

Análisis de diversidad genética de *Physalis peruviana* L. procedente de tres regiones de Perú utilizando marcadores microsatélites

Marlon Garcia Paitan¹ <https://orcid.org/0000-0003-3028-3454>
Alberto López Sotomayor¹ <https://orcid.org/0000-0001-6070-5836>
Santiago Alvarez Vega¹ <https://orcid.org/0000-0001-9579-3258>
Paul Guarnizo Bejarano¹ <https://orcid.org/0000-0002-8663-608X>
Ingrid Tirado Julca¹, <https://orcid.org/0000-0002-2394-7040>
Maricielo Postillos Flores¹ <https://orcid.org/0000-0002-1884-2922>
Ismael Araujo Aliaga¹ <https://orcid.org/0000-0002-8661-9351>
María Siles Vallejos¹ <https://orcid.org/0000-0005-4956-8310>

¹Grupo de Investigación en Recursos Genéticos (RECGEN), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av Germán Amezaga 375, Ciudad Universitaria. Lima. Perú.

* Autor para correspondencia e-mail: alopez@unmsm.edu.pe

RESUMEN

Physalis peruviana L. es una planta nativa de la región Andina, que pertenece a la familia Solanaceae. La demanda internacional de *P. peruviana* ha aumentado en los últimos años debido a sus valores medicinales y nutricionales. Sin embargo, los estudios sobre la diversidad genética de este fitorecurso en Perú son escasos. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar la diversidad genética mediante cinco marcadores microsatélites (SSR) (SSR11, SSR138, SSR15, SSR123 y SSR146) en tres poblaciones cultivadas procedentes de Ayacucho (2 761 msnm), Cajamarca (2 750 msnm) y La Libertad (3 099 msnm). Se encontró un valor medio de $F_{st} = 0.307$, además el AMOVA indicó que el mayor porcentaje de variación se encontraba dentro de los individuos (74.5%) y solo un 25.5% entre las poblaciones. Por otro lado, se encontró un valor medio de $H_e = 0.722$ y los valores PIC encontrados para cada marcador fueron 0.567 para SSR146, 0.603 para SSR138, 0.656 para SSR11, 0.707 para SSR15 y 0.845 para SSR123. Los valores F_{st} mostraron una alta diferencia genética y el análisis de varianza molecular mostró un bajo porcentaje de variación entre las poblaciones, lo cual evidenció una misma unidad genética, no estructurada.

Palabras clave: aguaymanto, estructura genética, polimorfismo

Analysis of the genetic diversity of *Physalis peruviana* L. from three regions of Peru, using microsatellite markers

ABSTRACT

Physalis peruviana L. is a native plant from the Andean region and belongs to the Solanaceae family. The international demand of *P. peruviana* has increased in recent years due to its medical and nutritional values. However, there are not enough studies on its genetic diversity in Perú. In this scenario, the objective of this work is to determine the genetic diversity of three cultivated populations from Ayacucho (2 761 masl), Cajamarca (2 750 masl), and La Libertad (3 099 masl) using five microsatellite (SSR) markers (SSR11, SSR138, SSR15, SSR123 and SSR146). A mean value of $F_{st} = 0.307$ was found, in addition the AMOVA indicated that the highest percentage of variation was found within individuals (74.5%) and only 25.5% among populations. On the other hand, a mean value of $H_e = 0.722$ was found and the PIC values for each marker were 0.567 for SSR146, 0.603 for SSR138, 0.656

for SSR11, 0.707 for SSR15 and 0.845 for SSR123. The F_{st} values showed a great genetic difference and the AMOVA test showed a low percentage of variation among populations, which shows the same unstructured genetic unit.

Keywords: aguaymanto, genetic structure, polymorphism

INTRODUCCIÓN

El aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) es una especie nativa de la región Andina, principalmente de los valles andinos de Perú, Colombia y Ecuador (Antunez-Ocampo *et al.*, 2016). Pertenecer a la familia de las Solanáceas, se caracteriza por poseer un fruto con alto valor nutricional, que contiene vitamina C y las del complejo B, minerales, polifenoles y ácidos grasos (Corrales-Bernal *et al.*, 2015). A esta especie se le atribuyen propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes y es también conocida por su potencial rol en el control de enfermedades como la diabetes, hipertensión (Ramadan, 2011; Hassan *et al.*, 2017) e hipercolesterolemia (Reyes-Beltrán *et al.*, 2015).

En los últimos años se ha presentado un aumento en su demanda lo que ha generado que se promueva el desarrollo comercial del cultivo, debido justamente a las características nutricionales y propiedades medicinales que posee el fruto. Por ello, es considerado como una alternativa de producción para la economía de muchos países (Fischer *et al.*, 2014). Su producción se ha convertido en una alternativa económica viable para los sistemas familiares campesinos (Moreno-Miranda *et al.*, 2018) y debido a sus cualidades nutraceuticas así como por ser un producto de exportación, es de gran interés para la agroindustria (Falcón *et al.*, 2019).

A nivel mundial, Colombia es el primer productor de aguaymanto y ha logrado posicionarse en el mercado europeo como el primer proveedor de esta fruta en estado fresco, con un valor de las exportaciones que ascendió a US\$ 27.8 millones en el 2017 (Agroforum, 2018). Esto a su vez va de la mano con que en ese país el sector empresarial ha avanzado en investigación y en mecanismos financieros para el desarrollo de recursos con potencialidad en el biocomercio (Jiménez *et al.*, 2017). En Perú, no obstante ser considerado como un lugar

de origen, el cultivo en forma comercial es reciente y no masificado. A pesar de esto, las exportaciones de este recurso han estado en constante aumento. El portal de la Agencia Agraria de Noticias (2020) refiere que en el año 2019 el volumen de exportación de aguaymanto subió en un 11.175% con respecto al año anterior. Las principales zonas de producción de aguaymanto son los departamentos de Cajamarca, Cuzco, Huancayo, La Libertad, Ayacucho y Ancash (PDRS/GIZ, 2011).

En Perú se presentan varios ecotipos o selecciones (Schreiber, 2012), lo que evidenciaría que hay una gran diversidad y potencial de explotación del recurso. Para que sea sostenible es necesario mejorar sustancialmente la calidad del producto, mediante la obtención de un estándar de aguaymanto que presente características de interés, y explotar los ecotipos que están presentes en el país. Entre los primeros pasos para lograr un estándar de aguaymanto se encuentra la realización de estudios de diversidad genética que permitirán evaluar y caracterizar estos ecotipos y así dar sustento genético a este estándar.

Los marcadores microsatélites (del inglés: *Simple Sequence Repeats* o SSR) son considerados como una de las herramientas más eficientes y de amplio uso en plantas (Carneiro *et al.*, 2016). Se trata de secuencias cortas (1-6 pb) repetidas en tándem en donde el número de repeticiones revela diferencias genéticas entre individuos (Martínez, 2018). Presentan ventajas como requerir poca cantidad de ADN, herencia codominante, altamente informativos, de naturaleza multialélica, pero sobre todo, ser altamente reproducibles a nivel experimental y transferibles dentro de especies relacionadas (Souza, 2015). Por lo anterior, siguen siendo utilizados como una herramienta muy útil para evaluar diversidad genética (Roa *et al.*, 2014; Sharafi *et al.*, 2017; Guerra *et al.*, 2018; León-Brito *et al.*, 2018). Gracias al uso de estos marcadores moleculares es posible analizar una

gran información genética de las poblaciones en estudio, mediante el cálculo y análisis de ciertos parámetros como las frecuencias alélicas, niveles de heterocigosidad así como los índices de diferenciación genética F_{st} , F_{is} , F_{it} y el análisis de varianza molecular (AMOVA) (Chacón *et al.*, 2016).

Dentro de los cultivos andinos estudiados con microsatélites se encuentran *Solanum*, *Rubus* y *Passiflora* (Ortiz *et al.*, 2012; Bushakra *et al.*, 2015; Juyó *et al.*, 2015). En el caso de *Physalis* sp., es una solanácea que se ha constituido en un grupo económicamente importante por lo que es necesario realizar estudios de diversidad genética utilizando marcadores moleculares (González-Chavira *et al.*, 2019).

Simbaqueba *et al.* (2011) fueron los primeros en informar un conjunto de 30 marcadores microsatélites polimórficos para *P. peruviana* y especies relacionadas. Más adelante, Garzón-Martínez *et al.* (2015) estudiaron la diversidad genética y la estructura poblacional de 47 accesiones de *P. peruviana* procedentes de la colección *in vitro* de la Corporación Colombiana de Investigación Agrícola (CORPOICA), y analizaron 642 marcadores SNP y 24 *loci* *InDels* (inserción o eliminación) y concluyeron que la diversidad genética estaba relacionada con el estado de cultivo (silvestre o cultivado) y no con el origen geográfico. Sin embargo, Chacón *et al.* (2016) estudiaron un conjunto de 85 accesiones de *P. peruviana* entre cultivadas y no cultivadas de tres regiones geográficas diferentes de los andes colombianos, usando 15 *loci* SSR, y llegaron a la conclusión que las regiones geográficas jugaron un papel importante en la estructuración de la diversidad genética en comparación con el estado biológico de la muestra (cultivado o silvestre). Por otro lado, Berdugo *et al.* (2015) analizaron la variabilidad molecular de *P. peruviana* provenientes de cinco accesiones de CORPOICA, utilizando marcadores COSII e IRGs y no encontraron polimorfismo a nivel intraespecífico. Igualmente, Morillo-Coronado *et al.* (2018) utilizaron marcadores RAM (del inglés: *Random Amplified Microsatellite*) para determinar la variabilidad genética de ejemplares procedentes de Boyacá (Colombia), y concluyeron que la variabilidad encontrada estaba influenciada por el sitio geográfico y era a nivel intraespecífico. Así mismo,

Delgado-Bastidas *et al.* (2019) analizaron la variación genética de muestras colombianas procedentes de la colección de la Universidad de Nariño y del Centro de Investigación Tibaitata AGROSAVIA, utilizando seis marcadores SSR y evidenciaron una baja diversidad genética sin estructura poblacional.

Estos resultados algo diferentes, implican que aún se deben realizar más estudios de diversidad genética en la especie. En Perú, los estudios de aguaymanto se han centrado mayormente en evaluar la capacidad antioxidante (Jurado *et al.*, 2016; Chau *et al.*, 2019) o medicinal (Campos *et al.*, 2011; Chasquibol y Yacono, 2015; Churampi *et al.*, 2017). En cuanto a variabilidad genética, Bonilla *et al.* (2019) refirieron análisis de diversidad genética pero a partir de proteínas de reserva seminal. No se cuenta con informes publicados de análisis de diversidad genética utilizando marcadores moleculares para poblaciones de aguaymanto ubicadas en el territorio peruano, lo que constituye un vacío de información que debe ser cubierto para que pueda servir en posteriores programas de mejoramiento genético, y así potenciar una mayor ventaja competitiva en el mercado internacional.

Debido a ello, el objetivo del presente estudio fue determinar la diversidad genética de *Physalis peruviana* L. usando marcadores microsatélites (SSR) en poblaciones cultivadas de aguaymanto procedentes de tres regiones del Perú: Ayacucho, Cajamarca y La Libertad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y recolección de la muestra

La recolección de los individuos de *P. peruviana* de poblaciones cultivadas se realizó al azar y se llevó a cabo en tres provincias diferentes del Perú. Las provincias de recolección fueron: Huamanga en el departamento de Ayacucho, San Pablo en el departamento de Cajamarca y Santiago de Chuco en el departamento de La Libertad (Figura 1). Se escogieron al azar 10 individuos de cada provincia y de cada individuo se escogieron al azar 10 hojas frescas de 2 cm de longitud. Cada conjunto de 10 hojas por individuo se trabajó por separado. Primero, las hojas fueron lavadas con alcohol 70% (v/v) y agua destilada. Posteriormente, se

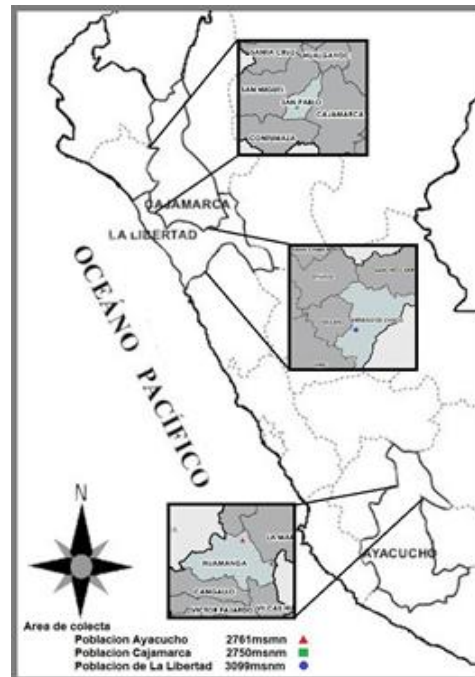


Figura 1. Mapa que muestra los sitios de recolección de las tres poblaciones de *Physalis peruviana* de tres zonas diferentes del Perú: San Pablo (Cajamarca), Santiago de Chuco (La Libertad), Huamanga (Ayacucho).

cortaron en tiras y se colocaron en empaques herméticos rotulados, que contenían sílica gel con la finalidad de desecar las hojas, y trasladarlos al laboratorio de Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó según Doyle y Doyle (1990) con algunas modificaciones: 0.6 g de hojas desecadas fueron pulverizadas dentro de un tubo de 1.5 ml, se añadieron 700 μ l de solución amortiguadora de extracción (CTAB 2%, NaCl 1,4 M, 2-mercaptoetanol 0.2%, EDTA 20 mM, Tris-HCl 100 mM, pH 8.0) y se incubaron a 65 °C por 45 minutos. Se homogeneizó por inversión cada 15 minutos, después se adicionaron 700 μ l de solución cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) y se centrifugó a 14 000 g por 5 minutos. El sobrenadante se transfirió a otro tubo de 1.5 ml y se añadieron 50 μ l de CTAB al 10%, se agregaron 700 μ l de solución amortiguadora de extracción y se incubó a 65 °C por 45 minutos. Posteriormente, se añadieron 700 μ l de solución cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) y se centrifugó a 14 000 g por 5

minutos. El sobrenadante se transfirió a otro tubo de 1.5 ml. Se adicionaron 500 μ l de isopropanol frío y se mezcló por inversión suavemente hasta observarse la fibra de ADN. Se dejó reposar a -20 °C durante 30 minutos, luego se centrifugó a 14 000 g durante 20 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se dejó secar con el tubo invertido durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego el pellet se lavó con etanol al 70% durante 3 minutos, se centrifugó a 14 000 g por 30 minutos y se eliminó el sobrenadante. El tubo se dejó secando en posición invertida durante 12 horas, después se resuspendió en 100 μ l de agua grado molecular y se agregaron 2 μ l de RNasa (100 mg l⁻¹). Se incubó a 37 °C durante una hora. Finalmente, se cuantificó la cantidad de ADN (NanoDroop Lite, Thermo Scientific) y se almacenó a -20 °C hasta su posterior uso.

Condiciones de PCR y electroforesis en poliacrilamida

Se usaron cinco marcadores microsátelites (Tabla 1) con las secuencias de cebadores obtenidos por el estudio de Simbaqueba *et al.* (2011). Estas secuencias de pares de cebadores pertenecen al grupo que obtuvo

mayor porcentaje de éxito (84%) en la amplificación de los productos de PCR, y además está relacionado al hecho que estos *loci* son específicos para *P. peruviana* (Simbaqueba *et al.*, 2011). Las reacciones de PCR se realizaron de acuerdo con las siguientes condiciones: solución amortiguadora de PCR 1X, MgCl₂ 2.0 mM, dNTPs 0.2 μM, 0.2 μM de cada cebador, 1 U de Taq polimerasa y 100 ng de ADN genómico, en un volumen de reacción de 20 μl. El programa de PCR fue el siguiente: 95 °C durante 9 minutos, seguido de 30 ciclos de 95 °C durante 30 segundos, 53 °C durante 30 segundos y de 72 °C durante 60 segundos, seguido por una extensión final de 72 °C durante 4 minutos. Los productos de PCR fueron sometidos a una electroforesis vertical en geles de poliacrilamida (PAGE) al 12%. Los geles se tiñeron con GelRed, fueron visualizados en un transiluminador y fotografiados con una cámara Nikon D7500. Posteriormente, se determinó el tamaño aproximado de los alelos mediante una curva de regresión obtenida por el marcador de peso molecular de ADN, al medir la distancia de migración de las bandas con la ayuda del programa ImageJ.

Análisis de la diversidad genética y estructura genética

Para el análisis de la diversidad genética se utilizó el programa GenAIEX v. 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Se calcularon los índices de variación en los *loci* de microsatélites en las tres poblaciones, el número de alelos por *locus* (Na), número de alelos efectivos (Ne), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He) y los índices de diferenciación genética Fst (Coeficiente

de diferenciación genética entre poblaciones), Fis (Coeficiente de endogamia dentro de poblaciones), Fit (Coeficiente de endogamia total). Así mismo, con el programa GenAIEX v. 6.5 se determinó la estructura genética mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992). Para el AMOVA se consideró el número de alelos diferentes como una medida de la variación genética y el programa implementó 1 000 permutaciones para evaluar la significancia estadística.

Por otro lado, se usó el programa iMEC (Amiryousefi *et al.*, 2018) para calcular el contenido de información polimórfica (PIC) para cada marcador SSR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cinco *loci* microsatélites analizados dieron un total de 32 alelos, donde el marcador SSR138 presentó seis alelos, SSR11 siete, SSR146 tres, SSR15 siete y SSR123 nueve alelos. El número de alelos (Na), número de alelos efectivos (Ne), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He) y el contenido de información polimórfica (PIC) por *locus* se presentan en la tabla 2. Se observó que el número de alelos fue mayor en el marcador SSR123 y el que presentó menor valor fue el marcador SSR 146. La heterocigosidad observada osciló entre 0.00 (SSR146), 0.643 (SSR15) y 1.00 (SSR138, SSR11, SSR123), mientras que la heterocigosidad esperada varió desde 0.643 hasta 0.861, siendo el de menor valor el SSR146 y el de mayor SRR123. También se determinó un valor promedio de He= 0.722. El valor PIC fue de 0.567 para SSR146 y

Tabla 1. Lista de *loci* SSR utilizados para determinar la diversidad genética de tres poblaciones de *Physalis peruviana* L. de tres zonas diferentes del Perú, los cuales fueron obtenidos del estudio de Simbaqueba *et al.* (2011).

	Cebador sentido	Cebador antisentido	Alelos (pb)		TR	Ubicación
			Te	Rango To		
SSR11	CAGCTGAAATAAGAGAGTGATTGG	CCCTCTTTTCTCCTCCGAGT	180	180 - 210	AG	3' UTR
SSR146	AGGCTAATGAGGACGAAGCA	GGTTGCATTACAAAGCACTGA	187	160 - 210	AAAAG	3' UTR
SSR15	GCTTGTGTGATCAGCTTTCTTTG	TGGATCATAACCTTGCTAATGC	172	160 - 180	AT	3' UTR
SSR123	TCAGTGGAGCGGTATATCT	GCGATCTCACCAAACCTCTC	216	190 - 210	ATC	5' UTR
SSR138	TCCGATCACTACTTCAGCACG	CAATTCGGGTTGTGAATCGGGT	138	130 - 160	AAT	3' UTR

Leyenda: *loci* polimórfico (LP), tamaño esperado (Te), Rango de tamaño observado (Rango To), Tipo de repetición (TR)

entre 0.603-0.845 para los otros marcadores (SSR138, SSR15, SSR11, SSR123). Los valores PIC brindan un estimado del poder discriminante de un *locus*, teniendo en cuenta tanto el número de alelos expresados como la frecuencia relativa que en ellos aparecen (Oladasu *et al.*, 2015). Según Arias *et al.* (2018) estos valores pueden oscilar entre 0 (para marcadores monomórficos) y 1 (para marcadores altamente discriminantes). De los resultados, cuatro de los cinco marcadores (SSR138, SSR15, SSR11, SSR123) son considerados altamente polimórficos (PIC >0.6) y el marcador SSR146 mostró un polimorfismo considerado como moderado (0.567) (Hildebrand *et al.*, 1992; Chacón *et al.*, 2016).

Los índices de diversidad genética promedio de los SSR se diferenciaron por población (Tabla 3). La población de Ayacucho presentó el mayor número de alelos promedio, pero el menor valor de heterocigosidad esperada promedio. Por su parte, la población de La Libertad presentó el menor número de alelos promedio, pero el mayor valor de heterocigosidad esperada promedio. Este resultado está acorde con la fórmula del cálculo matemático de H_e (Liu, 1998). En cuanto al promedio de número de

alelos por *locus*, el valor encontrado ($N_a=3.8$) fue mayor que el referido por Delgado-Bastidas *et al.* (2019) quienes señalaron un promedio de 1.22 en material genético de *P. peruviana* utilizando seis marcadores SSR. Sin embargo, se aproxima a otros estudios, como el de Chacón *et al.* (2016) quienes refieren un valor promedio de N_a de 3.05 para accesiones colombianas de *P. peruviana* utilizando marcadores microsatélites (SSR).

Por otra parte, los rangos en pares de bases (pb) estimados experimentalmente para cada marcador en este trabajo fueron SSR11 de 160-174, SSR146 de 197-237, SSR15 de 169-227, SSR123 de 208-235 y SSR138 de 131-161 (Figura 2). Sin embargo, difirieron con los rangos esperados propuestos por Simbaqueba *et al.* (2011) (Tabla 1), a excepción del SSR138 que presentó el valor más cercano.

Al igual que en el presente estudio, autores como Chacón *et al.* (2016) analizaron la diversidad genética del aguaymanto en accesiones colombianas, con los cebadores para marcadores SSR diseñados por Simbaqueba *et al.* (2011), y obtuvieron bajos niveles de diversidad genética ($H_e=0.223$).

Tabla 2. Valores de diversidad genética (por *locus*) de la población en estudio de *Physalis peruviana* L. de tres zonas de Perú.

Marcador	N_a	N_e	H_o	H_e	PIC
SSR123	9	7.193	1.000	0.861	0.845
SSR15	7	3.834	0.643	0.739	0.707
SSR11	7	3.379	1.000	0.704	0.656
SSR138	6	2.970	1.000	0.663	0.603
SSR146	3	2.800	0.000	0.643	0.567
Promedio	6.4	4.035	0.729	0.722	0.676

Leyenda: Número de alelos (N_a), número de alelos efectivos (N_e), heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), contenido de información polimórfica (PIC)

Tabla 3. Valores de diversidad genética de tres poblaciones de *Physalis peruviana* L. basados en el promedio de las estadísticas de marcadores microsatélites (SSR) en cada población.

Marcador	N	N_a	N_e	H_o	H_e
Ayacucho	10	4	3.189	0.640	0.496
Cajamarca	10	3.8	3.154	0.800	0.559
La Libertad	8	3.6	2.780	0.750	0.580
Promedio	9.3	3.8	3.040	0.730	0.545

Leyenda: Número de Individuos (N), Número de alelos (N_a), número de alelos efectivos (N_e), heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e)



Figura 2. Patrón electroforético combinado de dos individuos de *Physalis peruviana* L. de la población de Cajamarca usando cinco marcadores SSR. Electroforesis vertical en geles de poliacrilamida (PAGE) al 12%, tinción con GelRed. A la derecha marcador de peso molecular.

Existen otros estudios donde se muestran valores diferentes de H_e . Por ejemplo, Garzón-Martínez *et al.* (2015) utilizaron marcadores *InDel* en 47 accesiones colombianas de aguaymanto y mostraron valores de $H_e = 0.3$. Igualmente, Bonilla *et al.* (2008) señalaron un valor de $H_e = 0.255$ usando marcadores RAMs en 43 accesiones silvestres y Osorio-Guarín *et al.* (2016) obtuvieron un $H_e = 0.647$ al utilizar 5000 marcadores SNP en 100 accesiones colombianas, entre cultivadas y silvestres. Más recientemente, Delgado-Bastidas *et al.* (2019) utilizaron seis marcadores SSR, y señalaron un H_e promedio de 0.09. Estas diferencias en los valores de estimación de diversidad genética pueden depender de muchos factores como el tamaño de la muestra, las accesiones de origen y los marcadores moleculares que se utilizan (Chacón *et al.*, 2016). Sin embargo, el alto valor de $PIC > 0.6$ que presentaron los marcadores usados en este estudio, a excepción del SSR 146, sugiere que estos son muy informativos en el análisis de la diversidad genética de estas poblaciones de aguaymanto y además, tal como indicaron tanto Chacón *et al.* (2016) y Tomas *et al.* (2017), aquellos con altos valores de PIC serían mucho más útiles para propósitos de identificación y selección de germoplasma.

Autores como Chen *et al.* (2017) han sugerido que los valores de PIC para los marcadores de SNP bialélicos varían de 0 a 0.5 mientras que para los SSR multialélicos, el valor de PIC

puede ser tan alto como 0.5 – 1.0. Con respecto a esto, el valor de $PIC = 0.567$ del marcador SSR 146, el cual es el menor de todos, se encontraría dentro del rango. Además, de acuerdo con Botstein *et al.* (1980) para valores de $PIC > 0.5$ el marcador presentaría un alto valor informativo. Sin embargo, se han sugerido valores $PIC > 0.6$ para poder tener mayor resolución a la hora de identificar el germoplasma de distintas variedades (Chacón *et al.*, 2016).

Por otro lado, el análisis de AMOVA mostró que la mayoría de la variación genética (74.5%) se encontraba dentro de los individuos, con un F_{IT} de 0.104 significativo, y solo el 25.5% de variación se encontraba entre las tres poblaciones analizadas, esto supone un coeficiente de F_{ST} de 0.307, que fue significativo y alto (Tabla 4).

Estos resultados indicarían que no hay estructuración genética en estas poblaciones lo cual puede deberse a que las tres poblaciones pudieron derivarse de una sola variedad que se ha sometido a un proceso de domesticación temprana, como los programas de selección artificial, que le lleva a perder su diversidad genética (Rauf *et al.*, 2010). También estaría en correspondencia con lo que menciona Aguilar (2018), quien propone que la fruta de aguaymanto que se comercializa proviene de semilla introducida de Colombia y es la que se siembra en los departamentos de Ancash, Ayacucho, Cajamarca y Cuzco.

Las comparaciones por pares revelaron que el F_{st} (Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones) osciló entre 0.243 y 0.325 (Tabla 5). Estos valores indicarían a su vez una diferenciación genética entre las poblaciones (Balloux y Lugon-Moulin, 2002), lo cual llevaría a pensar que si bien estas tres poblaciones pueden derivarse de una sola variedad, otros factores como el modo de cultivo, flujo genético por agentes polinizadores o intercambio de semillas pudieran estar contribuyendo a esta diferenciación genética por pares (Chacón *et al.*, 2016). Adicionalmente se puede interpretar que las poblaciones con menos diferenciación serían Cajamarca y La Libertad, mientras las que presentan más diferencias entre ellas son Ayacucho y La Libertad.

Autores como Hake y Ross-Ibarra (2015) e Isbell *et al.* (2017) refirieron que niveles altos de diversidad genética entre las poblaciones de especies de plantas cultivadas pueden otorgar beneficios potenciales evolutivos con el fin de hacer frente al cambio ambiental, la selección artificial y la infección por agentes patógenos, lo que aumentaría los rendimientos y reduciría las pérdidas económicas. Los resultados obtenidos en el presente estudio se enmarcarían dentro de dicho planteamiento.

Estudios como el de Arthofer *et al.* (2018) han demostrado que el uso de pocos marcadores microsatélites puede aún revelar la estructura poblacional si estos son altamente polimórficos. De acuerdo con lo mencionado, a pesar de que en este estudio se utilizan cinco marcadores SSR, el alto grado de polimorfismo evidenciado en los valores PIC, brindarían un buen panorama de las relaciones genéticas entre estas poblaciones. Además, según Hodel *et al.* (2016), la alta variación alélica de los microsatélites resulta óptima para la identificación de marcadores presentes en pequeñas subpoblaciones.

Los resultados que aquí se muestran, brindan información comparativa acerca de la variabilidad genética del aguaymanto procedente de Ayacucho, Cajamarca y La Libertad. Según Ramos y Matos (2016) las variables en el manejo del aguaymanto dependen de factores genéticos, climáticos y agro culturales, los que finalmente influyen en las características fisicoquímicas y sensoriales del fruto. Entonces, es recomendable que la información genética obtenida sea complementada con estudios bioquímicos, nutricionales, geográficos y agro culturales del cultivo de aguaymanto para tener un panorama global de mejoramiento de la calidad en la cadena productiva de este fitorecurso.

Tabla 4. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) entre tres poblaciones de *Physalis peruviana* L. de Perú, usando cinco marcadores microsatélites (SSR).

Fuente de variación	Grados de libertad df	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de Variación	Índices de fijación
Entre las Poblaciones	2	25.152	0.623	25.50	**Fst:0.307
Entre Individuos	25	24.938	0	0.00	Fis: -0.292
Dentro de los Individuos	28	51	1.821	74.50	*Fit:0.104
Total	55	101.089	2.445	100.00	

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$. Fst: Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones, Fis: Coeficiente de endogamia dentro de poblaciones, Fit: Coeficiente de endogamia total

Tabla 5. Distancia genética F_{st} entre pares de poblaciones de *Physalis peruviana* L.

	Ayacucho	Cajamarca	La Libertad
Ayacucho	-		
Cajamarca	0.325	-	
La Libertad	0.344	0.243	-

Todos los valores fueron significativos ($P < 0.001$), Fst: Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones

CONCLUSIONES

Poblaciones de *Physalis peruviana* de tres regiones de Perú (Cajamarca, La Libertad y Ayacucho) presentan valores altos de diferenciación genética y bajo porcentaje de variación entre las poblaciones lo cual evidenció una misma unidad genética, no estructurada. Cuatro, de los cinco, marcadores genéticos microsatélites (SSR123, SSR 11, SSR 15, SSR138) muestran altos valores de diversidad genética, lo que indica un alto grado de polimorfismo para las poblaciones muestreadas. Dicha información podrá ser utilizada para iniciar futuros estudios de mejoramiento y caracterización genética entre las poblaciones de aguaymanto peruano.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa AgroAndino SRL en Cajamarca, a la familia Ardrea en Ayacucho y a la familia del Sr. Eduardo Velásquez Vásquez en La Libertad, por facilitarnos parte de las muestras en este estudio.

Esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con RR N° 04274-RR-17 y código de proyecto B17100151. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de datos; la decisión de publicar es del colectivo de los autores del manuscrito y de la institución.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización MGP, ALS y MSV, Análisis formal MGP, SAV, PGB, ITJ, MPF e IAA, Investigación MGP, ALS, MSV, SAV, PGB, ITJ, MPF e IAA, Metodología MGP y ALS, Supervisión ALS, Escritura-Primera redacción ALS, MGP y MSV, Escritura-revisión y edición ALS y MGP.

REFERENCIAS

Agencia Agraria de Noticias (2020) En diciembre de 2019, exportación de aguaymanto saltó a 6.2 toneladas. Disponible en: <https://agraria.pe/noticias/en-diciembre-de-2019-exportacion-de-aguaymanto-salto-a-6-2-t-20848>. Consultado 29/05/2020

AgroForum (2018) Colombia: El aguaymanto y la gulupa crecen en exportación. Disponible en: <https://www.agroforum.pe/agro-noticias/colombia-aguaymanto-y-gulupa-crecen-exportacion-13263/>. Consultado 30/06/2020

Aguilar M (2018) Evaluación preliminar de la morfología de frutos de *Physalis peruviana* L. ecotipo Yungay (Ancash-Perú). Revista Doctorado UMH 4(1): 1-11; doi: 10.21134/doctumh.v4i1.1484

Amiryousefi A, Hyvönen J, Poczai P (2018) iMEC Online Marker Efficiency Calculator. Applications in Plant Sciences 6(6): e1159; doi: 10.1002/aps3.1159

Antunez-Ocampo O, Sandoval-Villa M, Alcántar-González G (2016) Floración y fructificación de *Physalis peruviana* L. por la aplicación de amonio y nitrato, edad y vigor de la planta. Agrociencia 50 (5): 603-615

Arias Y, González I, Miranda I, Fernández L, Delgado-Oramas B (2018) Diversidad genética en maíz (*Zea mays* L.) procedente de Pinar del Río y Guantánamo, Cuba, mediante el empleo de RAPD. Rev Protección Veg 33(1): 1-9

Arthofer W, Heussler C, Krapf P, Schlick-Steiner B, Steiner F (2018) Identifying the minimum number of microsatellite *loci* needed to assess population genetic structure: A case study in fly culturing. Fly 12(1): 13-22; doi: 10.1080/19336934.2017.1396400

Balloux F, Lugon-Moulin N (2002) The estimation of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology 11(2): 155-165; doi: 10.1046/j.0962-1083.2001.01436.x

Berdugo J, Enciso F, González C, Barrero L (2015) Variabilidad genética de parentales y poblaciones F1 inter e intraespecíficas de *Physalis peruviana* L. y *P. floridana* Rydp. Rev Bras Frutic 37(1): 179-192; doi: 10.1590/0100-2945-002/14

Bonilla M, Espinosa K, Posso A, Vásquez H, Muñoz J (2008) Caracterización molecular de 43 accesiones de uchuva de seis departamentos de Colombia. Acta Agronómica 57(2): 109-116; doi: 10.15446/acag

- Bonilla H, Carbajal Y, Siles M, López A (2019) Diversidad genética de tres poblaciones de *Physalis peruviana* a partir del fraccionamiento y patrón electroforético de proteínas de reserva seminal. Revista Peruana de Biología 26(2): 243-250; doi: 10.15381/rpb.v26i2.16370
- Botstein D, White R, Skolnick M, Davis R (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 32: 314-331
- Bushakra J, Lewers K, Staton M, Zhebentyayeva T, Saski C (2015) Developing expressed sequence tag libraries and the discovery of simple sequence repeat markers for two species of raspberry (*Rubus* L.). BMC Plant Biol 15(1): 258; doi: 10.1186/s12870-015-0629-8
- Campos J, Bobadilla D, Huamán M, Bazán M (2011) Efecto del extracto del fruto de *Physalis peruviana* 'tomatillo' en *Mus musculus* var. Swis con hiperlipidemia inducida. Scientia Agropecuaria 2(2): 83-89
- Carneiro M, Santini L, Kima A, De Freitas C (2016) Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. Genet Mol Biol 39(3): 312-328; doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027
- Chacón M, Sánchez Y, Barrero L (2016) Genetic structure of a Colombian cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) collection by means of microsatellite markers. Agronomía Colombiana 34(1): 5-16; doi: 10.15446/agron.colomb.v34n1.52960
- Chasquibol N, Yacono JC (2015) Composición fitoquímica del aceite de las semillas del fruto del 'aguaymanto' *Physalis peruviana* L. Revista de la Sociedad Química del Perú 81(4): 311-318
- Chau G, Herrera O, Condorhuamán M (2019) Actividad antioxidante *in vitro* de diferentes extractos del fruto de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto). Rev Peru Med Integrativa 4(1): 22-27; doi: 10.26722/rpmi.2019.41.105
- Chen W, Hou L, Zhang Z, Pang X, Li Y (2017) Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium of a core collection of *Ziziphus jujuba* assessed with genome-wide SNPs developed by genotyping-by-sequencing and SSR markers. Front Plant 8: 575; doi: 10.3389/fpls.2017.00575
- Churampi D, Dueñas E, López A, Siles M (2017) Potencial antiproliferativo del extracto acuoso de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) y sus efectos sobre la apoptosis en cultivos de líneas celulares con leucemia mieloide crónica. Diagnostico 56(4): 173-184
- Corrales-Bernal A, Vergara I, Rojano B, Yahia E, Maldonado M (2015) Características nutricionales y antioxidantes de la uchuva colombiana (*Physalis peruviana* L.) en tres estadios de su maduración. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 65(4): 00-00
- Delgado-Bastidas N, Lagos-Santander L, Lagos-Burbano T (2019) Genetic diversity of 40 genotypes of golden berry *Physalis peruviana* L. using microsatellite markers. Revista de Ciencias Agrícolas 36(E): 95-107; doi: 10.22267/rcia.1936E.110
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12(1): 13-15
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131(2): 479-491
- Falcón P, Rosales E, Toscano A (2019) Efecto del tiempo de la maceración prefermentativa sobre la capacidad antioxidante, carotenos, vitamina C de una bebida fermentada de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) al estado maduro. Aporte Santiaguino 12(2): 186-199; doi: 10.32911/as.2019.v12.n2.641
- Fischer G, Almanza P, Miranda D (2014) Importancia y cultivo de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Rev Bras Frutic Jaboticabal 36(1): 001-015; doi: 10.1590/0100-2945-441/13
- Garzón-Martínez GA, Osorio-Guarín J, Delgadillo-Durán P, Mayorga F, Enciso-Rodríguez F, Ladsman D, Mariño-Ramírez L, Stella L (2015) Genetic diversity and population structure in *Physalis peruviana* and related taxa based on InDels and SNPs derived from COSII and IRG markers. Plant Gene 4: 29-37; doi: 10.1016/j.plgene.2015.009.003

- González-Chavira M, Guzmán-Maldonado S, Pons-Hernández J, Villalobos-Reyes S, González-Pérez E (2019) Caracterización genética, química y agronómica de líneas avanzadas de tomate de cáscara. *Agron Mesoam* 30(1): 101-114; doi: 10.15517/am.v30i1.34402
- Guerra M, Ruiz R, Pardo E (2018) Diversidad genética de *Mangifera indica* (Anacardiaceae) en Valencia, Córdoba, Colombia, usando marcadores microsatélites. *Acta Botánica Mexicana* 124: 105-116; doi: 10.21829/abm124.2018.1285
- Hake S, Ross-Ibarra J (2015) Genetic, evolutionary and plant breeding insights from the domestication of maize. *eLife* 4: e05861; doi: 10.7554/eLife.05861
- Hassan H, Serag H, Qadir M, Ramadan M (2017) Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) juice as a modulator agent for hepatocellular carcinoma-linked apoptosis and cell cycle varrest. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 94(1): 1129-1137; doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.014
- Hildebrand C, Torney D, Wagner R (1992) Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Sci* 20(20): 100-102
- Hodel R, Segovia-Salcedo M, Landis J, Crowl A (2016) The report of my death was an exaggeration: A review for researchers using microsatellites in the 21st century. *Appl Plant Sci* 4(6): apps 1600025; doi: 10.3732/apps.1600025
- Isbell F, Adler P, Eisenhauer N, Fornara D, Kimmel K, Cremen C, Letorneau D, Liebman M, Polley W, Quijas S, Scherer-Lorenzen M (2017) Benefits of increasing plant diversity in sustainable agroecosystems. *Journal of Ecology* 105(4): 871-879; doi: 10.1111/1365-2745.12789
- Jiménez T, Cárdenas J, Soler-Tovar D (2017) Biocomercio en el contexto suramericano: Colombia y Perú como estudios de caso. *Rev Med Vet* 35: 9-15
- Jurado B, Aparcana I, Villarreal L (2016) Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 82(3): 272-279
- Juyó D, Sarmiento F, Álvarez M, Brochero H, Gebhardt C, Mosquera T (2015) Genetic diversity and population structure in diploid potatoes of *Solanum tuberosum* group Phureja. *Crop Science* 55(2): 760-769; doi: 10.2135/cropsci2014.07.0524
- León-Brito O, Ramis C, Bedoya A (2018) Estimación de la similitud genética entre cultivares locales y mejorados de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) usando marcadores moleculares microsatélites. *Bioagro* 30(3): 200-218
- Liu BH (1998) Statistical genomics: Linkage, mapping and QTL analysis. CRC Press, Florida; ISBN: 9780367400743
- Martínez C (2018) MIDAS: Aplicación informática para la identificación de microsatélites exactos e inexactos en secuencias genómicas. *Revista Cubana de Informática* 10(2): e02
- Moreno-Miranda C, Moreno-Miranda R, Pilamala-Rosales A, Molina-Sánchez J, Cerda-Mejía L (2018) El sector hortofrutícola de Ecuador: Principales características socio-productivas de la red agroalimentaria de la uvilla (*Physalis peruviana*). *Revista Ciencia y Agricultura* 16(1): 31-51; doi: 10.19053/01228420.v16n1.2019.8809
- Morillo-Coronado A, Gonzales-Castillo J, Morillo-Coronado Y (2018) Caracterización de la diversidad genética de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en Boyacá. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 16(1): 26-33; doi: 10.18684/bsaa.v16n1.631
- Oladasu Y, Rafii M, Abdullah N, Abdul M, Rahim H, Hussin G (2015) Genetic variability and diversity of mutant rice revealed by quantitative traits and molecular markers. *Agrociencia* 49 (3): 249-266; doi: 10.1155/2014/190531
- Ortiz DC, Bohórquez A, Duque M, Tohme J, Cuéllar D, Vásquez T (2012) Evaluating purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) genetic variability in individuals from commercial plantations in Colombia. *Genetic*

- resources and crop evolution 59(6): 1089-1099; doi: 10.1007/s10722-011-9745-y
- Osorio-Guarín JA, Enciso-Rodríguez F, González C, Fernandez-Pozo N, Mueller L, Stella L (2016) Association analysis for disease resistance to *Fusarium oxysporum* in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). BMC Genomics 17: 248; doi: 10.1186/s12864-016-2568-7
- PDRS/GIZ (2011) Proyecto de Desarrollo Rural Sostenible/GIZ Cajamarca, El aguaymanto. Cultivo promisorio de la Región Cajamarca, Diagnóstico de la cadena de valor del aguaymanto en la Región de Cajamarca, Perú. GIZ, Cajamarca
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28: 2537-2539; doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Ramadan M (2011) Bioactive phytochemicals, nutritional value and functional properties of Cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. Food Research International 44(7): 1830-1836; doi: 10.1016/j.foodres.2020.12.042
- Ramos M, Matos A (2016) Influencia de la zona de procedencia en las características fisicoquímicas y sensoriales del aguaymanto (*Physalis peruviana*) por estados de madurez. Investigación Valdizana 10(1): 25-31
- Rauf S, Teixeira da Silva J, Khan A, Naveed A (2010) Consequences of plant breeding on genetic diversity. Intl J Plant Breeding 4: 1-21
- Reyes-Beltrán ME, Guanilo-Reyes C, Ibañez-Cárdenas M, García-Collao C, Idrogo-Alfaro J, Huamán-Saavedra J (2015) Efecto del consumo de *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) sobre el perfil lipídico de pacientes con hipercolesterolemia. Acta med peruana 32(4): 195-201
- Roa S, Fernández H, Angulo L, Useche N, De Faría Y (2014) Caracterización molecular de genotipos de Rubis mediante marcadores microsatélites. Agronomía Tropical 64(1-2): 61-72
- Schreiber F (2012) Estudio de prefactibilidad para la producción y comercialización de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) en condiciones de valles andinos. Sierra Exportadora, Cajamarca
- Sharafi A, Abkenar A, Sharafi A (2017) Molecular genetic diversity assessment of *Citrus* species grown in Iran revealed by SSR, ISSR and CAPS molecular markers. Journal of Science and Research 2(8): 22-27; doi: 10.26910/issn.2528-8083vol2iss8.2017pp22-27
- Simbaqueba J, Sánchez P, Sánchez E, Núñez V, Chacón M, Stella L, Ñariño-Ramírez L (2011) Development and characterization of microsatellite markers for the Cape gooseberry *Physalis peruviana*. PloS one 6(10): e26719; doi: 10.1371/journal.pone
- Souza D (2015) Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. Rev Bras Pl Med Campinas 17(3): 495-503; doi: 10.1590/1983-084X/13_071
- Tomas P, Rivero M, Tomás M (2017) Caracterización de la variabilidad genética en germoplasma de *Melilotus albus* mediante marcadores moleculares ISSR y SSR. Journal of Basic and Applied Genetics 38(1): 27-40

Recibido: 17-08-2020

Aceptado: 02-10-2020

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y los autores.