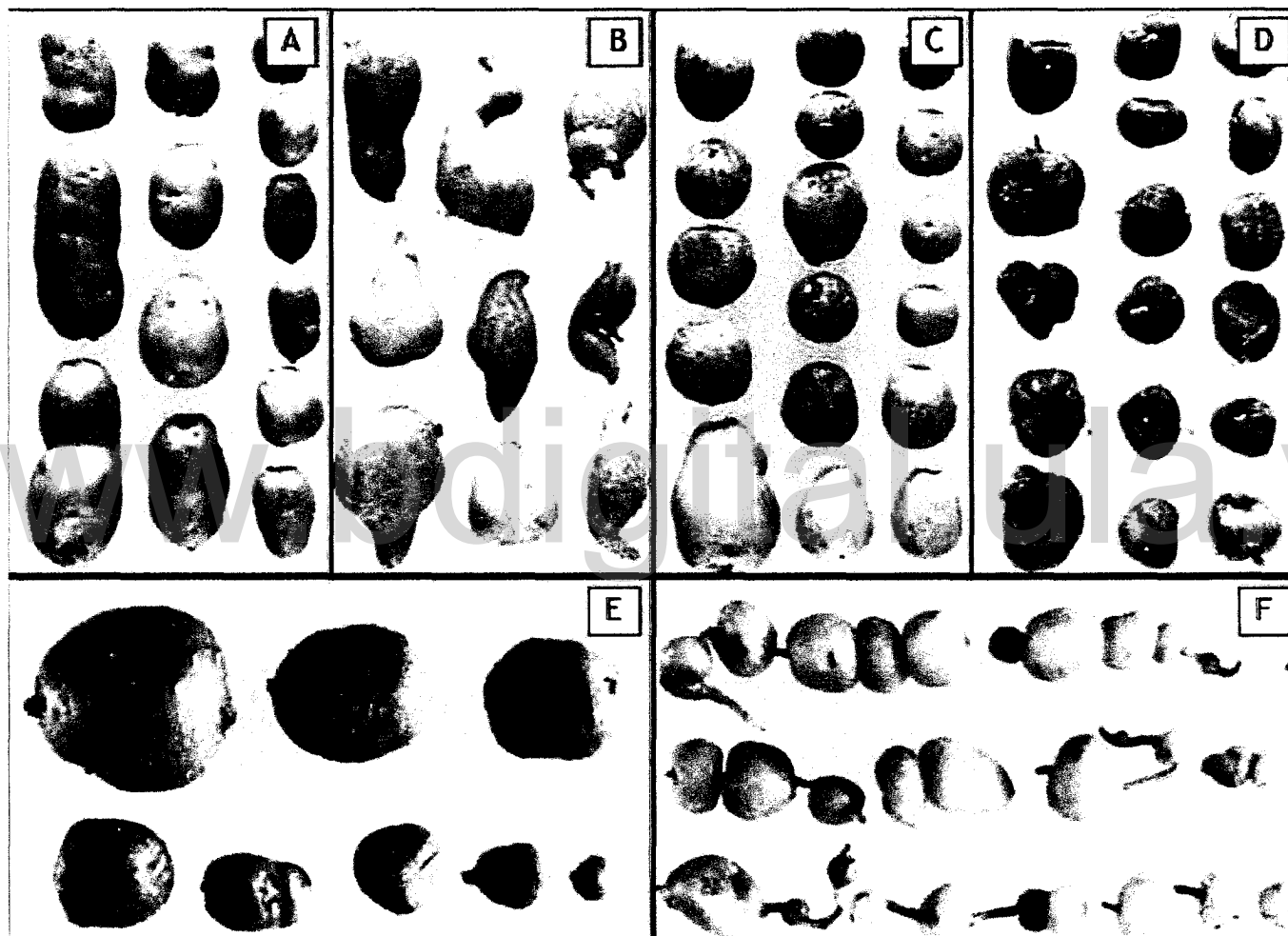


Figura 9. Tubérculos de papas silvestres. A: *Solanum sparsipilum*; B: *S. polyadenium*; C: *S. acaule*; D: *S. chiquidenum*; E: *S. comersonii*; F: *S. piurae*. Tomado de Hijmans et al. (2002).



Figura 10. *Solanum paramoense*: fotografía tomada por Boscán (2008) en el Páramo de Gavidia, edo. Mérida a 3.500 msnm.

nueve foliolos de contorno lanceolado y numerosos foliolos intersticiales de dos tamaños. Flores con corola pequeña (12-15mm de radio), blancas, o combinadas con violeta. Fendler entre mayo y julio 1854 -1855, colectó esta especie en las montañas alrededor de la Colonia Tovar a 2100-2300 msnm; a pesar de ser más frecuente en Colombia que en Venezuela, se han colectado especímenes de *S. colombianum* en diferentes regiones del país. Humbert, en septiembre de 1952, colectó ejemplares de esta especie en la Laguna Negra, Sierra Nevada de Santo Domingo a 3630 msnm; Linden en Abril 1842 en Los Andes de Trujillo y Mérida; y Steyermark en Julio 1944 en el Páramo del Tamá, Edo. Táchira, entre los 2500-2895 msnm (Correl, 1962).

Spooner y colaboradores colectaron algunos ejemplares en su última expedición a Venezuela en 1992, en el estado Mérida entre 50 a 200 m al sur de la Laguna Negra; Latitud 08° 47'N, Longitud 40° 48'oeste, 3480 msnm. Spooner *et al.* 1995). Uno de los ejemplares colectados se muestra en la Fig. 11. Otro punto de colecta fue 10 Km. al norte de San José de Bolívar en la carretera hacia La Grita, Edo. Táchira, y en el Páramo El Zumbador en el mismo estado 17,9 Km Noroeste de la plaza Bolívar de Quinqué; Latitud 0,7°56'N; Long 72° 0,3'oeste, 2630 msnm (Herbario CIP. 11159).

***Solanum subpanduratum* Ochoa.** Ploidía ($2n=4x=48$). Es la especie perteneciente a *Solanum* sección *petota* más recientemente identificada en Venezuela (ver Fig. 12). Fue colectada por Ochoa en 1977 (Ochoa, 1979) en el Páramo de La Sal, vía Piñango. Su nombre se debe a la forma de sus frutos, los cuales semejan la base de un dedo (A. Salas. comunicación personal septiembre 2007)

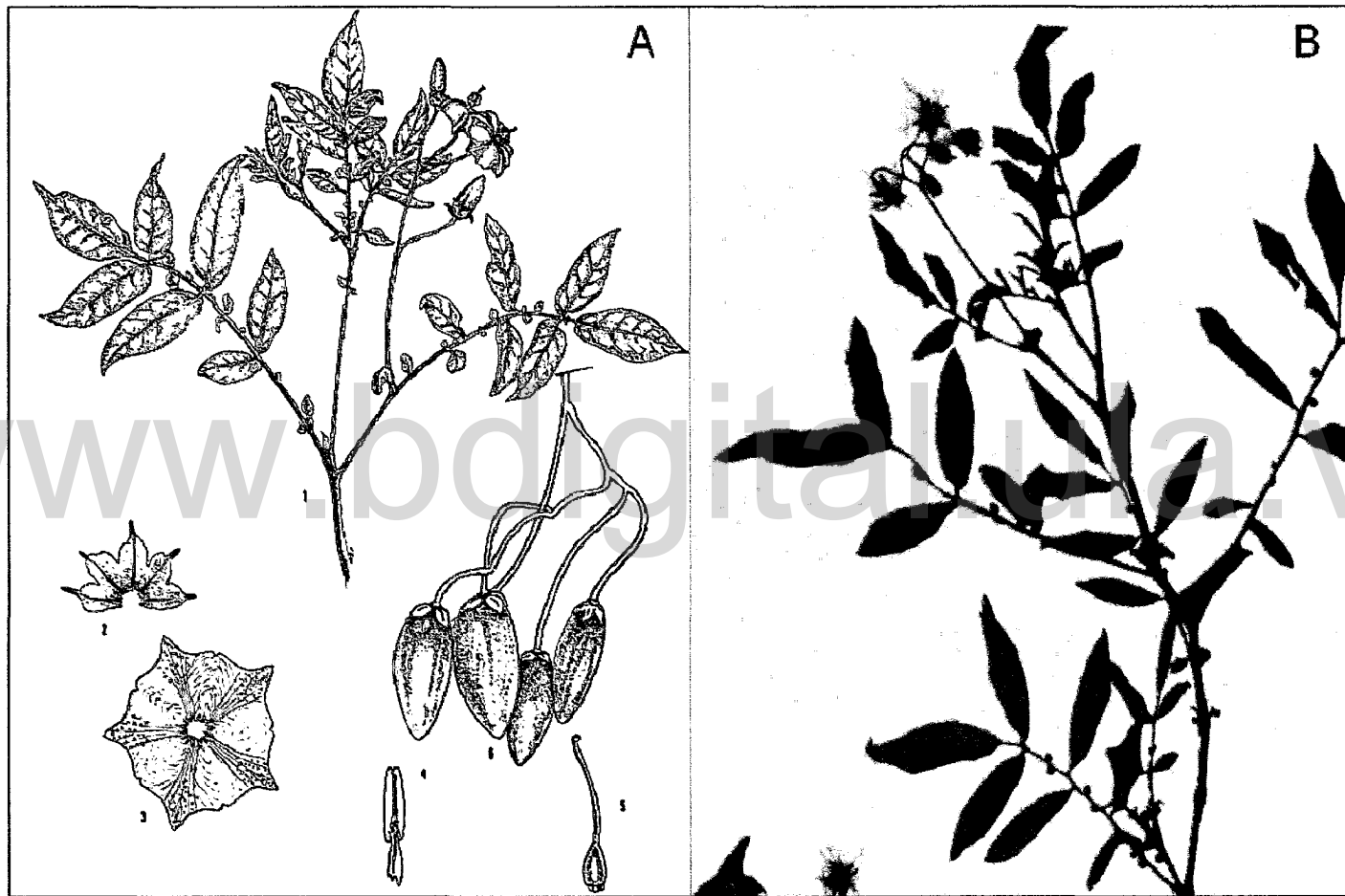


Figura 11. Imágenes de *Solanum colombianum*. A. Ilustración realizada a partir de muestra de herbario (Fendler 971). Tomado de Correl (1962). B. Ejemplar de herbario OCH-11771. Cortesía Herbario CIP



Figura 12. Fotografía de un ejemplar de herbario de *Solanum subpanduratum*. Herbario CIP OCH-11208

***Solanum otites* Dunal.** Ploidía ($2n=48$), (ver Fig. 13). Especie endémica de Venezuela, colectada por primera vez en 1842 por Linden entre Los Andes de Trujillo y Mérida en locación no registrada. La especie está estrechamente relacionada con *S. woodsonii* de Panamá (Correll, 1962). Posteriormente, se colectó en la Sierra Nevada de Mérida en Octubre de 1976 por Ochoa y Castillo entre las estaciones de La Aguada y Loma redonda cerca de La Laguna El Espejo, en una zona muy fría y húmeda asociada a helechos, gramíneas, melastomatáceas y grandes matorrales de *Chusquea* sp. (Herbario CIP 11162. Octubre 1976).

***Solanum flahaultii* Bitter.** Ploidía ($2n=48$). (Correll, 1962). Fue descrita por primera vez en Colombia en 1909. Es una planta pequeña, con frutos verde pálido y de forma ovoide a cónica. Una de sus características es la abundante pubescencia en sus tallos y hojas, (ver Fig. 14). Esta especie habita en altitudes comprendidas entre 2700 y 3650, entre el oeste de Venezuela y Colombia, en suelos ricos entre árboles y rocas; florece entre Junio y Agosto. Entre algunos de los ejemplares colectados en Venezuela se citan el de Cardona, en el Páramo de Tamá en Julio de 1939. La autora no encontró reportes de colectas más recientes de esta especie en Venezuela.

***Solanum woodsonii* Correl.** Ploidía: ($2n=48$); (ver Fig. 15). Esta especie está distribuida entre Panamá y el oeste de Venezuela; entre los Páramos de 3150-4000 msnm, florece de forma irregular a lo largo del año. En el primer reporte se le denominó *S. venezuelicum* y fue colectada por Linden entre 1842-1843 cerca de Mérida en ubicación no especificada, posteriormente no se hicieron nuevas colectas y se presume que pudo



Figura 13. *Solanum oites* cultivada en invernadero del CIP. Fotografía tomada por Boscán K (2006)



Figura 14. Ilustración botánica de *Solanum flahaultii*. (Apolliniare 331, ejemplar tipo). (Correl, 1962).

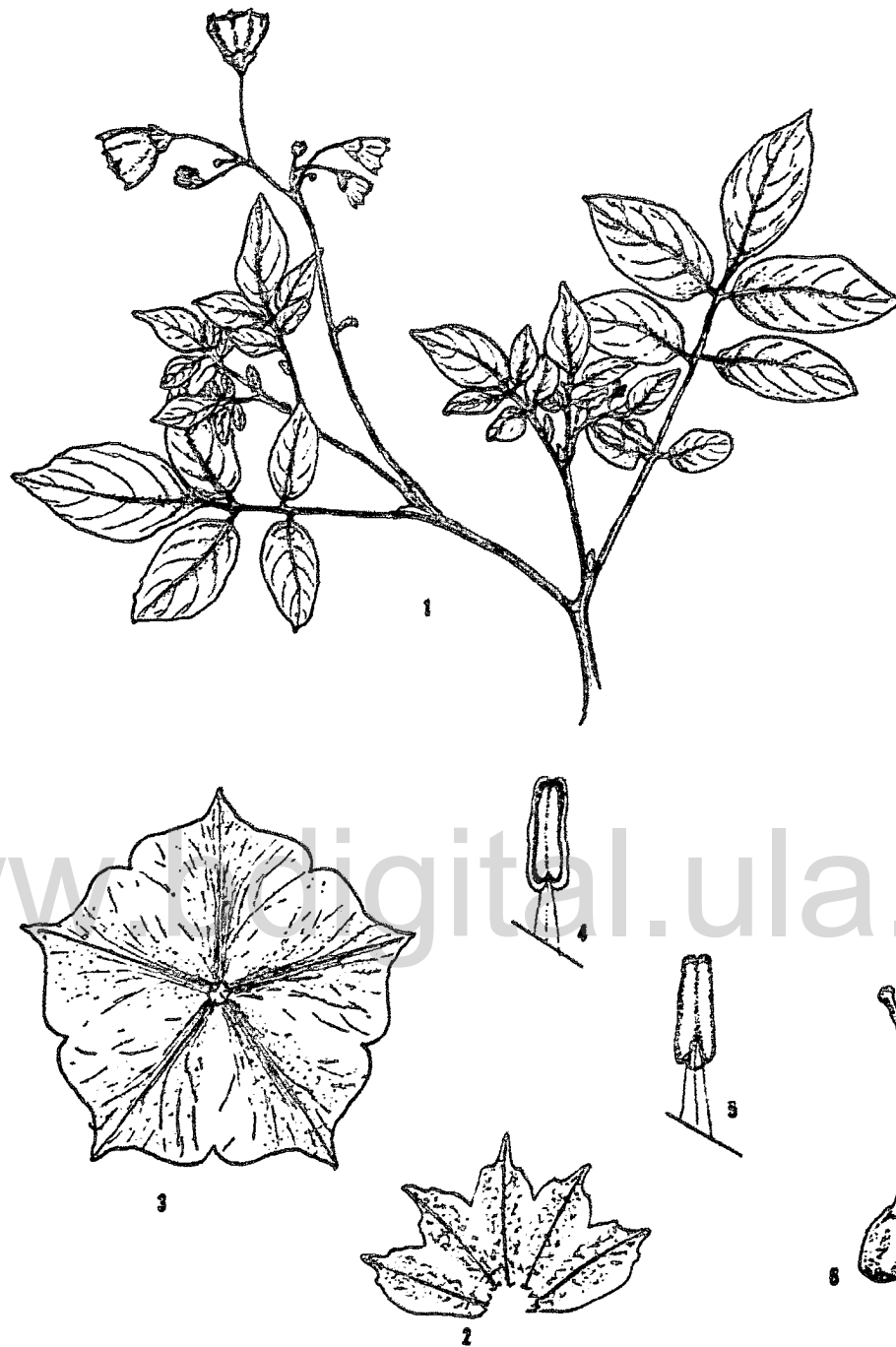


Figura 15. Ilustración botánica de *Solanum woodsonii* (Woodson y Schery 399). (Correl, 1962).

haberse confundido con *S. colombianum* (Correl, 1962).

***Solanum filamentum* Correl.** Ploidía: (2n=48). Sólo existen dos reportes oficiales sobre ejemplares de esta especie colectados, ambos por el Dr. Alfredo Jhan, uno fechado en marzo de 1915 en el Páramo de Piñango a 2.600 msnm, y posteriormente en septiembre de 1921 en la población de La Venta en Los Andes de Mérida a 2800 msnm, (ver Fig. 16) (Correl, 1962). En colectas posteriores se han encontrado algunos ejemplares que se asemejan a *S. filamentum*, pero aún no han sido confirmados.

Papas nativas

La denominación de papas nativas o “papas negras” se aplica a todas aquellas papas que se cultivaban en Los Andes antes de la introducción masiva de semilla importada: se han encontrado referencias en las que se menciona el cultivo de papas importadas en el estado Mérida en el año 1929; estas papas provenían de Canadá, Holanda, Alemania y EEUU (Paredes 1929). Sin embargo, estas primeras importaciones de papas fueron asumidas por un número reducido de productores, quienes tenían acceso a información técnica y económica internacional y se arriesgaron a adoptarlas bajo el estímulo de resultados de mayor rendimiento. La difusión y adopción a mayor escala de las variedades importadas fueron procesos lentos, por lo cual las papas de disponibilidad masiva durante los siguientes 20 años continuaron siendo las locales andinas (Romero y Monasterio, 2005).

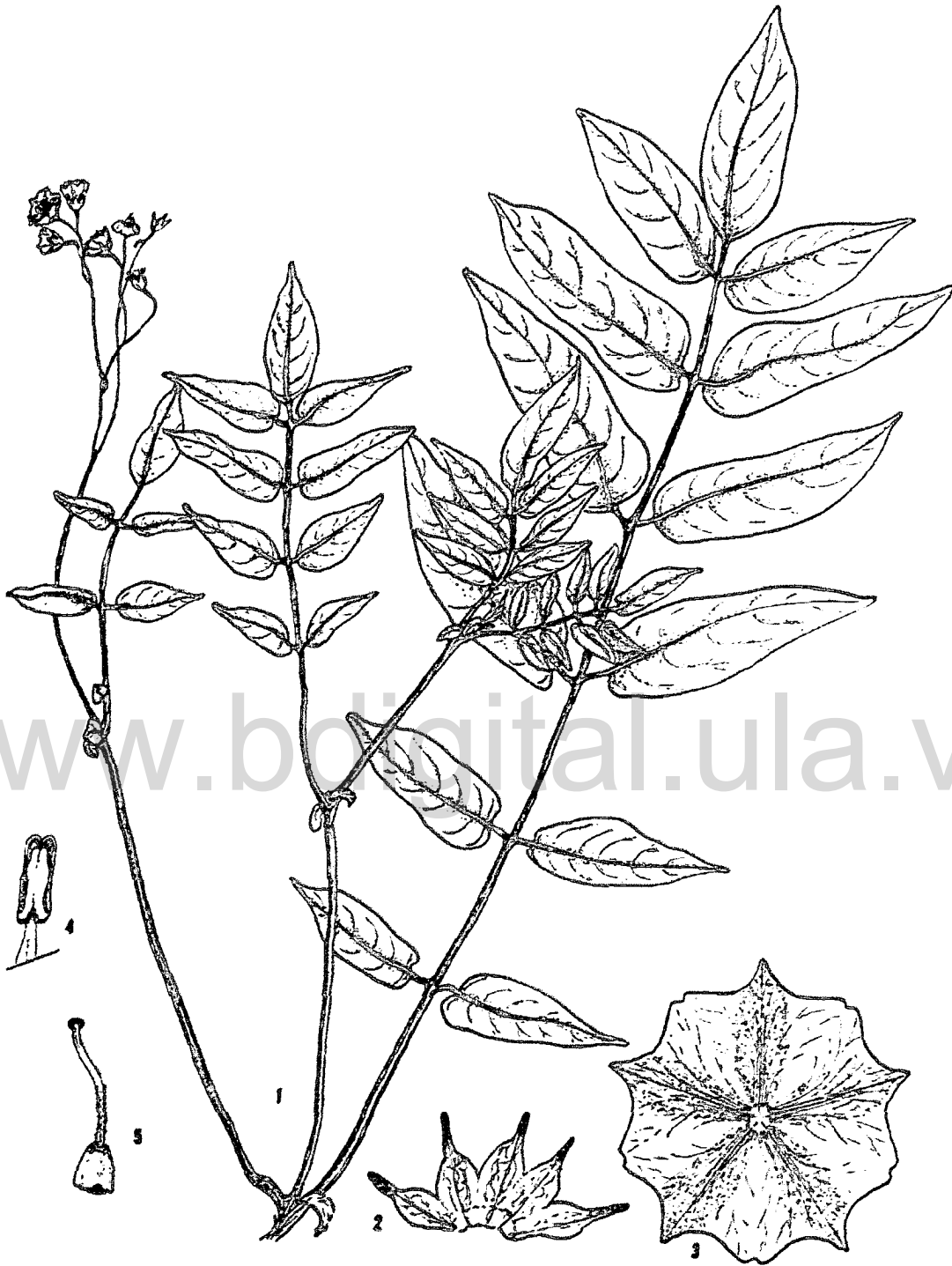


Figura 16. Ilustración botánica de *Solanum filamentum*. Jhan 406 ejemplar tipo (Correl, 1962).

Papas nativas cultivadas en la actualidad

Entre las más conocidas variedades de papas nativas que aún se cultivan en el estado Mérida; podemos mencionar: “Arbolona negra”, “Negra petacona”, “Cucuba”, “Pigua”, “Rosada”, “Guadalupe” y “Reinosa” (ver Fig. 17). Las descripciones que se listan a continuación están basadas en entrevistas hechas a habitantes del páramo de Gavidia, Edo. Mérida (Romero y Monasterio, 2002) y en observaciones de la autora.

Papa “Arbolona Negra”. También se denomina papa de año; es una planta robusta, de más de 1,50 m de altura, como un árbol, y de allí su nombre. Se cosecha entre septiembre y noviembre; los tubérculos son violeta oscuro, los tallos a menudo muestran un tono violeta casi negro y las flores son de un tono violeta más claro. Es la papa que los habitantes del páramo reconocen como “original de ahí”. Una papa de excelente calidad cuyos tubérculos se pueden guardar hasta un año. Muchos productores la describen como “sanita porque no le cae plaga”.

“Negra Petacona”. Es una papa de ciclo largo igual que la “Arbolona”; sus tubérculos poseen piel violeta oscuro con vetas color crema.

“Cucuba”. Es una papa pequeña de piel crema, las flores son blancas a diferencia de la Arbolona y la Petacona; es una planta pequeña. Cucuba es la única variedad que muestra un nombre aparentemente de origen indígena.



Figura 17. Imágenes de algunas papas nativas cultivadas actualmente en el páramo. **a.** Tubérculo de papa “Rosada”, **b.** Flor de papa “Rosada”, **c.** Tubérculo de papa “Arbolona negra”, **d.** Flor de papa “Arbolona Negra”, **e.** Tubérculo de papa “Negra Petacona”, **f.** Flor de papa Negra Petacona”, **g.** Flor de papa “Reinosa”, **h.** Flor de papa “Cucuba”. Las fotografías fueron tomadas por L. Romero, G. Gordones, J. Smith y K. Boscán

“Pigua”. Es una papa enrolladita como un perrito durmiendo”. Con este comentario los habitantes de Gavidia describen una papa en forma de C, con la pulpa amarilla y morada (Romero y Monasterio, 2002).

“Papa Rosada”. Es una papa muy apreciada por su sabor un poco dulce, el tubérculo posee piel de color rosa oscuro con vetas amarillas.

“Guadalupe”. Es una planta cuyo tubérculo se va haciendo más violeta a medida que se cultiva a mayor altura (Torres B. comunicación personal 2007).

“Reinosa”. Es una papa pequeña, redonda y amarilla; en muchos casos la llaman yema de huevo. Es muy similar a la papa criolla colombiana, sólo con la diferencia del color de las flores, las cuales son blancas, al contrario de las colombianas que son rosadas (Torres B. comunicación personal 2007).

Enfermedades que afectan el cultivo de la papa: la candelilla tardía

Entre las enfermedades que afectan a la papa podemos mencionar las causadas por bacterias, hongos, oomicetes y virus, entre las que se encuentran muchas de las más destructivas para este cultivo. Una de estas enfermedades es la “quema” o “candelilla tardía”, la cual es causada por el oomicete *Phytophthora infestans*. Esta enfermedad se caracteriza por presentar entre sus síntomas iniciales manchas pequeñas, oscuras, de forma irregular, las cuales, en condiciones de alta humedad, progresan

convirtiéndose en lesiones necróticas grandes de color castaño a negro que pueden causar la muerte de la hoja y pasar hasta el tallo, ocasionando en muchos casos la muerte de la planta. En algunas variedades se puede observar un halo verde claro o amarillento en la zona dañada. En el envés de la hoja, muy temprano en la mañana, se forma una vellosidad de color blanco, que no son más que los esporangios del oomicete. El cultivo severamente atacado presenta un olor característico y la enfermedad se puede presentar en todas las edades del cultivo. En la figura 18 se muestran los efectos de *P. infestans* en un sembradío de papa. Esta enfermedad también afecta al tomate *Solanum lycopersicum*, las berenjenas, *S. melongena*, y el pepino de agua *S. muricatum* (Heredia *et al.* 2000). La historia conocida de este patógeno se remonta a los años 1840. En ese entonces, la papa era el principal rubro alimenticio de la población Irlandesa. Los daños causados por *P. infestans* en los cultivos produjeron un desabastecimiento severo que condujo a un estado de hambruna generalizada que diezmo y forzó a la población a emigrar hacia Europa continental y América (Pérez y Forbes, 2008).

Fry y Mizubuti en (1998, citados por San Román, 2006) sostienen que hay suficiente evidencia genética para proponer que *P. infestans* es originario de la Sierra Central de México debido a la alta diversidad genética reportada para dicha zona, pero posteriormente Alpizar *et al.* (2007), encontraron evidencias suficientes para sustentar el origen del patógeno en Sur América en la frontera entre Ecuador y Perú, a partir del análisis de loci mitocondriales y nucleares de *P. infestans*.

Ubicación taxonómica de Phytophthora infestans

Etimológicamente, el término *Phytophthora* proviene de los vocablos griegos *phyto*=planta y *phthora*=destructor. *P. infestans* es un oomicete que se caracteriza por poseer micelio cenocítico, pared celular carente de quitina y compuesta de α -glucanos y celulosa; éste presenta reproducción asexual por zoosporangios y zoosporas biflageladas, y reproducción sexual por el apareamiento de gametangios morfológicamente diferentes provenientes de talos distintos (Pérez y Forbes, 2008).

Debido a la forma como *P. infestans* y los hongos verdaderos colonizan a sus hospedantes es que *P. infestans*, y en general los oomicetes, estaban incluidos dentro del reino Fungi dentro de la división Eumycota (Agrios, 2006). Estos dos grupos también comparten un tipo de crecimiento filamentososo en su estado vegetativo, producen micelio y forman esporas durante su reproducción sexual y asexual. Sin embargo, análisis taxonómicos recientes han demostrado que los hongos y oomicetes se hallan en grupos filogenéticamente distantes, ubicando a *P. infestans* en el reino Chromista o Stramenopiles, el cual acoge a un grupo particular de organismos caracterizados por presentar celulosa y glucanos en su pared celular, y por presentar septos sólo para separar las secciones vivas del micelio de las muertas (Rossman y Palm, 2007). A pesar de los distintos orígenes evolutivos de ambos grupos, los hongos y los oomicetes utilizan estrategias de infección que tienen mucho en común, como lo son las estructuras de infección (apresorios, hifas de infección y haustorios), vías de señalización que involucran a las proteínas G heterotrimétricas, y el uso extensivo de enzimas que degradan pared celular, lo que sugeriría que las condiciones *in planta* en

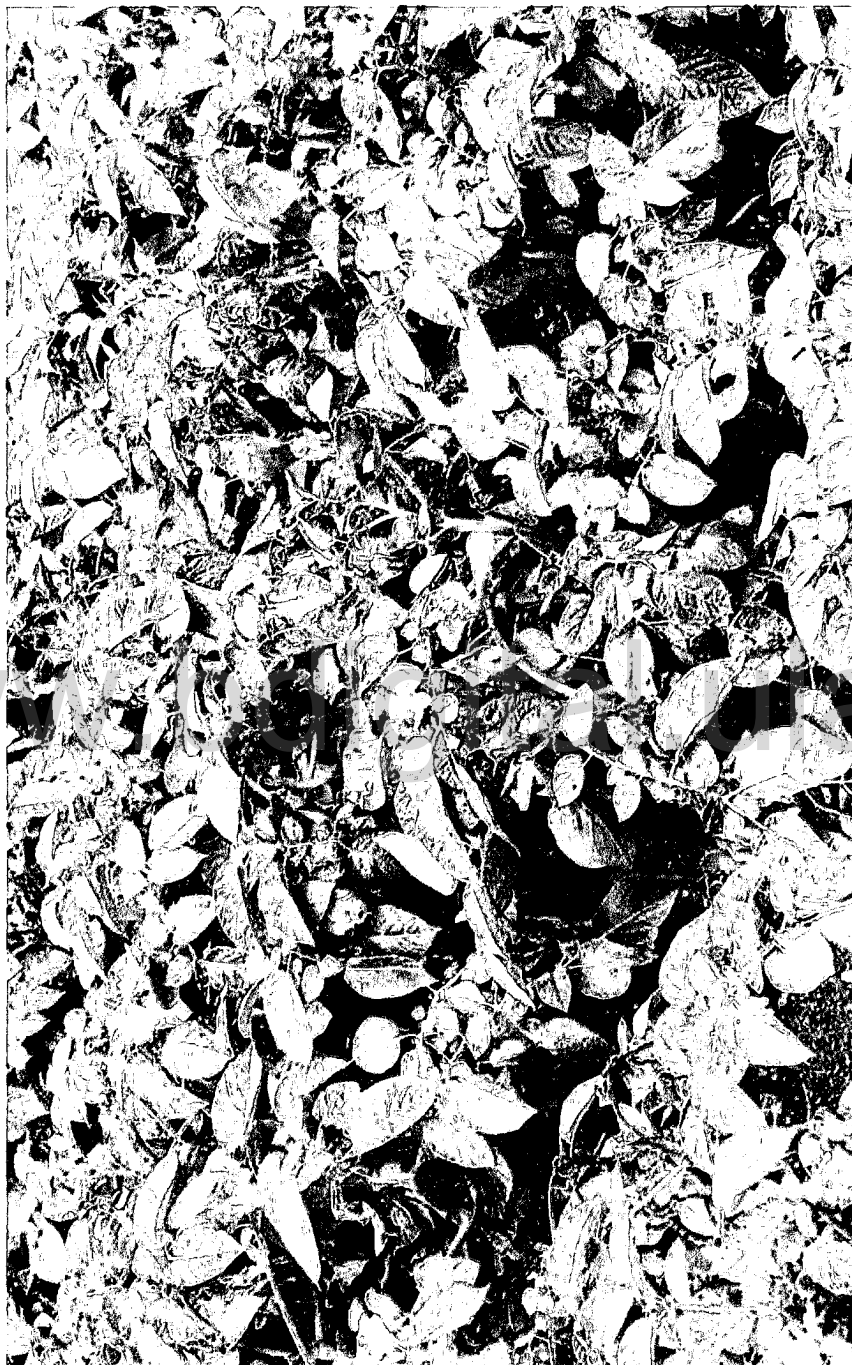


Figura 18. Sembradío de papa en la localidad de Pueblo Hondo, Edo. Táchira afectado por *Phytophthora infestans* (foto cortesía de G. Fermín)

que se hallan ambos grupos son similares, y que de allí, eventos de evolución convergente habrían forzado a desarrollar estrategias de infección similares en estos dos tipos de patógenos (Latinhouwers *et al.* 2003; citado por San Román, 2006).

Ciclo de Vida de Phytophthora infestans

Los estadios del ciclo de vida de *P. infestans* pueden ser observados a través del microscopio de luz sencillo. Se observa un micelio formado por hifas carentes de septo y que se desarrollan intercelularmente, con proyecciones (haustorios) que penetran las células parenquimáticas del hospedador. Como especie heterotálica, *P. infestans* presenta dos formas sexuales o grupos de apareamiento denominados A1 y A2. Ambos son necesarios para completar el ciclo de reproducción sexual que finalmente produce las oosporas. Uno de estos talos forma la estructura masculina (anteridio), y el otro, forma la estructura femenina (oogonio). El anteridio crece a través del oogonio lo que permite su fertilización; este oogonio fertilizado se desarrolla en una espora de pared gruesa (oospora) que se caracteriza por ser resistente a condiciones desfavorables tales como sequía o bajas temperaturas. Las oosporas germinan formando esporangios y luego zoosporas que, a través de la formación de apresorios, penetran el tejido iniciando un nuevo ciclo de infección. El ciclo de reproducción asexual es el más frecuentemente observado y no requiere de la presencia de los dos talos. De 3 a 10 días luego de la infección, los esporangióforos emergen por las aberturas estomáticas de la superficie foliar, (ver Fig. 19). Los esporangios se desarrollan en los extremos de los esporangióforos, y una vez maduros, se desprenden y son dispersados por el viento o el agua (Agrios, 2006).

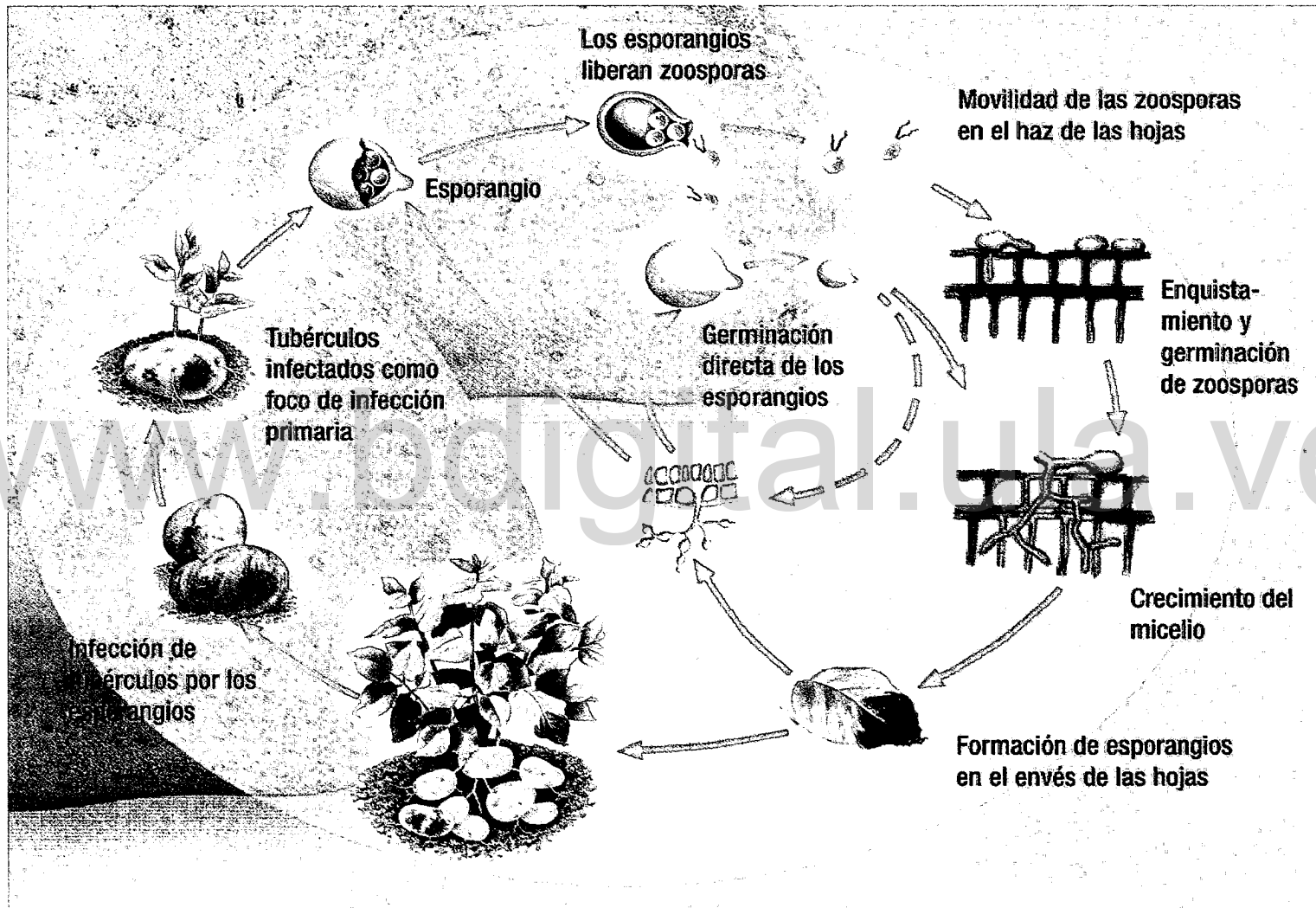


Figura 19. Ciclo de vida de *Phytophthora infestans*. Tomado de Hamming (2008)

CAPÍTULO II

HISTORIA DEL CULTIVO DE LA PAPA EN LOS ANDES VENEZOLANOS

Introducción

Dentro del intercambio cultural que quedó como legado de la colonización de Los Andes venezolanos, uno de los hechos más notables fue el relacionado con la agricultura. Respecto a ello, los habitantes prehispánicos de la cordillera, a pesar de haber desarrollado una cultura agraria organizada y eficiente, fueron invadidos por las costumbres del colono, y no sólo en lo referente a los métodos de cultivo, sino también con la introducción de nuevas especies vegetales y animales no conocidas aún en la zona.

La papa, por haber ocupado un papel importante en la cultura de los aborígenes, no escapó de ser afectada por este proceso el cual la fue moldeando poco a poco hasta lograr un mosaico de variedades en donde hasta la fecha, es difícil precisar quién es nativa y quién es introducida. La única posible referencia que podría dar un poco de luz al respecto es la historia, la que quedó plasmada bajo la pluma de los diferentes cronistas, escritores y poetas que se dedicaron a registrar lo sucedido en la región. Por ello se ha recurrido a esta herramienta, con la finalidad de encontrar en los diferentes documentos donde ha quedado registrada la historia del Estado Mérida, alguna referencia sobre la papa, específicamente aquellas que mencionan características de alguna de las que formaron parte de la

alimentación de los diferentes grupos étnicos que poblaron las alturas andinas. El organizar cronológicamente los distintos eventos relacionados a este cultivo, y tomar en cuenta los datos consultados, puede dar una idea más clara sobre el origen de las diferentes variedades de papas nativas cultivadas en la actualidad.

Para esta investigación se realizó una revisión de documentos de diferentes fuentes: periódicos, archivos antiguos originales, libros, entrevistas, con la finalidad de encontrar argumentos que sustenten el cultivo y el consumo de papas en Venezuela y más específicamente en el estado Mérida, además de ubicar información sobre las características de las papas cultivadas en el estado antes de la introducción de la semilla importada. Posteriormente se realizó un análisis de todas las referencias encontradas a partir de una relación de los datos recolectados.

Argumentos que respaldan el cultivo de papas entre los habitantes de Los Andes

Ubicación geográfica y características de las etnias que poblaron Los Andes en épocas prehispánicas

Cinco son las grandes culturas desarrolladas en América que más se conocen; los aztecas, los Incas (los Hijos del Sol), los mayas, los Aymaras del lago Titicaca (padres de los Incas); y los Chibchas, que fueron la tercera civilización en importancia de la América prehispánica. Tres de estas civilizaciones: los Incas, los Aymaras y los Chibchas, se destacaron en lo que se denomina “la gran cultura del frío”, por establecerse en altitudes mayores a

los 2000 msnm. En Los Andes Venezolanos se denomina en general a los diferentes grupos étnicos los Mucus, los cuales tenían en sus creencias y prácticas religiosas muchos elementos comunes con los habitantes de otras regiones andinas, particularmente Colombia, Ecuador y Perú (Celis, 1997); pero según algunos autores, se han encontrado evidencias que respaldan relaciones entre las civilizaciones de las zonas frías de Los Andes venezolanos y la cultura Chibcha y Tairona (Wagner, 1973).

Con frecuencia se han llamado Muisca los pueblos indígenas que habitaban la antigua provincia formada por Táchira y Mérida; pero esta denominación no debe entenderse sino en cuanto a que, formando este territorio parte del Reino de Nueva Granada o "Imperio de los Muisca", tal como se muestra en la fig. 20, se aplicó el nombre a todas las provincias del reino. (Lárez, 1950).

Los Mucus merideños

El radical "mucu" se ha traducido como "lugar" y está presente en casi todas las palabras que revisten importancia religiosa, social o económica, quedando grabado en nombres de distintos lugares y pueblos de la sierra: Mucumpís, Mucunután, Mucubají, Mucuchachí, Mucurubá, entre otros. Se dice que en el territorio que actualmente ocupa el estado había más bien una federación unida por la cultura y el término "mucu", que hacía el soporte de un ancestro común. Entre todos los grupos que reunían los Mucus, Mucuchíes; fue el nombre dado a los grupos que ocupaban las cuencas alta y media del Chama. Su cultura agraria fue notable y fueron los líderes de la "cultura de la papa" y otros tubérculos propios de las tierras altas (Celis, 1997).

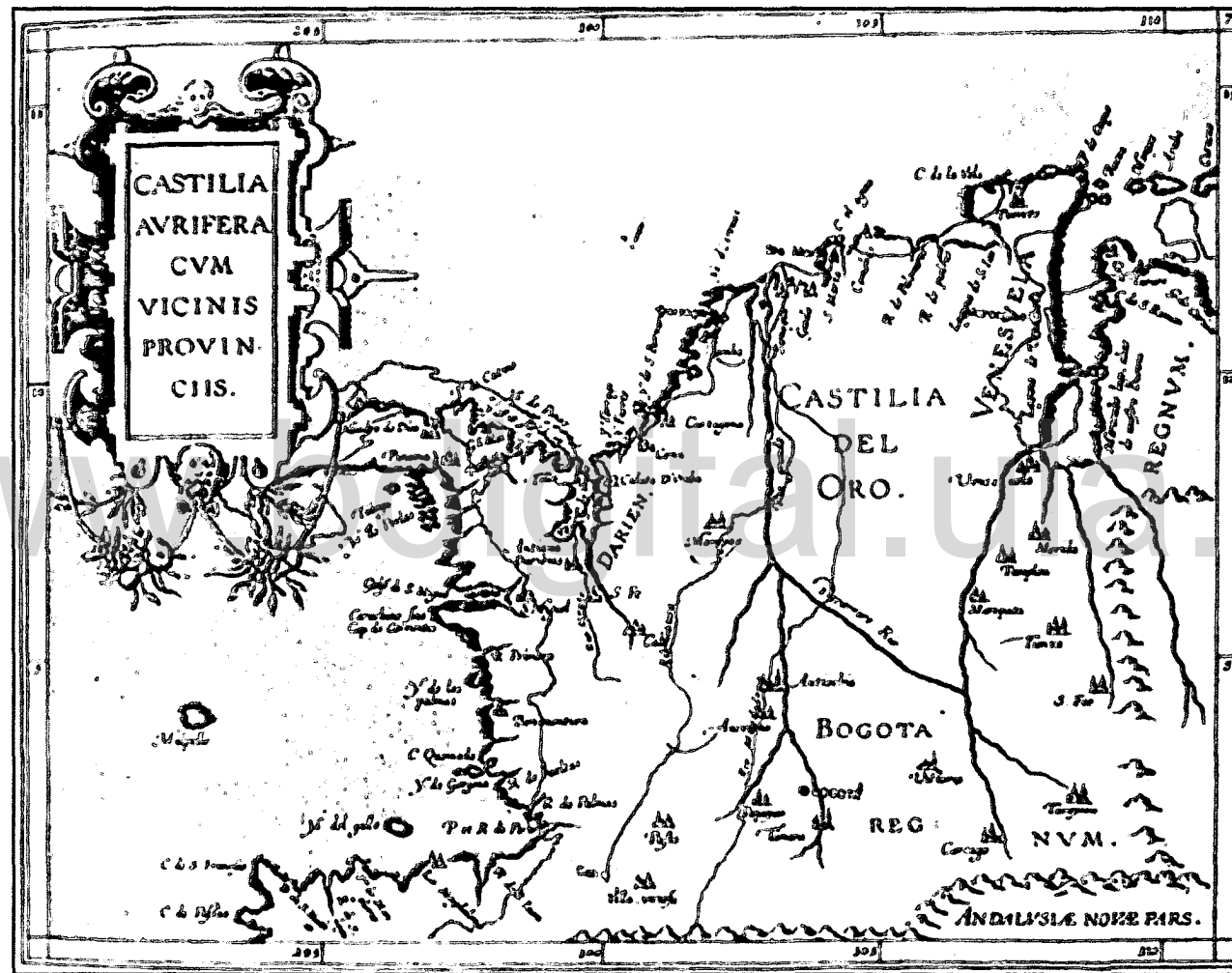


Figura 20. Mapa antiguo de Colombia siglo XVI-XIX, Tomado de (Acevedo 1950, citado por Montoya, 2008)

Evidencias de la producción y consumo de papas en Los Andes venezolanos por parte de civilizaciones prehispánicas

Evidencias arqueológicas

Las evidencias arqueológicas más antiguas encontradas hasta el momento en el Estado Mérida indican la existencia de comunidades establecidas en la zona desde los años 1000 de la era cristiana (Cruxent y Rouse, 1958; citados por Wagner, 1973), en algunos casos estos restos se han encontrado en zonas donde actualmente se encuentran algunos de los poblados ubicados a mayor altura en Los Andes merideños (Llano del Hato, Mucuchíes, Mocao, Mistique, entre otros). Estas civilizaciones debieron tener un sistema agrícola muy organizado y eficiente para lograr subsistir en las condiciones reinantes en la zona aprovechando al máximo los pocos cultivos que se dan en ella. Entre estos cultivos se encuentran el maíz y algunos tubérculos. El maíz puede ser cultivado hasta los 3.000 msnm, y respecto a éste, algunos investigadores proponen que los pobladores de las tierras altas lo cultivaban a alturas inferiores a 2.400 msnm y lo almacenaban en mintoyes o cuevas para tenerlo al alcance cuando fuese necesario (Mangelsdorff; citado por Wagner, 1973), mientras que la papa se encuentra entre los pocos cultivos que subsisten a más de 3.000 msnm junto con *Ullucus tuberosus* (timbós, papa lisa), utilizado todavía en este siglo para sancochos y picantes y *Oxalis tuberosa* (oca, cuiba, huisisaj, apio blanco, ibias), el cual era utilizado para la preparación de chicha y para el consumo directo. A pesar de que por argumentos lingüísticos y culturales se sabe que estos tubérculos eran cultivados por las civilizaciones prehispánicas, aún no se han encontrado

restos arqueológicos, posiblemente debido a la acidez de los suelos y a las condiciones climáticas en la zona (Wagner, 1973; Suárez, 2001).

Una supervivencia de estas civilizaciones mantenida casi fundamentalmente por estos cultivos, podría justificarse también como resultado de la pobreza de la fauna en la región de los Andes venezolanos, particularmente en lo que se refiere a los grandes mamíferos. La fauna fluvial aprovechable para la alimentación debe haber sido casi nula en los torrentes de agua fría que descienden de la montaña y los cuales comienzan a tener peces en abundancia cuando se arremansan (Sanoja, 1978).

En la figura 21 se muestra un mapa basado en referencias de mediados del siglo XVI (Patiño 1977), que ubica a la papa, entre los cultivos prehispánicos en el norte de Los Andes, donde se demarca claramente la provincia de Mérida.

Existencia de una alta densidad de población y una avanzada cultura agraria

Los conquistadores al llegar a Mérida no encontraron oro ni otros metales preciosos, pero si encontraron una alta densidad de población, que les permitió establecerse y aprovecharla para una efectiva explotación agrícola. La principal fuente de carbohidratos que mantenía esta población estaba conformada por productos como la papa y el maíz, pero estos cultivos requerían de fases para su recolección, cierta preparación del terreno y riego, al mismo tiempo que generaba una perfectibilidad en la producción al permitir un aumento de ésta con el mejoramiento en las técnicas de siembra (Sanoja, 1978). Esto quedó claramente plasmado en el siguiente párrafo escrito por Fray Pedro de Aguado en 1616, publicado en el boletín del archivo Histórico

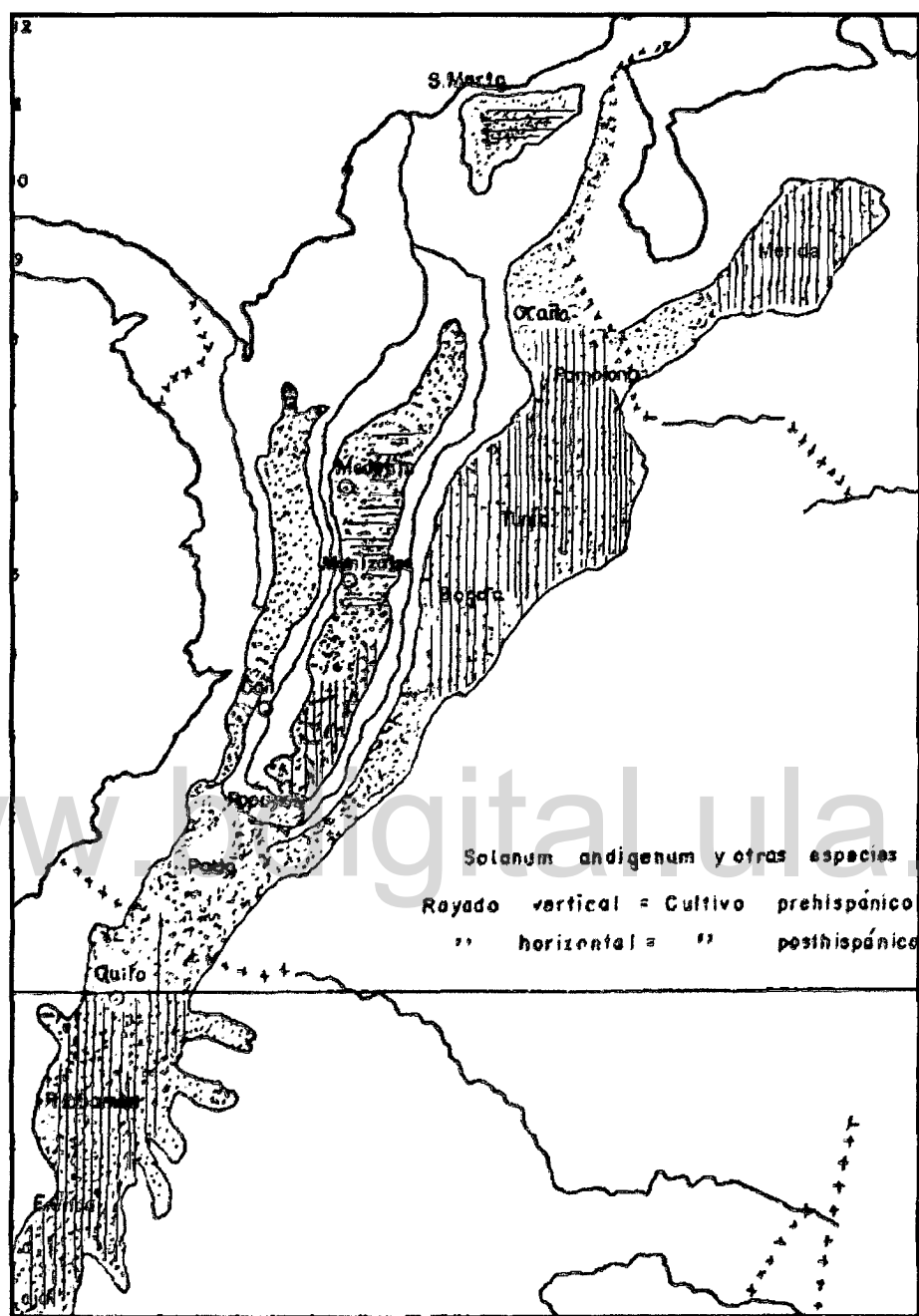


Figura 21. Mapa del norte de Suramérica desde 4° de latitud sur hasta el 12° de latitud norte, elaborado según referencias de mediados del siglo XVI prehispánicos donde se indican las áreas de cultivo de papa. Rayado vertical=zonas de cultivo prehispánico, horizontal: zona de cultivo en la colonia (Patiño 1977).

de la Provincia de Mérida en 1945.

“Con ser tierras dobladas todas y estando tan encrespadas todas e inaccesibles, que parece ser imposible poder subir por ellas hombres aún gateando, están todas labradas y hechas poyos a trechos, donde sembraban sus raíces y su maíz para su sustento, porque la muchedumbre de gente no dejaba que holgase un palmo de tierra, aunque fuese de muy fríos páramos”.

Entre las estructuras empleadas para el aprovechamiento del agua además de estanques tenían acequias de regadío, laboriosamente excavadas con sus toscos instrumentos y traídas a través de los precipicios y montañas, a veces practicando para ello nivelaciones a ojo que son admiradas por su exactitud. Tal era la funcionalidad de estas acequias que pasados algunos años de ser dejadas al abandono por los colonos, en muchos casos fue solicitada al ayuntamiento la recuperación de las mismas para beneficio de haciendas españolas (Salas, 1977).

Para dar una idea de la población que habitó la ciudad de Mérida en ese entonces; Celis (1997) cita como referencia:

“para 1571, había en la ciudad de Mérida 30 cabezas de familia españolas, a las que se agregaban 3.500 indios encomendados según relación de López de Velasco del consejo de Indias, “

Esta alta densidad poblacional se mantuvo en la región, ya que para 1961, la población de Los Andes equivalía al 13% de la población de Venezuela, con una densidad de población relativamente alta equivalente a 33 habitantes por Km², mientras que en el resto del país se hablaba de 8 habitantes por Km² (Bartra, 1971).

Las papas como objeto de culto entre las civilizaciones prehispánicas

Entre los pueblos Cuicas y timotes la papa fue objeto de culto religioso tal como se menciona en documentos de la relación de Trujillo en 1579:

"Tenían muchos ídolos hechos a forma de un muchacho sin cabeza ni brazos, unos más pequeños que otros; había uno que era de maíz, otro de las «turmas»³, otro de las mujeres preñadas y otro de la guerra y así para todas las cosas que en la tierra había; para cada cosa su ídolo. Eran hechos de hilo de algodón y de unas cuentas de hueso que llaman ellos 'quitero', de que había gran cantidad en esta tierra. Tenían estos ídolos muy venerados y puestos sobre su manera de altares, y allí les hacían sus sacrificios; sacrificábanles algunos muchachos y, a veces, animales" (Acosta, 1961; citado por Patiño, 1977).

Nombres vernáculos de la papa por parte de las civilizaciones nativas del estado Mérida

Dado que la preservación de la papa, la ruba y la cuiba es difícil, la evidencia arqueológica se apoya en este caso en el registro lingüístico, como queda demostrado por las diferentes palabras en lengua indígena utilizadas para nombrarla a ella, a otros tubérculos y a diferentes acciones relacionadas a su cultivo, tal como lo refieren Febres (1991), Patiño (1977) y Suárez (2001).

- **Büís o güís:** papa, patata.
- **Tingüís:** papa en mucuchís
- **Tigurús:** papa en idioma mirripu

³ Turmas=papas, ver pág. 68

- **Estigüis:** La papa
- **Cuiba o quiba:** Chibcha, tubérculo parecido a la zanahoria que cultivaban los indios (*Oxalis tuberosa*) (ésta es la misma que llaman oca en Perú)
- **Ruba** (*Ullucus tuberosus*): Tubérculo parecido a la papa que cultivaban los indios.
- **Tinopó:** fruto que viene espontáneamente en el rastrojo sin necesidad de sembrar.
- **Tigurús o tigús:** papa en otro dialecto mucubache
- **Jiquime** (*Polymnia edulis*) actualmente se le llama sagú.
- **Nabu** (*Sinapis brassicata*)

Existen pocas referencias en la literatura respecto a métodos de preparación y consumo de la papa para el momento de la conquista. Se habla del consumo de papa combinado con michiruy *Draba bellardii* (fig. 22), la cual es una planta pequeña, 20-30cm de flores amarillas, que se encuentra en los páramos (4500-4600 msnm) y sus raíces se cocinan aún en la actualidad para ser consumidas como acompañamiento de las papas (Texera, 1988). Otros cronistas mencionan el consumo de papas por parte de los indígenas combinadas con una pasta llamada saní, la cual describen como una especie de mostaza, elaborada a base de *Sinapis brassicata* o *Brassica nigra*; actualmente esta planta crece abundantemente en parcelas de papa en descanso (barbechos) (fig 23), la cual es una especie introducida luego de la conquista y que por alguna razón los indígenas adoptaron su consumo como acompañamiento de la papa (Febres, 1991; Salas, 1977).



Figura 22. Michiruy *Draba bellardii*, planta utilizadas como acompañamiento de las papas. Foto tomada por B. Dugarte (2009).



Figura 23. Fotografía de una zona del páramo andino; donde crece la mostaza negra *Brassica nigra*. Fotografía tomada por K. Boscán 2008.

Cultivo de la papa en el estado Mérida durante el siglo XVI

“Turmas de tierra”, nombre dado a las papas en Colombia y Venezuela por parte de los españoles

Al ver por primera vez las papas, el conquistador las relacionó con los testículos o criadillas por ello utilizó el nombre turmas de tierra; denominación que en España también se le daba a las trufas *Tuber sp.* Esto quedó registrado bajo la pluma poética de don Juan de Castellanos en los documentos de la conquista de Colombia por Gonzalo Jiménez de Quesada en 1537 en las lindes de la confederación muisca, saliendo de Ubaza a la orilla izquierda del río Suárez:

“aunque las casas todas proveídas de su maíz, frísoles y de turmas, redondillas raíces que se siembran y producen un tallo con sus ramas, y hojas y unas flores, aunque raras, de purpúreo color amortiguado; y a las raíces desta dicha hierba, que será de tres palmos de altura, están asidas ellas a la tierra, del tamaño de un huevo más o menos, unas redondas y otras perlongadas: son blancas y moradas y amarillas, harinosas raíces de buen gusto, regalo de los indios bien acepto, y aun de los españoles golosina” (Castellanos, 1955; citado por Patiño, 1977).

Son numerosos los documentos que mencionan a las turmas como fuente primaria de alimento de los indígenas. Todas las fuentes referidas a las tierras altas se suponen referidas a la papa, porque aunque existía una gran variedad de denominaciones vernáculas a este tubérculo, en las crónicas de los conquistadores de Colombia y Venezuela, sólo se utilizó esta denominación, junto con la denominación “yomas”, mientras que en Perú se

utilizó el nombre quechua papa, tal como se menciona en el siguiente párrafo: tomado de documentos fechados en el siglo XVI:

“Siembranse en este distrito trigo, cebada, maíz, garbanzos, frisoles, habas, turmas, que son las que en el Pirú llaman papas; siembranse á mano; la semilla son ellas mismas hechas pedacitos que tengan algún nudo por donde nazcan; el fruto dan en la raíz colgado como gamones, y cuando están maduras las arrancan y cogen apartándolas de las raíces; es cosa de mucho provecho para los indios, porque teniendo maíz y turmas tienen todo el sustento necesario” (Mendoza, 1868).

En la relación de Trujillo de 1579 se destacan las turmas como uno de los principales mantenimientos de los Cuicas y Timotes (Arellano, 1950; citado por Patiño, 1977)

El naturalista Antonio Caulin (1779), al describir otro tubérculo cultivado en Venezuela como lo es el guapo, lo asemeja a las papas o “criadillas de tierra.

Debe dejarse claro que en Venezuela la denominación turmas no fue exclusiva de las papas; en tierra caliente se ha utilizado para denominar otros cultivos. Según Henry Pittier, la turma es lo mismo que el lairen, *Maranta arundinacea*, cuyos tubérculos, hervidos en agua con sal, se venden en las calles y son muy populares; y posiblemente el apio. Esto tiene sentido si se toma en cuenta que en Venezuela existen algunos pueblos con nombres relacionados a las turmas como lo son Turmero⁴ y Turmerito, (Texera, 1988),

⁴ Población venezolana ubicada en el estado Aragua y Anzoátegui. El nombre se refiere a los ocumos, para los que se utiliza a menudo la palabra Turma, (Casale, 1997).

mientras que otros autores lo utilizan para nombrar al ñame *Dioscorea sp* y al ocumo *Xanthosoma sp* (Vila, 1978, 1976).

Cultivos de papas encontrados en la provincia de Mérida para el momento de la conquista en 1558

El conquistador español, al avanzar en la conquista de nuevos territorios, llevó consigo los nombres de los diferentes elementos identificados en lugares y territorios ya descubiertos para adjudicarlos a aquellos parajes que mostraban alguna semejanza con un sitio conocido, tal es el caso del “Valle de las turmas” lugar llamado así por la abundancia de papas encontradas en él. Posteriormente se le llamó Valle de La Grita debido a la gritería que formaron los indios para ahuyentar a los españoles, este valle de las turmas se encuentra ubicado cerca de la ciudad de Vélez (Colombia); zona por donde pasó Juan Rodríguez Suárez en su campaña para descubrir las Sierras Nevadas (Aguado, 1931) (Fig. 24).

Luego de fundar la ciudad de Mérida en la zona que llamaban La Punta (actualmente La Parroquia), Juan Rodríguez Suárez y sus compañeros se dieron a la tarea de continuar hacia arriba, siguiendo el Valle del río Chama (en esa época llamado río Guadiana) hacia las sierras nevadas. En el Valle del río Chama comenzando donde actualmente se encuentra la población de Tabay, existían cultivos de papas, por ello se denominó “Valle de las Turmas” a toda la zona desde Tabay aproximadamente a 1800 msnm, hasta la Laguna de Mucubají a 3900 msnm, en ambas laderas del río (Fig. 25), (Picón, 1988). Esto quedó registrado dentro de los repartimientos realizados por Juan Rodríguez Suárez, donde muchas de las tierras repartidas se especifican como ubicadas en el mencionado Valle (Picón, 1988). La conquista de Los

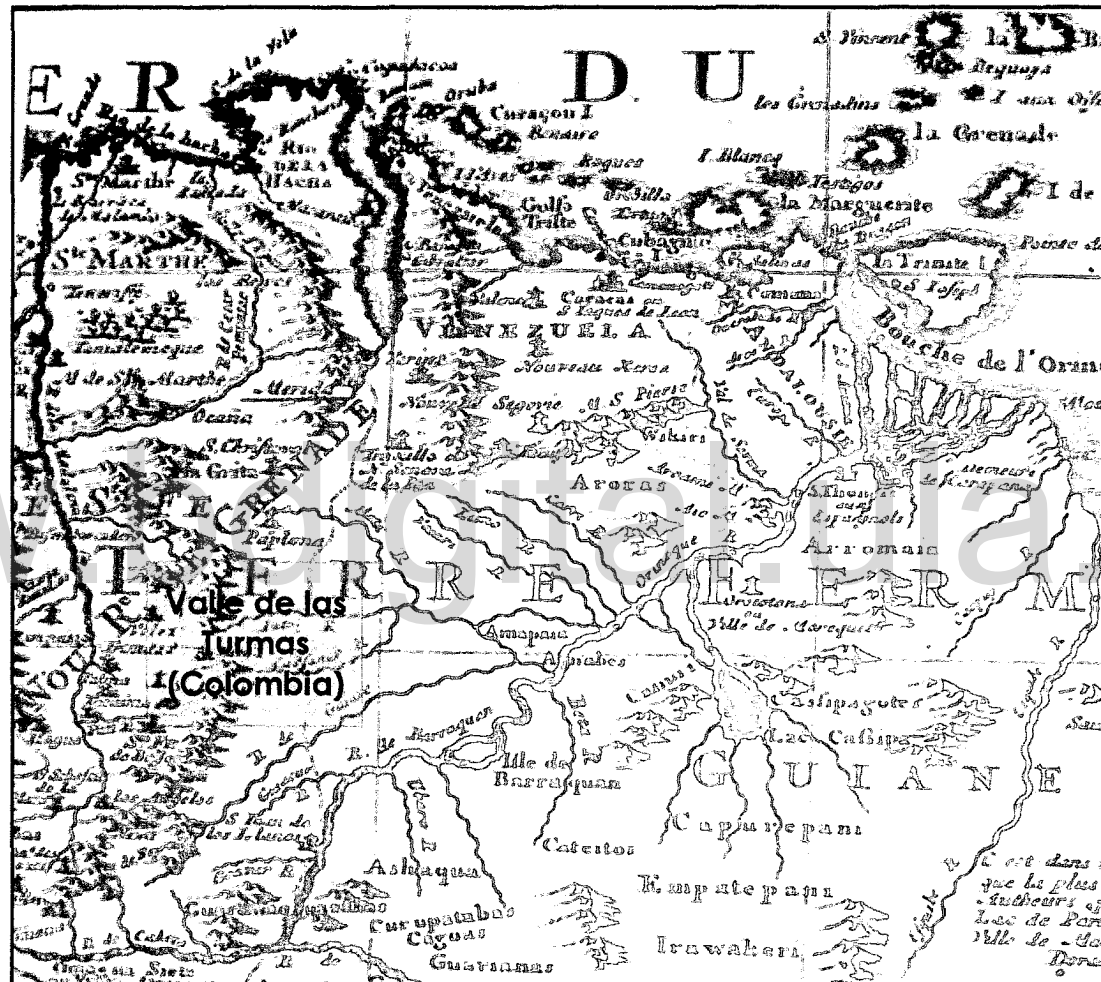


Figura 24. Mapa antiguo de Colombia y Venezuela del siglo XVIII grabada por Guillermo Delisle, donde se observa la ubicación del Valle de Las Turmas (Colombia), posteriormente llamado Valle de La Grita, ubicado en la ruta de Juan Rodríguez Suárez en su conquista de las Sierras Nevadas. Tomado de Montoya, (2008).

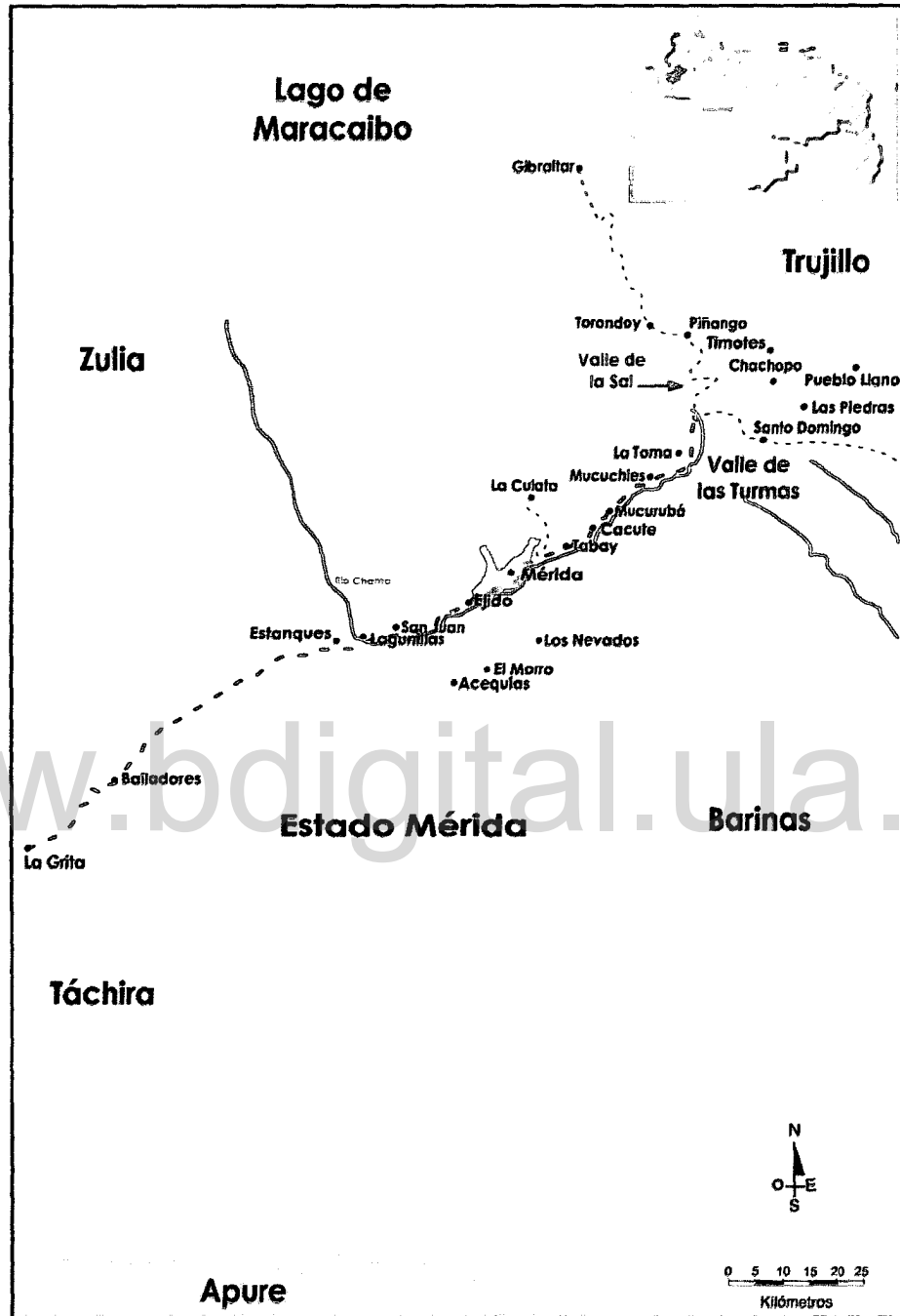


Figura 25. Mapa del Estado Mérida donde se recreo parte del camino seguido por los primeros conquistadores de Mérida y la ubicación aproximada del Valle de Las Turmas según datos recopilados de (Aguado, 1931; Picón, 1970; Picón, 1988).

Andes se vio estimulada por la búsqueda insaciable de riquezas de oro y plata, pero al momento de lograr esta hazaña, los españoles se sintieron decepcionados al no encontrar tales metales y en cuanto a tierras se consiguieron unas condiciones extremas, donde no existía abundancia de terrenos fáciles de cultivar según sus costumbres. Pero a la vez encontraron, al habitar éstas una cierta libertad del sometimiento español, debido al poco interés que la corona manifestó al principio por las nuevas provincias. Esto los obligó en un inicio, a mantener una economía precaria y a establecer los cultivos peninsulares como el trigo, la cebada y la avena, adoptando de los nativos sus fuentes principales de sustento, entre éstos las papas y el maíz (Montoya, 2008).

Para los colonos era más fácil salir de Los Andes vía al lago de Maracaibo, que tratar de llegar a Bogotá, por ello es difícil asegurar una entrada de productos desde esa provincia. La mayoría de las importaciones que llegaban a la región provenían vía lacustre, pero según lo explica Montoya (2008), durante el siglo XVII a Maracaibo llegaban apenas dos barcos españoles por año.

Por estos hechos es fácil inferir que durante los primeros años siguientes a la conquista de Mérida, hubo una dependencia de los productos autóctonos para cubrir las necesidades básicas, mientras se establecían los diferentes cultivos que trajeron los conquistadores. Además, la papa sería junto con el maíz una fuente primaria de carbohidratos adecuada para mantener la alta población indígena que había en la región para el momento de la conquista la cual según Osorio (2005) era de 25.872 indios para 1558, pero rápidamente fue disminuyendo debido al abuso del colono y a las enfermedades.

Según Osorio (2005), ya para 1589 se hablaba en la ciudad de Mérida de un agotamiento de los suelos, y en el páramo se menciona el comienzo o un posible retorno de la combinación de cultivos, sembrándose turmas entre el maíz.

Cultivo de papas durante el siglo XVII

Para el siglo XVII se había introducido el cultivo de trigo como principal producto agrícola en las tierras altas del estado Mérida, pero aún la principal fuente de alimento de los indios de la zona eran el maíz y las papas y por ello se les dejaban tierras para que los cultivaran para su sustento. Desde comienzos de este siglo según las ordenanzas de Mérida de 1605 se registró el cultivo de turmas en varios poblados entre los cuales se mencionan: Tabay y Mucurubá (Osorio 2005), Acequias, El Morro, Chachopo, Mérida, Mucuchíes, Mucurubá, Pueblo Llano, Las Piedras y Timotes (Vila, 1967),

En las ordenanzas sobre trabajo indígena para la gobernación de Mérida, promulgadas en esa ciudad el 17 de agosto de 1620, el oidor de la Audiencia de Santa Fe, Alonso Vázquez de Cisneros, estableció los jornales que se debían pagar a los indígenas por las labores y menesteres que ejercían en servicio de los españoles. Dos de ellas eran la labranza y desyerba de turmas (Salas, 1977):

“A los indios que benefician las labranzas de turmas por desyerbar, sembrar, coger y encerrar, dándole tierra arada, se de a cada uno por día medio real...”

Para la misma época se menciona la venta de turmas, maíz y lechones, por parte de los habitantes del Pueblo de La Sal hacia los viajeros que iban de Mérida hacia el puerto de Gibraltar (Velásquez, 1992).

Ya para el siglo XVII los colonos habían adoptado los alimentos de los habitantes nativos y por ello en algunos documentos antiguos ya se habla del cultivo de las papas, específicamente dentro de las tierras del encomendero para su consumo. Entre estos documentos se encuentran las relaciones de las visitas realizadas por los oidores del corregimiento de Tunja, y en ellas se registraron diferentes situaciones relacionadas con los encomenderos. Entre estas situaciones se menciona en algunos casos las fuentes de alimentación de los indios y el cultivo de turmas por parte de los encomenderos; inclusive se habla de la apropiación de los cultivos de los indios para consumo de los mismos. Entre las poblaciones mencionadas en algunos de estos documentos, en las cuales se cultivan papas, se incluyen el repartimiento de los Mocas en los Nevados (1619), Población de Mucurua (la actual Mucurubá), Mucupiche, Repartimiento de Cacute (1655), (AHNC Colección Ciudades de Venezuela R13, R14).

Ya para el siglo XVII en Mucuchíes se habla de una disminución en la producción de papas, por lo cual se reporta una compra de este producto a los indios de Tabay (Velásquez, 1995)

Cultivo de papas durante el siglo XVIII

En su informe escrito sobre la vida de los pueblos de la cordillera andina en el año 1761, el Dr. Basilio Vicente de Oviedo reportó el cultivo de turmas o papas en varios poblados, entre los cuales se mencionan: La Grita,

Mucuchíes, Mucurubá, Santo Domingo, Pueblo Nuevo, Las Piedras, Acequias, Mucuño, El Morro, Timotes, Chachopo (Arellano 1970). Con respecto a la ciudad de Mérida para 1765, Basilio Vicente de Oviedo, en su obra Cualidades y riquezas del Nuevo Reino de Granada, menciona las papas como uno de los frutos cultivados en la ciudad de Mérida, tal como se puede apreciar en el texto original:

“Su terreno es tan fértil, que produce de todos frutos de tierra fría, templada y cálida: manzanas, duraznos, membrillo, granados, plátanos, aguacate, con abundancia buen trigo, maíz, papas, arracachas, yucas, repollos y muchos y riquísimos cacaos y buena agua” (Picón, 1988).

Aún a la fecha actual es posible cultivar papas en la ciudad de Mérida, a nivel de La Hechicera (1750 msnm).

Para finales del siglo XVIII se deja de usar el vocablo turmas en el estado Mérida, posiblemente debido al establecimiento de las papas en España como producto de consumo popular. Para esta época las papas ya se estaban cultivando fuera de la tierra fría, tal como se menciona en un documento fechado en 1758 donde se habla del cultivo de papas en una meseta cercana a la actual Barinas, dentro de cuya descripción se especifica que es zona caliente pero se dan los cultivos del páramo tales como papas, coles, lechugas, trigo y cebada. (AHNC, Colección Ciudades de Venezuela R3· 219-222).

Cisneros en 1764 menciona a la papa como una de las raíces que se producen en todo el año en la provincia de Venezuela, pero no especifica en que parte del país eran cultivadas estas papas. Para esta fecha, Mérida aún pertenecía al Virreinato de Santa Fe; por lo tanto la papas que se mencionan en el documento se cultivaban en otra región del país (Cisneros, 1764/2001).

Según Altoaguirre y Duvalé (1908), citados por (Patiño, 1964), hacia 1768 se habla de papas cultivadas en las alturas de Duaca, valle de Aroa, así como en Chabasquén, en la jurisdicción de El Tocuyo. A mediados del siglo XVIII, Basilio Vicente de Oviedo señala el cultivo de dos clases de papas en el Nuevo Reino: *“unas llaman criollas, son más breves para producir y mejores para el gusto; y las otras llaman turmas de año...”* (Patiño, 1964).

Cabe destacar que debido a que para la fecha Mérida aún formaba parte del Nuevo Reino de Granada, es probable que se adoptaran estas denominaciones para las papas locales.

Cultivo de papas durante el siglo XIX

A comienzos del siglo XIX ya la papa formaba parte de la dieta básica de toda la población de Mérida, de Venezuela e incluso de países como puerto Rico, Cuba y México entre otros. En Europa ya se valoraba el rendimiento del cultivo de papas respecto al trigo y por ello se adoptó como un alimento ideal para cubrir las necesidades calóricas en los sectores más pobres (Long, 2003).

En escritos sobre la vida de un importante comerciante merideño Rafael Salas, el cual vivió entre 1797-1855, se menciona al hablar de sus fundos agrícolas que; *“éstos se extendían desde las vegas cálidas, donde se produce cacao y caña de azúcar; hasta los páramos que rendían trigo, papas y habas”* (sla, 1937).

Precios de las papas reflejado en los periódicos de Mérida durante el siglo XIX

Una referencia importante sobre el papel que ocupó la papa en la dieta básica del merideño quedó reflejado en algunos periódicos del siglo XIX, donde se lista la papa como un producto básico de consumo. Ver tabla 3.

Apuntes estadísticos del Estado Guzmán

Los apuntes estadísticos del estado Guzmán, que era el nombre que tenía el estado Mérida en 1877, fueron recogidos por Monseñor Jesús Manuel Jáuregui, para ser publicados en 1887 (Jáuregui, 1948). En estos apuntes se registraron los datos referentes a los diferentes departamentos que conformaban el estado con sus respectivas parroquias. Entre los datos que quedaron registrados para ese entonces estaba la población, caminos, minería, comercio, agricultura, ganado, entre otros. Con respecto al cultivo de papas en el departamento Libertador se registró cultivo en las parroquias Milla, El Llano, Tabay, La Punta, Aricagua, y en el Departamento Campo Elías en las parroquias Montalbán y Acequias. En la tabla 4 se reportan los datos de producción de papas en los departamentos Rangel y Miranda para el año 1877. En los datos recopilados se evidencia la producción de papas en todas las parroquias de tierra fría registradas en ese momento en el estado Mérida. También se demuestra la pequeña pero significativa exportación de papa fuera del estado, aunque sólo para estados aledaños. Esto sirve de referencia para demostrar que para esa fecha ya se había difundido el hábito de consumir papas en otras regiones del país y no solamente dentro de los estados andinos. Lamentablemente no se registraron los volúmenes de producción para todas las provincias, pero los registrados permitieron verificar

Tabla 3.
Referencias a precios de las papas en el estado Mérida a finales del siglo XIX

Fecha				
	Diario El comercio 13 de marzo 1884	Diario El comercio 15 de Mayo de 1884	Diario La cordillera Junio 1871	Diario La cordillera 24 de diciembre de 1894
Comentario	Papa: 6 pesos por carga Maíz: 6 pesos por carga Arroz: 19 pesos por carga. Arvejas: 7 pesos por carga	Papa: 5 pesos por carga	Maíz: ,62 pesos el almud Papa: ,50 pesos el almud	Arroz: 25 pesos la carga "Papas criollas" 88 pesos el palito Maíz: 1.12 pesos el palito
	Una carga de papas según registros de otros autores equivalía a 8 arrobas. (1 carga aprox. 80-90 kilos) (Jáuregui 1948)		El almud era una medida de peso y volumen. Contenía unos 22 Kg. de trigo y estaba materializado por un cajón donde uno de sus lados menores estaba inclinado en forma de tolva para facilitar el vaciado del contenido en las talegas. Medía 58 cm de largo por su parte inferior, 82 cm. por su parte superior, 20 cm. de alto, 25 cm. de ancho. http://www.geocities.com/BourbonStreet/Square/2024/elcubillo/medidas.htm#inicio	1 palito = 20 libras = 112 almud = 1 arroba Correspondería a una caja de madera rectangular de 15X30 centímetros y en el Estado Táchira el palito ingeniero para el café en baba o cerezo sería igual a 62 Kg. Aunque su equivalente actual sería de 13 y de 16 Kg. (Rodríguez, 1983)

Tabla 4.

Parroquias pertenecientes a los departamentos Rangel, Miranda, Rivas Dávila y Tovar del Estado Mérida, que cultivaban papas en 1877

Departamento Rangel			Departamento Miranda		
Parroquias	Cultivo de papas	Producción	Parroquias	Cultivo de papas	Producción
Mucuchies	+	80.000 quintales. Se exportaban 6.000 quintales de papas para la capital del estado y para los estados Zamora, Portuguesa, Trujillo y Torondoy	Timotes	+	☼
Santo Domingo	+	800 cargas de 8 arrobas	Pueblo Llano	+	800 cargas, Esta producción era repartida entre la parroquia y una parte se exportaba a Trujillo y Barinas
Mucurubá	+	1.500 cargas,	Chachopo	+	300 cargas,
Las Piedras	-		Palmira	+	☼
Torondoy	+	Se producía papa para consumo local			
Santo Domingo	+	800 cargas			
Total parroquias	5		Total parroquias	4	
Departamento Rivas Dávila			Departamento Tovar		
Bailadores	+	No se indica cantidad pero se menciona que las papas "eran un artículo bastante productivo"	Tovar y Zea	-	
Total parroquias	1		Total parroquias	0	

Nota: Registro de cultivo de papas = +, No hay registro de cultivo de papas = -, ☼: No se registraron datos de volúmenes de producción. Un quintal para esa época es equivalente aproximadamente a 40 kilos según Cortés y Ramírez (1998)

la hipótesis sobre la producción y la importancia de la papa en la época (Celis, 1997).

Para finales del siglo XIX la papa se incluye entre los productos merideños que salen del estado a través de los caminos de recuas, para distribuirse en regiones cercanas (Martínez, 2007).

Registro foliográfico de papas cultivadas en el estado a finales del siglo XIX

El cronista de Mérida Tulio Febres Cordero (1896), en su obra Foliografía de Los Andes ⁵ registró las variedades de papas cultivadas para esa época en los alrededores de la ciudad. Las variedades mencionadas en la obra fueron las siguientes: papa “Negra”, papa “China”, papa “Surbarana”, papa “Granada” y papa “Plancheta”, entre las cuales se encuentran algunos nombres utilizados aun en el presente para denominar papas nativas merideñas. A pesar de ser un registro muy valioso, es difícil a partir de la sola impresión foliar establecer una relación exacta con alguna de las variedades actuales, (aunque no se descarta como referencia en cuanto a nombres y a estructura de la hoja, lo cual permite dar una idea de la variedad de papa utilizada en ese entonces), esto apoyado por la memoria histórica de los ancianos actuales. En las figuras 26 y 27 se muestran imágenes de las páginas originales del que incluyen las foliografías de papas.

Cultivo de papas en la Provincia de Caracas durante el siglo XIX

En Venezuela, como estrategia para recuperar al país de los estragos

⁵ Foliografía: arte de reproducirla parte foliácea de las plantas, sirviendo de clisé la misma hoja por un procedimiento meramente tipográfico (Febres Cordero, 2005)



Figura 26. Impresiones foliográficas de “Papa china”, “Papa negra” y “Papa Surbarana” cultivadas en los alrededores de Mérida finales del siglo XIX .Tomado de Febres Cordero (1896).



Figura 27. Impresiones foliográficas de Papa granada, Papa plancheta cultivadas en los alrededores de Mérida finales del siglo XIX. Tomado de Febres Cordero (1896).

de la guerra, hacia el año 1829 se constituyó la Sociedad Económica de Amigos del País. Entre el plan a seguir se realizó un inventario de la riqueza del país y en ese inventario se encontraban los cultivos agrícolas propios de cada región. Para el momento la Provincia de Caracas se dividió en dieciséis cantones bajo la denominación de las cabeceras de los ríos que se ubicaban en ellos. En tres de estos cantones; Caracas, La Guaira (Hacia la montaña, probablemente en los alrededores del actual poblado de Galipán) y Petare, se registró el cultivo de papas (Grases, 1950).

Referencia de exportación de papas a través del puerto de La Guaira en el siglo XIX

Entre las estadísticas recopiladas en la obra mencionada en el párrafo anterior se menciona la papa entre los productos exportados a través del puerto de La Guaira entre los años 1831 y 1832 con un total de 3.500 fanegas y en los años 1832 -1833 con un total de 14 2/3 fanegas (ver tabla 5)

Uso de la papa en Venezuela como fuente de almidón en el siglo XIX

El almidón era un producto básico de consumo en Venezuela durante el siglo XIX, por ello, para la época se realizaron estudios donde se evalúa la calidad del almidón producido a partir de diferentes plantas, entre ellas se describe a la papa, junto con la yuca, la yuquilla, el maíz y el sagú como fuente importante de almidón, describiéndose al proceso de extracción del almidón de papa como muy rendidor (Celli, 1976, Grases, 1950).

Cultivo de la papa en el estado Mérida durante el siglo XX

Censo de las parroquias de la Diócesis de Mérida 1909

Durante el año 1909, por mandato de Monseñor Silva se realizó un censo de las diferentes parroquias que para ese momento pertenecían al territorio eclesiástico de la Diócesis de Mérida. Uno de los datos recolectados fue la producción agrícola en cada una de esas parroquias por rubros. Para ese momento en el estado Mérida se reportó producción de papa en las parroquias: Canaguá, El Morro, Belén, Mucurubá, Mérida, Mucuchies, Piñango, Pueblo Llano, Pueblo Nuevo, Santo Domingo y Tabay. En la tabla cinco se muestran los volúmenes de producción de papa, maíz y trigo, considerados los más importantes en el estado para la época (Pérez, 2004).

Según el censo agrícola y pecuario de 1937, la producción de papas negras en el municipio Mucuchíes fue de 656 toneladas, producidas en 316 hectáreas ocupadas por 170 fundos. Para la misma fecha se reportó 544 toneladas de trigo cultivadas en 1.181 hectáreas en 267 fundos, lo cual ubicaba al trigo como el producto agrícola que ocupaba mayor extensión de terreno, pero la papa ofrecía un mayor rendimiento por hectárea (Contreras y Gutiérrez, 2007).

La introducción de papas extranjeras en el estado Mérida

Existen evidencias históricas que sirven como argumentos para justificar un retraso en la introducción de semilla de papa extranjera al estado Mérida con respecto al resto del país, para lo cual hay que ir hacia atrás en la historia y así comprender antes que nada el estado de aislamiento en que

Tabla 5

Producción por rubro agrícola en la jurisdicción de la Diócesis de Mérida 1909.

Producción agrícola Edo. Mérida			Producción Agrícola Edo. Trujillo			Producción Agrícola Edo. Táchira			
Rubro	Parroquias	Producción	Rubro	Parroquias	Producción	Rubro	Parroquias	Producción	
Papa	El Morro	1000 quintales	Papa	Niquitao	400 fanegas	Papa	Vargas	600 quintal	
	Mucuchíes	40.000 quintales/año						Michelena	80 fanegas/año
	Mucurubá	4.000 quintales						Ntra. Sra. Del Rosario de Sucre	200 quintales
	Pueblo Llano	160 cargas							
	Santo Domingo	600 quintales							
	Tabay	500 cargas							
Trigo	El Morro	400 quintales	Trigo	Niquitao	300 fanegas	Trigo	Vargas	2.500 quintales	
	Mucuchíes	60.000 quintales/año						Ntra. Sra. Del Rosario de Sucre	200 quintales
	Mucurubá	11.000 quintales							
	Piñango	300 cargas							
	Pueblo Llano	200 fanegas							
	Santo Domingo	1.600 quintales							
Maíz	El Morro	1.000 quintales	Maíz	Niquitao	430 fanegas	Maíz	Michelena	160-00 fanegas/año	
	Mucurubá	800 quintales							
	Pueblo Llano	40 fanegas *							
	Santo Domingo	200 fanegas							
	Tabay	200 fanegas/año							

Nota: Según Cortés y Ramírez (1998); una fanega en Venezuela para la época equivalía a 117.49 dm³. Tabla elaborada por la autora a partir de datos tomados de Pérez (2004)

estuvo sumida la región por un largo período de tiempo. A continuación se mencionan algunas de estas evidencias.

La calidad de las papas producidas en Los Andes

El naturalista Henri Pittier en una de sus cartas (1900-1920) referida al cultivo de la papa menciona: *“La papa se produce de excelente calidad en la tierra templada arriba de 800 msnm, pero no en cantidad suficiente para las necesidades locales. Esta planta está a menudo atacada por enfermedades criptogámicas, y además, el sistema defectuoso de la siembra ocasiona una pronta degeneración del tamaño y excelencia de los tubérculos. Se remedian de alguna manera estos inconvenientes por medio de la continua importación de semillas americanas”* . .

Más adelante señala:

“Con referencia a la papa, es preciso establecer distinciones. En las partes central y oriental del país, este tubérculo se obtiene en bajas altitudes (800 m) de semillas importadas, usualmente de las Canarias o “de Estados Unidos, y casi regularmente infestadas con el Phytophthora. Su vegetación es escasa y los tallos aéreos raras veces llegan a su completo desarrollo, la calidad del tubérculo es mediocre (Texera, 1988).

El párrafo anterior menciona las causas por las cuales se importa semilla de papa, para el cultivo en tierras templadas, haciendo énfasis sobre la baja calidad del tubérculo producido a partir de esa semilla; mientras que al referirse a las papas cultivadas en la zona fría, es decir, en Los Andes, menciona:

“En Los Andes, de 2.800 a 3.700 m según mis observaciones, el Solanum tuberosum es indígena o ha sido cultivado desde tiempos

inmemoriales. Se desarrolla en una frondosidad notable, produce semillas y sus tubérculos son de excelsa calidad. En altitudes inferiores (1.800-2.800) no parece hallarse tan seguramente en su medio natural. Se han observado dos o tres especies de Solanum silvestres, del mismo grupo de la papa y produciendo como ésta tubérculos, aunque en dimensiones muy reducidas. Todos pertenecen a la tierra fría....” (Texera, 1988).

El aislamiento de Los Andes respecto al centro del país

Durante las primeras décadas del siglo XX los valles altos de Venezuela permanecieron relativamente aislados del centro del país debido a las dificultades que presentaba la “Carretera de los Andes” o trasandina para la comunicación. Por ello es difícil afirmar que hubo una introducción de semilla extranjera en el estado Mérida antes de 1925 (Farías 1961; citado por Velásquez 2001). Hasta entonces siempre se habló sobre la mala calidad de los caminos para entrar y salir de Mérida; además, luego de lo mencionado anteriormente sobre la fertilidad del suelo y la calidad de papas que se producían en el estado, es poco probable que existiese la necesidad de la importación de papas (Velásquez 2001)

Julio Cesar Salas en 1919, registró este hecho, relacionándolo con el consumo de papas importadas:

“Si no fuese por los pésimos caminos que tenemos, la tierra originaria de las patatas, o sea Los Andes, consumiría este producto importado de los Estados Unidos, como lo consume Caracas y el litoral venezolano, que se abastece también de manteca de cerdo y de harinas extranjeras, porque los merideños no podemos vender lo que producimos, es decir que por obra de los obstáculos naturales y artificiales, con tierras asombrosamente fértiles y

labradores tan sufridos y trabajadores, no podemos competir ni aún en nuestro propio territorio con el agricultor Yankee, cuyo clima no le permite obtener sino una cosecha de maíz por año cuando nosotros recogemos tres”.

Como se aprecia en el párrafo anterior, ya para la época se habla de cultivos de papas importadas en Caracas y en el litoral.

Transporte de papas a través del ferrocarril de Maracaibo

Para el año 1919 según registros del MOP (Ministerio de Obras Públicas), se menciona la papa entre los productos a pagar flete al ser transportados por el ferrocarril Nacional de Santa Bárbara el Vigía en la ruta Maracaibo a los cañitos (Martínez, 2007). Tiene sentido suponer que las papas que se transportaban en el ferrocarril salían del estado Mérida, y no al contrario, ya que para la época aun se habla de papas de calidad, pero queda la duda de una posible introducción de papas para ese momento, y en ese caso de papas posiblemente provenientes de barcos españoles que traían mercancías al puerto de Maracaibo. Además, tal como lo mencionó Salas en 1919, ya en Caracas se cultivaban papas importadas para esa fecha.

Primeros reportes sobre papas importadas cultivadas en el estado Mérida

Existen registros que mencionan a un inmigrante alemán de nombre Otto Jullins Herman Hollwis Wolff, conocido por los pobladores como “Mister Jelvis”, el cual en 1923 introdujo el cultivo de hortalizas incluyendo la papa, pero la producción de esta primera papa importada no fue muy significativa (Consejo Municipal de Timotes, 1987; citado por Velásquez, 2001)

En 1927 se indica la presencia de especies nativas de papa en varios lugares de la Sierra de Mérida, como en Mucuchíes (Jahn, 1927; Citado por Patiño, 1977), lo cual puede ser una referencia a que ya en esa fecha existía en el estado otro tipo de papas que no eran nativas.

Papas cultivadas en El Valle para 1929

Una referencia importante sobre el cultivo variedades de papas importadas es lo mencionado por Paredes en 1929, en una tesis de grado de la Universidad de Los Andes. En este trabajo se dividen las papas alimenticias en tempranas o de travesía: estas son plantadas en los meses de noviembre hasta Enero, para ser recolectadas de Junio en adelante. Entre las papas tempranas menciona la Criolla y la Rosa Temprana, y las tardías o de año grande, llevado a tierra en la menguante de Marzo y Abril y recolectado cuando están en condiciones. En este grupo sólo se menciona a la papa "Plancheta" la cual se describe de forma regular, aplastada u oblonga y muy lisa, de carne blanca o amarillenta y de sabor harinoso. Estas denominaciones concuerdan más con las papas que los campesinos denominan nativas, que con cualquier papa importada para la época a pesar de que el autor las relacionó con algunas papas importadas como es el caso de la papa Criolla o Huevita a la que cita como Marjolin de los europeos, y a la papa plancheta la relaciona con "Saucise"⁶.

No se puede descartar que aún en la actualidad muchos pobladores de Los Andes utilicen el término "criolla" al referirse a papas nativas. Larez (1950), al referirse a las papas cultivadas por los Miguríes de Mérida

⁶ Al verificar el pedigrí de estas dos variedades, se mencionan como variedades inglesa y francesa respectivamente de parentales desconocidos
<http://www.plantbreeding.wur.nl/potatopedigree>

menciona: *“La misma papa infiero que la tenían estos pueblos, pues cultivan ellos una que llaman criolla, de la cual no hay noticia que la hayan importado de otra parte...”*

Salas (1977) también se refiere a la papa criolla como una papa nativa de Los Andes Merideños:

“En Los Andes Merideños se dice papa a lo que los Mucus denominaban tifus o tuguis o sea la variedad llamada criolla de corteza violeta oscura, pues las otras clases que se cultivan han sido importadas, entre ellas la amarilla o reinosa⁷, que cultivaban los muiscas de Cundinamarca...”

La década de los 50 como fecha clave en la producción nacional de papa

Durante los años cincuenta se produjo un aumento sostenido del consumo de papa y hortalizas en el país debido al acelerado crecimiento económico a raíz del incremento de los ingresos petroleros, el intenso proceso de urbanización y la incidencia de la inmigración extranjera en los patrones de consumo. El incremento en el consumo de papa fue de tal magnitud que en 1959 alcanzaba, aproximadamente, 100.000 toneladas métricas anuales, de las cuales 52.800 se consumían en la zona central, principalmente en Caracas y sus alrededores (BAP, 1963: 57, 1954: 73, citado por Velásquez 2001). Debido a la alta demanda del producto la producción nacional no fue suficiente para el abastecimiento, por ello, se cubrió el alto consumo con papa importada. En el lapso comprendido entre 1946 y 1952 la importación de papa para el consumo superó a la producción

⁷ El vocablo “Reinoso” surgió en Táchira a principios del siglo XVIII para distinguir a los originarios del otro lado del río o del Reino de Nueva Granada (Montoya 2008).

nacional del tubérculo, siendo en el año 1951 cuando se realizó la mayor entrada del producto, que alcanzó a 37.778 toneladas, mientras que la producción nacional fue de 32.011 toneladas.

A partir de 1953 se inició un proceso de aumento sostenido de la producción nacional del tubérculo que alcanzó su mayor volumen en el año 1957, cuando alcanzó una producción de 105.972 toneladas. Paralelamente, se redujo la importación del tubérculo y durante ese año se importaron sólo 6.815 toneladas de papa para abastecer el mercado nacional. También, durante el período comprendido entre 1946 y 1958, ocurrió un aumento en el volumen de importación de papa para semilla, que alcanzó el mayor valor 16.639 t en 1956. Para 1954 Los Andes venezolanos tenía el primer lugar en la producción de papa (Velásquez, 2001).

Según Velásquez (2001), para esa época, la producción de papas en Los Andes era principalmente de papa negra, pero la producción comenzó a decaer con el desmejoramiento de los suelos y de las variedades usadas, así como la poca aceptación de la papa andina en los mercados del centro. Este hecho sirvió como punto de apoyo a la introducción de las nuevas variedades que mostraron los inmigrantes europeos, además de lo corto del período de cosecha de las mismas, lo cual al compararse con la única cosecha al año que se podía obtener a partir de las papas negras, no dejó dudas para hacer la selección. Progresivamente los nativos aprendieron las nuevas técnicas trabajando con los inmigrantes, difundiéndose el cultivo de la papa blanca en las zonas más bajas y de menor pendiente de los valles altos (Chávez, 1992; citado por Velásquez 2001). Este agotamiento de los suelos en la región andina pudo ser producto de un cierto grado de intensidad del uso de la tierra, antes y después de la conquista (Sanoja y Vargas, 2007). Según Velásquez

(2001), entre las variedades de papas blancas introducidas, originarias de EE.UU., Holanda, España, Inglaterra y Alemania, la Sebago fue una de las más importantes, debido a la mayor demanda en el mercado. A pesar del aprecio por estas nuevas variedades; en las faldas de las montañas se continuó cultivando las variedades “negra” y “rosada”. La extensa gama de variedades desarrolladas *in situ*, algunas de origen prehispánico, recibían nombres locales, entre estos estaban: “Rosana”, “Tuñamera”, “Arbolona”, “Carraca”, “China”, “Curuba”, “Griteña”, “Tempranera” (CORPOANDES, 1973: 41; citado por Velásquez 2001), Merideña⁸ o criolla (tabla 6).

Posible Relación entre las papas nativas Venezolanas y las papas nativas Canarias

Tiene sentido estimar que las primeras papas llegadas a Europa, llegaron a las Canarias, ya que éste era un puerto de parada para todos los barcos que salían y llegaban de España hacia las Indias y viceversa, (Humboldt, 1769/1991). De lo que aconteció a partir de la puesta en cultivo de los primeros tubérculos de papa apenas hay referencias sobre la existencia cotidiana de las comunidades campesinas establecidas por ese entonces en los campos y que, a buen seguro, fueron las depositarias de este nuevo cultivo. Sin embargo, parece probable que poco a poco fuera arraigando, pues los cereales, soporte de la alimentación campesina, se mostraban en muchos momentos incapaces de garantizar producciones constantes (Gil, 1997)

⁸ La variedad Merideña fue desarrollada en el estado Mérida a partir de variedades nativas (R.Romero, comunicación personal, 2008)

Tabla 6.

Variedades de papas aptas para las distintas alturas cultivadas en Venezuela

Variedades	Altitud (metros sobre el nivel del mar)	Ciclo vegetativo
Kennebec	500-1.500	3-3 ½ meses
Sebago		
Red		
Pontiac		
Alpha	1.000-2.000	3 ½-4 ½ meses
Maritta		
Dar	1000-2.500	3-4 meses
Eva		
Lerche	1.500-2.500	3 ½-4 ½ meses
Datura		
Guadalupe	2.000-3.000	5-7 meses
Arbolona	2.500-3.500	7-9 meses
Tocana	2.000-3.000	5-6 meses

Nota. Tomado de (Ministerio de Agricultura y cría 1960?)

La insuficiente superficie que se hallaba en cultivo y la aparición de períodos con escasez de lluvias provocaban con frecuencia enormes hambrunas; de ahí que las masas campesinas, desfavorecidas en extremo, no se hallaran en condiciones de prescindir de un nuevo complemento alimenticio, por muy exótico que pudiera parecer. En Europa fueron las comunidades más pobres las que asimilaron en primera instancia el nuevo cultivo. Así, en Irlanda, donde los campesinos llevaban una existencia miserable, se encuentran referencias sobre la existencia de plantaciones considerables a principios del siglo XVII (Hawkes, 1978; citado por Gil, 1997). Otro aspecto que pudo haber influido en el rápido arraigo del nuevo cultivo en las islas fue su favorable adaptación a las condiciones climáticas del archipiélago, al contrario de lo que ocurrió en Europa, donde los primeros años las cosechas fueron insignificantes y tardías debido a que las condiciones fotoperiódicas no favorecían la formación de los tubérculos. En otras partes del continente tuvieron que esperar hasta que la selección lograra variedades capaces de adaptarse a los largos días de verano. Por ello, mientras que en Europa las variedades primitivas evolucionaron de tal modo que hoy se asemejan muy poco al material de partida, en las islas persistieron, y aún hoy está presente un numeroso grupo de variedades que poseen características morfológicas y agronómicas similares a determinadas variedades nativas del Sur de Perú, lo que hace pensar que sean descendientes directas, probablemente segregantes, de aquellos tubérculos primitivos que llegaron a las islas procedentes del continente americano (Ortega, 1996, citado por Gil, 1997).

El hecho de que Canarias haya sido encrucijada de las rutas comerciales Europa-América, junto a la orografía accidentada y montañosa

de las islas como factor de aislamiento campesino, así como la posición geográfica hacia la zona subtropical, todo ello unido al celo que manifiestan los campesinos canarios por los cultivares antiguos, incluso frente a la llegada de otros más productivos, ha dado como resultado el que en la actualidad se conserve en estas islas un elevado número de cultivares (Marrero, s/f).

A mediados del siglo XIX algunos países del continente americano acogieron tubérculos producidos en el archipiélago, entre ellos Cuba y Venezuela. Pero entre los años 1932 y 1935, según los documentos de la comisión de exportación estadística de patatas (1935 1936), sólo se envían cantidades testimoniales a Puerto Rico, Cuba, Venezuela y Brasil (Gil, 1997). Posiblemente algunos de esos cargamentos se distribuyeron entre los cultivadores del centro del país, aunque no se descarta la posibilidad de que llegaran a Los Andes.

Gil en (1997) menciona entre el inventario de papas nativas canarias un grupo particular que denomina papas venezolanas, las cuales describe como papas llevadas a las Canarias por los emigrantes retornados. Es importante tomar en cuenta este dato, ya que las agrupan todas dentro de "papas venezolanas" no suramericanas, aunque dentro del grupo hay algunas que denominan colombianas. Dentro de estas papas venezolanas se describen dos principales: una de piel blanca y vetas rosadas, y otra de piel lila con vetas blanco-amarillosas. A la primera se le dan diversos nombres: Andina negra, Andina colorada, Colombiana, Caraqueña negra, Caraqueña pintada, Venezolana, Andina. A las otras les dan los siguientes nombres: Andina blanca, Caraqueña, Caraqueña blanca, venezolana blanca, o simplemente venezolana. Estas papas son muy apreciadas por su productividad y largo período de reposo, y en muchos casos, los agricultores

las prefieren a las antiguas variedades tradicionales, a pesar de su inferior calidad gustativa. Lamentablemente no se menciona la fecha de la introducción de estas papas a las islas lo cual hace difícil realizar un seguimiento. Pero al tener algunas papas nombres como Caraqueña, se puede estimar que éste se designó por ser llevadas directamente desde las tierras de cultivo en los alrededores de Caracas (Colonia Tovar, El Junquito, entre otras), o simplemente porque fueron adquiridas en el puerto, en cuyo caso cabe la posibilidad de provenir de otras zonas como serían Los Andes.

También Marrero (s/f) menciona la introducción más reciente (de hace varias décadas) de papas del grupo *Andigenum* traídas de Colombia y Venezuela, pasando éstas también a formar parte de la colección de papas antiguas canarias.

Según Rasmussen (1947), uno de los efectos de la Guerra de Independencia, en Venezuela fue la disminución de la producción agrícola y la migración de muchas familias desde Los Llanos a Los Andes, además de una reducción notable en la población. Por ello, en 1828, el gobierno creó un plan para atraer inmigrantes que estuviesen dispuestos a cultivar la tierra, para lo cual se les asignaba 200.000⁹ fanegas de tierra en las provincias de Mérida, Caracas y El Chocó (Colombia), otorgando facilidades e implementos para la producción agrícola. Estos planes de apoyo a inmigrantes se extendieron hasta 1860, y entre los grupos de inmigrantes, los canarios se destacaron en cuanto a su número y a su dedicación a la agricultura. Por ello, en 1831, el nuevo Congreso de Venezuela promovió específicamente la inmigración de isleños canarios.

⁹ Entre las medidas antiguas españolas se menciona una fanega como el equivalente a 6.459 m², en Venezuela se habla de una fanegada como el equivalente a 7.001,09 m². (Cortés y Ramírez, 1998)

Ya que las tierras altas de Los Andes no se vieron tan afectadas por los efectos de la guerra, y que era bien conocida la riqueza de sus suelos, muchos de estos grupos las usaron como destino final estableciéndose en ellas y aportando sus conocimientos de cultivo

No se encontró información específica respecto a muchos hechos relacionados con estas olas de migración canaria, pero basándose en lo escrito, ya la papa era parte de su alimentación y posiblemente entre sus implementos pudieron haber traído algunas semillas. También se debe considerar que algunos de estos inmigrantes retornaron a su país en fechas posteriores; en cuyo caso también pudieron haberse llevado las papas que cultivaban en Venezuela, pasando éstas a formar parte de la colección de papas tradicionales de las islas Canarias, tal como se mencionó anteriormente.

Una mayor migración de canarios se registró Posteriormente en el país a partir de 1950. En ese momento en Venezuela el crecimiento económico se expresó en la consolidación de los procesos de expansión del mercado interno, de urbanización y de "modernización" agrícola, lo cual tuvo como centro los programas de inmigración dirigida y el establecimiento de colonias agrícolas mixtas. Se establecieron dos formas de inmigración, una organizada por el gobierno, y otra de forma espontánea e incluso ilegal. Parte de este grupo de inmigrantes llegó a Los Andes, jugando un papel clave en la producción de la papa tal como se describió en párrafos anteriores (Velásquez, 2001).

Denominaciones de papas nativas merideñas reportadas

En diferentes momentos se han realizado colectas de papas nativas en el estado Mérida, lo cual ha arrojado un gran número de variedades reportadas. En 1946 se registró una colecta en el municipio Piñango y en las localidades de Timotes, Pueblo Llano y San Rafael (localidades de la Cordillera de Mérida por encima de los 2000 msnm) Esta colecta arrojó un total de doce variedades cuyos nombres comunes eran: "Arbolona negra", "Arbolona blanca", "Acema", "Carraca", "Criolla tempranera", "Curuba", "Chibacú", "China", "Griteña", "Laga", "Panche blanco", "Panche negro", "Pigua", "Plancheta", "Reinosa", "Rosada", "Tuñamera" y "Villorra", pero no existe información sobre la conservación de ese germoplasma (Moreno, 1968; citado por Romero y Monasterio, 2005). En septiembre de 1976 una expedición organizada por el Centro Internacional de la Papa (CIP); vino a Venezuela con la intención de recolectar papas nativas. Como ubicaciones se seleccionaron los estados Mérida, Trujillo y Táchira y se reunió un total de más de 140 variedades. La mayor parte de los materiales se tomaron de las tierras altas de Mérida y Trujillo. Algunas de las variedades colectadas en esa expedición llevaban por nombre: "Cucuba gris", "Cucuba negra", "Cundinga", "Negra achatada", "Merideña", "Puracé¹⁰", "Monserate" y "Roja de cristalina"(Colombianas). La mayoría de estos materiales se registraron como pertenecientes a *S. tuberosum . tuberosum* y *andígena*. El total del germoplasma producto de esta expedición se encuentra resguardado en el banco de germoplasma del CIP (Ochoa, 1979).

¹⁰ Según Montaldo (1984), Puracé es una variedad colombiana e introdujo plagas en los cultivos locales.(Romero y Monasterio, 2002)

En la tabla 7 se indican todos los nombres de papas nativas recopilados en la presente investigación como una forma de guardar un registro completo al respecto. Lamentablemente no se encontró descripción de todas las variedades al momento de realizar este trabajo.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 7.

Reportes de Papas nativas en algunas localidades del estado Mérida

Nombre	Localidad	Característica	Referencia
Arbolona blanca	Gavidia, Pueblo Llano	Corteza de color claro	Romero y Monasterio 2005
Arbolona negra	Gavidia, Pueblo Llano, Piñango	Corteza de color oscuro, pinta la uña al pincharla. Muy redondora y aguantadora de hielos. Planta de gran tamaño en tierras altas y chaparra en tierras bajas. Flor de color Morado intenso. Redonda, pesada y ojona.	Romero y Monasterio 2005, entrevistas habitantes de piñango. Min. De agricultura y Cría S/F, Corpoandes 1973
Arepita	Gavidia	Redondita	Romero y Monasterio 2005
Boca tigre	Piñango	☼	Entrevista habitante Piñango
Canela	Piñango	Colorada	Entrevista habitante Piñango.
Carraca	Piñango	Papa alargada de coyunturas	Entrevista habitante Piñango, Velásquez 2001
China	Gavidia	Corteza negra, con ojos claros	Romero y Monasterio 2005 Febres Cordero 1896, Corpoandes 1973.
Colombiana	Piñango	Plancha o aplanada	Entrevista habitante Piñango
Colorada	Gavidia	Tubérculo de corteza roja	Romero y Monasterio 2005
Cucuba	Gavidia	Corteza oscura, tubérculo redondo, el color se hace más intenso a medida que se cultiva más alto, aun están presentes en los huertos	Romero y Monasterio 2005, Corpoandes 1973
Galla	La Mucuy	Tubérculo alargado, flores azules, ojos rosados	Entrevista habitante de la Mucuy
Granadina	Pueblo Llano	☼	Romero y Monasterio 2005
Griteña	Pueblo Llano	Tubérculo grande, se cree que vino de "La Grita" (Edo. Táchira)	Romero y Monasterio 2005, Corpoandes 1973

Nota: ☼: No se obtuvo descripción

Tabla 7. Cont.

Guadalupe	Gavidia	Tubérculo grande, corteza clara, pulpa blanca, aun se cultiva.	Romero y Monasterio 2005, Min. De agricultura y Cria 1960?
Huevo 'e puerco	Gavidia	Tubérculo pequeño de color amarillo intenso	Romero y Monasterio 2005
Marcialera	Gavidia, Pueblo Llano	☼	Romero y Monasterio 2005
Marita o Mariter ¹ , podría ser la misma Martinera	La Mucuy	Muy famosa y sabrosa	Min. De Agricultura y Cria 1960?, Entrevista habitante de la Mucuy
Martinera	Gavidia	Tubérculo rosado	Romero y Monasterio 2005
Morada	Gavidia	☼	Romero y Monasterio 2005
Ojos catires	La mucuy, Piñango	Tubérculo redondo, corteza blanca de ojos rojos. Muy rendidora	Romero y Monasterio 2005, entrevista pobladores de Piñango
Papa brava, papa de indios o Cundinga, Papa silvestre	Gavidia, Pueblo Llano, La Mucuy	Papa silvestre, pequeña, con piel morada y pintadita y crece silvestre en los Páramos; aun permanece donde no llega el ganado. Sabor picante. Es la papa que sembraban los "antiguos". Florece en Agosto-septiembre, flores color violeta claro; Probablemente se refieren a <i>S. paramoense</i>	Romero y Monasterio 2005, Entrevista habitante de La Mucuy. Boscan 2007
Papa Granada; (podría ser la misma granadina)	Alrededores de Mérida	☼	Febres Cordero 1896
Papa Surbarana ²	Alrededores de Mérida	☼	Febres 1896

¹ La papa Maritta se menciona como una papa colombiana (Montaldo 1984)

² Posiblemente el nombre Surbaran este relacionado con uno de los acompañantes de Juan Rodríguez Suárez en el proceso de conquista de Mérida, este tubo originalmente un repartimiento en el Valle de Las Turmas (Picón 1988), y esto puede haber traído como consecuencia el nombre de una papa cultivada en el lugar, pero no se han encontrado otras referencias de esa papa nativa.

Tabla 7. Cont.

Papa Villora	La Mucuy	De sabor Picante, la trajeron unos extranjeros.	Entrevista habitante de la Mucuy
Peonía	Gavidia	Muy rendidora, se daba donde quiera	Romero y Monasterio 2005
Petacona	Gavidia	Muy rendidora, tubérculo grande, se daba donde quiera	Romero y Monasterio 2005
Pigua	Gavidia, El Valle	Tubérculo grande y alargado en forma alargada o curvada, aun se cultiva.	Romero y Monasterio 2005 Entrevista habitantes de Gavidia
Plancheta	Gavidia, Pueblo Llano, La Mucuy	Papa grande, alargada y sin ojos, de superficie plana, de ahí su nombre	Romero y Monasterio 2005, Febres 1896. Paredes 1929, entrevista habitante de la Mucuy.
Reynosa	Gavidia, Pueblo Llano	Pequeña, corteza y pulpa amarilla, aún se siembra.	Romero y Monasterio 2005
Rusia	Gavidia	Concha gris, tubérculo aplanado.	Romero y Monasterio 2005
Sangre Toro	Gavidia	Excelente para comer	Romero y Monasterio 2005
Tempranera	☼	☼	Corpoandes 1973
Timotera	Pueblo Llano, Piñango	Tubérculo rojo, Se dice que trajo un gusano que acabo con la arbolona en Piñango.	Romero y Monasterio 2005 Entrevista habitantes de Piñango
Tiniruca	Gavidia, El Carrizal	Corteza negra, pulpa blanca con manchitas moradas	Romero y Monasterio 2005 Entrevista habitantes del Carrizal
Tocana	Gavidia	Tubérculo rojo, aplanado	Romero y Monasterio 2005 Pérez <i>et al.</i> 2007, Min. De Agricultura y cría 1960?
Tuñamera	☼	☼	Corpoandes 1973
Vidrio Rojo	☼	Pulpa color crema, y corteza de tono vino tinto con zonas más claras	Pérez <i>et al.</i> 2007

Discusión

A partir de la investigación se establecieron algunos argumentos que apoyan hechos relacionados con el cultivo de las papas en el estado Mérida.

El primero de estos argumentos es el consumo de papa por parte de los habitantes prehispánicos, lo cual se ve respaldado por diversos componentes; el primero de ellos es la existencia de una alta densidad de población en Los Andes merideños, lo cual requirió de una estructura agraria organizada que garantizara alimentos suficientes para la población, tomando en cuenta, además de los argumentos mencionados por (Sanoja, 1978), que explican la necesidad de la dependencia más de la agricultura que de la caza y recolección debido a las características naturales de los páramos. Apoyando esto aparece el cultivo de la papa, el cual, junto al maíz y otros tubérculos representó la fuente de carbohidratos más importante para la población que habita en las alturas como lo explica Wagner (1973). Otros argumentos importantes son los que refieren a la papa como objeto de culto entre algunas civilizaciones prehispánicas y los diferentes nombres indígenas que le eran asignadas por las etnias reinantes para el momento de la conquista.

A pesar de lo mencionado anteriormente, no se encontraron referencias anteriores al siglo XIX que hablaran con detalle sobre una gran variedad de papas cultivadas en la zona, y las variedades descritas apenas se remiten a unas pocas; por ello, la única referencia para tener un punto de comparación son los nombres de cada una de ellas y algunas descripciones entre la que se destaca el nombre de papas negras, refiriéndose éste al color de la piel, el cual es violeta oscuro. Otro hecho importante es la duración de

su período vegetativo, el cual las define como papas de año. Pero también quedó claro que estas papas negras se han mezclado por muchos años con otras variedades, creando un mosaico dentro del cual es difícil aislar variedades originales “puras”, por llamarlas de alguna manera.

El segundo argumento es que a la llegada de los españoles existía un área en un rango altitudinal amplio cultivada con este tubérculo, tan extensa y evidente que la zona donde se cultivaba se llamó Valle de Las Turmas. Este hecho justifica el papel de un consumo importante de papas entre los habitantes del estado, y también deja abierta la posibilidad de la adopción temprana de este alimento por parte de los colonos, lo cual se mantuvo en épocas coloniales y fue aumentando de manera considerable, luego del establecimiento de este cultivo en Europa, desde donde se popularizó difundiéndose a las nuevas colonias.

A pesar de que Salas (1919) ya habla de consumo de papas importadas en Caracas para 1919, existen hechos que respaldan el mantenimiento de cultivo de papas negras en Los Andes venezolanos para esa época. El factor con más peso en este hecho es el aislamiento en el cual se mantuvo el estado Mérida hasta después de 1920, debido a la mala calidad de los caminos para entrar y salir del estado. Esto afectaba los costos de transporte de mercancía, incidiendo en un retardo en la introducción de semilla importada respecto a otras regiones del país, al contrario de lo ocurrido en la zona central. También es importante mencionar la aptitud altitudinal de las semillas importadas, ya que tal como se muestra en la tabla 6, no eran variedades recomendadas para altitudes mayores de 2.500 msnm, que es la altura donde aun se cultivan la mayoría de las papas nativas actualmente. Como tercer argumento, se puede mencionar la aparente

riqueza de los suelos como lo mencionó Febres Cordero (1991) en su obra *Frutos Fenomenales de los Andes* y Pittier en una de sus cartas (Texera, 1988).

Por otra parte, basado en las referencias encontradas, no se descarta el hecho de una introducción de papa extranjera en el Estado Mérida en el siglo XIX por parte de los inmigrantes canarios, pero esta introducción posiblemente representó una proporción pequeña; en este caso dicha semilla se mezcló con la original introduciendo un nuevo componente a las papas andinas. De ser cierta esta afirmación pudieron haber sido estos inmigrantes los que llevaron a las Islas Canarias el tubérculo venezolano en el momento de su retorno, y pueden ser éstas mismas las que en esa región son actualmente llamadas venezolanas; pero sería necesario realizar estudios comparativos utilizando herramientas de biología molecular para establecer relaciones entre los dos grupos de papas.

Tomando en cuenta lo dicho anteriormente se podría formular la hipótesis de que las papas nativas merideñas y las papas tradicionales canarias están emparentadas ya que han estado sometidas a varios procesos de intercambio. Pero a la vez, las papas tradicionales Canarias están emparentadas con papas peruanas, y colombianas, al igual que muchas de las variedades europeas, así que debe recurrirse a herramientas muy avanzadas que permitan establecer relaciones entre estos diversos grupos de papas.

Finalmente, se puede mencionar a la papa "Arbolona negra" como la más adecuada para ser considerada emparentada con las papas nativas merideñas cultivadas en tiempos ancestrales, pero debe hacerse un análisis más profundo para poder afirmar esta hipótesis, ya que el nombre "Arbolona"

se utiliza en otras variedades identificadas de Colombia y otros países andinos, tal como se aprecia en el catálogo de variedades de papas nativas del Centro Internacional de la Papa.

Un punto importante luego del presente análisis es el límite para considerar a una papa como nativa. Luego de los argumentos presentados, y tomando en cuenta las diferentes migraciones hacia Los Andes, es difícil establecer un momento definido de la introducción de semilla, pero teniendo claro que la importación masiva de semilla en el país se dió a partir de los años 40, se puede establecer como papas nativas, aquellas que se cultivaban en Los Andes merideños para esa época, y que a pesar de las hibridaciones a las cuales fueron sometidas luego de las introducciones de semilla importada, aun mantienen cierta identidad que las separa de las papas cultivadas a nivel comercial.

www.bdigital.ula.ve

Conclusiones

- Tomando en cuenta las diferentes etapas vividas por la agricultura andina es difícil precisar un origen de las papas nativas venezolanas, ya que éstas han estado sometidas a diversos procesos de hibridación y selección a lo largo de la historia.
- La producción de papas en el estado Mérida fue significativa e ininterrumpida antes de la introducción de semilla importada, y existe una gran probabilidad de que parte de las papas cultivadas hasta ese entonces actualmente formen parte del grupo que se denomina papas nativas, especialmente las denominadas "Papas Negras".

Recomendaciones

- Ampliar con más detalle la investigación histórica actual que permita definir fechas en la introducción de semilla de papa importada en el estado Mérida, y a la vez encontrar más información sobre características de las papas más antiguas.
- Realizar una colecta intensiva de las diferentes papas nativas que existen en la actualidad, llegando para ello a los rincones mas alejados del territorio del estado. Posteriormente con estos materiales establecer un banco de germoplasma *in vivo* de las diferentes papas nativas que aun se mantienen en la actualidad, esto con la finalidad tanto de preservarlas y tener material para los diferentes estudios a realizar.
- Realizar un estudio molecular comparativo de las papas nativas merideñas con las papas antiguas Canarias, y a la vez con papas colombianas, para definir relaciones entre ellas.
- Hacer un estudio de polen de restos arqueológicos y compararlo con el polen de las papas nativas actuales, lo que permitiría establecer una posible relación entre los materiales actuales y los prehispánicos.

CAPITULO III

USO DE HERRAMIENTAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA CARACTERIZACIÓN DE PAPAS NATIVAS MERIDEÑAS

A lo largo de la historia la identificación de los diferentes materiales de papas cultivadas registrados en los bancos de germoplasma, se ha realizado basándose en caracteres fenotípicos, lo cual en muchos casos ha traído como consecuencia confusiones al momento de realizar una clasificación definitiva de los mismos. Un caso que refleja esta situación son las diferentes hipótesis que explican el origen de las papas cultivadas en Europa, las cuales siempre estuvieron basadas en una identificación fenotípica de los materiales provenientes de Los Andes, tratándolos como pertenecientes a *S. tuberosum* grupo Andigenum, los cuales posteriormente se adaptaron a los días largos europeos. Gracias al uso de herramientas moleculares, se ha determinado que este material que se ha denominado Neo-tuberosum tiene un origen en cultivares pertenecientes al grupo Chilotanum y no del grupo Andigenum como se afirmó durante los pasados 40 años (Ghislain *et al.* 2009). Este hecho ha dejado por sentado las consecuencias que puede acarrear una identificación deficiente del germoplasma de papas, y por ello la importancia de tener herramientas especializadas que permitan una identificación confiable a los diferentes materiales en los bancos de germoplasma.

Las diferentes herramientas de las cuales actualmente dispone la biología molecular han permitido realizar análisis, establecer identidades y

comparaciones que de otra manera hubieran producido resultados dudosos o difíciles de entender. En el caso de la presente investigación, los métodos clásicos para identificar material vegetal no han sido suficientes para dar una identidad a las diferentes variedades de papas nativas merideñas cultivadas en la actualidad debido a los diferentes fenotipos que ellas presentan, y a los procesos de hibridación a los cuales han estado sometidos por cientos de años. Y cuyas características, en algunos casos varían sólo con modificar la altitud donde se produce un cultivo. Tomando en cuenta lo descrito en el capítulo I sobre las diferentes contradicciones y dudas que se han planteado respecto a la clasificación taxonómica de las papas cultivadas, se presenta la necesidad de utilizar herramientas más avanzadas y precisas para establecer una identidad a las diferentes variedades que actualmente se denominan “papas nativas merideñas”. Por ello se recurrió a herramientas moleculares con la esperanza de encontrar la posibilidad de identificar estos materiales, y a la vez relacionarlos con variedades cultivadas comercialmente y algunas especies endémicas, como *S. otites*, *S. colombianum* y *S. paramoense*.

Los procedimientos descritos en el presente capítulo describen el empleo de diferentes herramientas de biología molecular. Las tres primeras son secuencias de genes ribosomales tales como el gen *ARNr 5S* y los genes de cloroplasto *rbcl* y *rpl16*, las cuales, por ser muy conservadas se han utilizado en algunos casos para establecer relaciones filogenéticas entre grupos de plantas (Hori *et al.* 1985; Ueda *et al.* 1997; Zhou *et al.* 2009). La tercera herramienta utilizada fueron los marcadores microsatélites, con la finalidad de poder dar una identificación a las variedades de papas nativas empleadas en el ensayo.

Descripción de los marcadores moleculares seleccionados

Secuencia del gen ARNr 5s

El gen ARNr 5S se ha usado en estudios previos para establecer posibles modelos de evolución en las Angiospermas y para establecer relaciones filogénicas entre especies de *Solanum* pertenecientes a la sección *Petota* (Zanke *et al.* 1995, Volkov *et al.* 2001, 2007).

ARN ribosomal. Los genes que codifican el ARN ribosomal (ADNr) están presentes en todos los organismos vivos por lo que representan un modelo universal para estudiar y comparar la evolución molecular en diferentes grupos taxonómicos.

Organización molecular del ADNr. En bacterias, la subunidad ribosomal grande (50S) está compuesta de dos moléculas de ARNr (5S y 23S) y 34 proteínas. La subunidad eucariota grande 60S contiene tres ARNr (5S, 28S y 5,8S) y 50 proteínas. La subunidad pequeña en bacterias (30S) y en eucariotas (40S) consiste de un ARNr, de 16S y 18S respectivamente. El ARNr 5s, el más pequeño de la subunidad grande se encuentra presente en casi todos los tipos de ribosomas. Por muchos años ha sido usado como una molécula modelo para estudios de estructura del ARN e interacciones Proteína-ARNr, y como un marcador filogenético (Szymanski *et al.* 2003).

Los genes nucleares que codifican el ARNr o ADNr sirven como un modelo conveniente para la investigación de cambios moleculares en secuencias repetidas en familias multigénicas. Luego de extensivos estudios moleculares sobre ARNr en plantas, existe mucha información sobre la

organización estructural de esta familia. Los genes que codifican para 18S, 5S, 8S y 25/28S ARNr (35 ADNr) están arreglados en “head-to-tail tandem “ (con solo raras excepciones); a menudo comprenden entre 500 y más de 30.000 miembros dependiendo de la especie de planta y se encuentran localizados en una o más regiones organizadoras del nucleolo (NOR).

Citológicamente, el ADNr 35S se visualiza en el nucleolo en interfase y forma constricciones secundarias en mitosis/meiosis. Una unidad repetitiva de ADNr contiene las regiones codificantes ARNr, 18S, 5,8S, y 25/28S, regiones espaciadoras transcritas internas y externas (ETS e ITS) y regiones espaciadoras no transcritas (NTS)

En los eucariotas superiores, el ADNr 5S también pertenece a la clase de secuencias repetitivas y está organizado en arreglos en “tandem head-to-tail”. Generalmente el ADNr 5S está localizado en otras regiones del genoma y es transcrito por la ARN polimerasa III en ARNr 5S, un componente de la subunidad ribosomal 60S. La organización estructural interna de la unidad repetida es comparativamente simple: cada repetición está compuesta de una región codificante larga de 120 pares de bases, y una región espaciadora intergénica más variable (SR 5S), con diferentes tamaños para formar la unidad repetitiva del arreglo en “tandems”, (Park *et al.* 1999). Los elementos de control internos localizados en la región codificante, y las secuencias presentes en el SR 5S están involucrados en la regulación de la transcripción. Unidades repetidas de ADN 5S de diferente longitud se encuentran a veces en el mismo genoma originadas por duplicación y rearreglo. (Volkov *et al.* 2007).

Secuencia del gen *rbcl*.

Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) es la enzima asimiladora de CO₂ más abundante en la biosfera. Esta enzima cataliza el primer paso en la fijación de dióxido de carbono en la mayoría de organismos fotosintetizadores y quimioautotróficos. En eucariotas, la holoenzima rubisco catalíticamente competente (forma I) es totalmente activa solo cuando ocho grandes subunidades (L) y ocho pequeñas subunidades (S) forman un hexadecámero (L₂)₄(S₄)₂ (Tabita, 2007).

El gen *rbcl* codifica para una de las subunidades grandes de la proteína rubisco y por estar altamente conservado, ha sido seleccionada para realizar análisis filogenéticos entre los distintos grupos que conforman el reino vegetal (Cummings *et al.* 2003, Ueda *et al.* 1997, Portis y Parry, 2007).

Secuencia del gen *rpl16*.

Este gen codifica para la proteína ribosomal L16, la cual se encuentra en los cloroplastos (Kim *et al.* 2006).

Secuencias microsatélites.

Secuencias repetitivas simples o microsatélites SSRs “Short sequence repeat” por sus siglas en inglés, son secuencias de 1 a 5 nucleótidos cuyo número de repeticiones permite revelar diferencias entre individuos. Su uso tiene como ventajas estar basada en PCR y ser altamente polimórficas, co-dominante y de bajo costo; una ventaja adicional de los microsatélites sobre los sistemas basados en marcadores dominantes es su capacidad de reflejar estatus de ploidía y su alta heterocigocidad, lo cual facilita la comparación de mapas genéticos basados en diferentes poblaciones. Los microsatélites

nucleares han demostrado ser un marcador ideal para detectar diversidad genética significativa entre papas cultivadas (Ghislain *et al.* 2001, 2004, 2009).

A pesar de sus ventajas, esta técnica posee dos grandes desventajas: la primera de ellas es el elevado costo que implica la determinación de las secuencias flanqueantes de los microsatélites y el desarrollo de cebadores eficientes. En segundo lugar, los microsatélites son generalmente usados para analizar germoplasmas estrechamente relacionados, y algunas veces la amplificación en híbridos provenientes de especies moderadamente divergentes puede conllevar a obtener falsos positivos y provee una distorsión significativa al momento de calcular similitudes genéticas (Peakall *et al.* 1998; citado por Ghislain *et al.* 2004).

Secuencias microsatélites identificadas en papas. La primera generación de SSRs en papa se obtuvo a partir de la identificación de motivos repetidos en secuencias de genes (Veilleux *et al.* 1995, Kawchuk *et al.* 1996, Provan *et al.* 1996, Scheider y Douches 1997), citados por (Ghislain 2004). La segunda generación de SSRs se obtuvo a partir de un análisis de genotecas ricas en motivos repetitivos (Milbourne *et al.* 1998).

El Centro Internacional de la Papa CIP, ha desarrollado un kit de identificación genética (PGI Kit), basado en el ADN de cultivares modernos de *S. tuberosum*. El criterio de selección de estos cebadores, tomó en cuenta los valores más altos de PIC (contenido de información polimórfica), amplio cubrimiento del genoma, bajo número de copias y alta calidad de amplificación (Ghislain, 2009).

Materiales y Métodos

Grupos de papas seleccionados para el ensayo

Los estudios moleculares se llevaron a cabo con cuatro tipos de materiales: papas nativas, papas comerciales, papas silvestres y cultivares diferenciales R, los cuales son híbridos entre *S. tuberosum* (grupo Tuberosum) y *S. demissum*.

Papas comerciales. La mayoría de las papas cultivadas actualmente en el estado Mérida provienen de variedades identificadas como pertenecientes a *S. tuberosum* grupo Andigenum (Salas A., comunicación personal), con excepción de la variedad "Granola", la cual posee un componente de *S. tuberosum* grupo cultivar Tuberosum. Para el ensayo se seleccionaron algunas de las variedades de papas comerciales de mayor importancia en la región

Diferenciales R. El grupo de cultivares diferenciales R es un material que se desarrolló para identificar las diferentes razas de *P. infestans* (Black, 1953), pero en el presente ensayo se utilizó como un grupo referencia del grupo cultivar Tuberosum ($2n=4X=48$) y de la especie *S. demissum* (Serie Demissa $2n=6X=72$), además de un control para verificar la eficacia del método utilizado.

Papas silvestres. El material empleado en el ensayo provino de colectas recientes de papas silvestres que aún crecen en Los Andes

merideños. Las diferentes especies de papas silvestres utilizadas: *S. otites*, *S. paramoense*, *S. colombianum*, y algunas especies no identificadas para el momento del ensayo, son un elemento importante para establecer relaciones de parentesco tanto entre las especies utilizadas; como entre ellas y las papas nativas.

Papas nativas. El material utilizado de papas nativas merideñas se seleccionó a partir de material fresco proveniente de pequeñas huertos familiares mantenidos por algunos habitantes de la región. Estas papas tal y como se mencionó anteriormente, pertenecen al grupo cultivar Andigenum. Los diferentes materiales utilizados se listan en la tabla 8.

Purificación de ADN a partir de tejido foliar de papas

La purificación del ADN se llevó a cabo siguiendo el protocolo estándar utilizado en el CIP (Herrera y Ghislain, 2000).

Se seleccionó el tejido vegetal cuidando de escoger solo folíolos jóvenes, y retirando los pecíolos; posteriormente se pesó el tejido y el protocolo se llevó a cabo con 400mg del mismo. El tejido seleccionado se pulverizó con nitrógeno líquido, inmediatamente se mezcló con 250µl de buffer de extracción frío en un tubo de microcentrifuga, y se mezcló por inmersión. Se agregó 250 µl de buffer de lisis calentado a 60°C y se mezcló por inversión hasta observar una mezcla homogénea. Se añadieron 10 µl de Sarkosyl¹¹ 10% y se incubó 40 min. a 65°C invirtiendo los tubos de vez en cuando. Se retiraron los tubos del baño caliente y se añadió un volumen de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1) mezclando suavemente por

¹¹ N-Lauroilsarcosinato de sodio $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CON}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{COONa}$

Tabla 8.
Material vegetal utilizado en el ensayo

Grupo	Nombre	Origen del material
Papas nativas	“Reinosa”	Muestra colectada en campo donada por Fernando García
	Rosada	Mantenida por Bernabé Torres (Gavidia) y colectada por Liccia Romero
	“Arbolona negra”	Mantenida por Bernabé Torres (Gavidia) y colectada por Liccia Romero
	“Arbolona negra” sospechosa	Mantenida por Bernabé Torres (Gavidia) , colectada por Liccia Romero
	“Petacona”	Mantenida por Bernabé Torres (Gavidia) y colectada por Liccia Romero
	“Pigua”	Muestra colectada en campo (El Valle Edo. Mérida) por Gustavo Fermín
Papas silvestres	Papa brava (<i>S. paramoense</i>)	Muestra colectada en campo por K. Boscán.
	Papa silvestre Mucubají	Muestra colectada en campo por Gustavo Fermín
	Papa silvestre el zamuro	Muestra colectada en campo donada por Fernando García
	<i>S. otites</i> <i>S. colombianum</i>	Donación anónima Donación anónima
Papas comerciales	“Granola” (Grupo Tuberosum)	Muestra colectada en campo donada por Salas J.
	“Andinita” (Grupo Andigenum)	Folíolos jóvenes crecidos en invernadero donada por Salas J
	Capiro (Grupo Andigenum)	Muestra colectada en campo donada por Salas J
	Única (Grupo Andigenum)	Folíolos jóvenes crecidos en invernadero donada por Salas J
	R-12	Muestra colectada en campo por Boscán K.
Diferenciales R	R1	Muestras donadas por INIA Mérida
	R2	Muestras donadas por INIA Mérida
	R3	Muestras donadas por INIA Mérida
	R4	Muestras donadas por INIA Mérida
	R6	Muestras donadas por INIA Mérida
	R8	Muestras donadas por INIA Mérida
	R10	Muestras donadas por INIA Mérida
	R11	Muestras donadas por INIA Mérida
R2R4	Muestras donadas por INIA Mérida	

inversión; luego se centrifugó por 10 min. a 13.000 rpm. Se transfirió 300 µl del sobrenadante a un tubo nuevo y se agregó 1 volumen de cloroformo:alcohol isoamílico (1:1); se mezcló nuevamente por inversión y se centrifugó 10 min. a 13.000 rpm. Se transfirió nuevamente el sobrenadante a un tubo nuevo y se agregó 1 volumen de cloroformo, se mezcló por inversión y se centrifugó 10 min. a 13.000 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se agregó 2,5 volúmenes de etanol absoluto frío y se dejó precipitar a -20°C toda la noche. Se centrifugó 20 min. a 13.000 rpm y se descartó el sobrenadante; la pastilla se lavó con 500 µl de etanol 70%, y se centrifugó de nuevo 5 min. Finalmente, se descartó el sobrenadante y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente y posteriormente se resuspendió en 50 µl de H₂O. El ADN resuspendido se guardó a -20°C.

Soluciones para extracción de ADN de plantas

Buffer de extracción

Sorbitol 350 mM

Tris 100mM pH 8,0

EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 5mM, pH 8,0

Buffer de lisis

Tris 200mM

NaCl 2M

CTAB 2% (Bromuro de cetiltrimetilamonio) Añadir al momento de usar la solución.

EDTA 50 mM.

Diseño de cebadores de la región espaciadora ARNr 5S

Para el diseño de estos cebadores se seleccionaron en el "GeneBank"¹², todas las secuencias de ARNr 5s registradas en *Solanum*, pertenecientes a la sección *Petota*, (ver tabla 11). Posteriormente, éstas se

¹² <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>

alinearon utilizando el programa ClustalX¹³ y se seleccionó la región de máxima homología; a partir de este fragmento se diseñó un par de cebadores utilizando el programa “Oligo Explorer”.

Nombre del cebador	Secuencia 5´- 3´	Ta °C
SA5S01 R	GCTGGTATGATCGCATCCAT	57,3
SA5S01 F	GATCCCATCAGA	57,3

Amplificación del fragmento ARNr 5S por PCR

Se diseñó un programa de PCR basado en las características del par de cebadores diseñado: éste se utilizó para amplificar el fragmento de interés a partir del ADN purificado de los distintos materiales de papa utilizados en el ensayo. Las condiciones del programa de PCR se especifican a continuación.

Reacción de amplificación ARNr 5S		
Concentraciones	Go taq master green (Promega Cat.M7123)	12,5 µl
	Cebador ARNr 5S F (100ng/µl)	0,5µl
	Cebador ARNr 5S R (100ng /µl)	0,5 µl
Vol total de mezcla de reacción: 25µl	ADN templado	1-2µl (10-20ng)
	H₂O	Hasta completar 25µl
Programa	Activación 92°C 2 min. Desnaturalización 92°C 30 seg. Anillamiento 54°C 30 seg. Extensión 72°C 30 seg.	} 34 ciclos
	Extensión final 72°C 5 min.	

¹³ <http://www.ebi.ac.uk/tools/clustalw2>

Tabla 9.

Secuencias ARNr 5S de *Solanum* reportadas en el “genebank” seleccionadas para el ensayo

Especie	Número GeneBank	Especie	Número GeneBank
<i>S. okadae</i>	AJ226066.1	<i>S. spegazzinii</i>	AF331063.1
<i>S. iopetalum</i>	AJ226045	<i>S. sparsipilum</i>	AF331062.1
<i>S. microdontum</i>	AJ226059.1	<i>S. phureja</i>	AF331061.1
<i>S. laxissimum</i>	AJ226050.1	<i>S. neorossii</i>	AF331060.1
<i>S. berthaultii</i>	AJ226041.1	<i>S. leptophyes</i>	AF331059.1
<i>S. brevidens</i>	AJ226036.1	<i>S. jamesii</i>	AF331058.1
<i>S. acaule</i>	AJ226033.1	<i>S. gourlayi</i>	AF331057.1
<i>S. demissum</i>	AJ226025.1	<i>S. commersonii</i>	AF331056.1
<i>S. circaeifolium</i>	AJ226022.1	<i>S. chacoense</i>	AF331055.1
<i>S. bulbocastanum</i>	AJ226014.1	<i>S. maglia</i>	AF331054.1
<i>S. pinnatisectum</i>	AJ226011.1	<i>S. polyadenium</i>	AF331046.1
<i>S. raphanifolium</i>	AF332133.1	<i>S. brevidens</i>	Y16663.1
<i>S. bukasovii</i>	AF332130.1	<i>S. tuberosum</i>	Y16657.1
<i>S. vernei</i>	AF332129.1	<i>S. pinnatisectum</i>	X82779.1
<i>S. stenotomum</i>	AF331064.1		

Purificación y secuenciamiento de los fragmentos de ADN amplificados

Purificación de bandas

El producto de PCR se corrió en un gel de agarosa al 0,8% (Sambrook y Russel 2001). Los productos de la amplificación fueron removidos del gel con la hojilla de un bisturí y se colocaron en un tubo de microcentrífuga estéril. La metodología empleada para purificar el fragmento a partir de la agarosa fue la indicada en el sistema Wizard[®] Plus Minipreps DNA Purification System. El ADN resultante se precipitó toda la noche a -20°C utilizando 50 µl de acetato de amonio 10M y 2,5 volúmenes de etanol absoluto. Se centrifugó 5 min. a 13.000 rpm y se lavó la pastilla con etanol 70%, luego esta se dejó secar a temperatura ambiente, y posteriormente se resuspendió en 5µl de H₂O.

Secuenciamiento de ADN

Los ADN se procesaron utilizando el secuenciador automático ABI 310 Applied Biosystem de la unidad de Biotecnología vegetal del Centro Jardín Botánico ULA. Se realizó una amplificación de los fragmentos siguiendo las condiciones que se muestran a continuación. Posteriormente se realizó una precipitación con etanol y EDTA. Las condiciones de PCR utilizadas fueron las recomendadas por los protocolos de la empresa Applied Biosystem. Para reforzar resultados se eligió el servicio de secuenciamiento ofrecido por MGW Biotech¹⁴.

¹⁴ <http://www.mgw.com>

Reacción de secuenciamiento RNA5S			
Concentraciones	Componente de reacción	Stock	VolIX1
Vol total de mezcla de reacción: 20µl	Big Dye terminator	2,5X	2µl
	Buffer BDT	5X	3 µl
	Cebadores	1pmol/ µl	2 µl
	ADN	3 a 10ng	1 µl
	H₂O	-----	12 µl
Programa	Activación 96°C 1 min. Desnaturalización 96°C 10 seg. Anillamiento 50°C 30 seg.	}	40 ciclos
	Extensión 60°C 4 min.		

Precipitación con etanol y EDTA

Luego de dar un golpe de centrífuga a los tubos se les añadió 5µl de EDTA 125mM y 60 µl de Etanol 100%. Se sellaron los tubos con papel aluminio y se mezclaron por inversión 4 veces. Se incubaron los tubos a temperatura ambiente por 15 min. Los tubos se centrifugaron a 13.000 rpm por 45 min. a 4°C; posteriormente se descartó el sobrenadante por inversión del tubo. Se añadieron 60 µl de etanol 70%, se centrifugó a 10000 rpm por 15 min. Se descartó el sobrenadante y se secó la pastilla a 37°C por 1 hora. Luego de secadas las muestras se le agregó a cada tubo 15 µl solución HiDI formamida (Applied Biosystem), se resuspendió el ADN y se desnaturalizaron a 95°C por 2 min. Inmediatamente se colocaron los tubos en hielo hasta el momento de colocar las muestras en el secuenciador.

Análisis de las secuencias

Para analizar las secuencias en cada caso se ubicaron los “contig” mediante el uso de la aplicación “CAP contig assembly program” ubicada en

el programa “Bioedit”¹⁵. Para el análisis se realizó un alineamiento múltiple utilizando el programa “ClustalX”, de todas las secuencias “forward”, las secuencias “reverse”, y de los “contig” para cada ADN. Posteriormente se realizó un estudio de distancia genéticas mediante la aplicación del DNA Dist—Neighbor phylogenetic tree.

Se descartaron del alineamiento final aquellas secuencias que tenían un tamaño muy pequeño respecto al resto, así como aquellas que en el cladograma mostraban una ubicación dudosa, con la finalidad de evitar el mayor número de errores. No se hicieron cambios a los estándares de los alineamientos que utiliza el programa.

Amplificación del gen *rbcL*

Se realizó la amplificación de los ADN de los diferentes materiales de papas utilizando un par de cebadores para la secuencia del gen *rbcL* (Maeda *et al.* 2000), siguiendo las condiciones de PCR descritas a continuación.

Nombre del cebador	Secuencia 5´ - 3´
<i>rbcL</i> F	TGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC
<i>rbcL</i> R	GCAGCAGCTAGTTCCGGGCTCCA

Condiciones de amplificación <i>rbcL</i>	
Concentraciones	Go taq master green 12,5 µl (Promega Cat.M7123)
Vol total de mezcla de reacción: 25µl	Cebador <i>rbcL</i> F (100ng/ µl) 0,5µl Cebador <i>rbcL</i> R (100ng/ µl) 0,5µl ADN templado 1-2µl (10-20ng) H ₂ O Ω 10 µl

¹⁵ <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>

Programa	Activación 94°C 2 min. Desnaturalización 92°C 30 seg. Anillamiento 53°C 1'30 seg. Extensión 72°C 1'30 seg.	} 35 ciclos
	Extensión final 72°C 7 min.	

Purificación de fragmentos amplificados

Para evaluar al éxito de la purificación, se corrió en un gel de agarosa una muestra de 5 µl del producto de PCR obtenido. Posteriormente se purificó el fragmento directamente con una precipitación con 1 volumen de acetato de amonio 10M y 2,5 volúmenes de etanol absoluto; la mezcla a precipitar se mantuvo a -20°C durante toda la noche. Posteriormente se centrifugó 13.000 rpm por 15 min., se lavó la pastilla con etanol 70%, se dejó secar a temperatura ambiente y se resuspendió en 10 µl de H₂O. El ADN de los fragmentos amplificados se secuenció en el CESAAN (Instituto de Investigaciones Científicas de Venezuela IVIC).

Amplificación del gen *rpl16*

Se realizó la amplificación de los ADN de los diferentes materiales de papas utilizando un par de cebadores diseñados a partir de la secuencia para la secuencia del gen *rpl16* (Clark *et al.* 2007), siguiendo las condiciones de PCR descritas a continuación.

Nombre del cebador	Secuencia 5´- 3´
<i>rpl16</i> F	GCTATGCTTAGTGTGTGACTCGTTG
<i>rpl16</i> R	CGTACCCATATTTTTCCACCACGAAC

Condiciones de amplificación <i>rpl16</i>	
Concentraciones	Go taq master green 12,5 µl (Promega Cat.M7123)
Vol total de mezcla de reacción: 25µl	Cebador <i>rbcL</i> F (100ng/ µl) 0,75µl
	Cebador <i>rbcL</i> R (100ng/ µl) 0,75µl
	ADN templado 1-2µl (10-20ng)
	H ₂ O Ω 10 µl
Programa	Activación 94°C 3 min. Desnaturalización 94°C 1 min. Anillamiento 50°C 1 min. Extensión 72°C 1'30 seg. } 34 ciclos
	Extensión final 72°C 10 min

Análisis bioinformático de las secuencias *rbcL* y *rpl16*

Las secuencias obtenidas se alinearon utilizando el programa "Bioedit", se eliminaron los extremos de las mismas para obtener fragmentos de igual tamaño; como grupos externos para el análisis se seleccionaron en el "Genebank" las secuencias de *rbcL* de *Nicotiana acuminata* y *Solanum lycopersicum*. Los alineamientos se realizaron mediante el programa "ClustalX" (Larkin, *et al.* 2007), los cuales posteriormente se editaron utilizando el programa "Genedoc"¹⁶, y mediante el programa Mega "Molecular Evolutionary Genetics Analysis"¹⁷ (Tamura *et al.* 2007), se obtuvieron cladogramas utilizando varios métodos buscando aquel que tuviese mayor sentido. Para ello se emplearon los métodos de "Máxima parsimonia", "Neighbor Joining" y "UPGMA". Posteriormente se tradujeron las secuencias a proteínas y se realizaron los alineamientos de las mismas; con estos alineamientos se realizaron los cladogramas siguiendo los métodos mencionados anteriormente.

¹⁶ <http://www.nrbcs.org/gfx/genedoc/>

¹⁷ at <http://www.megasoftware.net>.

Amplificación por PCR de marcadores microsatélites

Se seleccionaron 13 pares de cebadores a partir de la selección realizada por Ghislain y colaboradores en 2004. Se realizaron amplificaciones a los ADN siguiendo las condiciones indicadas en la publicación. El producto resultante de la amplificación se corrió en un gel de agarosa al 1,5%. Estos geles se analizaron con el programa "Gelbuddy"¹⁸ (Zerr y Henikoff, 2005), para establecer el tamaño de las bandas; posteriormente se realizó una matriz de presencia/ausencia para cada locus y esta se procesó utilizando el programa "Popgene"¹⁹. En la tabla 10 se listan los diferentes cebadores utilizados en el ensayo y las características de cada uno de ellos. A continuación se muestran las condiciones utilizadas en las amplificaciones

Condiciones de amplificación para los cebadores microsatélites				
Concentraciones	Go taq master green (Promega 12,5 µl Cat.M7123)			
Vol total de mezcla de reacción: 25µl	Cebadores F 0,5µM Cebadores R 0,5 µM ADN 1-2µl (10-20ng) H ₂ O Ω			
Programa	<table border="0"> <tr> <td>Activación 94°C 3 min. Ta 2 min Desnaturalización 72°C 1,30 min Desnaturalización 94°C 1 min</td> <td rowspan="2">} Pre PCR</td> </tr> <tr> <td>Anillamiento Ta°C 2 min Extensión 72°C 1,30 min. Extensión final 72°C 5 min</td> </tr> </table>	Activación 94°C 3 min. Ta 2 min Desnaturalización 72°C 1,30 min Desnaturalización 94°C 1 min	} Pre PCR	Anillamiento Ta°C 2 min Extensión 72°C 1,30 min. Extensión final 72°C 5 min
Activación 94°C 3 min. Ta 2 min Desnaturalización 72°C 1,30 min Desnaturalización 94°C 1 min	} Pre PCR			
Anillamiento Ta°C 2 min Extensión 72°C 1,30 min. Extensión final 72°C 5 min				
Programa para los cebadores que muestran una Ta : TD 50-60	<table border="0"> <tr> <td>Activación 94°C 3 min Desnaturalizacion 1 min 94°C Anillamiento 2 min at 60°C, Extension 72°C 1.5 min Desnaturalizacion 94°C, 1 min Anillamiento 50°C 2 min Extension 72°C 1.5 min Extensio final de 5 min a 72°C.</td> <td rowspan="2">} 16 doble ciclos</td> </tr> </table>	Activación 94°C 3 min Desnaturalizacion 1 min 94°C Anillamiento 2 min at 60°C, Extension 72°C 1.5 min Desnaturalizacion 94°C, 1 min Anillamiento 50°C 2 min Extension 72°C 1.5 min Extensio final de 5 min a 72°C.	} 16 doble ciclos	
Activación 94°C 3 min Desnaturalizacion 1 min 94°C Anillamiento 2 min at 60°C, Extension 72°C 1.5 min Desnaturalizacion 94°C, 1 min Anillamiento 50°C 2 min Extension 72°C 1.5 min Extensio final de 5 min a 72°C.	} 16 doble ciclos			

¹⁸ <http://www.gelbuddy.org>

¹⁹ <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>

Electroforesis en gel de agarosa

El producto amplificado con los cebadores microsátélites se evaluó en geles de agarosa 1,5%; las condiciones de corrida fueron 70V de potencia y los geles se prepararon con buffer TAE (Sambrook y Russel, 2001). Posteriormente se determinó el tamaño de las bandas utilizando el programa "Gelbuddy"²⁰ (Zerr y Henikoff, 2005). A partir de estos datos se elaboró una matriz de presencia/ausencia mediante el programa "Popgene".

Resultados

Purificación de ADN a partir de material foliar de papas.

El método utilizado para la purificación de ADN permitió obtener templados de suficiente pureza e integridad para ser usado en la amplificación, a pesar de que en algunos casos el ADN se purificó a partir de muestras colectadas en campo. Los altos niveles de productos de oxidación no afectaron la eficiencia en la amplificación.

Amplificación del fragmento de ARNr 5S

La mayoría de los ADN de los materiales empleados resultaron exitosos para efectos de la amplificación con los cebadores ARNr 5S; la banda se observó bien definida y fue fácil de separar del gel. Sólo el ADN de las especies silvestres mostró bajas concentraciones de fragmentos amplificados, por ello se realizó la reacción de PCR con un volumen equivalente al doble del utilizado en el resto de los materiales. (Fig. 28).

²⁰ <http://www.gelbuddy.org>

Tabla 10.
Características de los cebadores microsatélites seleccionados

Cebador	Motivo	Secuencia 5'-3'	Tamaño de alelo	Ta°C
STM1031	(at) ₁₃	tgtgtttgtttttctgtat aattctatcctcatctcta	265-325	55
STPoAc58	(ta) ₁₃	ttgatgaaaggaatgcagcttgtg acgttaaagaagtgaagtacgac	203-277	57
STM0019a	(at) ₇ (gt) ₁₀ (at) ₄ (gt) ₅ (gc) ₄ (gt) ₄	aataggtgtactgactctcaatg ttgaagtaaaagtcctagtatgtg	155-241	47
STM0031	(ac) ₅ ... (ac) ₃ (gcac) (ac) ₂ (gcac) ₂	catacgcacgcacgtacac ttcaacctatcattttgtgagtcg	155-205	57
STM1052	(at) ₁₄ gt (at) ₄ (gt) ₈	caatttcgttttttcattgtgacac atggcgttaatttgatttaatacgtaa	212-268	Td.60 -50
STM2013	(tcta) ₆	ttcgggaattaccctctgcc aaaaaaaaagaacgcgcacg	146-172	55
STM1104	(tct) ₅	tgattctcttgccactgtaatcg caaagtgggtgtgaagctgtga	164-185	57
STM1016	(tct) ₉	ttctgatttcatgcatggttcc atgcttgccatgtgatgtgt	243-262	53
STWAX-2	(actc) ₅	cccataaactgtcgatgagca gaaatgtagggaaacatgcatga	224-243	53
STM3012	(ct) ₄ , (ct) ₈	caactcaaaccagaaggcaaa gagaaatgggcacaaaaaca	168-213	57
STM1106	(att) ₁₃	tccagctgattgggttaggttg atgogaatctactcgtcatgg	131-197	55
STM0037	(tc) ₅ (ac) ₈ aa (ac) ₇ (at) ₄	aatttaacttagaagattagtctc atthgggtgggtatgata	75-125	53
STM0030	(gt/gc)(gt) ₈	agagatcgatgtaaaacacgt gtggcattttgatggatt	122-191	53

Nota: información tomada de Ghislain *et al.* (2004).

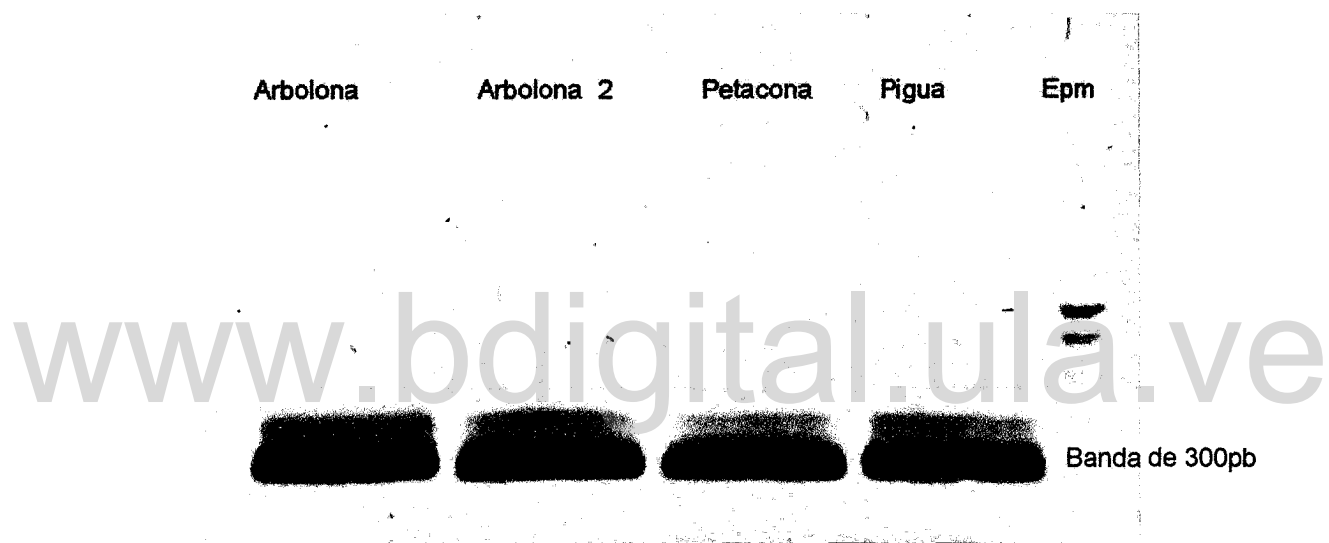


Figura 28. Gel de agarosa al 1,5% mostrando los fragmentos amplificados de ARN 5S de algunas de las variedades utilizadas en el ensayo.

Purificación de los fragmentos ARNr 5S a partir de gel de agarosa

El ADN purificado se evaluó en un gel de agarosa al 1% para determinar su concentración. En todos los casos se observó una banda nítida, indicando la abundante concentración del ADN y por lo tanto el éxito en la purificación. Al calcular las concentraciones de los ADN ARNr 5S de los distintos materiales se obtuvo un aproximado de 45-60ng/μl. En los casos donde desde un principio la amplificación fue deficiente se prepararon varias reacciones de PCR, para duplicar el ADN, y evitar posteriores errores el momento de secuenciar. En la figura 29 se muestra uno de los geles donde se evaluó la concentración de los ADN ARNr 5S amplificados.

Secuenciamiento

El secuenciamiento realizado con el sistema Applied Biosystem fue medianamente exitoso, posiblemente debido al pequeño tamaño del fragmento se evidenciaron deficiencias al momento de evaluar las secuencias resultantes. En la mayoría los fragmentos secuenciados fue fácil ubicar la secuencia del cebador, con algunas excepciones en las que el fragmento fue más pequeño de lo esperado, y en los casos en que el material vegetal del cual se extrajo el ADN no estaba en óptimas condiciones, como fue el caso del material foliar de las papas silvestres el cual se encontraba deshidratado. En todos los ADN de papas silvestres los errores observados fueron los mismos, fragmentos pequeños y secuenciación deficiente.

Al momento de evaluar las secuencias resultantes se observó que la región más confiable de la secuencia fue el principio, ya que hacia el final existía mucho ruido entre las bases. Esto pudo deberse a un exceso de ADN;

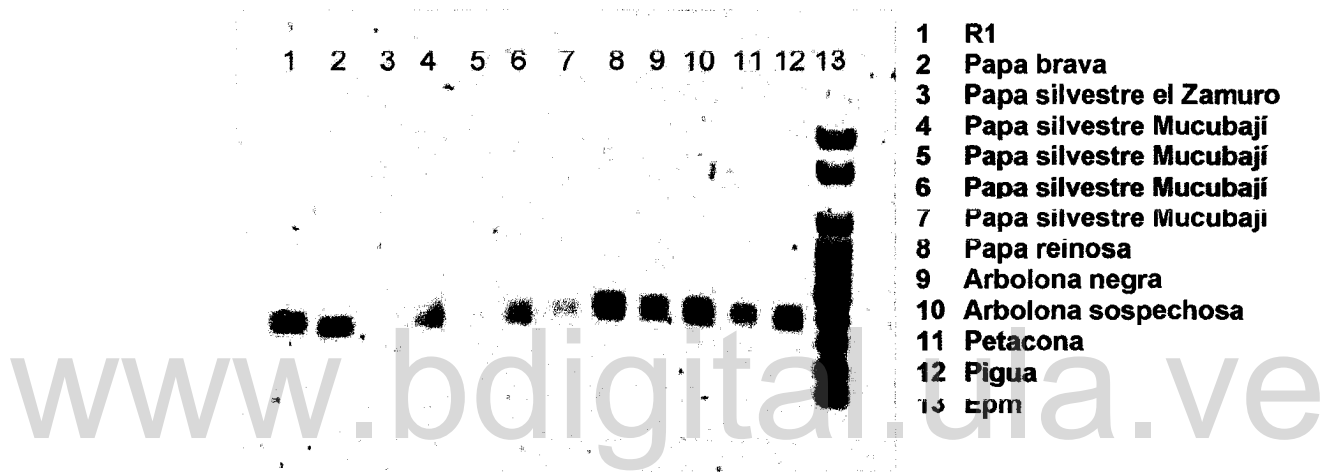


Figura 29. Fotografía de gel de agarosa 1% mostrando bandas obtenidas por 1µl de ADN ARNr 5S purificado. Epm 100pb

tomando en cuenta este hecho, se editaron los fragmentos en general cortando hasta la zona donde las secuencias fueron más estables, sin embargo hay errores en algunos casos que sólo se pueden confirmar realizando nuevos ensayos de secuenciación. En los cromatogramas resultantes se realizó una edición manual de las secuencias. Las secuencias exitosas resultantes del proceso de secuenciación llevado a cabo por la empresa MGW Biotech, se utilizaron para complemento de la edición manual descrita en el párrafo anterior.

Análisis bioinformático de las secuencias

Posiblemente debido al pequeño tamaño del fragmento y a una baja calidad en el secuenciación, al momento de realizar el análisis bioinformático no se obtuvieron resultados significativos que se pudiese tomar en cuenta al momento de emitir una conclusión. Los cladogramas resultantes muestran números muy bajos de “bootstrap”, por ello el resultado obtenido a partir de este análisis se descartó para la presente investigación. Este error pudo ser causado por el procedimiento de corte de las bandas, ya que el fragmento era de pequeño tamaño, y quizá se hubiese obtenido un resultado más efectivo haciendo la purificación del ADN directamente a partir de la mezcla de PCR.

Amplificación del gen *rbcl* y *rp16*

La amplificación llevada a cabo con los cebadores *rbcl* y *rp16* produjo un resultado exitoso en casi todos los ADN utilizados; al visualizar en un gel de agarosa 5µl de mezcla de PCR se obtuvieron bandas que demostraron la

abundancia del fragmento amplificado, tal como se muestra en las figuras 30 y 31.

Secuenciamiento y análisis bioinformático de los fragmentos amplificados rbcL y rpl16

El secuenciamiento realizado fue exitoso, en casi todos los casos se obtuvo la secuencia del fragmento completo. Al momento de realizar los alineamientos de las secuencias "Forward" se observó una gran similitud entre éstas, posteriormente al analizar los cladogramas elaborados según distintos métodos, se pudo apreciar algunas relaciones fuertes entre algunos de los materiales, tales como los cultivares "Reinosa" colombiana, *S. phureja*, Arbolona Sospechosa, "Petacona", "Reinosa" criolla, *S. otites*, Rosada *in vitro* y "Pigua". Este grupo de cultivares y especies aparecen relacionadas en los resultados obtenidos por todos los métodos utilizados; igual sucede con el grupo de cultivares "Guadalupe", "Arbolona negra", "Granola", R1 y R8 los cuales siempre se mostraron relacionados. Los grupos externos utilizados mostraron una relación con uno de los materiales de papas silvestres no identificados dejando claro la diferencia de este material respecto a las especies silvestres identificadas utilizadas en el estudio (fig 32, 33, 34). Al realizar el alineamiento de la secuencia de aminoácidos se observó una alta conservación en la secuencia con ciertas diferencias muy puntuales en la secuencia de la proteína (fig. 35). No se aprecia una diferencia significativa al momento de evaluar los cladogramas elaborados a partir de las secuencias de aminoácidos y las de nucleótidos (fig. 36, 37, 38, 39, 40, 41).

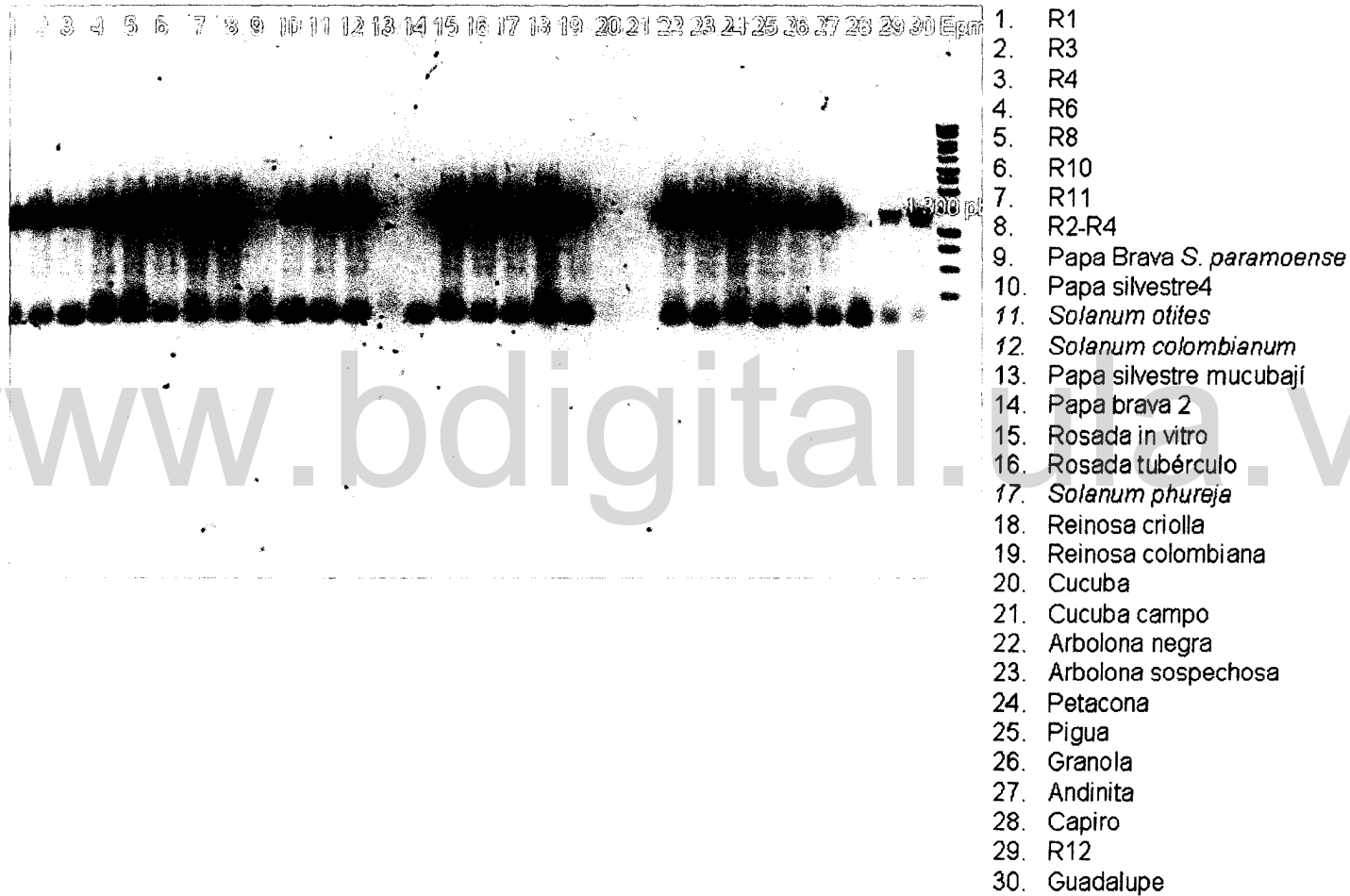


Figura 30. Gel de agarosa al 0,8% mostrando el producto de PCR obtenido a partir de la amplificación con los cebadores *rbcL*. Volumen de muestra cargada 5 μ l. Corrido a 130V



1. Cucuba
2. Rosada
3. Arbolona negra
4. Arbolona sospechosa
5. Petacona
6. Pigua
7. S. phureja
8. Reinoso colombiana
9. Epm

Figura 31. Gel de agarosa al 0,8% mostrando los fragmentos amplificados con los cebadores *rp/16* Volumen de muestra cargada 5 μ l. Corrido a 130V.

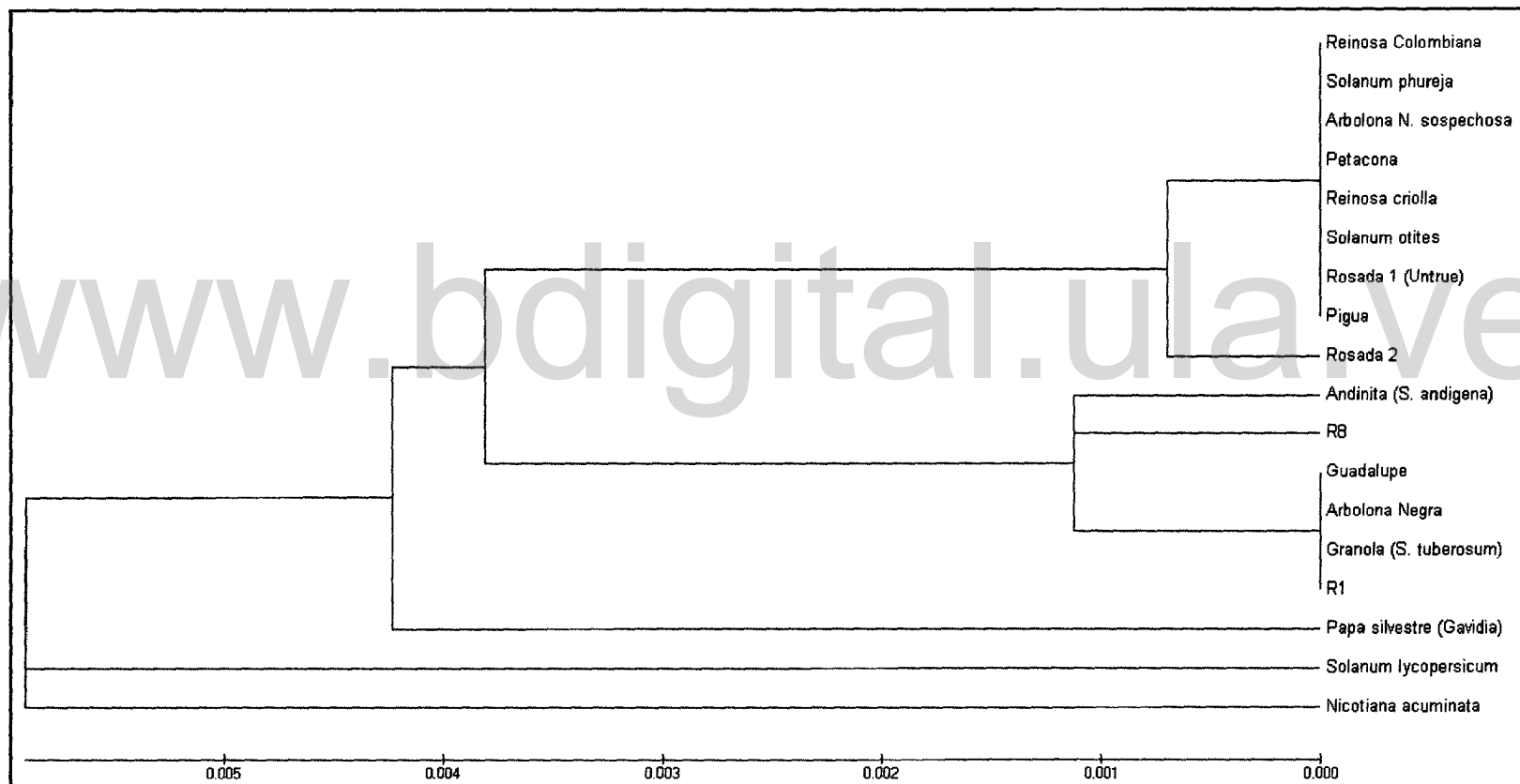


Figura 32. Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de *rbcL* Forward, por el método Neighbor Joining sin bootstrap

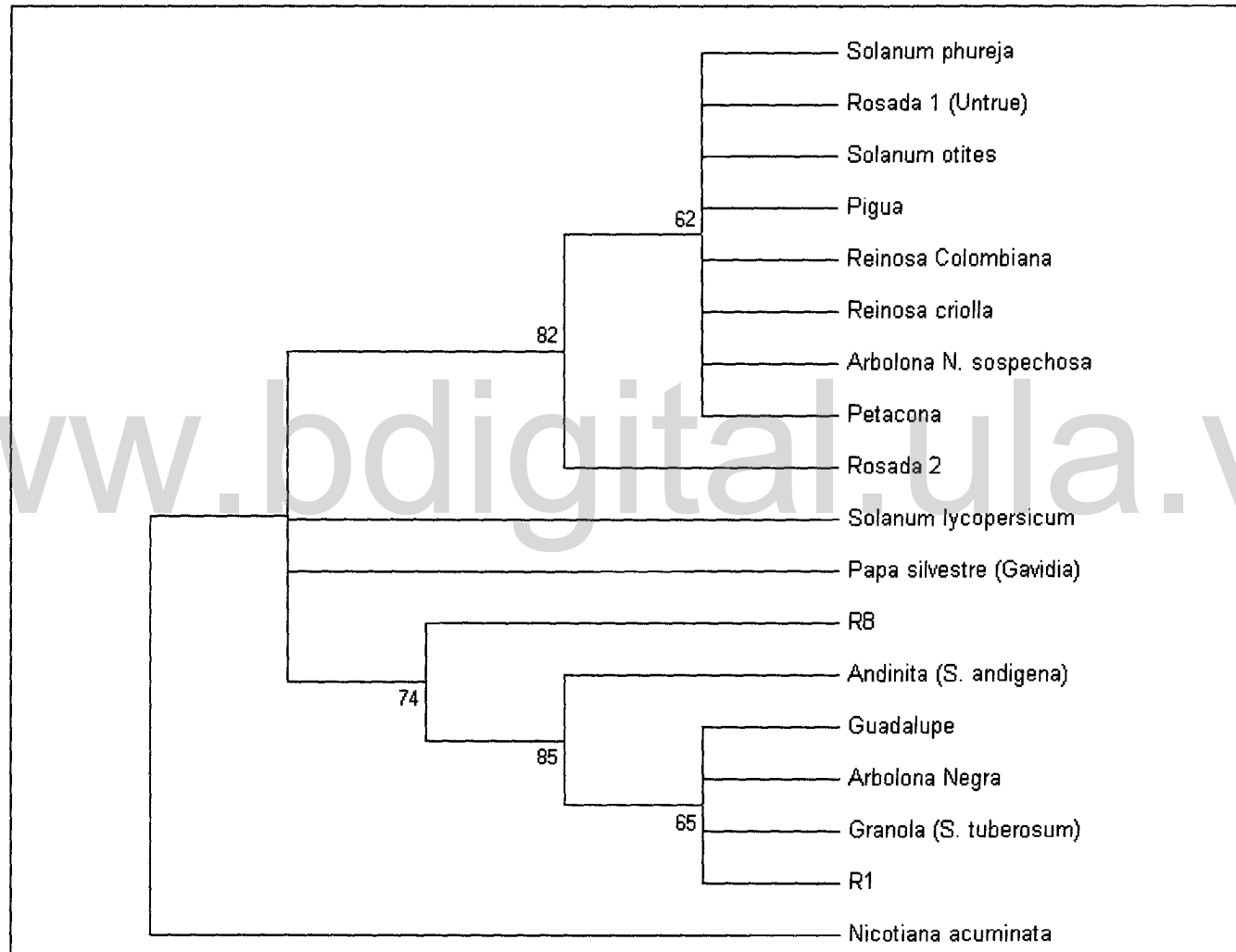


Figura 33. Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de nucleótidos *rbcL* Forward, por el método UPGMA

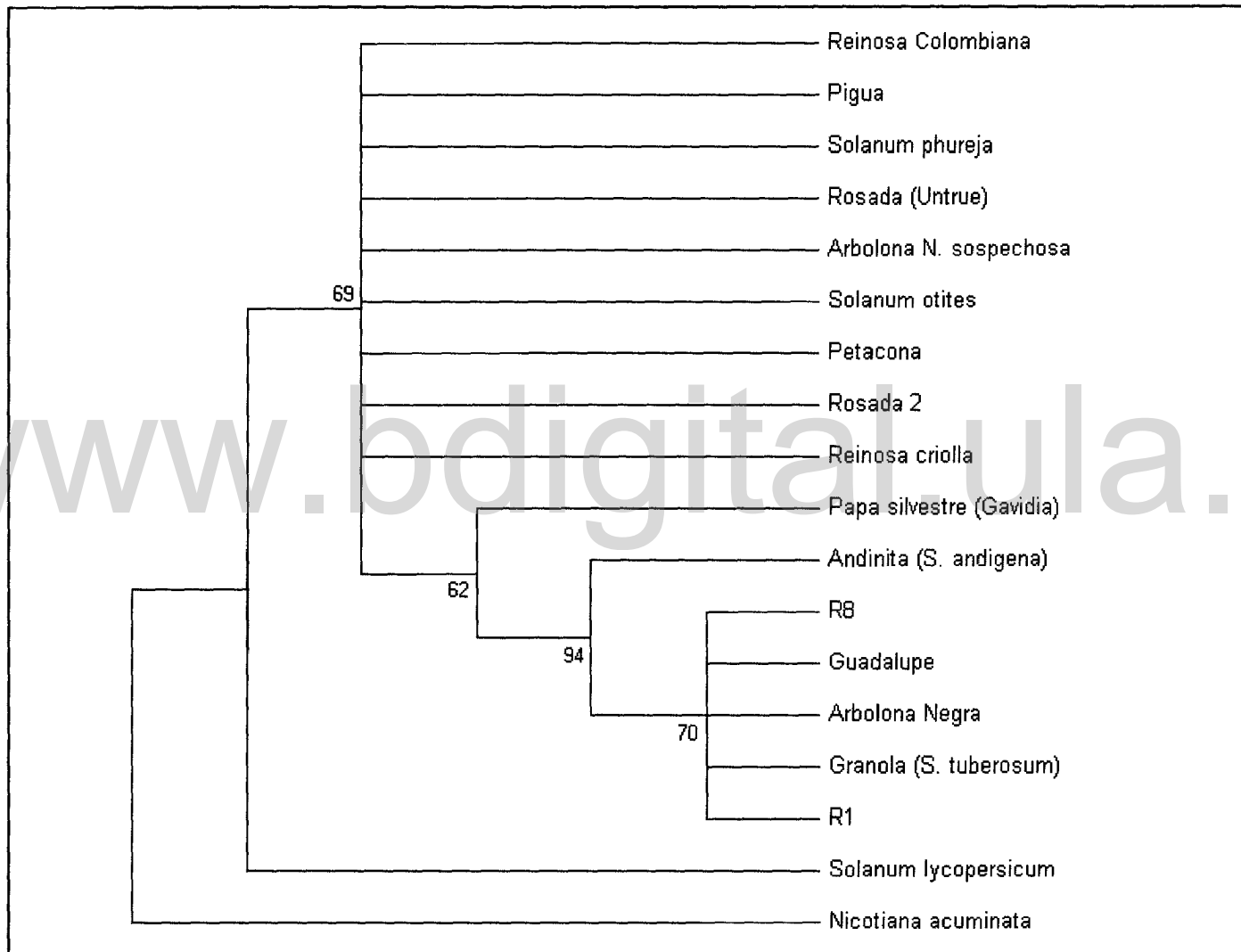


Figura 34. Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de *rbcL* Forward, por el método de máxima parsimonia.

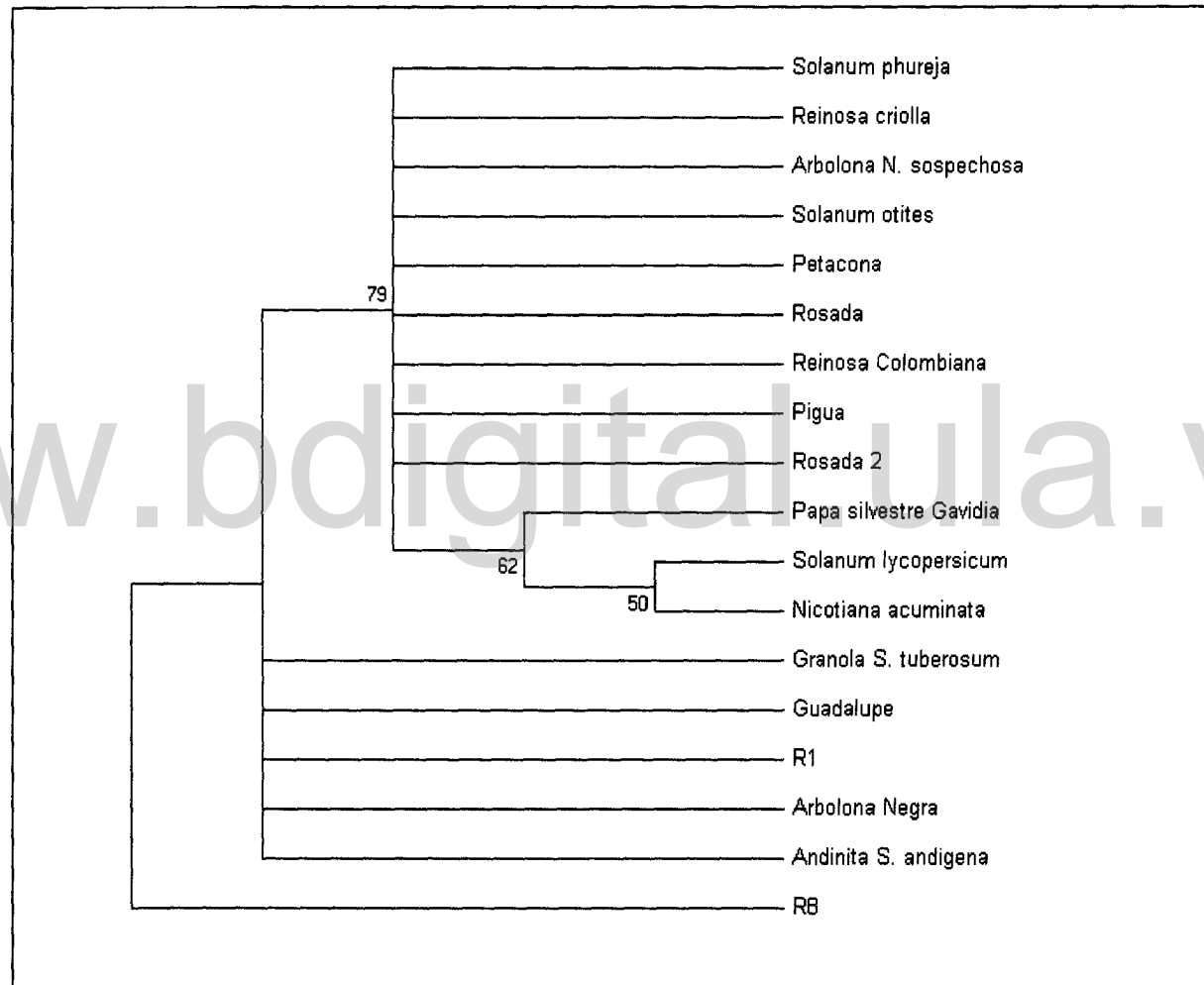


Figura 36. Cladograma obtenido a partir de un alineamiento de secuencias de aminoácidos rbcL, utilizando el método de máxima parsimonia.

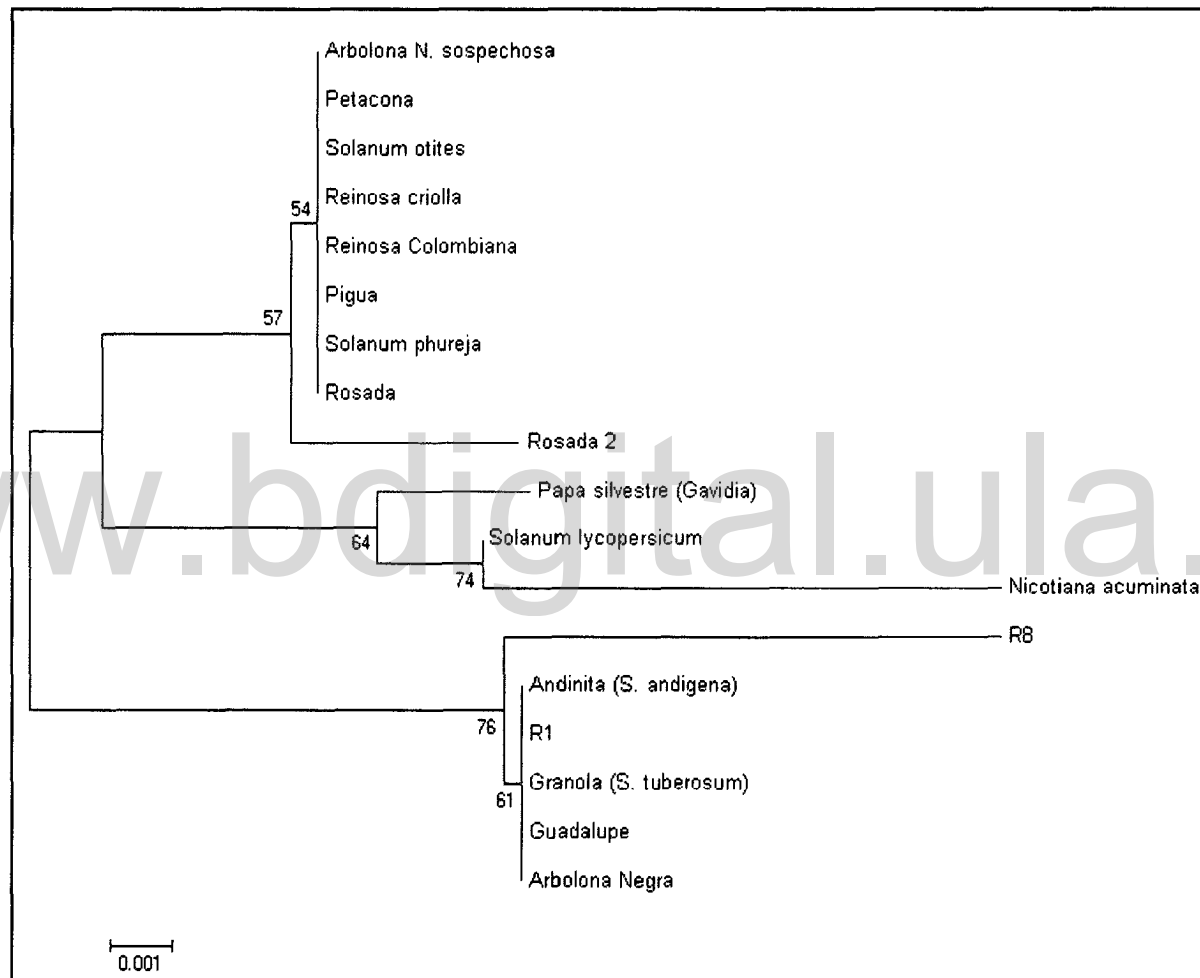


Figura 37. Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de aminoácidos rbcL, por el método Neigbord Joining.

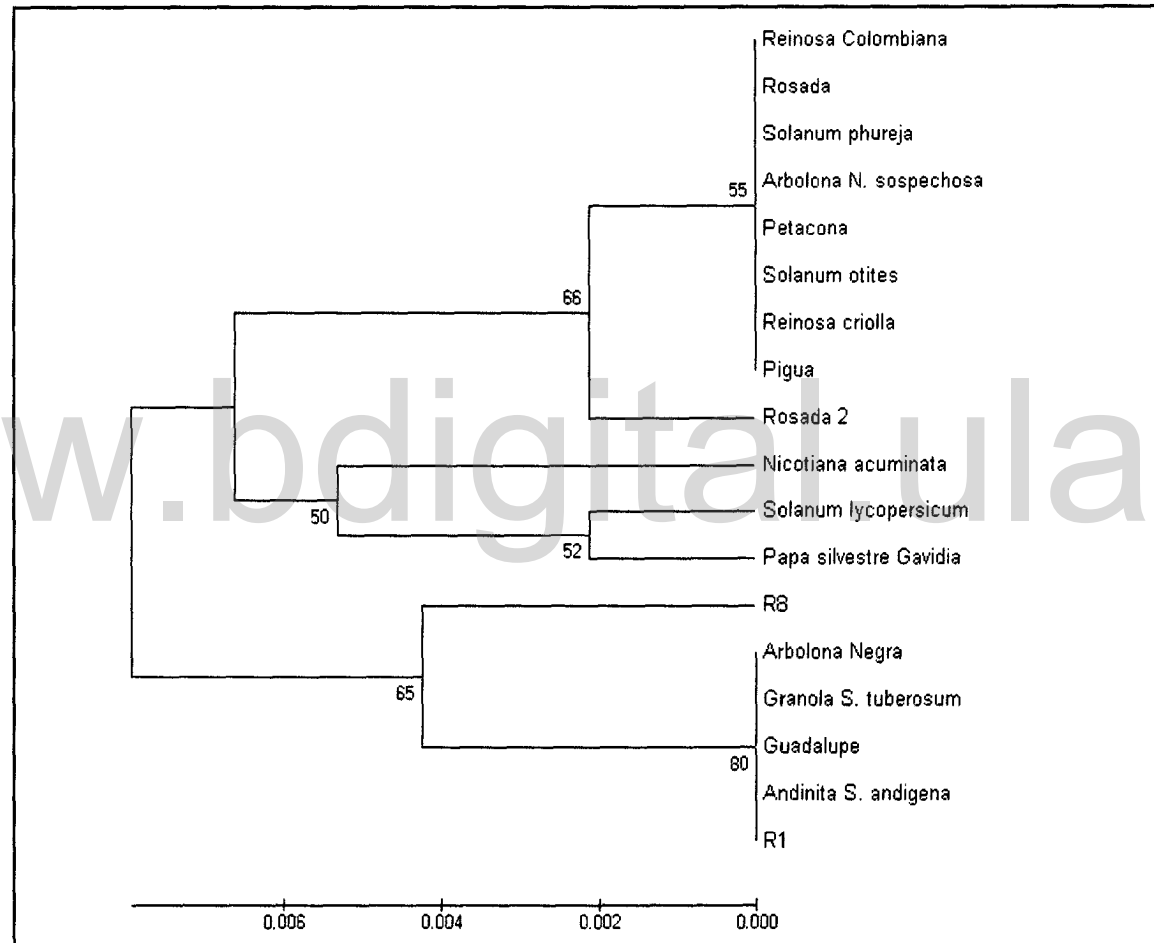


Figura 38. Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias de aminoácidos, *rbcL*, utilizando el método UPGMA

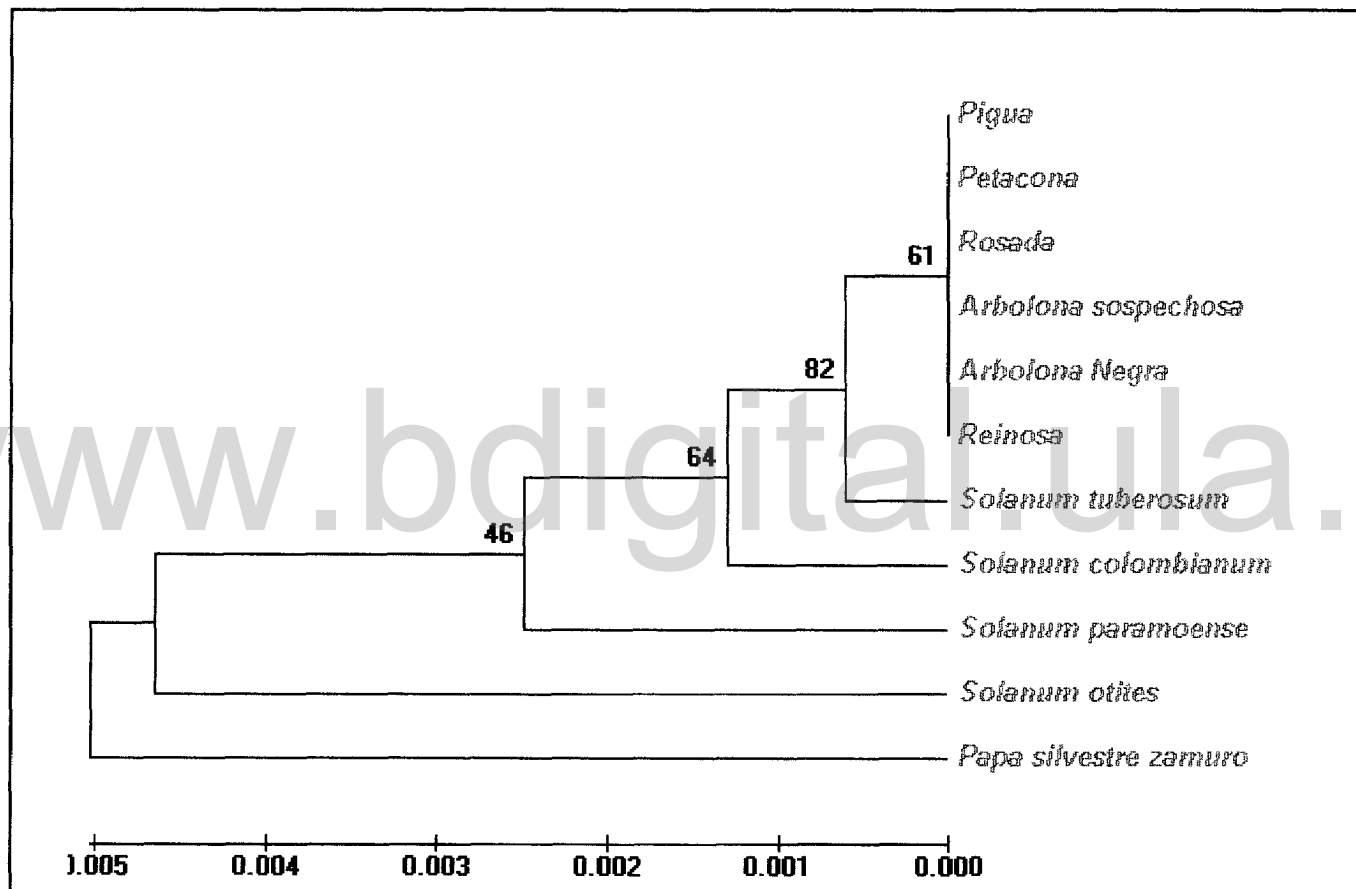


Figura 39. Cladograma obtenido a partir del alineamiento de secuencias del gen *rp16*, utilizando el método UPGMA

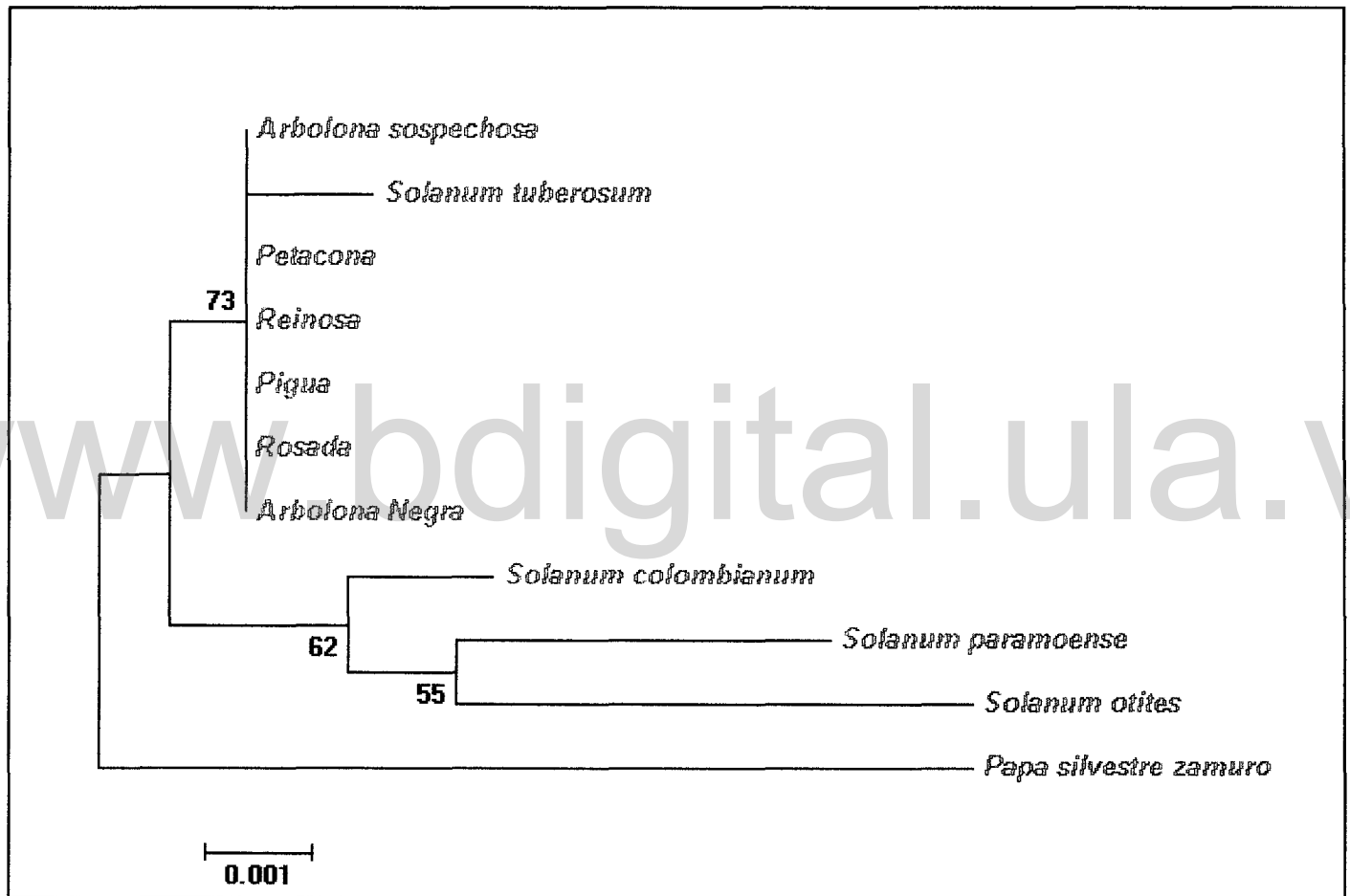


Figura 40. Cladograma de las secuencias *rpl16* obtenido por el método de "Neighbor Joinig"

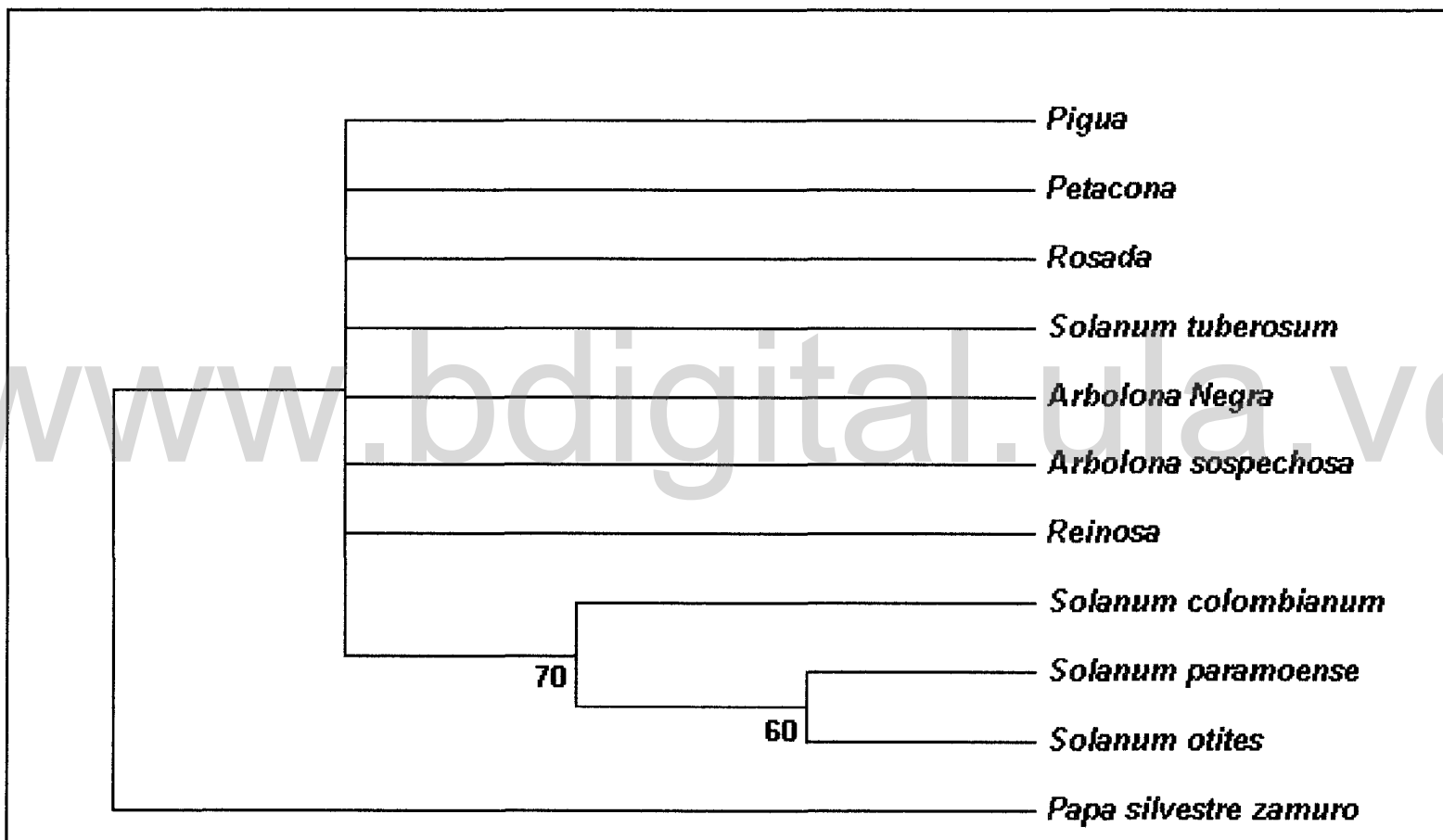


Figura 41. Cladograma de las secuencias *rpl16* obtenido por el método de Máxima parsimonia

Amplificación de ADN de papas utilizando los cebadores microsátélites

Los diferentes cebadores utilizados en el ensayo produjeron bandas visibles y nítidas en la mayoría de los casos, con excepción de las amplificaciones realizadas a partir de los ADN de especies silvestres, los cuales por ser procesados a partir de material foliar seco mostraron bandas muy débiles. Todos los resultados fueron reproducidos para verificar su eficiencia, y el resultado fue positivo. A pesar de que los resultados fueron evaluados en geles de agarosa al 1,5% se observó diferencias alélicas entre los diferentes materiales lo cual permitió realizar el análisis. En la figura 42 se muestra un gel de agarosa al 1,5% donde se observa la diferencia de tamaño entre las bandas producidas a partir del producto de amplificación con el cebador STM0030, uno de los utilizados en el procedimiento

Procesamiento y análisis de los resultados

Con el fin de estimar con la mayor precisión posible el tamaño de cada una de las bandas, éstas se analizaron utilizando el programa "Gel buddy", el cual permitió una mayor precisión al momento de asignar un tamaño a cada una de las bandas obtenidas en los geles. Estos resultados se organizaron en una tabla de presencia y ausencia, para su posterior procesamiento. Los resultados obtenidos se utilizaron para elaborar una matriz, la cual fue usada como archivo de entrada en el programa "Popgene" para análisis Genético de poblaciones, Versión 1.31 (Yeah y Yang, 1999). El archivo de entrada se muestra en los anexos.



1. R1
2. R3
3. R4
4. R6
5. R8
6. R10
7. R11
8. R2-R4
9. Reinosa
10. Papa brava
11. Arbolona negra
12. Rosada
13. Epm

Figura 42. Gel de agarosa al 1,5% mostrando el producto de amplificación con el cebador STM 0030.

El cladograma de distancias genéticas resultante arrojado por el programa se muestra en la figura 43. En este cladograma se aprecia claramente la relación entre los cultivares que denominamos nativos, los comerciales y las especies silvestres; estos tres grupos se muestran separados en la figura. La estrecha relación que se muestra entre los diferenciales R analizados muestra el éxito del procedimiento ya que estos materiales provienen del cruce de dos especies (*S. tuberosum* grupo Tuberosum X *S. demissum*) y eran los únicos con este germoplasma en el ensayo. El resultado muestra una relación entre todos los materiales que se consideran nativos, como lo son: “Arbolona negra”, “Petacona”, “Pigua”, “Arbolona” sospechosa, “Cucuba” y “Rosada”. Mientras que en un grupo aparte se ubican los cultivares comerciales “Capiro”, “Granola”, “Única”, “Andinita” y “R12”, aunque en ese grupo se ubica la especie *S. paramoense* o papa de indios, la cual, a pesar de ser una especie semidomesticada²¹, posee un nivel de ploidía $4n=4X=48$, contrario al resto de los materiales silvestres. Finalmente, se agrupan los materiales silvestres *S. otites*, *S. colombianum* junto con la especie silvestre no identificada.

²¹ Según A Salas (comunicación personal septiembre 2007), una especie de papa semidomesticada es aquella, que a pesar de ser silvestre puede ser consumida por el hombre.

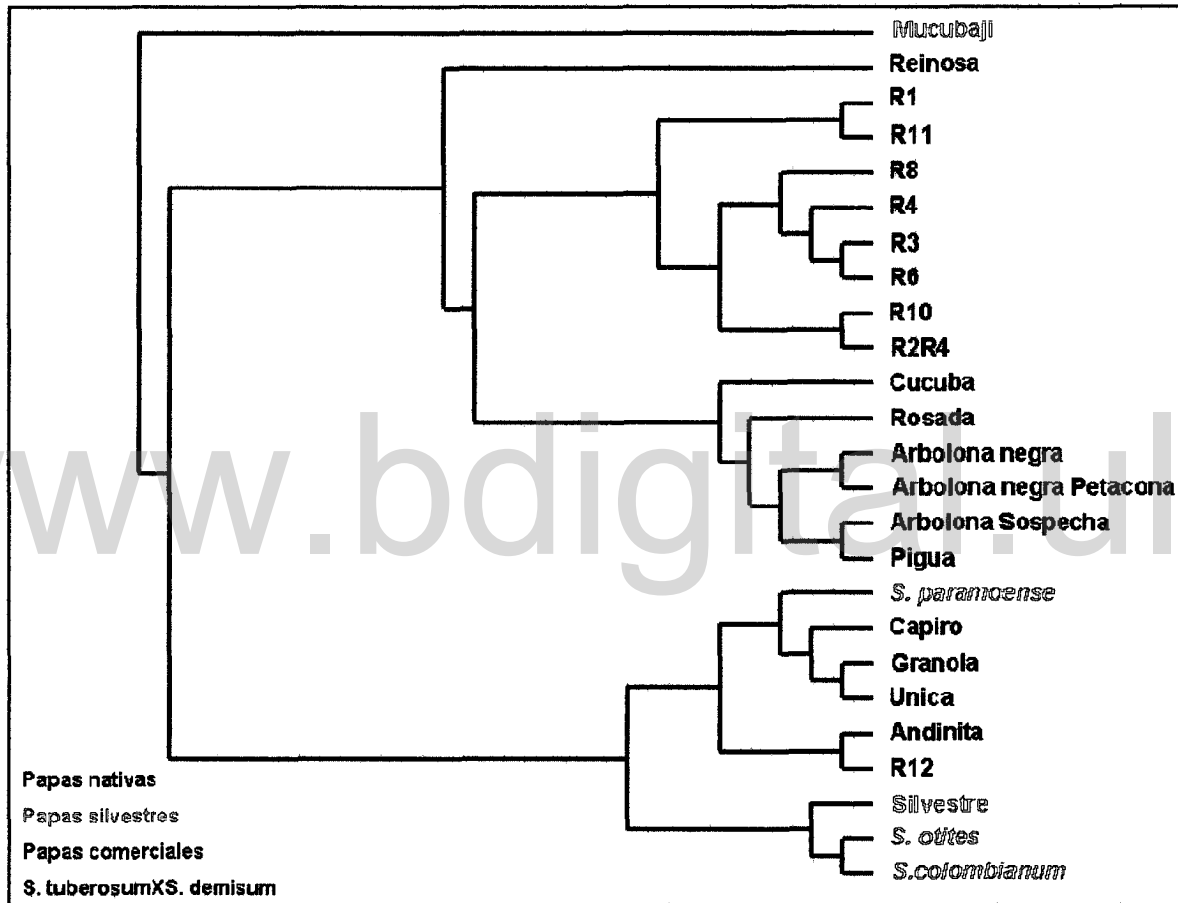


Figura 43. Cladograma editado mostrando la ubicación de las papas nativas respecto a las papas silvestres y a las cultivadas. Los grupos en estudio se indican en diferentes colores.

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permitieron antes que nada demostrar la importancia del uso de diferentes herramientas de biología molecular para encontrar una respuesta a una interrogante. Existen antecedentes de investigaciones relacionadas con la identificación de germoplasma de papas nativas en las cuales fue necesario el uso de diversas herramientas de biología molecular (Sukotu y Hosaka, 2006; Alpizar *et al.* 2007; Ghislain *et al.* 2009). Los diferentes marcadores empleados en la presente investigación permitieron dar respuesta a interrogantes planteadas sobre la identidad de las papas nativas merideñas desde dos aspectos importantes.

El primero de estos aspectos es ¿quienes son las papas nativas merideñas? Respondiendo esta pregunta los resultados obtenidos a partir de los marcadores de cloroplastos *rp16* y *rbcL*. A partir del análisis bioinformático de los fragmentos amplificados con los marcadores de cloroplastos *rbcL* y *rp16*, empleando diferentes métodos tales como UPGMA, "Máxima parsimonia" y "Neighbor joining", los diferentes resultados obtenidos coincidieron en ubicar a las papas nativas como pertenecientes a una misma especie *S. tuberosum.*, siendo este resultado mas evidente al analizar los cladogramas realizados a partir de las secuencias *rp16*, ya que en éstos se muestra claramente una separación de las papas nativas con respecto a las diferentes especies de papas silvestres utilizadas en el ensayo.

Otro punto interesante es la relación mostrada entre los cultivares “Arbolona negra”, “Granola” y los diferenciales R; la variedad de papas nativa “Arbolona negra” se ha descrito como perteneciente al Grupo cultivar Andigenum, mientras que la variedad comercial “Granola”, pertenece al Grupo cultivar Tuberosum, y por otra parte los diferenciales R, son resultado de un cruce entre *S. tuberosum* y la especie silvestre *S. Demissum* a pesar de tener características diferentes, los resultados demuestran que tres materiales pertenecen a la especie *S. tuberosum* o tienen un componente de esta especie dentro de su genoma, como sería el caso de los diferenciales R. Por otra parte al analizar el resultado obtenido con el mismo marcador, en el que se demuestra una relación entre las variedades “Reinosa” y “Reinosa colombiana” (Anteriormente descritas como pertenecientes al grupo cultivar Phureja) con las variedades “Arbolona sospechosa” y “Petacona” (Grupo Andigenum) se verifica lo demostrado por Ghislain *et al* (2009), donde demuestra que existen suficientes evidencias para considerar a las variedades “Reinosa” y “Reinosa colombiana” dentro del grupo cultivar Andigenum, especie *S. tuberosum* y no como la especie diploide *S. phureja*.

Lamentablemente no fue posible tener la disposición de todos los materiales para todos los ensayos, lo cual no permitió realizar una comparación completa entre ambos resultados, pero a pesar de ello se pueden apreciar resultados importantes y uno de ellos es el obtenido por medio del análisis de la secuencia *rbcL*, en el cual, indiferentemente del método empleado se aprecia una relación entre la mayoría de los cultivares de papas nativas, y la especie silvestre *S. otites*, lo cual puede explicarse si

se considera el hecho de que los cultivares nativos de Los Andes pudieron en algún momento cruzarse con el material genético de las especies silvestres de la zona, entre las cuales se encuentra *S. otites*, ya que han coexistido bajo las mismas condiciones durante un extenso período de tiempo.

Todos estos resultados llevan a concluir respecto a los marcadores de cloroplastos utilizados *rpl16* y *rbcL*; que éstos permiten establecer relaciones entre las papas nativas a nivel de especie, siendo ambos marcadores capaces de demostrar una diferencia entre las especies silvestres y las papas nativas, en cuyo caso, el marcador *rpl16* aportó resultados más definitivos tomando en cuenta que permitió una separación de las papas nativas con respecto a un grupo de tres especies de papas silvestres, hecho que no sucedió con el marcador *rbcL*; el cual, a pesar de ubicar a una de las especies de papas silvestres en un clado aparte, incluye a la especie *S. otites* junto a un grupo de papas nativas, relación que es importante profundizar en el futuro.

La segunda interrogante resuelta en la presente investigación fue: ¿Las papas nativas son diferentes genéticamente de las papas comerciales? Y esta respuesta fue aclarada al evaluar los resultados obtenidos por medio de los marcadores microsatélites, ya que estos marcadores por permitir un análisis de una porción mas amplia del genoma, permitieron establecer una relación entre las papas nativas merideñas que las separa tanto de las papas comerciales como de las papas silvestres, teniendo características propias que a pesar de no pertenecer a especies diferentes a las papas cultivadas pueden considerarse como un grupo aparte siendo posible explicar esta

relación si se toma en cuenta que las papas nativas merideñas ya eran cultivadas en el estado antes de la introducción masiva de semilla importada, lo cual les dio suficiente tiempo para desarrollar características genéticas propias que permiten separarlas de las papas comerciales cultivadas en la actualidad.

Como complemento a estos resultados se pudieron evidenciar varios casos interesantes tal es el caso de la especie *S. paramoense*, la cual según el estudio de microsatélites se muestra relacionada a los cultivares comerciales, esto puede significar entre otras cosas, un posible uso de esta especie en los primeros programas de mejoramiento realizados en papas, también puede explicarse como un posible intercambio de polen en algún momento entre cultivos cercanos poblaciones de *S. paramoense*, ya que no es desconocido que en algunos de los lugares donde se cultivan papas en Los Andes merideños, existe poca distancia entre los cultivos comerciales y algunas zonas donde es espontáneo el crecimiento de esta especie. Esta posibilidad tiene sentido si se toma en cuenta que esta papa se puede consumir, a pesar de que los habitantes del páramo no lo hacen en la actualidad, es posible que haya sido objeto de consumo en tiempos prehispánicos, y no se puede descartar la posibilidad de que en algún momento haya sido utilizada en algún programa de mejoramiento.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos se puede considerar a los marcadores microsatélites como la herramienta más apta para establecer relaciones entre los grupos de papas nativas merideñas, lo cual puede aclarar las distintas dudas respecto a su origen.

Una hipótesis que se puede formular respecto a los resultados obtenidos es la posible presencia de otra especie en Los Andes Venezolanos, lo cual no ha sido considerado en los estudios realizados en el pasado. Se podría de este modo decir que el cultivar "Arbolona negra" podría tener en su genoma alguna relación con otra de las especies de papas nativas, lo cual podría verificarse realizando estudios de ploidía a todos los materiales de esta variedad que se cultivan en diferentes regiones de Los Andes, además de incluir en el estudio el resto de los materiales considerados nativos, complementado con una caracterización botánica y un estudio de microsatélites basado en los marcadores disponibles recientemente siguiendo el protocolo formulado por el Centro Internacional de la Papa CIP (Ghislain *et al.* 2009), pero teniendo materiales de referencia certificados de las diferentes especies y grupos cultivares identificados hasta el momento.

Un punto importante a tomar en cuenta al momento de identificar las papas nativas es la clasificación taxonómica que en la actualidad se utiliza para las papas cultivadas, ya que según los estudios de Spooner y colaboradores en 2007, todas las papas cultivadas se pueden reunir en cuatro especies y las variedades tetraploides se ubican en la especie *S. tuberosum*, la cual se ha asignado a los cultivares colectados en Venezuela y Colombia. Este hecho minimiza aun más las diferencias genotípicas entre ellas haciendo más difícil la identificación de un material proveniente de un largo proceso de hibridación.

Finalmente, se puede decir que el darle una identidad a los materiales de papas nativas merideñas no puede ser una tarea fácil, ya que existen

muchos factores involucrados en un proceso que ha hecho del estatus actual de estos materiales una gran mezcla de material genético, y tal como se mencionó en el capítulo anterior, todo el proceso histórico involucrado en la agricultura de Los Andes venezolanos trajo como resultado una gran mezcla de germoplasma, la cual solo con el trabajo sistemático y bien organizado puede dar en el futuro respuestas cada vez más consistentes y claras.

www.bdigital.ula.ve

Conclusiones

El uso de la secuencia del gen ARNr 5s en estudios de parentesco entre grupos muy relacionados sólo puede ser efectivo si se parte de un proceso de secuenciamiento 100% exacto, ya que las diferencias son mínimas, por ser esta una secuencia muy conservada.

A partir de los resultados obtenidos con los marcadores de cloroplastos se puede proponer que las papas nativas merideñas pertenecen a una misma especie *S. tuberosum*.

Los resultados obtenidos a partir de los marcadores microsatélites permitieron relacionar las papas nativas merideñas como un grupo con características propias que las hace diferentes a las papas comerciales y a las papas silvestres, por ello se propone este tipo de marcadores como la herramienta idónea para realizar una clasificación de las papas nativas merideñas.

CAPITULO IV

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *P. INFESTANS* EN PAPAS NATIVAS BAJO CONDICIONES CONTROLADAS

Luego de la devastadora hambruna ocurrida en Irlanda a mitad del siglo XIX, el estudio de la resistencia hacia la candelilla tardía se convirtió en uno de los principales objetivos de los programas de mejoramiento de las papas; a partir de ello, los fitopatólogos centraron su atención e investigaciones sobre *P. infestans*; y los mejoradores dedicaron sus programas a producir cultivares de papas resistentes a esta enfermedad, ya que hasta el presente, la única manera de controlarla ha sido mediante el uso de fungicidas; lo cual incrementa de forma significativa los costos de producción además de causar daños al ambiente y a la salud (Ghislain *et al.* 2001, Śliwka, 2004).

A pesar de no haberse encontrado referencias exactas sobre la primera aparición de esta enfermedad en el estado Mérida, en documentos de 1929 ya se describe como una enfermedad común en los cultivos de papas en la zona, tal como lo menciona una tesis de grado de la Universidad de Los Andes en la que al referirse a la enfermedad se menciona:

“La primera se presenta en la planta cuando se halla en los primeros días de su desarrollo, se le ven aparecer en las hojas, manchas pequeñas de color amarillento, que se transmite a los tallos y de estos a los tubérculos, los cuales toman un color rojo o moreno oscuro según la intensidad de la infección....”

...*Peronospora Botritis infestans de Verdun de Lille*²², se propaga en las hondonadas cuando la lluvia es abundante, la niebla más densa y los rayos solares llegan con dificultad; esta enfermedad era controlada mediante el uso de la mezcla de Bordeaux” (Paredes, 1929).

Mecanismos de respuesta hacia patógenos en plantas

Resistencia hacia patógenos en plantas

La resistencia hacia patógenos en plantas consiste en el reconocimiento del organismo atacante y la posterior inducción de diferentes respuestas de defensa, tales como el reforzamiento de la pared celular, muerte celular programada (reacción hipersensible) y producción de especies de oxígeno activo, así como otras sustancias antimicrobiales, (fitoalexinas, proteínas relacionadas a la patogénesis PR). La interacción con el patógeno también puede inducir una resistencia sistémica adquirida; protegiendo la planta ante futuros ataques de la misma especie u otra especie de patógeno (Hammerschmidt y Nicholson, 1999).

Respuesta hipersensible

El término respuesta hipersensible (HR) o hipersensibilidad describe la muerte rápida y localizada de una o unas pocas células en la planta hospedera como respuesta a una invasión por un aislado avirulento, la HR está caracterizada por una pérdida rápida de la integridad de membrana en las células infectadas del hospedero; seguido por la acumulación de los productos resultantes de la oxidación de compuestos fenólicos. Aunque la HR

²² Este nombre se daba en esa época al oomicete *Phytophthora infestans*.

puede ser una estrategia eficaz de defensa contra el parásito obligado que requiere de células vivas del hospedero para su nutrición; es probable que esta respuesta sea sólo una parte de la estrategia defensiva de la planta; ya que esta respuesta se expresa de forma coordinada con otras reacciones de defensa; se ha sugerido que la respuesta hipersensible es un tipo de muerte celular programada, estableciéndose una relación entre ella y la apoptosis en células animales. (Goodman y Novacky, 1994; citados por Hammerschmidt y Nicholson, en 1999). En la respuesta HR están involucrados receptores específicos codificados por genes *R*, los cuales interactúan directa o indirectamente con elicitores; moléculas codificadas por genes de avirulencia (*Avr*) del patógeno. Estos receptores inician una cascada de reacciones que activan la respuesta HR. (Kamoun *et al.* 1999).

Fitoalexinas

Las fitoalexinas son compuestos de bajo peso molecular con acción antibiótica. El concepto original de fitoalexinas las describe como compuestos que están involucrados de manera específica en la resistencia del hospedero hacia el ataque de patógenos. Las fitoalexinas representan un grupo diverso de compuestos involucrados en una variedad de diferentes rutas metabólicas secundarias. Por ejemplo, las solanáceas producen fitoalexinas sesquiterpenoides vía ruta del mevalonato, mientras que las leguminosas producen fitoalexinas derivadas de isoflavonoides o pterocarpanos; que son sintetizadas usando las rutas del shikimato y acetato-malonato. El hecho de que la estructura de las fitoalexinas difiere de una familia de plantas a otra; puede explicar el que una interacción incompatible entre un patógeno y su

hospedero resulte en la síntesis rápida *de novo* y la acumulación de fitoalexinas (Kuc, 1995; citado por Hammerschmidt y Nicholson, 1999).

Modificaciones en la pared celular

La primera barrera que encuentran los patógenos al acercarse al hospedero es la pared celular; una estructura que la mayoría de los patógenos son capaces de atravesar sin ninguna dificultad aparente. Sin embargo, las células de las plantas pueden responder rápidamente ante la infección modificando la pared celular de forma tal que ésta pasa a ser una verdadera barrera difícil de atravesar; disminuyendo la susceptibilidad de ésta ante las enzimas degradantes, posiblemente actuando como una barrera de difusión que bloquea el flujo de nutrientes hacia el patógeno, o las toxinas de éste hacia las células del hospedero. Durante los estadios tempranos de la infección; las células del hospedero que se encuentran en contacto con el patógeno, a menudo depositan lignina o algunos tipos de materiales fenólicos en la pared celular en el punto de la invasión fungal (Hammerschmidt y Nicholson, 1999).

Proteínas relacionadas a la patogénesis

Las proteínas relacionadas a la patogénesis PR; son un grupo de proteínas que son inducidas y acumuladas localmente y a menudo sistemáticamente en tejidos de plantas; como respuesta a una infección. Estas proteínas son clasificadas en varios grupos utilizando la designación PR1 hasta PR11. Entre las proteínas PR se encuentra la β -1,3-glucanasa (PR2) y las quitinasas (PR3), las cuales han demostrado propiedades antifungales *in vitro*. La transformación de plantas con PR ha facilitado una

manera de identificar el rol de éstas proteínas en la resistencia hacia enfermedades (Cutt y Klessig 1992; citados por Hammerschmidt y Nicholson, 1999).

Mecanismos de resistencia hacia *Phytophthora infestans* identificados en papas

Existen dos formas de expresión de resistencia de la planta de papa a *P. infestans*; la primera se caracteriza por desencadenar una respuesta de hipersensibilidad (HR) en forma de pequeñas lesiones necróticas y se denomina resistencia específica, resistencia vertical, resistencia cualitativa, resistencia no estable o resistencia completa.

El segundo tipo de resistencia está gobernada por genes menores de efecto aditivo y se denomina resistencia general, resistencia cuantitativa, resistencia poligénica, resistencia no específica, resistencia parcial, resistencia horizontal o de campo. Su herencia es de tipo cuantitativo y al ser gobernada por muchos genes es más estable y efectiva, teóricamente, contra todas las razas del patógeno.

Algunos autores propusieron la hipótesis de que existe algún grado de especificidad de raza para los dos tipos de resistencia, además se ha identificado la adaptación hacia una mayor agresividad del patógeno en genotipos del hospedante con resistencia general (Jansky, 2000).

Vleeshouwers y colaboradores (2000); realizaron un estudio de la respuesta HR en diferentes especies silvestres y variedades comerciales de papas y en especies no hospederas; determinando los tiempos de presentación de la respuesta y sus características celulares. En especies

totalmente resistentes y en no hospederos, la HR fue rápida y ocurrió a las 22 horas. Esto resultó en la muerte de una a tres células. En cultivares parcialmente resistentes la HR fue inducida entre 16 y 46 horas, y resultó en una lesión de cinco o más células muertas, las hifas de *P. infestans* ocasionalmente son capaces de escapar de esta lesión y establecer una relación biotrófica. Vleeshouwers y su equipo de investigación concluyeron que la efectividad de la respuesta HR en restringir el crecimiento del patógeno difiere considerablemente entre cultivares y está relacionada con el nivel de resistencia. Otra respuesta asociada con la reacción de defensa observada fue la deposición de calosa y glóbulos extracelulares conteniendo compuestos fenólicos. Estos glóbulos se depositaron cerca de las células que mostraron la respuesta HR, y se cree que juegan un papel importante en el fortalecimiento de la pared celular.

Según modelo propuesto por Huitema y colaboradores en 2004; el cual se muestra en la figura 44; *P. infestans* secreta proteínas efectoras las cuales interactúan con moléculas de la planta conocidas como blancos de virulencia, éstas moléculas forman parte de la respuesta de defensa, pero son inactivadas por las moléculas efectoras del patógeno. En plantas susceptibles, la interacción entre los efectores y los blancos de avirulencia desencadenan los eventos que facilitan la colonización, tales como la supresión de las respuestas de defensa, acrecentando la susceptibilidad y la elicitación de los síntomas de la enfermedad. En las plantas resistentes; las proteínas R reconocen el complejo efector-blanco de virulencia resultando en una respuesta hipersensible (HR).

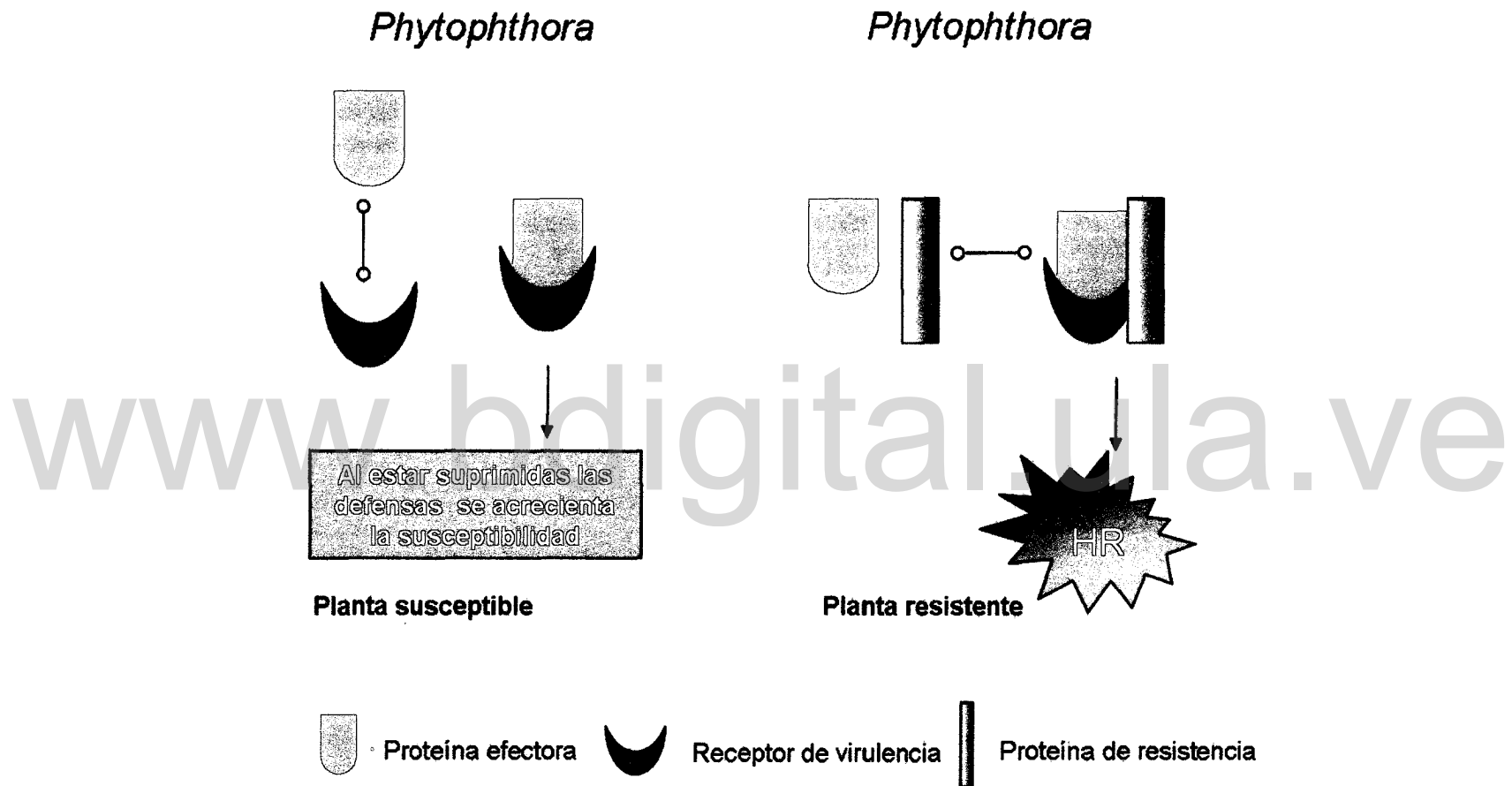


Figura 44. Modelo de la interacción molecular entre *Phytophthora infestans* y las plantas susceptibles y resistentes. (Huitema *et al.* 2004).

Resistencia Cualitativa o vertical

Llamada también resistencia específica; está gobernada por genes *R* mayores que interactúan con los genes de avirulencia (*Avr*) del patógeno. Black y colaboradores en 1953, desarrollaron una serie de cultivares de papa diferenciales a partir de cruces entre *S. tuberosum* y la especie mexicana *S. demissum* la cual posee genes de resistencia vertical a *P. infestans* (*R1* – *R11*); estos cultivares son usados universalmente para la determinación de razas fisiológicas y la determinación de los genes que confieren la resistencia, con base en la respuesta de compatibilidad de los aislamientos. Recientemente se han detectado cuatro nuevos genes *R* procedentes de *S. bulbocastanum* (*RB*, *Rpi-blb1*, *Rpi-blb2*, *Rpi-blb3*) (Song *et al.* 2003; Van der Vossen *et al.* 2003; Park *et al.* 2005), lo que sugiere que el germoplasma de *Solanum* sp. posee más genes mayores.

Esta resistencia es específica para razas del patógeno, su herencia es de tipo cualitativo y en el pasado los materiales en los cuales se han introgresado estos genes no han tenido éxito ya que el patógeno rápidamente supera la resistencia (Wastie, 1991; citado por Park *et al.* 2005), contribuyendo a seleccionar razas patogénicas del patógeno que pueden manifestarse con una aparente mayor agresividad frente a cultivos susceptibles (Henfling, 1987; citado por López *et al.* 1997), sin embargo, hasta la fecha no se han reportado razas virulentas a los genes de *S. bulbocastanum*.

La manera exacta por la cual los genes *R* y los genes *Avr* interactúan, no es conocida; sin embargo, se han propuesto diversos modelos para explicarla (Jansky, 2000).

Genes *R*

Los genes *R* no estuvieron tradicionalmente asociados con la

resistencia general, sin embargo, estudios histológicos realizados décadas atrás y recientemente, han encontrado que ocurre una rápida necrosis durante el proceso de infección en plantas con resistencia general. La necrosis rápida también ha sido asociada con la resistencia no hospedante en papa. En la resistencia general, ocurre una respuesta necrótica pero en forma tardía, lo cual, le permite al patógeno desarrollarse. Basándose en observaciones histológicas se propuso que la resistencia general es conferida por interacciones débiles entre los genes *R* y los genes *Avr*. En el pasado se han identificado genes *R* menores que permiten a un fenotipo expresar resistencia general. A nivel celular, la resistencia controlada por genes *R* menores se asemeja a la resistencia general, sin embargo, la introducción de nuevos genes *R* en plantas hospederas ha resultado en el desarrollo de razas de *P. infestans* más virulentas que superan la resistencia, debido a ello, la mayoría de los mejoradores han abandonado estrategias basadas en estos genes y están adoptando programas basados en resistencias no específicas, las cuales son de origen poligénico. Tres tipos de resistencia han sido identificados en cultivares con especies de *Solanum* silvestres en su pedigrí. La primera de ellas está controlada por genes dominantes. Ésta es la más común, se expresa en el follaje y en tubérculos, y algunas veces está controlada por genes *R*; la segunda es resistencia en follaje y tubérculos asociada a una madurez tardía y la tercera se ha observado en tubérculos enteros pero no cuando éstos han sido divididos (Jansky, 2000).

Resistencia cuantitativa u horizontal

Llamada también resistencia de campo, o general. Está probablemente controlada por un gran número de genes de pequeño efecto y de carácter aditivo; aparentemente no implica una interacción gen

con gen, por lo tanto, se supone que es una resistencia uniformemente distribuida contra todas las razas del patógeno. La distribución de la resistencia horizontal en una población segregante es continua, presentando individuos susceptibles, individuos medianamente resistentes y un grupo de individuos con alta resistencia. La resistencia horizontal se presenta de distintas maneras: puede estar mediada por la producción de exudados tóxicos en las superficies de las hojas, el confinamiento de las estructuras fúngicas a las paredes celulares, la escasa colonización del mesófilo, el colapso lento de los pecíolos y la reducción del rango reproductivo del patógeno. Es decir, se presentan barreras fisiológicas o químicas en los tejidos del hospedante que dilatan el rango, la frecuencia de penetración y la reproducción del oomicete. En las variedades con resistencia horizontal, el inicio y el desarrollo de la enfermedad son mucho más lentos que en las variedades susceptibles. (Jansky, 2000).

La relación genética entre los genes *R* y los genes responsables de la resistencia horizontal aun no está clara. Sin embargo un locus de rasgos cuantitativos ("quantitative trait locus" QTL) que contribuye a la resistencia hacia la candelilla tardía está localizado en el mismo segmento del cromosoma V de la papa que el alelo *R1*, (Ballvora 2002), demostrando así que los genes *R* pueden no ser independientes de los genes para la resistencia general (Jansky, 2000). En la figura 45 se muestran el proceso de infección de *P. infestans* en plantas resistentes y susceptibles.

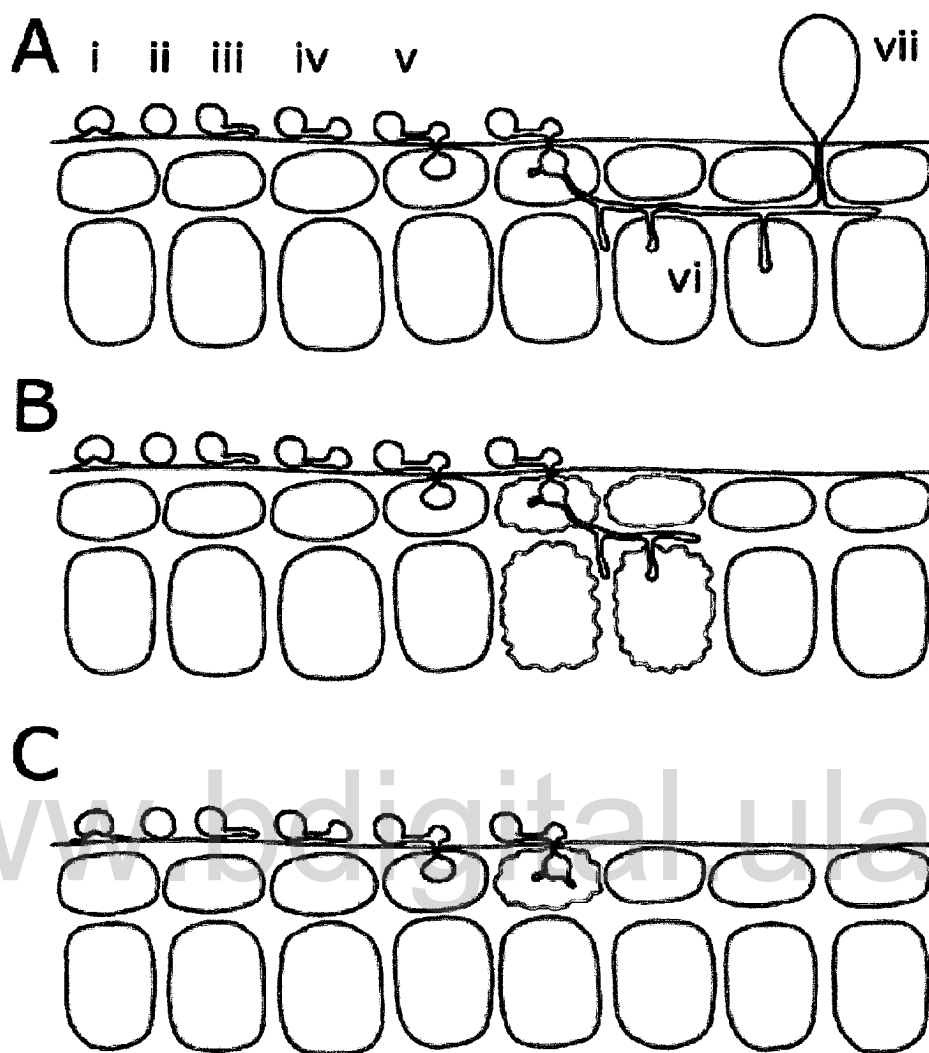


Figura 45. Modelo esquemático del ciclo de infección de *P. infestans* en plantas A; susceptibles, B y C plantas resistentes. A, (I) zoospora, (II) Quiste, (III) Quiste germinado, (IV) Quiste germinado con apresorio y vesícula de infección, (VI) haustorio, (VII) esporangio. B y C, son similares al panel A excepto que las células de la planta muestran células muertas como respuesta hipersensible, mostrado en rojo. La respuesta hipersensible puede incluir grupo de células (B) o de 1 a 2 células (C) dependiendo del genotipo de la planta y del patógeno. Tomado de (Kamoun y Smart, 2005).

Materiales y métodos

Aislados de *Phytophthora infestans* utilizados en el ensayo

A partir de una colección de 500 aislados de *P. infestans* colectados en diferentes áreas de Los Andes Venezolanos y mantenidas en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP ULA); se seleccionaron 12 aislados tomando como referencia su ubicación geográfica, (G. Fermín, datos no publicados 2007). Los aislados seleccionados se listan en la tabla 11 indicando en un mapa su procedencia geográfica, fig. 46.

Preparación de aislados de *Phytophthora infestans*

Se prepararon cultivos frescos de cada uno de los aislados seleccionados, tomando tres porciones del medio con crecimiento activo de micelio y colocando éste en cajas de petri con medio avena 4%.

Medio avena 4%

Ingredientes

Avena 4%

Agar 1,5%

Agua hasta completar 1l

Preparación: mezclar la avena con $\frac{1}{2}$ l de agua en una fiola, calentar a baño de María a fuego suave, agitando la fiola regularmente por 30 min. Filtrar la mezcla en un filtro de poro pequeño, enrasar, agregar el agar y esterilizar.

Las cajas con los aislados se colocaron en la cámara de crecimiento a 18°C, durante diez días, en la figura 47 se muestra una caja

Tabla 11.
Aislados de *P. infestans* seleccionados para el ensayo de infección.

#	Código	Sitio de colecta
1	PS1.3-05	El Trompillo, San José Pueblos del Sur Edo. Mérida.
2	PLL1.2-04	Pueblo Llano, Sector Caña Grande 3.085 msnm Edo. Mérida
3	VT1.4-05	Valle de Tuñame. La entrada Edo. Trujillo.
4	TCH2.1-05	Las Porqueras. Edo Táchira. 2435 msnm.
5	VM1.5-05	Valle del Mocotíes, sector La M Edo. Mérida. 2590 msnm
6	PLL9.4-05	Pueblo Llano. Sector Guzmán, Edo. Mérida.
7	SD1.8-04	Santo Domingo, Finca el Baho, Edo. Mérida.
8	VC10.5-05	Cacute, Valle del Chama, Edo. Mérida.
9	PLL4.4-04	Pueblo Llano, Sector Los Corrales, Edo. Mérida. 2355 msnm.
10	SR1.8-04	Mérida, Santa Rosa, Edo. Mérida.
11	EV2.5-04	El Valle, Sector Los pinos, Edo. Mérida.
12	TCH12.1-05	El Cobre, Río arriba, El llanito, Edo. Táchira. 2056 msnm

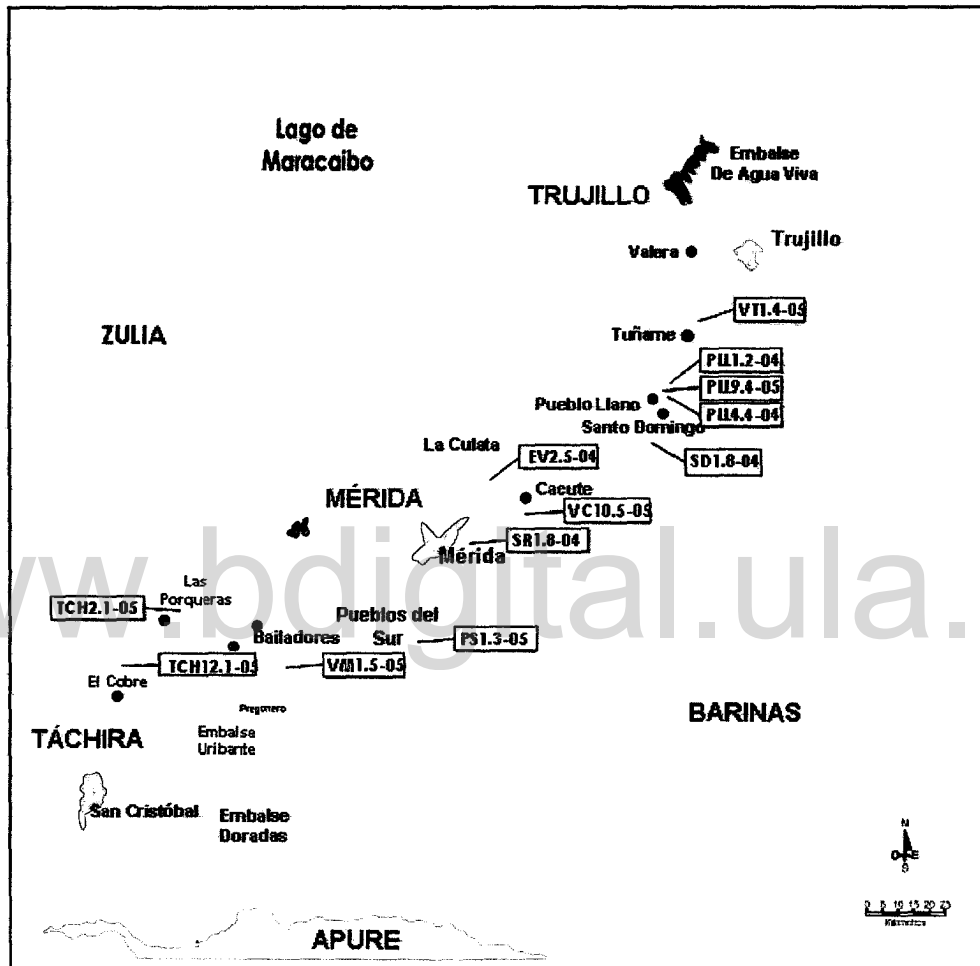


Figura 46. Mapa de los estados Mérida, Táchira y Trujillo indicando los lugares de procedencia de los aislados de *P. infestans* utilizados en el ensayo.



Figura 47. Micelio de *P. infestans* crecido en medio avena. Fotografía tomada por K.Boscán (2009).

de petri conteniendo micelio de *P. infestans* de diez días de crecimiento; el cual se utilizó para preparar la suspensiones de zoosporangios

Preparación del inóculo

Luego de verificar al microscopio la presencia de zoosporangios en las cajas con micelio; con un pincel estéril se raspó suavemente la superficie de la caja y en un tubo de microcentrífuga con 500ml de agua destilada estéril se sacudió el pincel para liberar los zoosporangios, en caso de que hubiese micelio en la suspensión, éste se retiró suavemente con el mismo pincel. Cada una de estas suspensiones se mantuvo a temperatura ambiente hasta el momento de la inoculación.

Posteriormente se llevó la concentración de todos los aislados a 100 zoosporangios por μl . En caso de valores menores a los requeridos; se concentro la solución centrifugándola a 2 rpm por 10 min. Posteriormente se realizó el cálculo de concentración de zoosporangios; mediante observaciones al microscopio; colocando 10 μl en una cámara de newvawer, y se realizaron dos conteos por aislados (fig. 48).

Selección y preparación del material vegetal

Se seleccionaron hojas sanas de diferentes variedades de papas nativas y comerciales (ver tabla 12). Entre las variedades comerciales se seleccionaron aquellas con diferentes niveles de comportamiento ante *P. infestans*, por ello se escogió el cultivar Granola, la cual se describe como tolerante hacia la enfermedad (Hils y Pieterse, 2005) y el cultivar Andinita que se describe como tolerante además se incluyeron tres de los diferenciales R. En el ensayo también se incluyo la especie *Physalis peruviana* como control. De todos los materiales empleados se utilizaron hojas sanas de plantas de invernadero cuidando de tomar todas las hojas

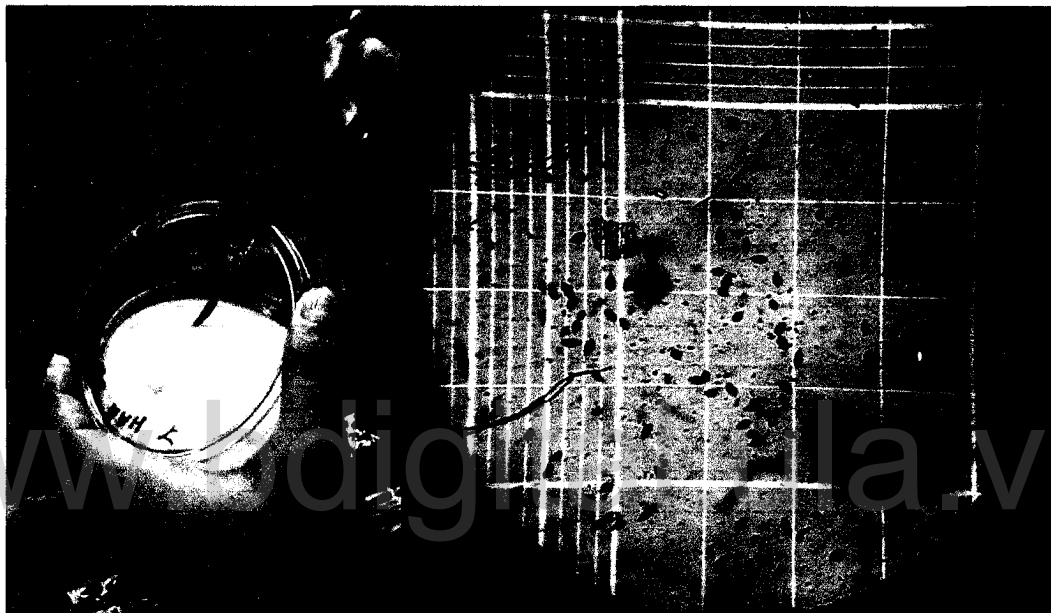


Figura 48. Fotografía mostrando parte del procedimiento para la preparación de la suspensión de zoosporangios. A. Toma de micelio de *P. infestans* a partir de la caja de cultivo. B. Fotografía de la suspensión de zoosporangios vista al microscopio, aumento 25X Fotografía tomada por K. Boscán. 2007.

de una misma planta; en algunos casos se utilizaron solo folíolos individuales, y en los casos de las plantas más jóvenes se tomaron hojas completas. Las hojas se colocaron en bolsas estériles las cuales se llenaron de aire, sellaron y colocaron en una cava con hielo para mantenerlas en el mejor estado de conservación posible, debido a la distancia entre el lugar de recolecta y el laboratorio. Las hojas se lavaron bajo el chorro de agua por 3 minutos, luego se les realizó una esterilización consistente en tres lavados: lavados: 1) agua destilada estéril, 2) solución de hipoclorito al 0,5% por 1min, 3) agua destilada estéril. Luego cada hoja se secó cuidadosamente en papel secante estéril antes de colocarlas en las cajas. El control usado fueron hojas inoculadas con agua destilada estéril, usando la misma cantidad que en los aislados en estudio.

Preparación de las cámaras de inoculación

Se utilizaron cajas plásticas, con cierre hermético, las cuales se lavaron con etanol 70% y se dejaron secar a temperatura ambiente. En cada caja se colocaron cinco servilletas de papel secante previamente esterilizado y secado, el cual se humedeció con 100 ml de agua destilada estéril por caja. Las hojas lavadas se colocaron con el envés hacia arriba; en cada una de las cajas se colocaron 8 hojas o folíolos, alineadas en dos filas de cuatro unidades cada una.

Protocolo de inoculación

En cada hoja se utilizaron dos aislados diferentes, uno a cada lado de la nervadura principal, la inoculación se llevo a cabo por medio de gotas de 10 μ l del aislado seleccionado lo cual es equivalente a 1000 Zoosporangios. Las cajas se colocaron en una cámara de cultivo calibrada

Tabla 12.

Origen del material vegetal utilizado en el ensayo de resistencia hacia *P. infestans*.

Material vegetal (cultivar)	Origen
Arbolona negra	Plantas obtenida a partir de semilla botánica, donadas por Bernabé Torres (Gavidia Edo. Mérida), desarrolladas en el laboratorio de cultivos <i>in vitro</i> de la Facultad de Ciencias de la ULA , mantenida en invernadero (ProInPa)
Andinita	Plantas obtenidas a partir de semilla botánica mantenidas en condiciones de invernadero, donadas por ProInPa (Mucuchíes).
Granola	
Arbolona negra Petacona	Plantas obtenidas a partir de tubérculo donados por Bernabé Torres (Gavidia Edo. Mérida), mantenida en cámara de cultivo del laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias ULA.
R1, R4, R9, R1R2R4	Plantas propagadas en el laboratorio de cultivos <i>In Vitro</i> del INIA Mérida, posteriormente mantenidas en condiciones de invernadero en el laboratorio de biotecnología Molecular de plantas del Jardín Botánico ULA.
Uchuva, <i>Physalis</i> <i>sp</i>	Planta traída de campo (Raíz de agua, Edo Mérida), mantenida en condiciones de invernadero en el laboratorio de Biotecnología Molecular de Plantas del Jardín Botánico ULA.

a una temperatura fija de 18°C, los períodos de luz y oscuridad se mantuvieron a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (fig. 51).

Recolección y procesamiento de datos

La primera observación se realizó 18 horas luego de la inoculación, posteriormente se realizaron cada 24 horas, en éstas observaciones se fotografiaron las cajas y cada una de las hojas en ellas. Las fotografías se realizaron con una cámara digital HP Photosmart R717.

Resultados

Sistema de inoculación en condiciones controladas

El sistema diseñado mostró ser eficiente para reproducir las condiciones de infección de *P. infestans*, aunque no se pudo mantener por más de cinco días, ya que las hojas pierden su capacidad de mantener turgor, se comienza a observar clorosis y son rápidamente invadidas por hongos y bacterias

Respuesta de los diferentes cultivares hacia la inoculación con Phytophthora infestans

Las fotografías tomadas a cada una de las hojas inoculadas se ordenaron en cuadros según cada cultivar para poder apreciar la evolución de los síntomas.

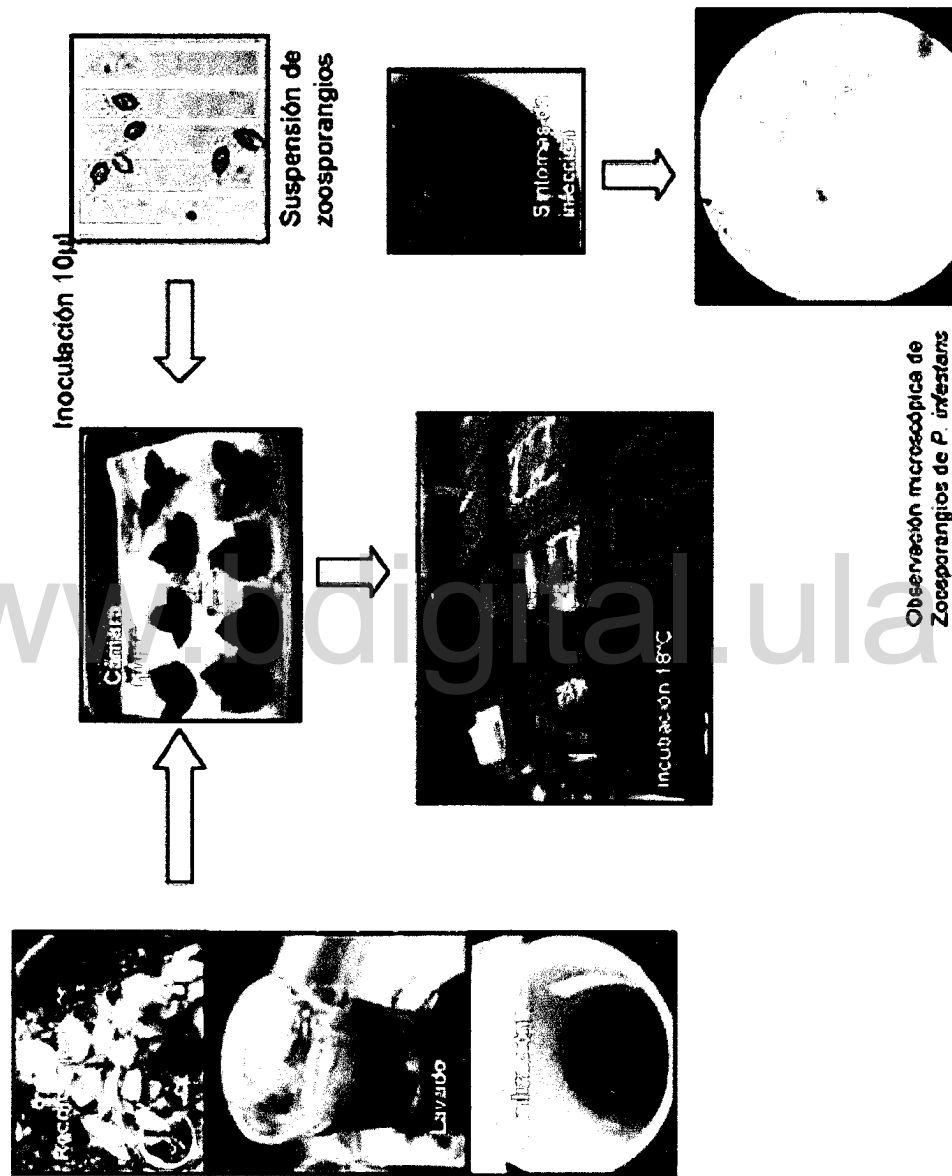


Figura 49. Esquema general del procedimiento de inoculación

Respuesta del cultivar "Andinita". En el cultivar "Andinita" se observó una aparente reacción de hipersensibilidad como respuesta a algunos aislados de *P. infestans* (TCH 2,1-05, PLL9.4-05, SD1.3-04, VT10.5-05, VT1.4-05). En estos casos se apreciaron lesiones muy pequeñas 18 horas luego de la inoculación, las cuales; consistentes en pequeños puntos marrones no avanzaron de forma significativa al pasar los días, a diferencia de las lesiones producidas por otros aislados, las cuales, a pesar de que en algunos casos no se observaron en etapas tempranas como las anteriores, avanzaron rápidamente convirtiéndose en lesiones necróticas. También es importante recalcar las diferencias observadas respecto a la agresividad de algunos aislados como fue el caso de SR1.8-04, el cual mostró ser el más agresivo en este cultivar.

A pesar de que el cultivar Andinita se describe por parte de los agricultores como tolerante, en algunos casos mostró una respuesta aparentemente resistente hacia alguno de los aislados utilizados en la inoculación (fig. 52).

Respuesta del cultivar "Petacona". En este cultivar se observaron pequeñas lesiones entre las 18 y 36 horas, las cuales posteriormente avanzaron convirtiéndose en manchas necróticas, pero de un tono menos intenso que en el cultivar Andinita. Estas lesiones tempranas se observaron en las hojas inoculadas con los aislados: (PS1.3-05, PLL9.4-05, VM1.5-05, PLL4.4-04, SR1.8-04, EV2.5-04, TCH12.1-05), todas las lesiones ocasionadas por estos aislados se extendieron pero su color no fue marrón oscuro como en el cultivar Andinita, con la excepción de la zona inoculada con el aislado PLL9.4-05, la cual no se extendió al avanzar el tiempo de la inoculación, ver fig. 53. Es importante acotar que el material de este cultivar utilizado en el ensayo, fue obtenido a partir de plántulas

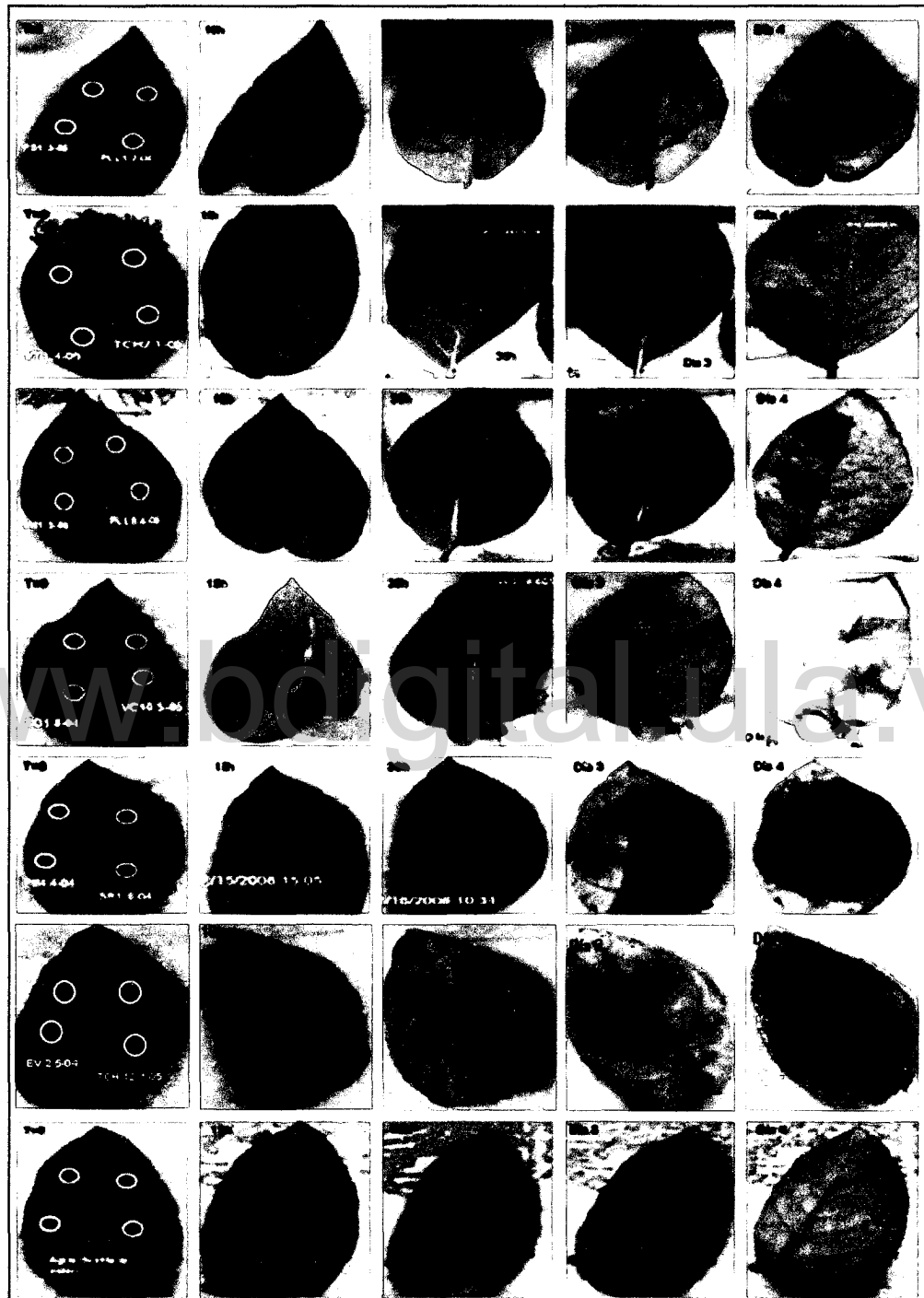


Figura 50. Folíolos del cultivar “Andinita” a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

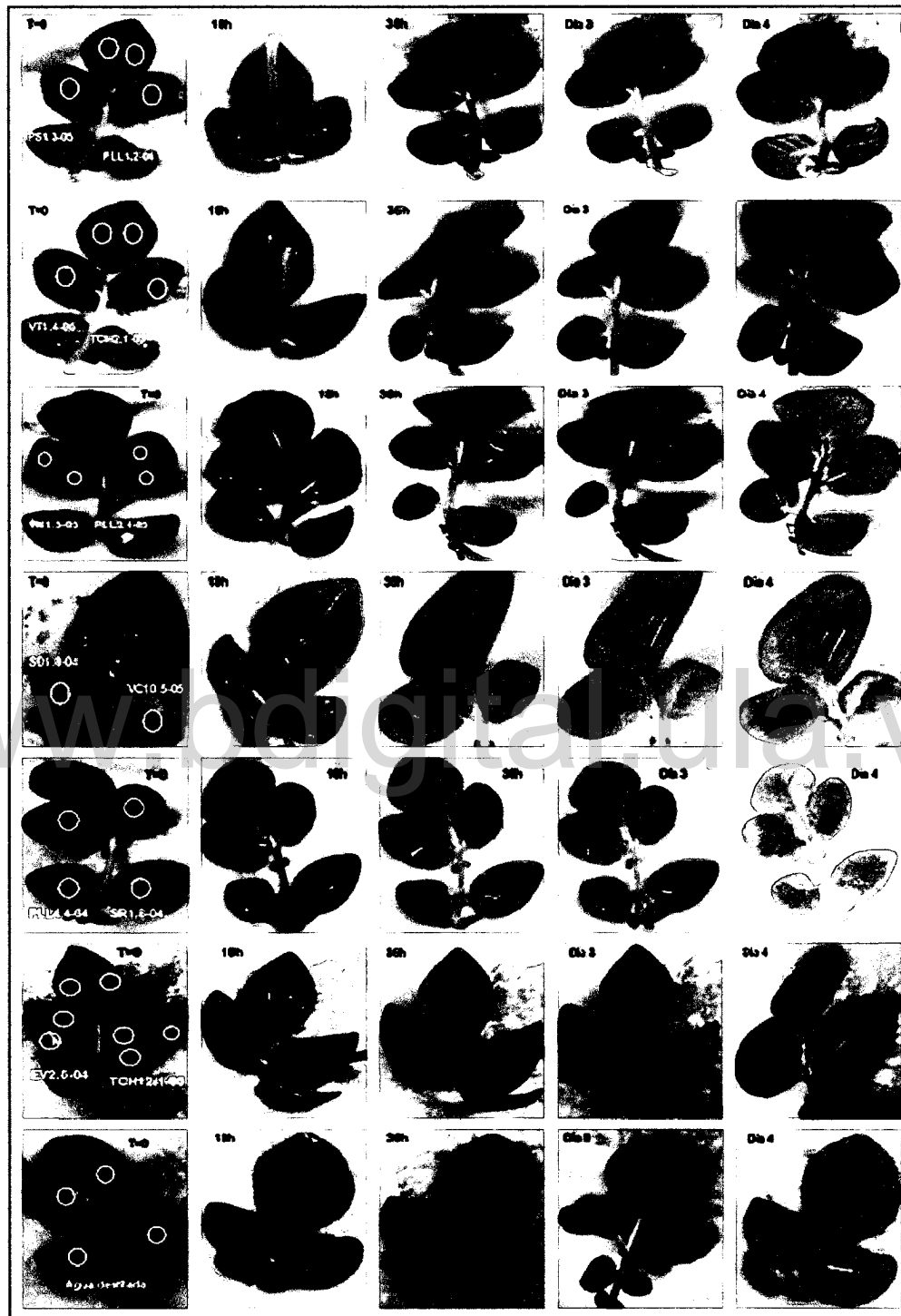


Figura 51. Foliolos del cultivar “Petacona” a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

propagadas *in vitro*, las cuales tenían poco desarrollo, esto puede ser una explicación a la diferencia en el tipo de lesiones observadas, ya que en éstas hojas pudo haber una deficiencia en la formación de la cutícula y también algunas diferencias fisiológicas relacionadas a las condiciones del ambiente donde se desarrollaron las plantas.

Respuesta de la especie *Physalis sp.* Las hojas de esta especie no mostraron ninguna respuesta ante ninguno de los aislados utilizados en el ensayo tal como se observa en la fig. 52.

Respuesta del cultivar “*Arbolona negra*”. Se observaron unos pequeños puntos marrones 18 horas luego de la inoculación con los aislados: PS1.3-05, EV2.5-04, VM1.5-05, PLL4.4-04, VT1.4-05, TCH12.1-05, SR1.8-04, las lesiones avanzaron al pasar el tiempo pero manteniendo una localización bien definida, con excepción de los aislados PS1.3-05 y PLL1.2-04, los cuales no mostraron una lesión localizada sino dispersa; posiblemente debido a las características de la superficie foliar; la cual posee abundantes tricomas, esto pudo influir en la retención de la humedad y por lo tanto en la dispersión de la gota de inóculo. Las hojas inoculadas con los aislados TCH2.1-05 y VC10.5-05 no mostraron lesiones durante los primeros tres días, pero al cuarto día se observaron manchas necróticas más pequeñas con respecto al resto de las hojas, ver fig. 53. Es importante destacar que en el cuarto día la hoja control comenzó a mostrar señales de clorosis, por lo tanto, no es recomendable tomarse en cuenta las lesiones observadas para este momento debido a las condiciones fisiológicas del material.

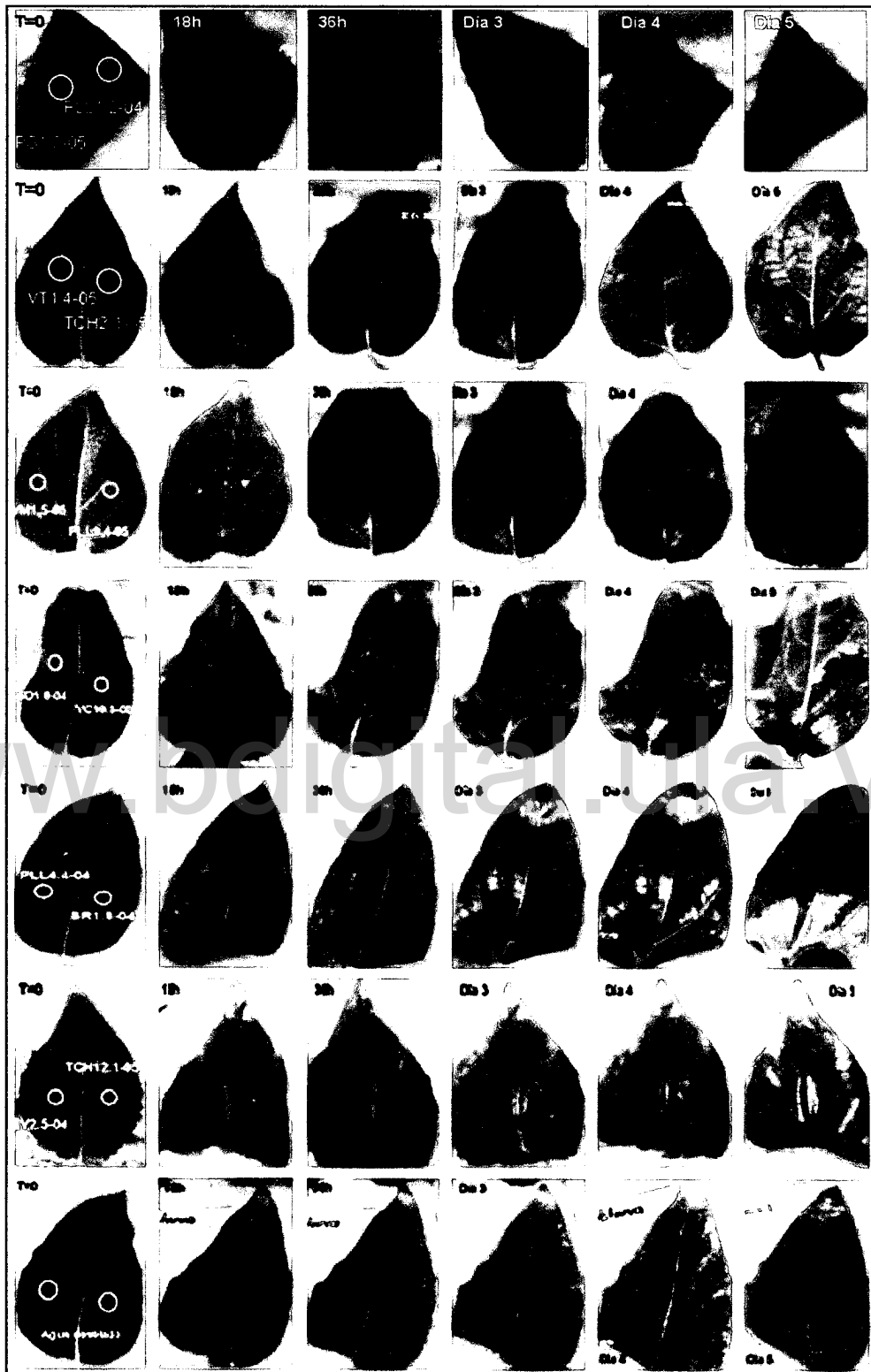


Figura 54. Hojas de *Physalis sp.* a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

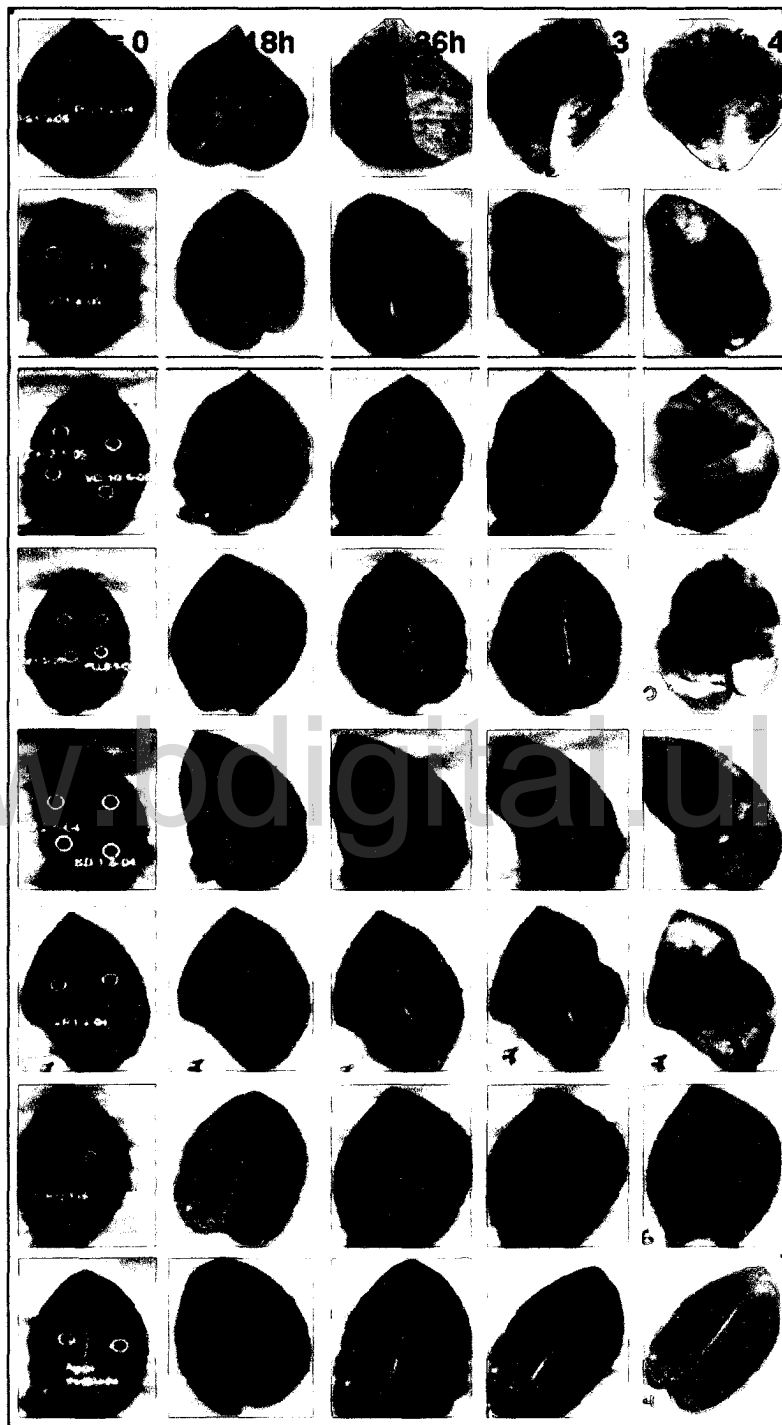


Figura 53. Foliolos del cultivar "Arbolona negra" a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

Respuesta del cultivar Granola. En los folíolos de este cultivar se observaron lesiones en todos los aislados, pero en el aislado TCH12.1-05 TCH2.1-05 y SD1.5-04, las lesiones fueron muy leves a las 72 horas. En el folíolo inoculado con el aislado TCH12.1-05 las lesiones se mantuvieron de muy baja intensidad inclusive al cuarto día, fig. 54. En este germoplasma, el cual se considera tolerante a la enfermedad se observaron pequeñas lesiones a las 18 horas en las hojas inoculadas con los aislados: PS1.3-05, PLL1.2-04, EV2.5-04, SD1.5-04, TCH2.1-05, VC10.5-05, VT1.4-05, SR1.8-04, el resto de los aislados mostraron las primeras lesiones a las 36 horas; con excepción del aislado TCH112.1-05, el cual no mostró lesiones sino hasta los cuatro días luego de la inoculación. Es importante mencionar que en el cultivar “Granola” no se apreció una diferencia significativa en el tamaño de las lesiones con respecto a las variedades “Andinita”, y “Arbolona negra”, a pesar de ser está descrita como altamente susceptible y el cultivar Andinita como moderadamente resistente (CIP 2003), sin embargo en el cultivar “Arbolona negra” se observó ausencia de lesiones significativas en los folíolos inoculados con algunos aislados a los tres días de la inoculación, al igual que en el cultivar “Andinita”.

Respuesta de los diferenciales R4, R9 y R1R2R4, (*S. tuberosum* X *S. demissum*)

Los diferenciales R se incluyeron en este ensayo como un control de presencia de genes de resistencia hacia *P. infestans*, ya que como se explicó en la sección anterior, estos cultivares poseen genes de resistencia hacia *P. infestans* gracias a su origen a partir de cruces entre *S. tuberosum* (una variedad comercial) y *S. demissum* la cual es una especie

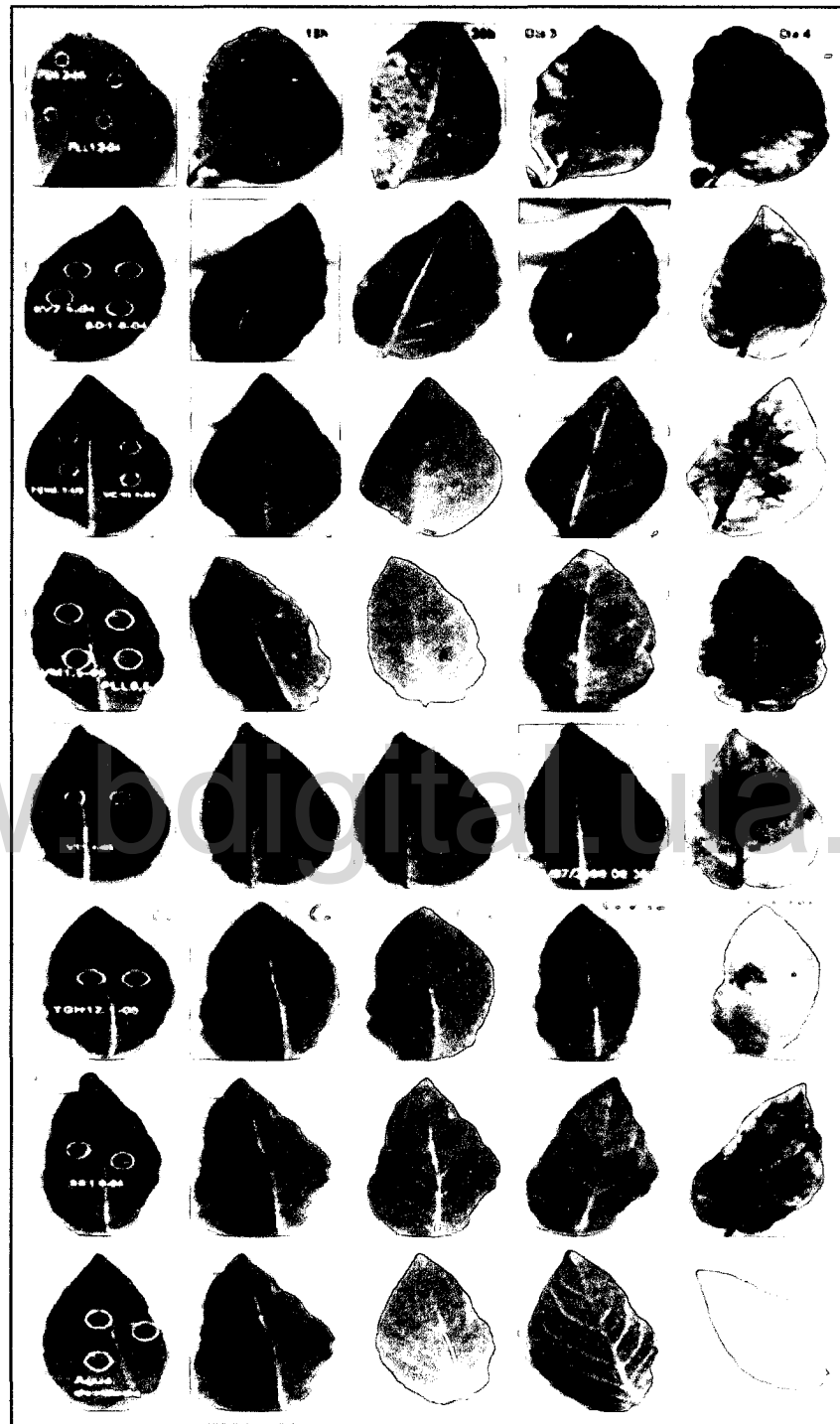


Figura 54. Foliolos del cultivar "Granola" a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

Silvestre resistente a este patógeno. La respuesta de cada uno de estos materiales hacia un aislado de *P. infestans* indica la presencia del gen *R* que corresponde al gen *Avr* en el patógeno, lo cual permite la determinación de las razas fisiológicas de los diferentes aislados utilizados en el ensayo.

Diferencial R4. Este cultivar mostró respuesta ante todos los aislados con excepción de: PS1.3-04, PLL9.4-05, TCH12.1-05. Las lesiones manifestadas no avanzaron de manera significativa al transcurrir el tiempo y mostraron características diferentes a las observadas en el resto de los materiales, esto podría explicarse al observar la consistencia de los folíolos de este cultivar, cuya lámina foliar se aprecia más delgada que el resto de los materiales diferenciales, fig. 55.

Diferencial R1R2R4. En este cultivar, el cual posee tres genes de resistencia R1R2R4, se observaron lesiones en los folíolos inoculados con todos los aislados menos: VT1.4-05, TCH12.1-05, PLL9.4-05 y VC10.5. Las lesiones observadas en este cultivar son semejantes a las observadas en el cultivar R4 pero de un tono marrón más oscuro, fig. 56.

Diferencial R9. Las lesiones observadas en los folíolos de este material muestran características diferentes a las observadas en el cultivar R4, puede ser debido a diferencias en la superficie de la lamina foliar, en este caso las lesiones si tomaron un color marrón oscuro semejante a las observadas en las variedades de papas "Andinita" y "Arbolona negra". Los aislados que indujeron una respuesta visible fueron: PS1.3-06, PLL1.2-04, TCH2.1-05, VM1.5-05, SD1.8-04, PLL4.4-04, SR1.8-04 y EV2.5-04, los

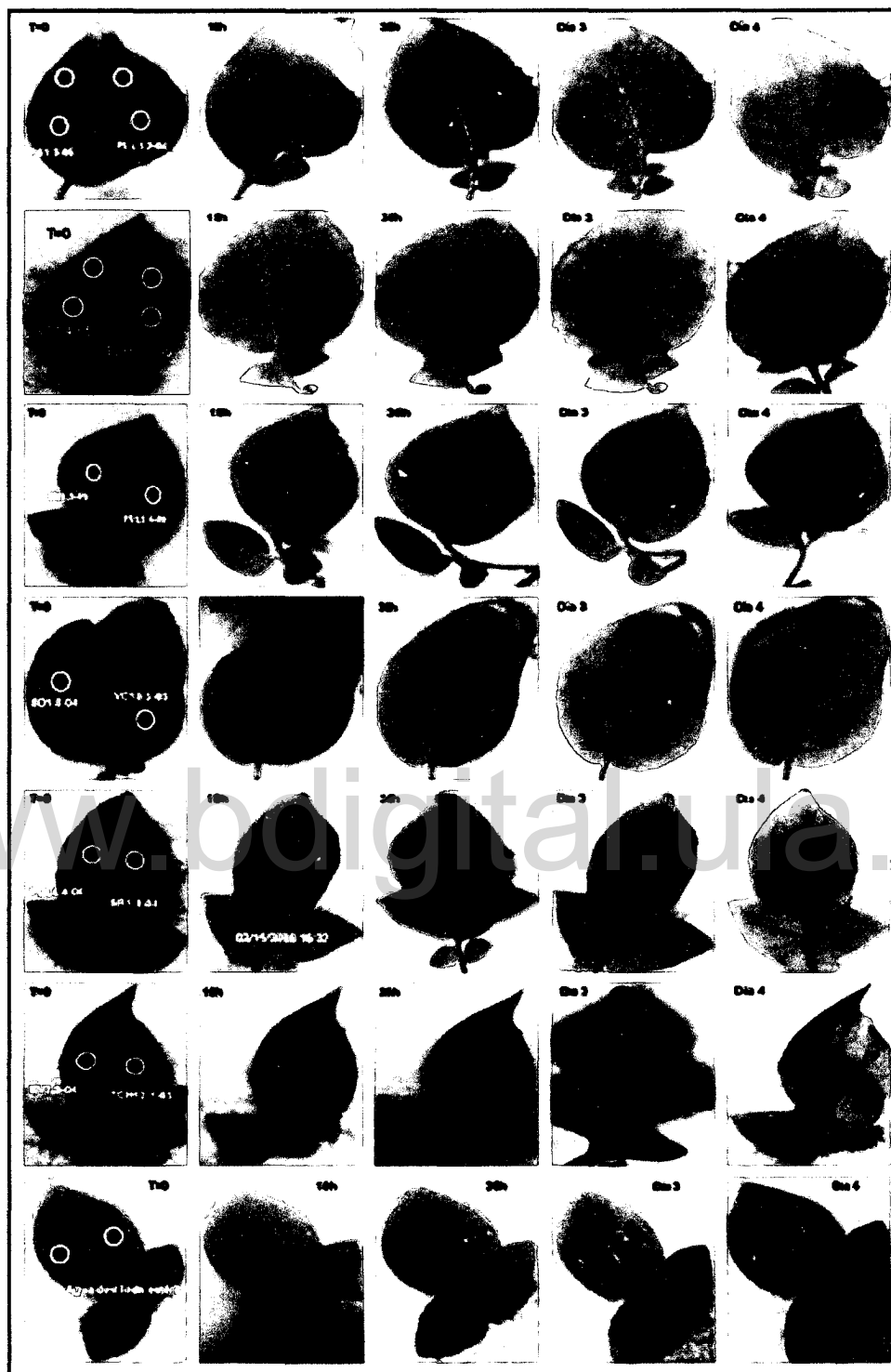


Figura 55. Foliolos del cultivar R4 (*S. tuberosum* X *S. demissum*) a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

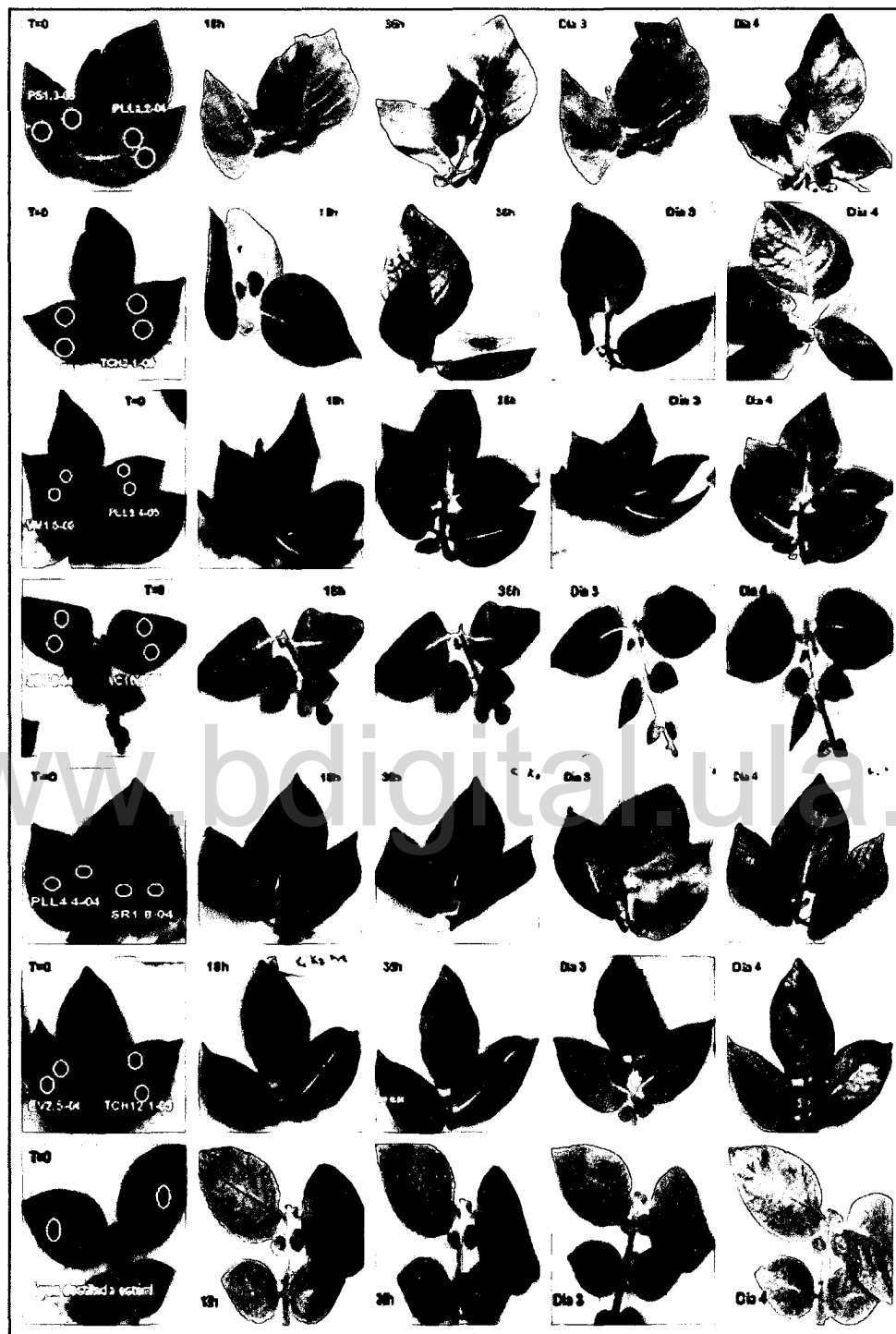


Figura 56. Folíolos del cultivar R1R2R4 (*S. tuberosum* X *S. demissum*) a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

folíolos inoculados con los aislados TCH12.1-05, VC10.5-05, PLL9.4-05 y VT1.4-05 no mostraron una respuesta definida, y en algunos casos se observó una lesión muy puntual en una zona de la lámina foliar, diferente al lugar de inoculación, por ello se descartó esta lesión pudiendo ser producto de otra causa diferente al proceso de inoculación con *P. infestans* (fig. 57).

Razas fisiológicas de los aislados de *P. infestans* utilizados en el ensayo

En la tabla 13 se resumen las razas fisiológicas determinadas para los distintos aislados en estudio. Estos resultados permiten evidenciar comportamiento particular en cuatro de los aislados empleados en el ensayo: VT1.4-05, TCH2.1-05, PS1.3-05 y VC10.5, los cuales indujeron respuestas diferentes al resto. Es interesante tomar en cuenta que el aislado VT1.4-05 fue colectado en el Valle de Tuñame en el estado Trujillo, siendo el único de la zona seleccionado para el ensayo, el aislado TCH2.1-05 fue colectado en Las Porqueras Edo. Táchira, en ensayos anteriores, los aislados obtenidos en esta región han mostrado características genéticas diferentes al resto de la colección (Fermín G. Comunicación personal). Los resultados de la respuesta HR en los diferentes cultivares respecto a los diferentes aislados se resumen en la tabla 14.

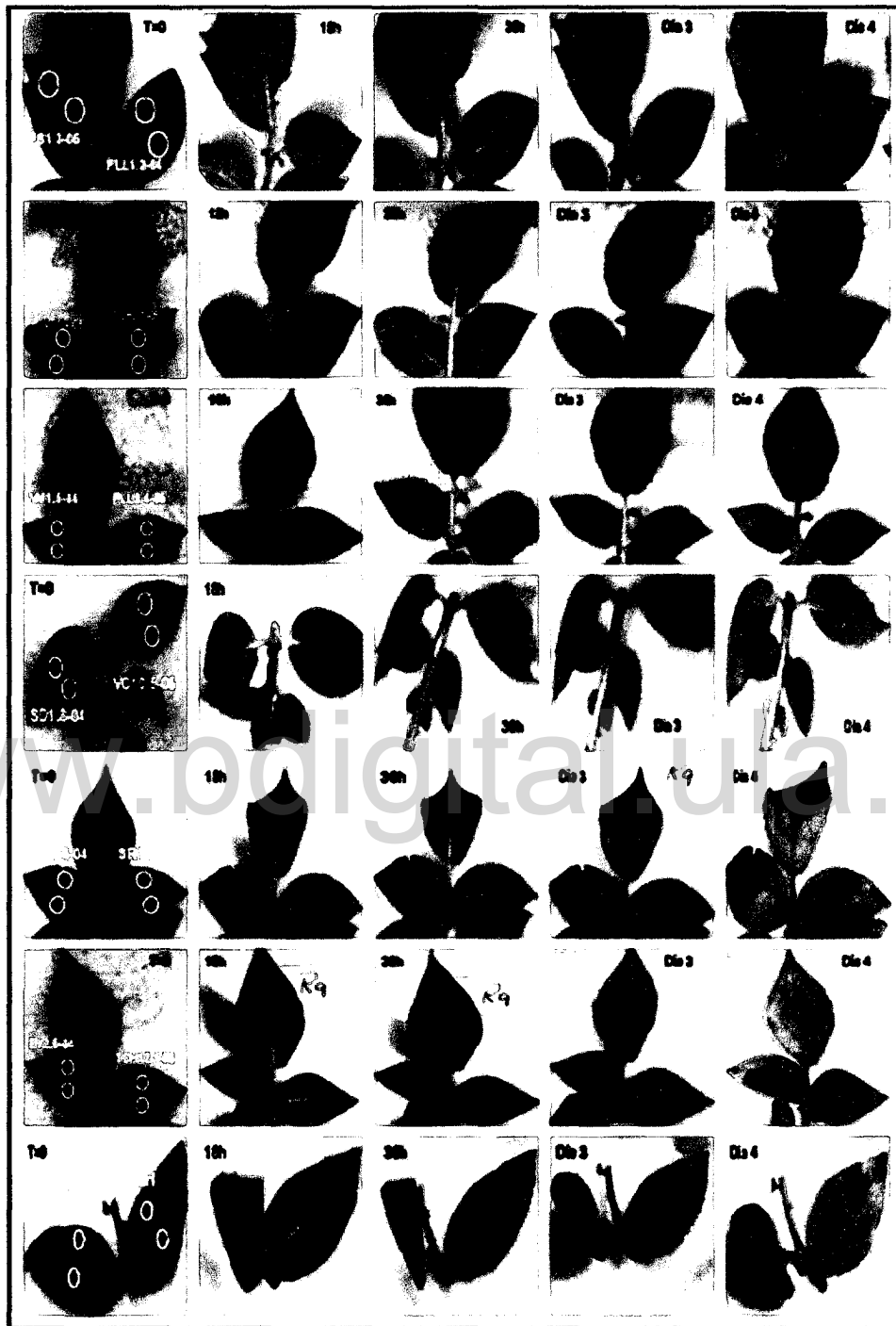


Figura 57. Foliolos del cultivar R9 (*S. tuberosum* X *S. demissum*) a diferentes tiempos de la inoculación con aislados de *P. infestans*.

Tabla 13.
Identificación de razas de *Phytophthora infestans* mediante el uso de los diferenciales R

Aislado	R4	R9	R1R2R4	Total
PS1.3-05	-	+	+	R1-R2-R9
PLL1.2-04	+	+	+	R1-R2-R4-R9
VT1.4-05	+	-	-	R4
TCH2.1-05	+	+	-	R4-R9
VM1.5-05	+	+	+	R1-R2-R4-R9
PLL9.4-05	-	-	-	-----
SD1.8-04	+	+	+	R1-R2-R4-R9
VC10.5-05	+	-	-	R4
PLL4.4-04	+	+	+	R1-R2-R4-R9
SR1.8-04	+	+	+	R1-R2-R4-R9
EV2.5-04	+	+	+	R1-R2-R4-R9
TCH12.1-05	-	-	-	-----

Tabla 14.
Resultados de respuesta HR 36 horas luego de la inoculación

Cultivar	Aislado												Total respuesta por cultivar
	PS1.3.04	PLL1.2.04	VT1.4.05	TCH2.1.05	VM1.5.05	PLL9.4.05	SD1.8.04	VC10.5.05	PLL4.4.04	SR1.8.04	EV2.1.04	TCH12.1.05	
Andinita	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	7
Granola	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10
Arbolona negra	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	9
Uchuva	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Petacona	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	6
Diferencial R4	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	7
Diferencial R9	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	6
Diferencial R1R2R4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	3
Total respuesta + por aislado	3	3	4	3	5	2	5	1	6	7	6	3	

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente ensayo, permitieron evidenciar diferencias en las respuestas hacia el ataque de *P. infestans* en los diferentes cultivares y especies utilizadas. Durante las 36 primeras horas luego de la inoculación se observaron síntomas de reacción hipersensible; principalmente en el cultivar “Arbolona negra”, “Petacona” y “Andinita”, en ellos se aprecia claramente en los lugares de inoculación con la mayoría de los aislados; pequeños puntos marrones lo cual se asemeja a la descripción mencionada por Vleeshouwers y colaboradores (2000) sobre las características de la respuesta HR en papas hacia el ataque de *P. infestans*. Al igual que el cultivar “Arbolona negra”, el cultivar “Petacona” mostró cierta resistencia al crecimiento micelial, pero en los folíolos no se observó una respuesta HR, posiblemente debido al origen *in vitro* de las hojas o a la edad de las mismas. En el cultivar “Andinita”, a pesar de evidenciarse lesiones necróticas aparentemente HR, se observó una clorosis del tejido antes que en el cultivar “Arbolona negra”; esto puede ser evidencia de la penetración del micelio dentro del tejido foliar. En la especie *Physalis* (Uchuva) no se observó ningún tipo de lesión durante la duración del ensayo, a pesar de que se ha reportado esta especie como hospedera de *P. infestans* (Vargas *et al.* 2007), puede haber alguna barrera celular que retarda la colonización en los primeros días, que quizá es superada por el patógeno luego de un tiempo mayor, lo cual puede estar relacionado a la consistencia y textura de las hojas de uchuva, ya que son totalmente diferentes a las de papas y mostraron una mayor resistencia a la clorosis durante los días que duró el ensayo. En el cultivar

utilizado como control susceptible "Granola", las lesiones avanzaron rápidamente y fue el primero en mostrar crecimiento micelial.

Si se compara la respuesta observada en el cultivar "Arbolona negra" y el cultivar "Petacona"; con la observada en el cultivar "Granola", se puede inferir que el cultivar "Arbolona negra" al igual que el cultivar "Petacona"; pueden tener un comportamiento resistente hacia *P. infestans*, regulado por genes *R*, unido a la resistencia que ofrece el indumento y la textura de las hojas, ya que éstas presenta una cutícula mas gruesa y un indumento formado por tricomas mas abundantes y largos que el resto de los materiales utilizados en el ensayo, este tipo de constitución celular es de por si una estrategia de defensa. (Agrios, 2006)

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten emitir conclusiones sobre la respuesta temprana de los diferentes materiales ante el ataque del patógeno, pero para poder definir la resistencia de un material hacia esta enfermedad es necesario realizar la evaluación de las plantas en condiciones de invernadero y en campo como quedó demostrado en los ensayos realizados por Lozoya-Saldaña *et al.* (2006), además es importante no desconocer la variabilidad que se observó en los diferentes aislados de *P. infestans* en lo que respecta a la diferencia en el grado de agresividad al momento de emitir una conclusión. En algunos aislados como el SR1.8-04, SD1.8-04, PLL4.4-04, EV2.5-04; se observó una respuesta en los materiales de papas nativas y cultivadas, al contrario de la falta de lesiones tempranas en los materiales de Uchuva y los diferenciales R. El resto de los aislados desencadenó una respuesta sólo en algunos de estos cultivares, y a diferentes tiempos lo que se puede resumir como una falta de homogeneidad en la respuesta de los materiales de papas hacia el ataque de *P. infestans*.

Los resultados obtenidos en algunos de los cultivares tales como “Arbolona negra” y “Petacona”, respaldan las opiniones de los pobladores de Los Andes en entrevistas realizadas por Romero y Monasterio en (2002) respecto a una posible resistencia hacia enfermedades, permitiendo no sólo caracterizar el material vegetal, debido a que dentro de los resultados obtenidos también se contemplaron aspectos relacionados con el agente causal de la enfermedad, ya que no se puede ignorar que la misma es producto de la interacción de ambas partes. Luego de analizar las marcadas diferencias observadas en los distintos niveles de agresividad de cada uno de los aislados y en lo referente a las razas fisiológicas, los resultados llevan a interrogantes sobre la variabilidad del patógeno si se toma en cuenta los resultados de otras investigaciones donde se plantea una reproducción exclusivamente de tipo asexual de las razas de *P. infestans* presentes en Venezuela. (San Román 2006).

Conclusiones

Las variedades de papas nativas “Arbolona negra” y “Petacona”, muestran una respuesta consistente con la descripción de respuesta HR ante el ataque de *P. infestans* en condiciones controladas, durante las primeras 48 horas luego de la inoculación. Esto sugiere que pueden ser resistentes a la enfermedad, lo cual solo se corrobora con inoculaciones en plantas vivas.

Debido a que se conoce que la respuesta hipersensible está directamente relacionada con la presencia de genes *R*, puede suponerse que

en algunos casos este tipo de respuesta no es suficiente para impedir el crecimiento del micelio del patógeno.

Los diferentes aislados de *P. infestans* estudiados muestran variabilidad tanto a nivel de razas como de agresividad, por lo cual no se puede hablar de una población homogénea del patógeno en Venezuela. Es importante tomar en cuenta esta variabilidad al momento de evaluar la resistencia de variedades de papas ante la enfermedad. Ya que no es suficiente con utilizar un aislado para la evaluación, ya que sus niveles de agresividad son diferentes en cada uno de ellos.

www.bdigital.ula.ve

DISCUSIÓN GENERAL

Durante las últimas décadas se ha manifestado en el mundo un interés particular en analizar los distintos eventos que se han registrado a lo largo de lo que denominamos la Historia desde una nueva perspectiva debido a la existencia de nuevas herramientas que permiten verificar resultados e interpretaciones que anteriormente sólo podían aceptarse como tales ya que, en muchos casos, no había manera de demostrar su veracidad. Uno de los hechos que fue sometido a este tipo de tratamiento por muchos años fue la historia de los pobladores de América antes de la llegada de Colón, donde en muchos casos sólo quedaron fragmentos de los relatos de los cronistas— que aún en la actualidad despiertan dudas sobre su veracidad. Charles Mann, entre los muchos investigadores del área, en su libro “1491 Una nueva historia de las Américas antes de Colón” (Mann, 2006), realiza un análisis objetivo sobre las culturas que poblaron América para esa época, cambiando en muchos casos la perspectiva histórica aceptada hasta el momento.

La investigación llevada a cabo en el presente trabajo es un ejemplo de cómo mediante el empleo de tecnología de punta, como la biología molecular y las diferentes herramientas usadas por la fitopatología moderna, es posible resolver dudas cuyas respuestas hasta el momento sólo se han basado en los conocimientos ancestrales, no formales, de ciertas culturas que fueron duramente golpeadas por el proceso de colonización al cual estuvieron sometidas (Romero y Monasterio 2005, Ortega *et al.* 2005). Dentro de estas culturas, y en el marco del presente trabajo, se encuentra la de los habitantes de Los Andes merideños, la cual, al igual que muchas de las existentes en América para el momento de la conquista, fue desplazada por los