

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y  
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO  
DE POBLACIONES DE *SOLANUM  
BREVICAULE* DEL PARQUE NACIONAL  
LOS CARDONES, SALTA, ARGENTINA.**



**TESINA DE GRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE  
INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**Macarena Antonella  
PEÑA CERVERA**

**Junio 2020**



# **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE POBLACIONES DE *SOLANUM BREVICAULE* DEL PARQUE NACIONAL LOS CARDONES, SALTA, ARGENTINA.**



**Universidad Nacional de Cuyo**  
**Facultad de Ciencias Agrarias**

**Tesista: Macarena Antonella PEÑA CERVERA**

**Directora: Dra. Perla Carolina KOZUB**

**Codirector: Dr. Carlos Federico MARFIL**

## RESUMEN

La conservación de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (RFAA) ha ocupado un lugar destacado dentro de las preocupaciones y esfuerzos globales respecto a la pérdida de biodiversidad. Los RFAA incluyen a los parientes silvestres de los cultivos (PSC). Hay dos enfoques fundamentales para la conservación de los RFAA: *ex situ* e *in situ*. El establecimiento de reservas genéticas es la opción más apropiada para la conservación *in situ* de los PSC, lo que implica la ubicación, designación y gestión de un sitio definido y el seguimiento de las poblaciones silvestres de interés en su hábitat natural para mantener su diversidad genética. La papa cultivada, *Solanum tuberosum* L., es el tercer cultivo alimenticio en importancia mundial luego del arroz y el trigo. Se reconocen más de 100 especies silvestres de papa (ESP). Las ESP son la principal fuente de variabilidad genética para el mejoramiento de este cultivo, resultando un excelente ejemplo para comprender la importancia del uso de germoplasma silvestre para cubrir las necesidades de seguridad alimentaria mundial. El Parque Nacional Los Cardones (PNLC) es un sitio prioritario para establecer una reserva genética debido a su alta riqueza de ESP. En la presente tesis se analizó la variabilidad morfológica y el comportamiento reproductivo de poblaciones de la especie silvestre de papa *S. brevicaule* Bitter, una de las cuatro especies taxonómicas identificadas dentro del PNLC, con el objetivo de generar una línea de base necesaria para la implementación de una reserva genética en este Área Protegida. Se trabajó con siete poblaciones recolectadas dentro del PNLC en 4 unidades vegetales contrastantes. Con el material vegetal, se estableció una colección compuesta por entre 4 a 11 plantas por población, a las que se les realizó un análisis morfológico y del comportamiento reproductivo. En el análisis morfológico se midieron caracteres en hoja y flor y se analizaron los datos utilizando Análisis de Conglomerados y Análisis de Componentes Principales. A partir de la caracterización morfológica se detectó variabilidad intrapoblacional y agrupamiento de poblaciones provenientes de ambientes similares. En el análisis del comportamiento reproductivo, se observaron diferencias significativas en la viabilidad de polen en las poblaciones analizadas, encontrándose poblaciones con alta (>80%), moderada (80-60%) y baja viabilidad (<60%). También se realizaron cruzamientos intra e interpoblacionales para evaluar las relaciones de compatibilidad polen-pistilo. Se detectó una similitud en los porcentajes de compatibilidad polen-pistilo en los cruzamientos intra e interpoblaciones, sin embargo, hay un mayor número de semillas por fruto y un elevado porcentaje de semillas de tipo A en los cruzamientos intrapoblacionales, disminuyendo estos parámetros en los cruzamientos entre poblaciones simpátricas y más aún entre poblaciones más alejadas dentro del PNLC. Los datos sugieren la existencia de barreras pre y postcigóticas. Contar con conocimiento sobre la biología reproductiva de las poblaciones naturales de ESP es fundamental para comprender los patrones de variación morfológica y molecular de las mismas. En conjunto, la información sobre la variabilidad genética, morfológica y citogenética, la biología reproductiva y la dinámica poblacional son la base para generar planes



adecuados de monitoreo y recolección de germoplasma y estrategias de conservación *in situ* de estas poblaciones

**PALABRAS CLAVES:** áreas protegidas; conservación *in situ*; especies silvestres de papa; parientes silvestres de los cultivos, Parque Nacional Los Cardones, *Solanum brevicaule*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Agradezco infinitamente a Dios por darme la sabiduría y perseverancia que pido todos los días y por brindarme una maravillosa familia, por la cual trabajamos día a día para conservarla.*

*A mis padres Ethel y Ricardo, que me dieron la vida y con su ejemplo de superación, humildad y sacrificio, me enseñaron a enfrentar la vida y a valorar todo lo que tengo. Gracias por su arduo trabajo para brindarme educación, un hogar y salud. Por guiarme en el camino de la vida, pero permitiendo equivocarme para aprender de mis errores, y por darme los valores que son el pilar de mi vida.*

*A mi esposo Martin, con quien desde nuestros 16 años comenzamos a transitar esta vida. Gracias a su cariño, apoyo y amor, por no dejarme caer y siempre creer en mí, animándome a crecer como persona y como profesional. Gracias por ser mi compañero, mi par y por todas las noches en las que está para escucharme.*

*A mis hermanos Alejandra y Teodoro, que a través de sus aciertos y desaciertos vividos trataron de aconsejarme, y por protegerme como su hermanita menor, aunque el tiempo pase.*

*A mi nueva familia, la familia Solas, por su calidez y por abrirme las puertas de su hogar, haciéndome parte de ellos.*

*A mis amigos del barrio, que me ensañaron el valor de la amistad y siempre están presentes, aun en los momentos más difíciles.*

*A mis compañeros y amigos de la facultad, sin sus mates y charlas en el recreo no hubiera sido lo mismo la facultad.*

*A mis profesores, Caro y Carlos, por su paciencia y dedicación me ayudaron a realizar esta tesis y poder concretar esta etapa tan importante.*

*A la ingeniera Marcela por confiar en mí y por darme la oportunidad de hacer mis primeros pasos como profesional.*



## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	III
ÍNDICE DE TABLAS .....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VIII
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Conservación de especies silvestres emparentadas con cultivos de relevancia mundial .....	1
1.2 Parientes silvestres de <i>Solanum tuberosum</i> .....	2
1.3 Antecedentes de conservación de especies silvestres de papa en Argentina.....	3
1.4 <i>Solanum brevicaule</i> .....	5
Objetivo general.....	7
Objetivos particulares .....	7
Hipótesis .....	7
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
2.1 Material Vegetal .....	8
2.2 Establecimiento de la colección de germoplasma.....	10
2.3 Análisis Morfológico .....	10
2.4 Análisis del Comportamiento Reproductivo.....	12
3. RESULTADOS .....	14
3.1 Análisis Morfológico .....	14
3.1.1 Análisis de Conglomerados .....	14
3.1.2 Análisis de Componentes Principales.....	16
3.2 Análisis del Comportamiento Reproductivo.....	20
3.2.1 Viabilidad de Polen .....	20
3.2.2 Compatibilidad polen–pistilo .....	21
3.2.2.1 Cruzamientos Intrapoblacionales .....	21
3.2.2.2 Cruzamientos Interpoblacionales .....	23
4. DISCUSIÓN.....	26
5. BIBLIOGRAFÍA.....	30

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Descripción de las poblaciones de <i>Solanum brevicaule</i> recolectadas en el Parque Nacional Los Cardones. _____	10
Tabla 2.- Caracteres morfológicos medidos en el material vegetal de la colección establecida. _____	11
Tabla 3.- Valores de los caracteres en los tres primeros componentes con variable de clasificación por población. _____	19
Tabla 4.- Viabilidad de Polen. _____	20
Tabla 5.- Cruzamientos intrapoblacionales CN-1. Número de flores polinizadas, número de frutos, número de semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas. _____	21
Tabla 6.- Cruzamientos intrapoblacionales CN-2. Número de flores polinizadas, número de frutos, número de semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas. _____	22
Tabla 7.- Cruzamientos intrapoblacionales Ch-1. Número de flores polinizadas, número de frutos, número de semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas. _____	22
Tabla 8.- Cruzamientos entre las poblaciones CN-1 y Ch-1. Número de flores polinizadas, frutos, semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas. _____	23
Tabla 9.- Cruzamientos entre las poblaciones CN-2 y Ch-1. Número de flores polinizadas, frutos, semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas. _____	24
Tabla 10.- Cruzamientos entre las poblaciones CN-1 y CN-2. Número de flores polinizadas, frutos, semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas. _____	24



## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.- Mapa satelital de la provincia de Salta, Argentina. Fuente: ING - Instituto Geográfico Nacional. \_\_\_\_\_ 9
- Figura 2.- Distribución geográfica de las poblaciones de *Solanum brevicaule* en el Parque Nacional Los Cardones, Salta. \_\_\_\_\_ 9
- Figura 3.- Puntos de medición de los caracteres morfológicos. Largo de la hoja (a); Ancho de la hoja (b); Largo foliolo terminal (c); Ancho foliolo terminal (d); Largo foliolo lateral (e); Ancho foliolo lateral (f); Largo estilo (E); Largo antera (A); Altura pétalo (L); Ancho pétalo (B). \_\_\_\_\_ 11
- Figura 4.- Variabilidad morfológica en poblaciones de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. Fenograma aplicando la técnica de agrupamiento UPGMA y considerando como variable de clasificación genotipos de siete poblaciones de *S. brevicaule* identificadas con diferentes colores. \_\_\_\_\_ 14
- Figura 5.- Variabilidad morfológica en poblaciones de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. Fenograma aplicando la técnica de agrupamiento UPGMA y considerando como variables de clasificación las poblaciones de *S. brevicaule*. \_\_\_\_\_ 15
- Figura 6.- Análisis de Componentes Principales (Componentes 1 y 2) de las siete poblaciones estudiadas de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. 17
- Figura 7.- Análisis de Componentes Principales (Componentes 1 y 3) de las siete poblaciones estudiadas de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. 17
- Figura 8.- Análisis de Componentes Principales (Componentes 2 y 3) de las siete poblaciones estudiadas de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. 18
- Figura 9.- Flores de las poblaciones de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. \_\_\_\_\_ 18
- Figura 10.- Variación morfológica de la décima hoja (contando desde el ápice) de cada población de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. \_\_\_\_\_ 19
- Figura 11.- Granos de polen de la población CN-2. A) Imagen con aumento de 100x en el microscopio. B) Imagen con aumento de 400x al microscopio. Los círculos negros indican granos de polen viables y los círculos blancos indican granos de polen no viables. \_\_\_\_\_ 20
- Figura 12.- Compatibilidad a nivel polen-pistilo. A: Combinación genotípica CN-2.4 x Ch-1.4, compatible. B: Combinación genotípica CN-1.7 x Ch-1.4, incompatible en el segundo tercio. C: Combinación genotípica CN-1.8 x CN- 1.7, incompatible en el tercer tercio. Las flechas señalan la zona donde se interrumpe el crecimiento de los tupos polínicos. \_\_\_\_\_ 25



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Conservación de especies silvestres emparentadas con cultivos de relevancia mundial

Los RFAA incluyen a los parientes silvestres de los cultivos (PSC), definidos como taxones de plantas silvestres relacionados genéticamente con especies de importancia socioeconómica, tales como alimentos, cultivos forrajeros, plantas medicinales, condimentos y especies forestales. Los PSC son recursos fundamentales para abordar las necesidades de seguridad alimentaria, proporcionando diversidad genética para el mejoramiento de los cultivos, orientado en última instancia al incremento de la productividad y la sostenibilidad de los sistemas agrícolas (Jansky et al. 2012). En la actualidad, frente a las perspectivas de cambio climático, la expansión agropecuaria, la fragmentación y pérdida de hábitats y el aumento sostenido de la población mundial, hay argumentos suficientes para considerar a la conservación de los PSC como una prioridad (Ford-Lloyd et al. 2011; Maxted et al. 2012; Vincent et al. 2013).

Hay dos enfoques fundamentales para la conservación de los RFAA: *ex situ* e *in situ* (Maxted et al. 1997a). El método de conservación *ex situ* involucra la exploración, recolección y mantenimiento de materiales fitogenéticos fuera del hábitat natural. La conservación *in situ* es la conservación de los ecosistemas y hábitats naturales, el mantenimiento y la recuperación de poblaciones viables de especies en sus entornos naturales (CBD 1992). Una estrategia que incorpore tanto técnicas *ex situ* como *in situ* se considera ideal para la conservación del fondo genético de las especies de interés (Maxted et al. 2007).

El establecimiento de reservas genéticas es la opción más apropiada para la conservación *in situ* de los PSC, lo que implica la ubicación, designación, gestión y seguimiento de las poblaciones silvestres en su hábitat natural para mantener su diversidad genética (Maxted et al. 1997b). Conservando a las especies y sus entornos, se favorecen los procesos evolutivos de las poblaciones, permitiendo la preservación de las frecuencias génicas y la generación de nueva variabilidad genética durante la interacción dinámica y permanente de las poblaciones entre sí y con los factores bióticos y abióticos.

Las áreas protegidas (AP) son zonas definidas geográficamente, designadas, reguladas, administradas y legisladas con el fin de alcanzar objetivos específicos de conservación. Las AP son fundamentales para la conservación *in situ* de los PSC ya que, de este modo, se ofrece un servicio adicional a los ecosistemas, determinando un valor agregado al sitio y facilitando la implementación de una reserva genética en un sitio que está siendo gestionado (Maxted y Kell 2009). Además, proporciona un mayor beneficio a la población local y es más fácil obtener el apoyo institucional (Maxted et al. 1997b, Kozub et al. 2019).

## 1.2 Parientes silvestres de *Solanum tuberosum*

La papa cultivada, *S. tuberosum* L., es el tercer cultivo alimenticio en importancia mundial luego del arroz y el trigo. Se cultiva en alrededor de 150 países y es consumida en todo el mundo (FAOSTAT 2017). Se reconocen alrededor de 100 especies silvestres de papa (*Solanum* sección *Petota*; Spooner et al. 2014). Las ESP presentan el mismo número básico de cromosomas ( $x = 12$ ) y se distribuyen en una serie euploide desde diploides hasta hexaploides ( $2n = 2x, 3x, 4x, 5x$  y  $6x$ ; Hawkes 1990). Las ESP son la principal fuente de variabilidad genética para el mejoramiento de este cultivo. Este germoplasma silvestre ha sido utilizado como fuente de resistencia a plagas causadas por nemátodos e insectos, y a enfermedades generadas por hongos, bacterias y virus, también son fuente de resistencia al estrés abiótico producido por ejemplo por las heladas (Ramos et al. 2000; Hijmans et al. 2003; Bradshaw y Ramsay 2005). Resulta por lo anterior un excelente ejemplo para comprender la importancia de la conservación y utilización de los PSC para cubrir las necesidades de seguridad alimentaria mundial (Jansky et al. 2013).

Las ESP se distribuyen ampliamente en América, desde el sur de Estados Unidos hasta el centro-sur de Argentina y Chile, encontrándose presentes en 16 países en total. El mayor número de especies se halla en Perú, desde el sur hasta el norte-centro, y en el centro de Bolivia. También se localiza una alta riqueza de especies en el noroeste de Argentina, centro de Ecuador y centro de México (Hijmans y Spooner 2001). Las poblaciones silvestres de papa se encuentran adaptadas a diversos macro- y micro ambientes (Hawkes y Hjerting, 1969). En la República Argentina, se encuentran creciendo desde el nivel del mar en la provincia de Buenos Aires hasta los 4300 m s.n.m. en los Andes del noroeste de Jujuy, y desde los 22° de latitud sur, hasta los 40°- 50° latitud sur en la provincia de Neuquén (Clausen et al. 2005). En el país se describen 18 especies silvestres emparentadas con la papa cultivada (Clausen et al. 2013; Spooner et al. 2016), todas pertenecientes a la sección *Petota* del género *Solanum*, excepto una sola especie diploide de la sección *Etuberosum*, *Solanum palustre* Schldl.

Las ESP son en su mayoría diploides (73%), seguido de un 15% de tetraploides y 6% hexaploides (Masuelli et al. 2009) y se reproducen tanto sexual (por semillas) como asexualmente (por estolones y tubérculos). Las especies diploides son alógamas obligadas por presentar autoincompatibilidad gametofítica controlada por el locus S (Camadro 2011). Siendo la autoincompatibilidad gametofítica un tipo de barrera precigótica, que impide el crecimiento del tubo polínico cuando el grano de polen ( $n$ ) porta el mismo haplotipo S del pistilo ( $2n$ ) (Marfil y Masuelli 2014). Una segunda barrera precigótica que se encuentra en la mayoría de ESP, es la incompatibilidad cruzada, al igual que a la anterior, genera la inhibición del crecimiento del tubo polínico (Nettancourt 2001), sin embargo, esta es causada por una falta de información genética entre uno de los progenitores con respecto a la estructura o la fisiología del otro progenitor (Hogenboom 1973), también se puede explicar por el reconocimiento por parte del pistilo de un polen de origen ajeno (Kermicle y Evans 2010). Las principales diferencias entre estos dos tipos de barreras precigóticas, es que, en la autoincompatibilidad gametofítica el tubo

polínico se inhibe en el estigma y es bilateral. En cambio, la incompatibilidad cruzada, el tubo polínico puede inhibirse en cuatro sitios del pistilo (estigma, primer, segundo y tercer tercio del estilo) en cruzamientos entre individuos genotípicamente diferentes, ya sea a nivel intra e interespecífico, como entre individuos con la misma o diferente ploidía y a la vez puede ser uni o bilateral (Camadro et al. 2004; Maune et al. 2018). Ambas barreras precigóticas, evitan el crecimiento del tubo polínico para que no alcance a la oófera.

En los cruzamientos de las ESP, también están presentes los mecanismos de barreras post-cigóticas, y a diferencia de las barreras precigóticas, este actúa luego de la fecundación. El número de balance del endosperma (EBN) es una de las barreras poscigóticas, que causa aborto del embrión, del endosperma o ambas (Camadro et al. 2004). En caso de que se llegue a formar y desarrollar el embrión, se obtienen híbridos, pero suelen ser débiles, estériles o sus generaciones posteriores pueden colapsar (Camadro et al. 2004). Si bien existen barreras externas (geográficas, ecológicas, entre otras) e internas (pre y post cigóticas) a la hibridación, éstas pueden ser incompletas, permitiendo la formación eventual de individuos híbridos (Camadro et al. 2004). La hibridación y el flujo génico dentro y entre poblaciones simpátricas con el mismo o con diferente nivel de ploidía pueden ocurrir y resultar en patrones de variación fenotípica, genética y epigenética complejos (Erazzú et al. 2009; Marfil et al. 2009; Cara et al. 2013; Ispizúa et al. 2015). Asimismo, la hibridación conlleva la formación de poliploides y en algunos casos aneuploides (Cara et al. 2013; Cara et al. 2019).

Al analizar la estructura genética de poblaciones naturales de ESP se ha observado que la mayor parte de la variabilidad genética está dentro de las poblaciones (Bedogni y Camadro 2009; Marfil y Masuelli 2014). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la hibridación y el flujo génico son procesos activos en la evolución y dinámica de las poblaciones de papas silvestres. Además, es importante destacar la gran plasticidad fenotípica de las papas silvestres, aumentando aún más la variabilidad morfológica presente en las poblaciones naturales, las cuales crecen en macro y microambientes muy diversos.

### **1.3 Antecedentes de conservación de especies silvestres de papa en Argentina**

Argentina es el tercer productor latinoamericano de papa luego de Perú y Brasil. En el año 2016 se registró una superficie de 75.000 hectáreas produciendo 2.400.000 toneladas. La mayor producción de papa en nuestro país se da en el sudeste bonaerense, generando rendimientos en promedio de 32 Tn/ha (MAGyP 2017). Para los argentinos, la papa representa un elemento esencial en su dieta, según datos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria los argentinos presentan consumos promedios de 38 kg/hab.año. Por más de 30 años diferentes grupos de investigación a nivel nacional, vienen realizando estudios de ESP argentinas para mejoramiento genético.

Sin embargo, en Argentina la diversidad genética de las ESP está siendo amenazada por el cambio en el uso de la tierra, especies invasoras, degradación de los hábitats naturales, la contaminación, el cambio climático, la

deforestación y la sobreexplotación de los recursos naturales (Maxted et al. 2008; Jarvis et al. 2008; FAO 2014; Cadima et al. 2014). Estudios realizados por Sajama (2017) evidencian lo mencionado, ya que predicen para el año 2050 en el territorio argentino, debido al impacto del cambio en el uso del suelo, tres ESP (*S. commersonii*, *S. chacoense* y *S. malmeanum*), serán las más afectadas, superando el 20% de pérdida de su rango geográfico, llegando a valores mayores al 45% en *S. commersonii*. A la vez, estas tres especies mencionadas presentaron los mayores incrementos de fragmentación de sus distribuciones originales, mientras que las restantes especies de nuestro país no presentan pérdidas superiores al 8%.

Por tales motivos, estamos ante la necesidad de conservar las ESP en su hábitat natural para mantener los procesos evolutivos de las poblaciones, permitiendo la preservación de las frecuencias génicas y la generación de nueva variabilidad genética durante la interacción dinámica de las poblaciones entre sí y con los factores bióticos y abióticos. Marfil et al. (2015) diseñaron un plan de manejo para la conservación *in situ* de las ESP en Áreas Protegidas de Argentina y se generó un protocolo de trabajo para ser implementado a nivel nacional. Este plan fue aplicado por primera vez en la conservación *in situ* de *S. kurtzianum*, la papa argentina del desierto, en la provincia de Mendoza en un AP privada de jurisdicción provincial, la Reserva Natural Villavicencio. Se generó una línea de base con datos de distribución, interacciones bióticas y abióticas, dinámica poblacional y variabilidad fenotípica y genética (Marfil y Masuelli 2014; Marfil et al. 2015) y basados en esos datos desarrollaron un programa de monitoreo sustentado en una base ecológica sólida para la conservación *in situ* de la ESP mejor adaptada a regiones áridas.

En base al solapamiento de coordenadas geográficas de las introducciones del Banco Activo de Germoplasma de Papa y Forrajeras del INTA Balcarce (banco BAL) con las de las APs argentinas, se identificó por su riqueza de especies al Parque Nacional Los Cardones (PNLC) en la provincia de Salta como uno de los sitios prioritarios para establecer una reserva genética (Marfil et al. 2015). Coincidiendo con Marfil et al. (2015), Hijimans et al. (2002) y Spooner et al. (2014), identificaron al noroeste argentino como el lugar con mayor riqueza de especies silvestres de papa en Argentina, y señalaron a dos AP, el PNLC y el Monumento Natural Laguna de los Pozuelos, como sitios prioritarios para establecer reservas genéticas de ESP.

El Grupo de Recursos Genéticos del Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, CONICET, UNCuyo, lleva adelante proyectos vinculados con el establecimiento de reservas genéticas en AP de Argentina para la conservación *in situ* de ESP. Tomando los resultados aportados por Marfil et al. (2015), en 2017 y 2018 se realizaron viajes de prospección y recolección en el PNLC, en donde se identificaron *in situ* cuatro especies silvestres de papa, a saber: *S. acaule*, *S. boliviense*, *S. brevicaule*, y *S. vernei*. Las poblaciones muestreadas estaban situadas en diferentes unidades fisonómicas de vegetación: pastizal de neblina o Yungueño (Sitio: Valle Encantado y Valle del Cajón), estepa arbustiva y pastizal Puneño y zona de transición Monte-Puna (Sitio: Valle del Tonco y parte del Cerro Negro), pastizal altoandino y arbustal puneño con vegas de altura y estepa (Sitio: Cerro Negro) (Kozub et al. 2019).

Contar con conocimiento sobre la distribución, variabilidad morfológica y comportamiento reproductivo de las poblaciones de ESP del PNLC, es fundamental para generar una línea base que permita diseñar un plan efectivo de monitoreo y conservación *in situ* de estas especies dentro de esta AP de jurisdicción nacional, y así implementar una reserva genética. La información obtenida permitirá seleccionar las poblaciones de mayor diversidad genética y monitorearlas a través del tiempo para asegurar su conservación a largo plazo.

#### 1.4 *Solanum brevicaule*

La especie *S. brevicaule* Bitter se distribuye al oeste del continente sudamericano, desde el sur de Perú y Bolivia hasta el noroeste de Argentina (provincia de La Rioja). Se encuentra en sitios soleados, pastizales, áreas semi sombreadas por cactáceas, arbustales o en bosques. También se halla a los bordes o invadiendo campos cultivados, en áreas rocosas y secas, en suelos arenosos aluvionales o, por lo contrario, en suelos ricos, en pendientes de valles y a lo largo de rutas. Altitudinalmente se distribuye desde los 2000 a 4180 m s.n.m (Solanaceae source, Crop wild relatives). Presenta resistencia a *Fusarium* sp, *Globodera pallida* (Lynch et al. 2003) y, además, posee bajo contenido de azúcares reductores (Hayes y Thill 2002), esta última característica es apreciable en el proceso industrial ya que son compuestos que oscurecen el producto final y genera un sabor amargo.

Son plantas herbáceas de 20 a 60 cm de alto, con crecimiento erecto. Florecen y fructifican de enero a abril. Tiene tres tipos de citotipos cromosómicos que van de diploides ( $2n = 2x = 24$  2EBN), tetraploides ( $2n = 4x = 48$  4EBN) y hexaploides ( $2n = 6x = 72$  4EBN).

- Tallos: 2-6 mm de diámetro en la base de la planta, sin alas o con alas de hasta 1 mm, verde a púrpura o verde y púrpura moteado, subglabro a moderadamente a densamente pubescente con pelos cortos no glandulares, a veces glaucos.
- Hojas: imparipinnadas de 5,5 a 27 cm de largo y 2,5 a 17 cm de ancho. Son de verde claro a oscuro, a veces teñidas de púrpura, especialmente abaxial o glauco. Hojas glabras a subglabras a moderadamente a densamente pubescente, a menudo más densamente pubescente abaxialmente; folíolo terminal de 0,9-13 cm de largo, 0,4-6,5 cm de ancho.
- Inflorescencia: Inflorescencias con 5-18 flores; pedúnculo de 1,1-8,1 cm de largo, con pelos como los del tallo; pedicelos de 5-35 mm de largo en flores y frutos.
- Flores: pentámeras. Cáliz de 4 a 10 mm de largo, los lóbulos de 1,5-7 mm de largo, pubescentes como el tallo. Corola de 1-3,8 cm de diámetro, pentagonal a rotada-pentagonal, de violeta a azul claro, a veces con una estrella de color amarillo verdoso a blanco, el pistilo de 1-2 mm de largo. Estambres con los filamentos de 1-2 mm de largo; anteras de 4-8 mm de largo. Ovario glabro, estilo 9-11 mm de largo.



- Frutos: su tamaño ronda de 1 a 1,8 cm de diámetro, globosos, de verde a verde con puntos blancos dispersos, generalmente glabros, pero ocasionalmente moderadamente pubescentes.

Ispizúa (1994), estudió la variabilidad morfológica en poblaciones de *S. spegazzinii*  $2n=2x=24$  2EBN (= *S. brevicaula*) provenientes de diferentes sitios, agrupándolas en tres grupos morfológicos. Posteriormente, Erazzú et al. (1999), complementó el análisis morfológico de los tres grupos: G1) localidades del este de la Quebrada Calchaquí, G2) Quebrada Calchaquí, y G3) localidad de Belén, con un análisis genético de compatibilidad polen-pistilo con cruzamientos dentro de cada grupo y entre estos. Encontraron incompatibilidad polen-pistilo dentro de los grupos G2 y G3, detectando barreras precigóticas, fenómeno de inhibición del crecimiento del tubo polínico en diferentes niveles del pistilo. En los cruzamientos entre grupos también hubo barreras precigóticas y post cigóticas al no hallarse formación de semillas en combinaciones genéticas que fueron compatibles al nivel polen-pistilo.

*Solanum spegazzinii*, *S. gourlayi* y *S. oplocense* son consideradas como la especie *S. brevicaula* según la clasificación de Spooner et al. (2014). Clausen y Crisci (1989), midieron 31 caracteres morfológicos y realizaron un análisis multivariado (ACP y análisis de agrupamiento con el método UPGMA) de poblaciones diploides y tetraploides de *S. gourlayi* provenientes de diferentes sitios. Se observó una gran variabilidad morfológica intrapoblacional, aunque distinguiendo que los individuos diploides de Salta son menos variables comparados con los diploides de Jujuy. Mientras que Ispizúa et al. (2015), con un análisis de coordenadas principales y análisis de componentes principales en base a la medición de 36 caracteres morfológicos, con individuos de tres poblaciones de *S. gourlayi* ( $2n=4x$ ) y dos poblaciones de *S. oplocense* ( $2n=6x$ ), especies simpátricas de Humahuaca, encontraron que todas las poblaciones eran diferentes morfológicamente entre sí, excepto por dos poblaciones de *S. gourlayi* en donde sus individuos tendían a agruparse. Tanto Camadro y Peloquin, (1981) e Ispizúa et al. (2015), realizaron cruzamientos para evaluar su comportamiento reproductivo, llegando a conclusiones similares. Los cruzamientos intraespecíficos de *S. gourlayi* ( $2n=4x$  4EBN) y *S. oplocense* ( $2n=6x$  4EBN) resultaron con crecimiento normal de los tubos polínicos a lo largo del estigma y el estilo logrando obtener frutos con más de 90 semillas llenas en promedio. Sin embargo, en los cruzamientos interespecíficos entre *S. gourlayi* ( $2n=4x$  4EBN) x *S. oplocense* ( $2n=6x$  4EBN), la mayoría de las combinaciones genotípicas tuvieron inhibición del tubo polínico a lo largo del pistilo o lo atravesaban, pero generando frutos con semillas vacías. En un porcentaje menor de combinaciones genotípicas, el tubo polínico creció hasta la base del estilo y se obtuvieron frutos con muy pocas semillas bien formadas acompañadas de algunas vacías. En los cruzamientos recíprocos (*S. oplocense*  $2n=6x$  4EBN x *S. gourlayi*  $2n=4x$  4EBN), fue mayor el porcentaje de combinaciones genotípicas con inhibición del tubo polínico y mayor número de frutos con semillas vacías, es decir, en este sentido los cruzamientos presentaron mayores problemas.

Retomando con las entonces denominadas especies *S. gourlayi* ( $2n=2x$  2EBN) y *S. spegazzinii* ( $2n=2x$  2EBN), Erazzú y Camadro (2008) evaluaron el

comportamiento reproductivo realizando cruzamientos intra e interpoblacionales, en los que observaron un alto porcentaje de combinaciones sin formación de frutos. En las combinaciones intrapoblacionales de *S. spegazzinii* y *S. gourlayi*, el 77 y 60%, respectivamente, no produjeron semillas. En las combinaciones interpoblacionales entre *S. spegazzinii* x *S. gourlayi*, el 66% no produjeron semillas y en las combinaciones recíprocas el porcentaje ascendió a un 84%. Con estos resultados se concluyó la presencia de barreras precigóticas debido a la detención del tubo polínico en distintas partes del pistilo (estigma, primer, segundo y tercer tercio del estilo) y postcigóticas.

El plan de trabajo propuesto se centra en analizar la variabilidad morfológica y el comportamiento reproductivo de las poblaciones de papa silvestre de *S. brevicaule* ( $2n=2x=24$  2ENB), una de las cuatro especies identificadas dentro del PNLC. Con el desarrollo de la presente tesis de grado se pretende seguir generando antecedentes para consolidar una estrategia nacional de conservación *in situ* de las ESP.

## Objetivo general

Establecer una reserva genética en el Parque Nacional Los Cardones para la conservación *in situ* de especies silvestres de papa.

## Objetivos particulares

- Generar una colección de germoplasma de las poblaciones de *S. brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones.
- Realizar un análisis morfológico de la colección.
- Realizar un análisis del comportamiento reproductivo (viabilidad del polen y compatibilidad polen-pistilo) de la colección.

## Hipótesis

Las poblaciones de *S. brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones presentan variabilidad morfológica intrapoblacional.

Las poblaciones de *S. brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones presentan variabilidad en la viabilidad de polen y existe compatibilidad polen-pistilo tanto en cruzamientos intra como interpoblacionales.



## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material Vegetal

Se utilizaron siete poblaciones *S. brevicaula* ( $2n=2x=24$  2ENB), recolectadas durante los viajes de prospección al PNLC, realizados en marzo del año 2017 (identificadas con las siglas GaSAMaib) y marzo del año 2018 (identificadas como DiLoMaKlb). El material vegetal recolectado constó de semillas, tubérculos o plantas dependiendo del estado fenológico de las poblaciones.

Las poblaciones fueron halladas en sitios con condiciones ambientales contrastantes, concentrándose en cinco unidades de vegetación diferenciadas, que van desde los 2819 a 3926 m s.n.m. ([Tabla 1](#); [Figura 1](#) y [Figura 2](#)). Las características climatológicas del PNLC en las áreas centro y oeste del parque son semiáridas con un promedio de 200 mm de precipitación anual y 12°C de temperatura media anual, panorama que va cambiando hacia el este tornándose más húmedo, con aumentos de la humedad relativa y de las precipitaciones (300 a 500 mm) y descenso de la temperatura media anual (9°C) (Noé et al. 2012). Los sitios de recolección dentro del PNLC son (Sánchez 2009; Bianchi et al. 2010; Kozub et al. 2019):

- **CERRO NEGRO:** alberga dos unidades vegetales. En menores altitudes encontramos el Arbustal de transición Monte-Puna en donde se recolectaron las poblaciones CN-1 y CN-2, sitio con precipitación media anual de 200 mm. La segunda unidad vegetal es Arbustal puneño con vegas de altura (parches húmedos con vegetación); donde se tomaron las poblaciones identificadas como CN-3 y CN-4. Para esta unidad se estima una precipitación media anual de 300 a 500 mm. La temperatura media anual varía de los 5 a 9°C, disminuyendo a medida que se sube el cerro.
- **VALLE DE TONCO:** corresponde a la unidad de vegetación de transición Monte-Puna. Es una estepa arbustiva con gramíneas y baja cobertura vegetal. De suelos arenosos y clima semiárido-árido, con precipitaciones de 200 mm anuales en promedio y temperaturas de 9°C. De los analizados, este sitio es el más austral y de donde se recolectó VT-1.
- **VALLE ENCANTADO:** en el extremo noreste del Parque, corresponde a una zona biogeográfica de Yungas e identificándose como unidad vegetal pastizales yungueños. Alta cobertura vegetal, especies herbáceas, arbustivas. Precipitación media anual de 600 mm generando gran aporte de neblina y temperatura media de 8°C. La población VE-1 fue recolectada en este sitio.
- **CHURCAL:** corresponde a un bosque de Monte de Sierra y Bolsones. Bosque de *Prosopis ferox*, conocido como “churqui” que alcanza alturas de hasta 5 m, ubicados principalmente al pie del cerro Tintín. Presenta temperatura media anual de aproximadamente 10°C y precipitaciones de 200 mm. En este sitio se recolectó a la población Ch-1.

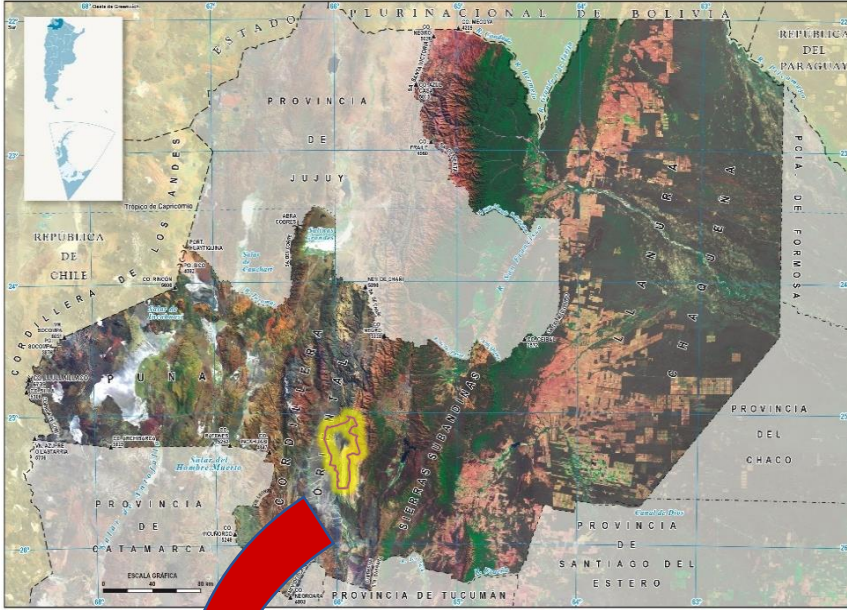


Figura 1.- Mapa satelital de la provincia de Salta, Argentina. Fuente: ING - Instituto Geográfico Nacional.

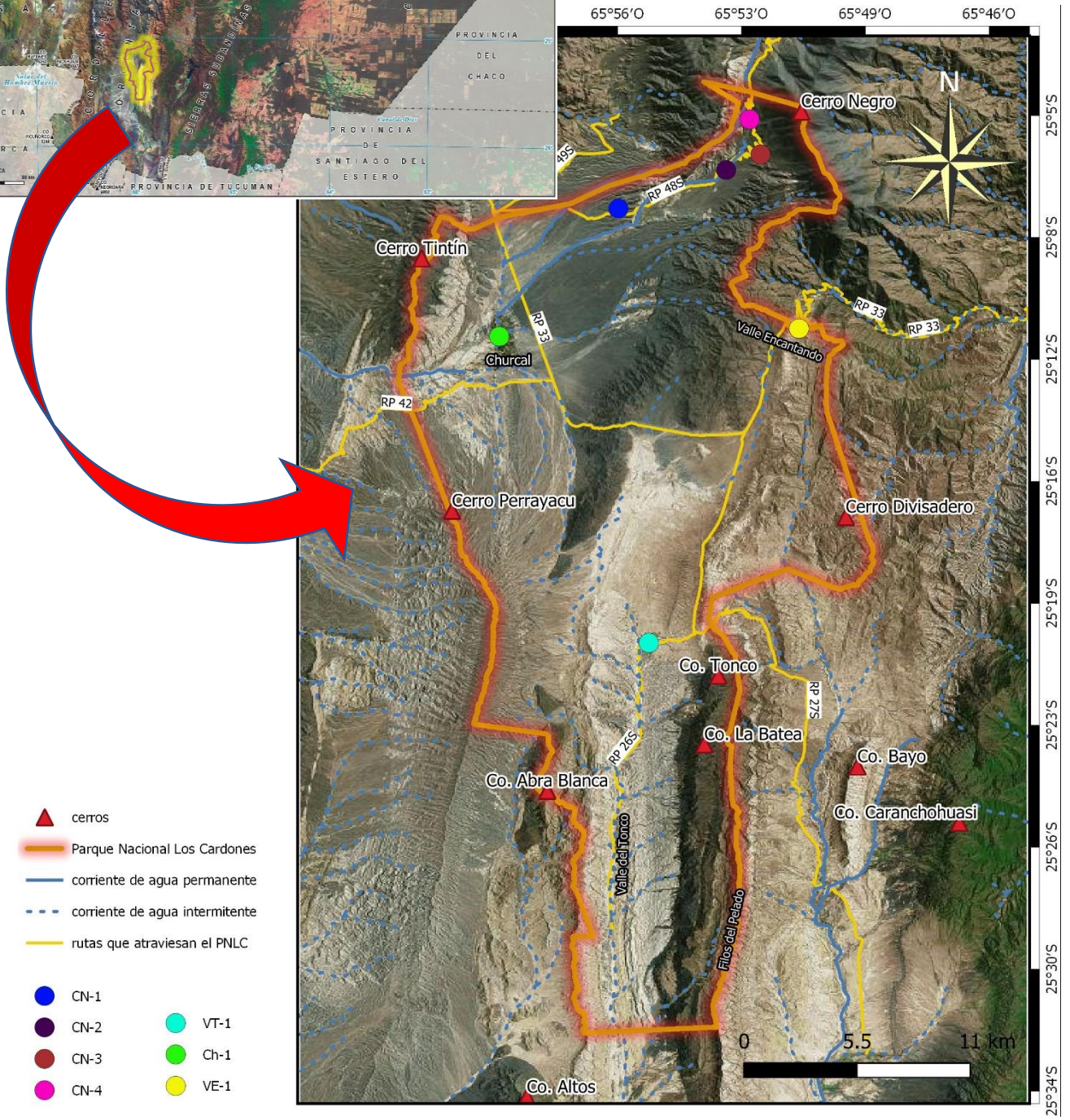


Figura 2.- Distribución geográfica de las poblaciones de *Solanum brevicaulle* en el Parque Nacional Los Cardones, Salta.



Tabla 1.- Descripción de las poblaciones de *Solanum brevicaule* recolectadas en el Parque Nacional Los Cardones.

Población						
Introducción	Rótulo de trabajo	N° de plantas analizadas	Coordenadas geográficas	Sitio	Unidad de vegetación	Altura (m s.n.m.)
GaSAMAib 13	CN-1	11	25°07,543'S 65°56,383'O	Cerro Negro	Arbustal de transición Monte-Puna	3208
DiLoMaKlb 28	CN-2	7	25°06,408'S 65°53,251'O	Cerro Negro	Arbustal de transición Monte-Puna	3517
GaSAMAib 14	CN-3	4	25°05,949'S 65°52,251'O	Cerro Negro	Arbustal puneño con vegas de altura	3756
GaSAMAib 16	CN-4	4	25°04,912'S 65°52,567'O	Cerro Negro	Arbustal puneño con vegas de altura	3926
GaSAMAib 25	VE-1	5	25°11,089'S 65°51,135'O	Valle Encantado	Pastizal de neblina yungueño	3283
GaSAMAib 24	Ch-1	6	25°11,319'S 65°59,843'O	Churcal	Bosque de <i>Prosopis ferox</i>	2856
DiLoMaKlb 22	VT-1	4	25°24,625'S 65°5,2136'O	Valle de Tonco	Arbustal de transición Monte - Puna	2873

## 2.2 Establecimiento de la colección de germoplasma

La colección se generó a partir de tubérculos, semilla botánica y esquejes, para obtener al menos 4 plantas de cada una de las poblaciones mencionadas. Las semillas se germinaron en cajas de Petri, luego las plántulas se colocaron en cajas de plástico con fibra de coco esterilizada hasta que alcanzaron una altura adecuada para ser trasplantadas a macetas de 500 cm<sup>3</sup> con sustrato esterilizado en autoclave. En el caso de los tubérculos, fueron plantados directamente en macetas de 500 cm<sup>3</sup>. Por último, para el caso de los esquejes se produjeron tres esquejes por planta, y se realizaron las mediciones sobre uno de los tres clones. Todas las plantas generadas para la colección fueron cultivadas en macetas dentro una cámara de cultivo con condiciones controladas de luz y temperatura (temperatura de 24°C; fotoperiodo de 16hs de luz: 8 hs de oscuridad; intensidad lumínica en promedio de 38,7 μmol/s.m<sup>2</sup> a la altura de la planta).

## 2.3 Análisis Morfológico

Cuando las plantas se encontraron en antesis (al menos dos flores de una inflorescencia abiertas) se procedió a realizar una caracterización utilizando caracteres morfológicos cuantitativos de acuerdo a lo descrito en Cara et al. (2013) e Ispizúa et al. (2015). Se midieron seis caracteres en la primera flor en antesis y, en el mismo momento, otros ocho caracteres medidos en la décima hoja verdadera tomada desde el ápice (Tabla 2; Figura 3).

Tabla 2.- Caracteres morfológicos medidos en el material vegetal de la colección establecida.

Órgano	Carácter	Unidad
1° FLOR	flor_largo antera (A)	mm
	flor_largo estilo (E)	mm
	flor_altura pétalo (L)	mm
	flor_ancho pétalo (B)	mm
	flor_relación de altura por ancho (L/B)	mm
	flor_n° pétalos	
10° HOJA	10_largo de la hoja (a)	mm
	10_ancho de la hoja (b)	mm
	10_largo foliolo terminal (c)	mm
	10_ancho foliolo terminal (d)	mm
	10_largo foliolo lateral (e)	mm
	10_ancho foliolo lateral (f)	mm
	10_n° pares de foliolos laterales	
	10_área foliar	mm <sup>2</sup>



Figura 3.- Puntos de medición de los caracteres morfológicos. Largo de la hoja (a); Ancho de la hoja (b); Largo foliolo terminal (c); Ancho foliolo terminal (d); Largo foliolo lateral (e); Ancho foliolo lateral (f); Largo estilo (E); Largo antera (A); Altura pétalo (L); Ancho pétalo (B).

Se utilizaron análisis estadísticos multivariados que permiten reducir las dimensiones y proyectarlas en gráficos que facilitan la visualización y comparación de los datos. Empleando el programa InfoStat (2019), con los valores medidos, se realizó un análisis estadístico multivariado, generando una matriz de similitud con la cual se realizó agrupamiento por UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averaging) y ACP (Análisis de Componentes Principales).

En el análisis de conglomerados se empleó el algoritmo UPGMA, una técnica que aplica el método de pares no ponderado utilizando medias aritméticas, y el tipo de distancia utilizada fue Euclídea promedio. Se obtuvieron fenogramas con criterios de clasificación poblacional y por genotipos, con el objetivo de identificar el agrupamiento natural que presentan a nivel individual (diferencias intra poblacionales) y poblacional (diferencias entre poblaciones y/o entre sitios de muestreo). Para establecer el ajuste de los datos, se calculó el coeficiente de correlación cofenético, el cual, si presenta valores superiores a 0,8 implica una baja distorsión y una buena interpretación del fenograma.

Resumidamente, se puede explicar el ACP como una técnica que se aplica en estudios con numerosas variables para reducirlas y formar un nuevo conjunto de variables (componentes principales) no correlacionadas, que ayudan a la interpretación de los datos sin generar una pérdida importante de la información. En el programa utilizado se puede establecer el número de componentes en el que se desea comprimir la información, pero debe ser la cantidad mínima de componentes que acapare el mayor porcentaje de variabilidad de los datos. En este estudio se escogió representar la mayor variabilidad en tres componentes.

Estos componentes fueron utilizados para realizar gráficos de dispersión de las observaciones, y así poder hacer una interpretación en conjunto sobre las relaciones entre observaciones y variables. Finalmente, se activó la opción de incluir en el gráfico los árboles de recorrido mínimo (ARM), cuya función es unir los puntos de las observaciones de acuerdo a la distancia real que existe entre ellos, ya que la distancia entre dos puntos graficados en dimensiones que han sido reducidas no refleja las distancias verdaderas. Los puntos se conectan por líneas rectas quedando unidos de forma directa o indirecta y sin generar bucles.

## **2.4 Análisis del Comportamiento Reproductivo**

El análisis de viabilidad de polen se llevó a cabo tomando las flores completamente abiertas de cada planta. Se colocó el polen sobre un portaobjeto y se tiñó con carmín acético 2%, sobre ello el cubreobjeto y se visualizó en el microscopio. Los granos de polen teñidos y de forma redondeada se cuentan como viables, por el contrario, aquellos granos que no se tiñeron y con forma amorfa se consideraron inviables. Para determinar el porcentaje de viabilidad, se realizó un conteo bajo microscopio óptico de al menos 300 granos de polen en un mínimo de cuatro campos visuales por preparado. Con el fin de identificar si existen diferencias significativas entre las

poblaciones, se utilizó el programa InfoStat, aplicando sobre los datos obtenidos un Análisis de la Varianza (ANOVA) considerando el porcentaje promedio de viabilidad por población, con la comparación de la prueba de Tukey y con un nivel de significancia de 0,05.

Se evaluaron las relaciones de compatibilidad polen-pistilo en cruzamientos intra e interpoblacionales empleando genotipos pertenecientes a CN-1, CN-2 y Ch-1. El número de combinaciones se realizó de acuerdo a la sincronía de la floración de las poblaciones y el número de flores por planta disponibles. Los cruzamientos se efectuaron tomando el polen de un genotipo y colocándolo sobre un portaobjeto u otro material previamente limpiado con alcohol. Sobre el polen recolectado se pasó cuidadosamente el estigma de otro genotipo florecido (los genotipos deben ser diferentes para evitar la autoincompatibilidad) y se marcó la flor polinizada con una etiqueta escrita con los progenitores (madre x padre) y la fecha en que se realizó el cruzamiento para el seguimiento. Pasadas 48 horas de realizado el cruzamiento, se removieron los estilos de las plantas y se fijaron en FAA (8:1:1, v/v/v, etanol 70 %: ácido acético glacial: formaldehído 40 %). Los estilos fijados en FAA se enjuagaron con agua y se trataron con una solución de NaOH 8 N y luego se tiñeron con una solución acuosa de azul de anilina en 0,1 N de  $K_3PO_4$  durante 4 horas (Martin, 1958). Posteriormente fueron montados en portaobjetos con una gota de glicerol y visualizados bajo microscopio con luz UV. Se definió para la observación de las relaciones de incompatibilidad a nivel polen-pistilo cuatro sitios de interrupción del crecimiento del tubo polínico: superficie del estigma, primer tercio del estilo, segundo tercio del estilo y tercer tercio del estilo. Se consideró compatible la relación polen-pistilo en las combinaciones genotípicas que formaron semillas llenas y aquellas combinaciones genotípicas, que a pesar de no haber formado frutos (bayas), al observar los pistilos teñidos al microscopio, más del 50 % de los tubos polínicos llegaron a la base del estilo. Los frutos formados a partir de las combinaciones genotípicas compatibles se cosecharon luego de que se desprendían de las plantas. Posteriormente para evaluar la efectividad del cruzamiento, se contó el número de semillas por fruto y, a su vez, las semillas fueron clasificadas en tres categorías de acuerdo a su tamaño y aspecto (A = semillas llenas; B = semillas llenas más pequeñas que A; C = semillas vacías), clasificación aplicada por Masuelli y Camadro (1997).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Análisis Morfológico

##### 3.1.1 Análisis de Conglomerados

El agrupamiento, considerando cada genotipo de las siete poblaciones de *S. brevicaula*, resultó con un coeficiente de correlación cofenética de 0,716, indicando una ligera distorsión del agrupamiento. Se observa que cada genotipo no se agrupa de acuerdo con su población, tampoco se reúnen los genotipos de poblaciones que provienen del mismo ambiente ([Figura 4](#)).

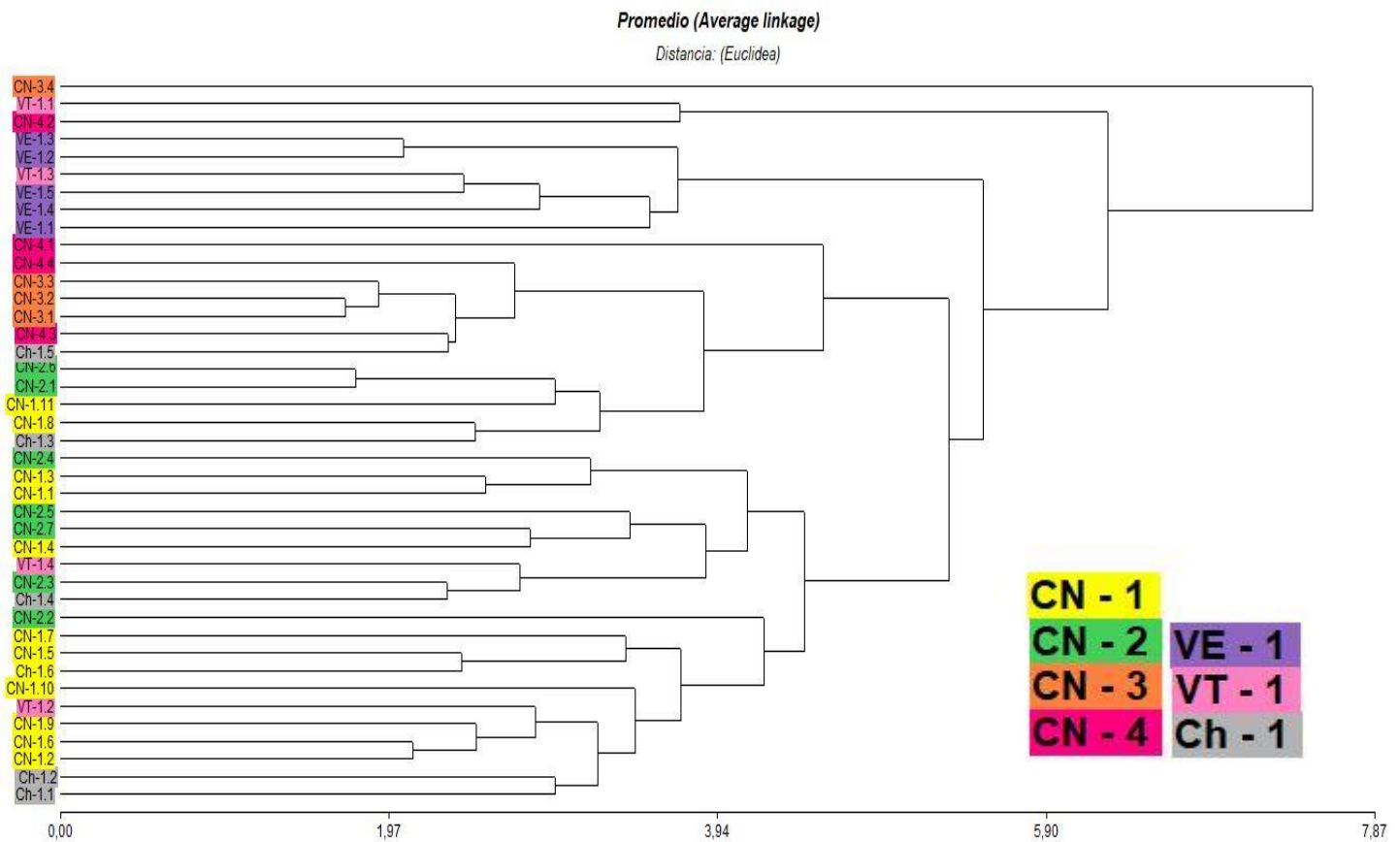


Figura 4.- Variabilidad morfológica en poblaciones de *Solanum brevicaula* del Parque Nacional Los Cardones. Fenograma aplicando la técnica de agrupamiento UPGMA y considerando como variable de clasificación genotipos de siete poblaciones de *S. brevicaula* identificadas con diferentes colores.



En el análisis de conglomerados se consideró como variable de clasificación la población. En esta oportunidad el coeficiente cofenético resultó ser de 0,826, señalando un buen ajuste de los datos. En el fenograma desarrollado, se pueden identificar tres agrupamientos ([Figura 5](#)). En el primer grupo se encuentran con mayor similitud las poblaciones CN-1 y CN-2, ambas provenientes del sitio Cerro Negro y la unidad vegetal arbustal de transición Monte-Puna. También en este grupo se encuentran las poblaciones Ch-1 y VT-1 de las unidades de Bosque de *P. ferox* y arbustal de transición Monte-Puna respectivamente. El segundo grupo identificado está compuesto por las poblaciones CN-3 y CN-4, pertenecientes al sitio de Cerro Negro de la unidad vegetal arbustal puneño con vegas de altura. Por último, con el mayor valor de disimilitud (6,4 aproximadamente), se ubica la población VE-1, que se encuentra en la parte más húmeda del Parque en el sitio Valle Encantado en la unidad vegetal de pastizales de neblina yungueños.

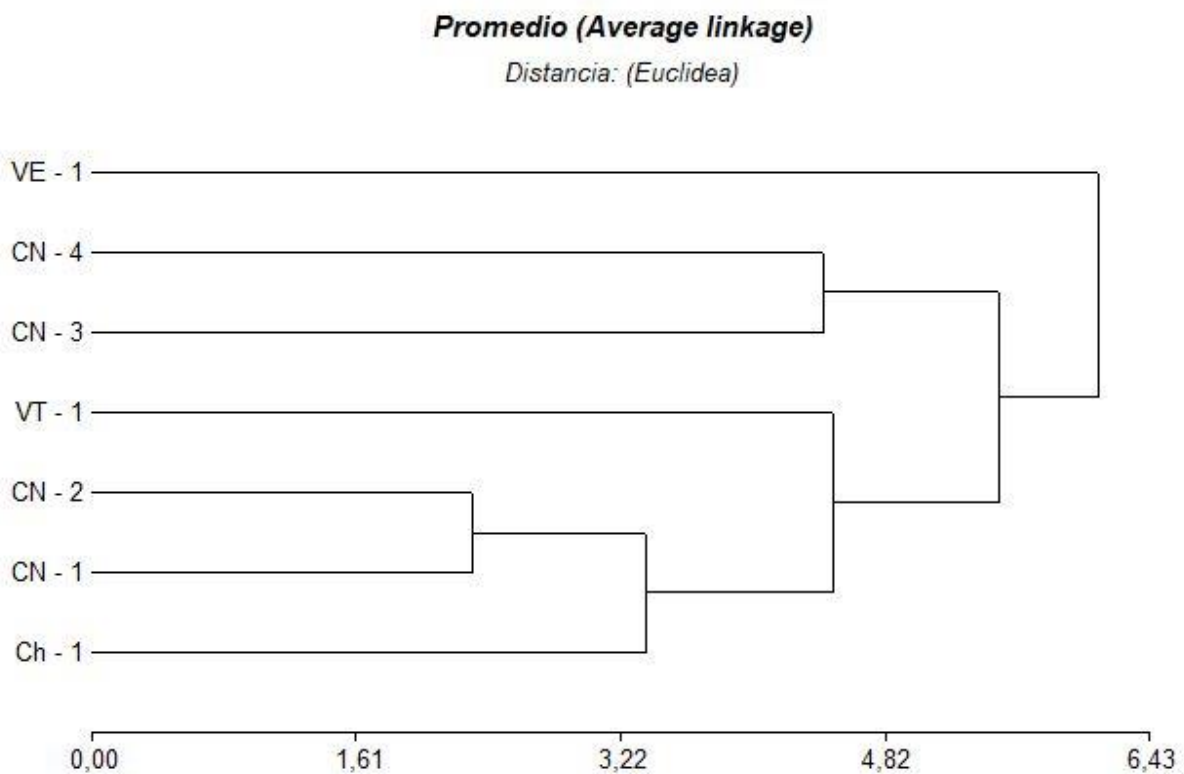


Figura 5.- Variabilidad morfológica en poblaciones de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones. Fenograma aplicando la técnica de agrupamiento UPGMA y considerando como variables de clasificación las poblaciones de *S. brevicaule*.

### 3.1.2 Análisis de Componentes Principales

En el análisis de componentes principales aplicando el criterio de clasificación por poblaciones, los tres primeros componentes explican el 85,6% de la variación (CP1=42,6%; CP2=31%; CP3=12%) y presenta una correlación cofenética de 0,965, ambos valores significan un buen ajuste de los datos. Los gráficos generados a partir del análisis de componentes principales se muestran en la [Figura 6](#), [Figura 7](#) y [Figura 8](#). En los tres gráficos se mantiene la misma distribución y el orden de unión entre las poblaciones, cambiando solamente las distancias respectivas entre ellas. Las conexiones más próximas se encuentran entre las poblaciones provenientes de ambientes similares, de lugares más desérticos CN-1, CN-2, Ch-1 y de ambientes más húmedos CN-3 y CN-4, y en los extremos más alejados se hallan las poblaciones VT-1 y VE-1, de ambientes contrastantes. Por lo que se puede ver, las poblaciones no se agrupan por proximidad geográfica, es decir, las poblaciones simpátricas, presentan diferencias morfológicas entre sí. En el caso de las poblaciones CN-1, CN-2, CN-3 y CN-4, todas pertenecientes al sitio Cerro Negro, resultan ser las poblaciones con menor distancia geográfica, sin embargo, no se las identifica en un agrupamiento común.

Las variables largo foliolo terminal, nº pares de foliolos laterales, área foliar y relación de altura y ancho del pétalo, fueron las que explicaron un mayor porcentaje de la variabilidad en la morfología de las distintas poblaciones. La variable que más se asocia a la población CN-1 y Ch-1 fue la relación altura y base del pétalo (presentando flores estrelladas, es decir mayores valores de la relación altura/base del pétalo), oponiéndose con flores de forma pentagonal a rotada las poblaciones CN-3, CN-4 y VE-1 (valores menores de la relación altura/base del pétalo), quedando VT-1 y CN-2 con forma semi estrellada a estrellada ([Figura 9](#)). Por otro lado, las poblaciones se asociaron a diferentes caracteres medidos en las hojas, en el caso de VT-1 y CN-2 presentaron altos valores de área foliar, largo foliolo terminal, ancho y largo foliolo lateral, mientras que la población CN-3 mostró valores bajos para estas variables. Las poblaciones asociadas a ambientes más húmedos como VE-1 presentaron mayor número de foliolulos y foliolos laterales, y CN-4 con foliolos terminales anchos ([Figura 10](#)).

En el primer componente los caracteres que más contribuyeron, en orden decreciente, son: 10\_largo foliolo terminal; 10\_área foliar; flor\_relación de altura y ancho (L/B); flor\_ancho pétalo (B); flor\_largo estilo; 10\_ancho foliolo lateral; flor\_altura pétalo (L). El segundo componente está explicado por los siguientes caracteres: 10\_nº pares de foliolos laterales; 10\_largo de la hoja; 10\_ancho foliolo terminal; 10\_ancho de la hoja y 10\_largo foliolo lateral y en el tercer componente: flor\_nº pétalos; flor\_largo antera ([Tabla 3](#))

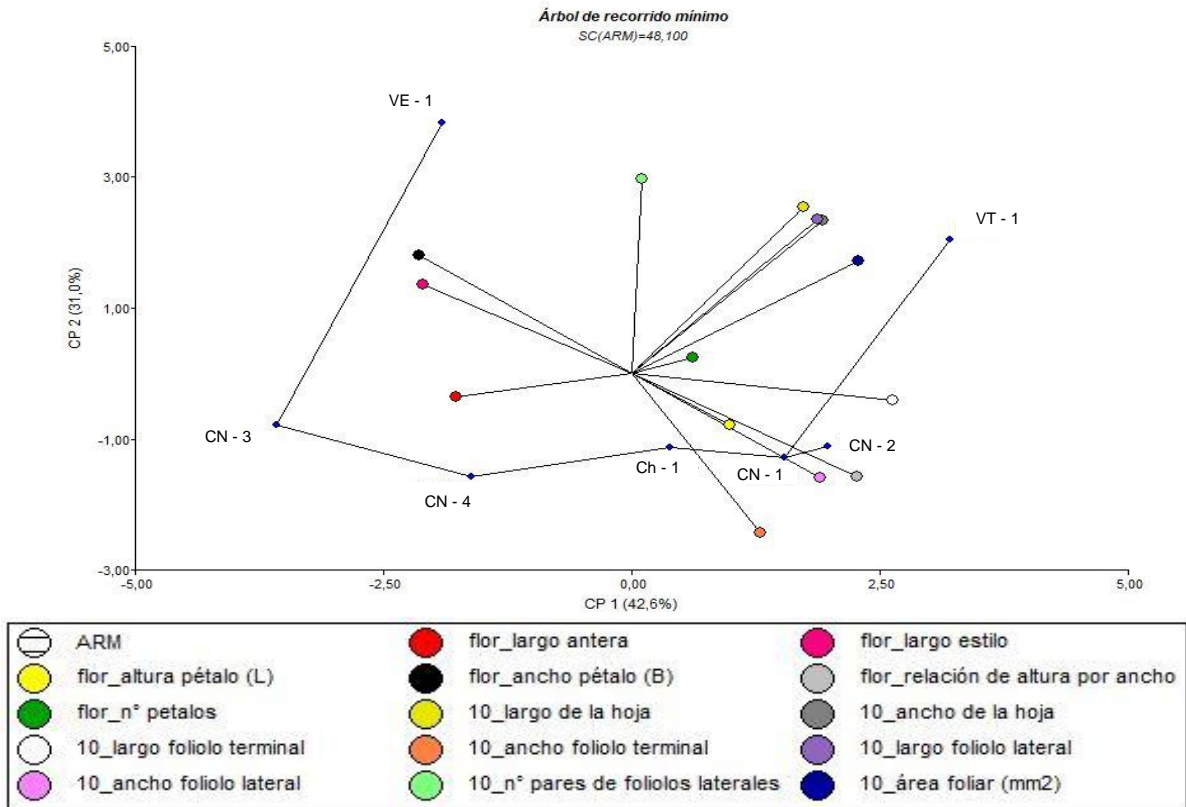


Figura 6.- Análisis de Componentes Principales (Componentes 1 y 2) de las siete poblaciones estudiadas de *Solanum brevicaulle* del Parque Nacional Los Cardones.

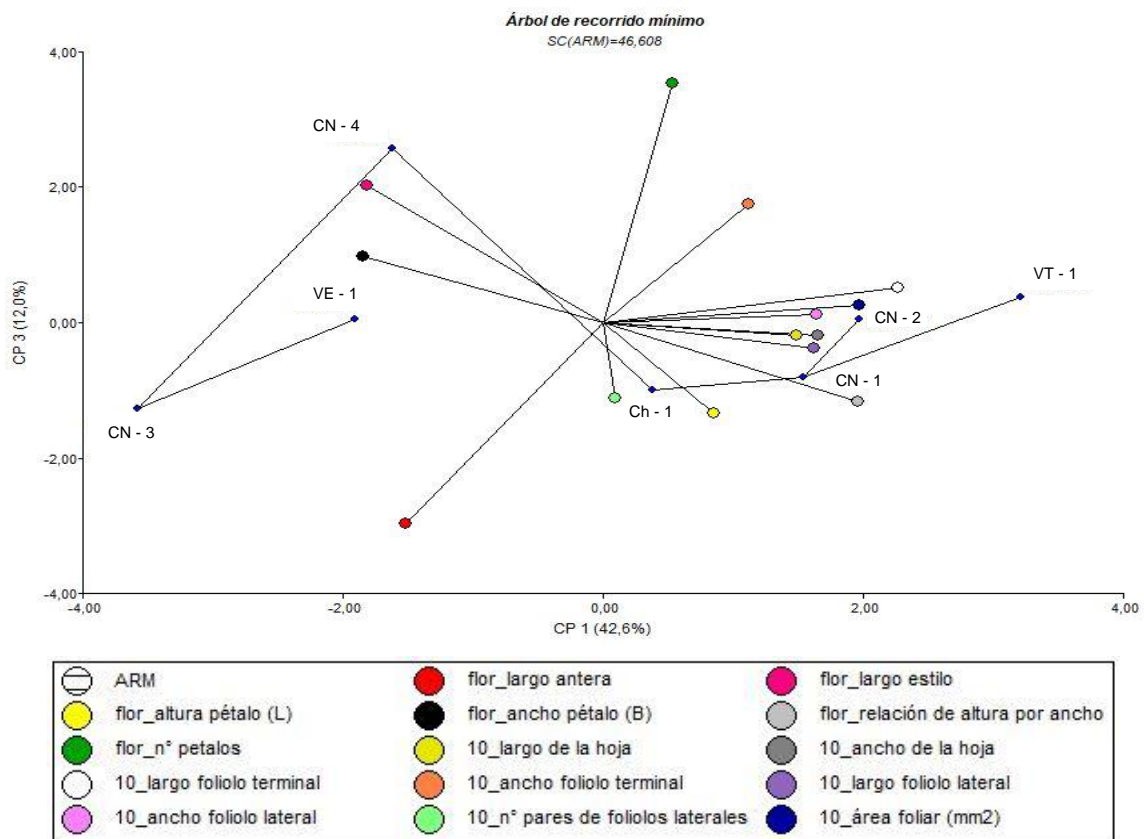


Figura 7.- Análisis de Componentes Principales (Componentes 1 y 3) de las siete poblaciones estudiadas de *Solanum brevicaulle* del Parque Nacional Los Cardones.

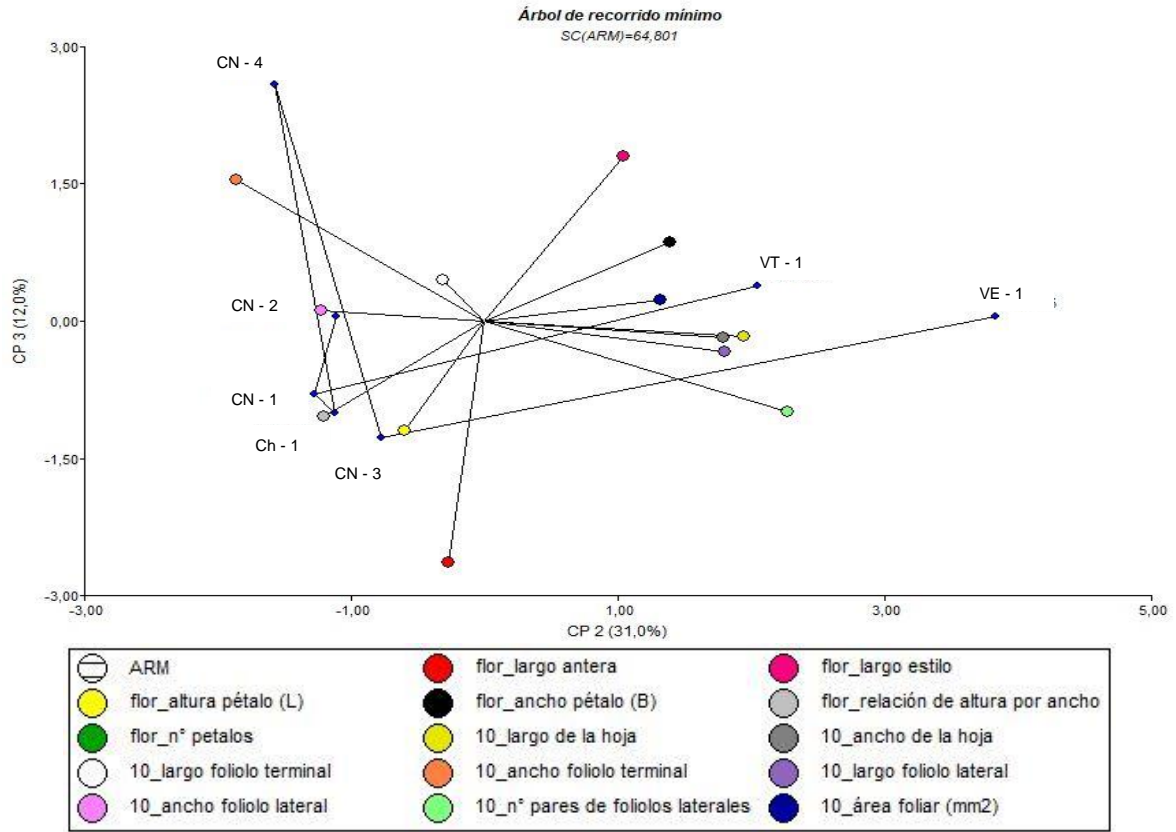


Figura 8.- Análisis de Componentes Principales (Componentes 2 y 3) de las siete poblaciones estudiadas de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones.

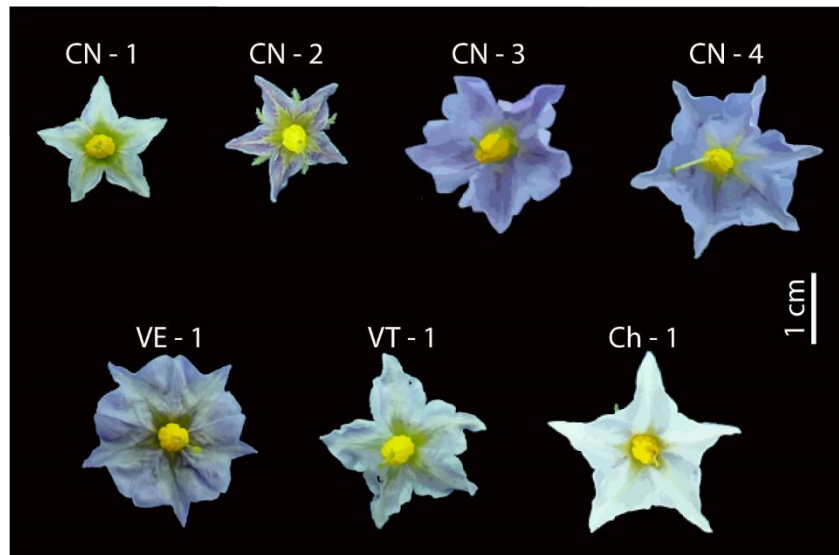


Figura 9.- Flores de las poblaciones de *Solanum brevicaule* del Parque Nacional Los Cardones.

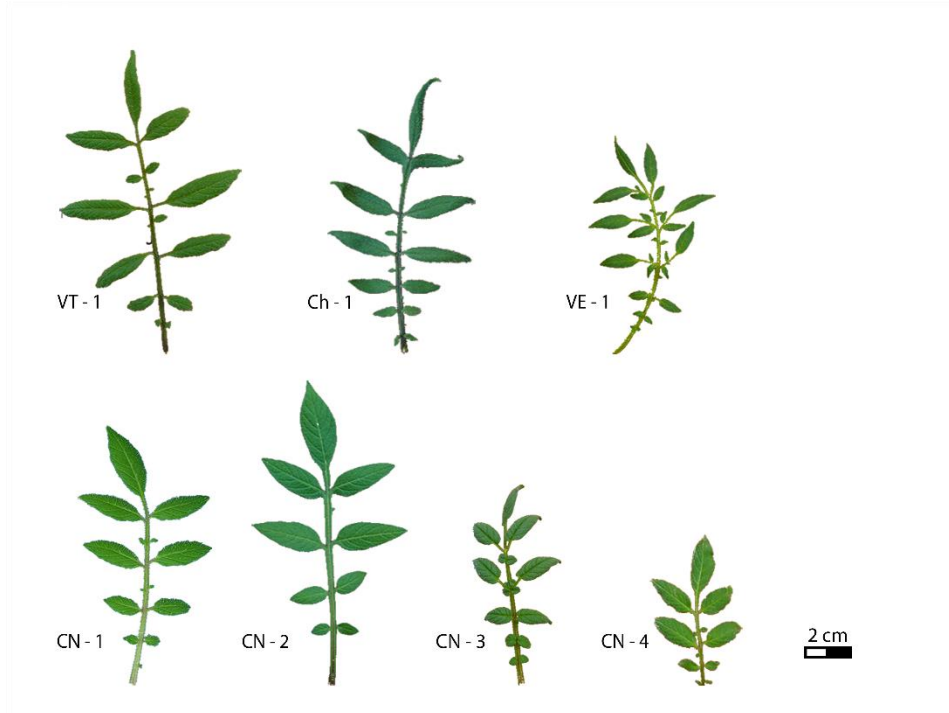


Figura 10.- Variación morfológica de la décima hoja (contando desde el ápice) de cada población *Solanum brevicaulle* del Parque Nacional Los Cardones.

Tabla 3.- Valores de los caracteres en los tres primeros componentes con variable de clasificación por población.

Caracteres morfológicos	Componente 1	Componente 2	Componente 3
flor_largo antera	-0,63	-0,11	-0,66
flor_largo estilo	-0,75	0,42	0,45
flor_altura pétalo (L)	0,36	-0,24	-0,3
flor_ancho pétalo (B)	-0,77	0,55	0,21
flor_relación de altura y ancho	0,81	-0,48	-0,26
flor_n° petalos	0,22	0,08	0,78
10_largo de la hoja	0,62	0,78	-0,04
10_ancho de la hoja	0,69	0,72	-0,04
10_largo foliolo terminal	0,94	-0,12	0,11
10_ancho foliolo terminal	0,47	-0,74	0,39
10_largo foliolo lateral	0,67	0,72	-0,08
10_ancho foliolo lateral	0,68	-0,49	0,03
10_n° pares de foliolos laterales	0,04	0,91	-0,25
10_área foliar (mm <sup>2</sup> )	0,82	0,53	0,06

## 3.2 Análisis del Comportamiento Reproductivo

### 3.2.1 Viabilidad de Polen

En la [Tabla 4](#) se presentan los resultados obtenidos del análisis de la viabilidad de polen de las siete poblaciones, en donde se observan diferencias significativas en la viabilidad de polen entre las poblaciones. Cuatro poblaciones (CN-1, CN-4, Ch-1 y VT-1) presentaron valores promedio altos de viabilidad de polen (>80%) y tres poblaciones (VE-1, CN-2 y CN-3) mostraron valores medios (79-50%). La población CN-3 presentó el valor más bajo (67%) y CN-1 el mayor valor (95%) de viabilidad de polen. En las poblaciones CN-1, Ch-1 y CN-4 todas las plantas analizadas presentaron porcentajes altos de viabilidad. En las poblaciones VE-1 y CN-2 se observaron plantas con valores altos, medios y bajos, mientras que en la población CN-3 todas las plantas mostraron porcentajes medios de viabilidad de polen.

Tabla 4.- Viabilidad de Polen.

Población	Porcentaje de viabilidad de polen*		Número de plantas por categoría de porcentaje de viabilidad de polen		
	Media $\pm$ DE	Rango	Alta (>80%)	Media (79-50%)	Baja (<49%)
CN - 1	95 $\pm$ 3 A	88 - 99	11	0	0
CN - 4	93 $\pm$ 8 AB	80 - 98	4	0	0
Ch - 1	91 $\pm$ 7 AB	82 - 98	6	0	0
VT - 1	88 $\pm$ 15 ABC	66 - 96	4	0	0
VE - 1	75 $\pm$ 26 BCD	37 - 95	3	1	1
CN - 2	73 $\pm$ 24 CD	36 - 97	3	2	2
CN - 3	67 $\pm$ 9 D	54 - 75	0	4	0

\*medias con una letra común no son significativamente diferentes (Test de Fisher  $p < 0,05$ )

DE: desviación estándar

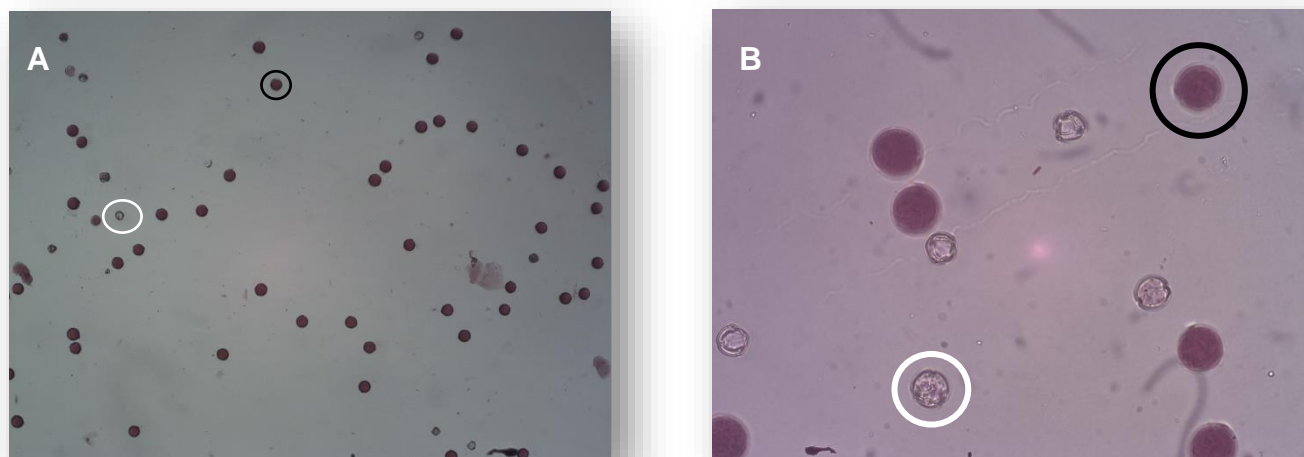


Figura 11.- Granos de polen de la población CN-2. A) Imagen con aumento de 100x en el microscopio. B) Imagen con aumento de 400x al microscopio. Los círculos negros indican granos de polen viables y los círculos blancos indican granos de polen no viables.



### 3.2.2 Compatibilidad polen–pistilo

#### 3.2.2.1 Cruzamientos Intrapoblacionales

En los cruzamientos intrapoblacionales de CN-1, se realizaron diez combinaciones genotípicas resultando siete compatibles (70%), es decir, los tubos polínicos crecieron hasta la base del estilo. En los cruzamientos incompatibles se pudo observar que los tubos polínicos se detuvieron en el segundo y tercer tercio del estilo, sin embargo, el recíproco de una estas resultó ser compatible. En cuatro combinaciones se obtuvieron frutos (54% de las combinaciones que resultaron compatibles) con un promedio de 234,8 semillas por fruto y 92% de las semillas se clasificaron en la categoría de tipo A ([Tabla 5](#)). En la población CN-2, se realizaron cinco combinaciones genotípicas resultando el 60% compatibles y en las incompatibles los granos de polen se detuvieron en el segundo y tercer tercio. Solo una combinación (33,3% de las combinaciones compatibles) dio un fruto con 163 semillas con el 97% de tipo A ([Tabla 6](#)). Para la población Ch-1, no se registraron formación de frutos en las nueve combinaciones genotípicas evaluadas, a pesar de resultar el 66% de las combinaciones compatibles a nivel polen-pistilo. Los sitios de incompatibilidad fueron en el primer y segundo tercio ([Tabla 7](#)).

Tabla 5.- Cruzamientos intrapoblacionales CN-1. Número de flores polinizadas, número de frutos, número de semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas.

Combinación genotípica	Número de flores polinizadas	Número de frutos	Número de semillas/fruto	Relación polen-pistilo <sup>b</sup>	Tipo de Semilla <sup>c</sup>		
					A	B	C
CN-1.6 x CN-1.9	2	0	0	Comp	-	-	-
CN-1.7 x CN-1.10	1	0	0	I <sub>2/3</sub>	-	-	-
CN-1.8 x CN-1.7	1	0	0	I <sub>3/3</sub>	-	-	-
CN-1.9 x CN-1.7	1	1	269	Comp	267	2	0
CN-1.9 x CN-1.8// <sup>a</sup>	2//2	0//1	0//212	I <sub>3/3</sub> //Comp	208	3	1
CN-1.9 x CN-1.7	2	1	186	Comp	161	19	6
CN-1.11 x CN-1.7// <sup>a</sup>	3//3	1//1	317//190	Comp//Comp	281//170	26//17	10//3
CN-1.11 x CN-1.7	2	0	0	Comp	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>5</b>	<b>234,8<sup>d</sup></b>		<b>217,4<sup>d</sup></b>	<b>13,4<sup>d</sup></b>	<b>4<sup>d</sup></b>

//<sup>a</sup> cruzamientos recíprocos; <sup>b</sup> Comp = Cruzamiento Compatible; I<sub>E</sub> tubos polínicos detenidos en el estigma; I<sub>1/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio superior del estilo; I<sub>2/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio medio del estilo; I<sub>3/3</sub> tubo polínico detenidos en el tercio inferior del estilo; <sup>c</sup> A = semillas llenas; B = semillas más pequeñas que A; C = semillas reducidas; <sup>d</sup> promedio de semillas por fruto.



Tabla 6.- Cruzamientos intrapoblaciones CN-2. Número de flores polinizadas, número de frutos, número de semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas.

Combinación genotípica	Número de flores polinizadas	Número de frutos	Número de semilla/ fruto	Relación polen-pistilo <sup>b</sup>	Tipo de Semilla <sup>c</sup>		
					A	B	C
CN-2.2 x CN-2.5	2	0	0	I <sup>3/3</sup>	-	-	-
CN-2.4 x CN-2.3	2	0	0	Comp	-	-	-
CN-2.5 x CN-2.6	2	0	0	I <sup>2/3</sup>	-	-	-
CN-2.6 x CN-2.2	1	0	0	Comp	-	-	-
CN-2.7 x CN-2.3	1	1	163	Comp	159	2	2
<b>TOTAL</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>163<sup>d</sup></b>		<b>159<sup>d</sup></b>	<b>2<sup>d</sup></b>	<b>2<sup>d</sup></b>

//<sup>a</sup> cruzamientos recíprocos; <sup>b</sup> Comp = Cruzamiento Compatible; I<sub>E</sub> tubos polínicos detenidos en el estigma; I<sub>1/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio superior del estilo; I<sub>2/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio medio del estilo; I<sub>3/3</sub> tubo polínico detenidos en el tercio inferior del estilo; <sup>c</sup> A = semillas llenas; B = semillas más pequeñas que A; C = semillas reducidas; <sup>d</sup> promedio de semillas por fruto.

Tabla 7.- Cruzamientos intrapoblaciones Ch-1. Número de flores polinizadas, número de frutos, número de semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas.

Combinación genotípica	Número de flores polinizadas	Número de frutos	Número de semilla/ fruto	Relación polen-pistilo <sup>b</sup>	Tipo de Semilla <sup>c</sup>		
					A	B	C
Ch-1.4 x Ch-1.1// <sup>a</sup>	2//1	0//0	0//0	Comp//Comp	-	-	-
Ch-1.4 x Ch-1.1	2	0	0	Comp	-	-	-
Ch-1.4 x Ch-1.3// <sup>a</sup>	2//2	0//0	0//0	I <sup>2/3</sup> //I <sup>2/3</sup>	-	-	-
Ch-1.6 x Ch-1.1	2	0	0	Comp	-	-	-
Ch-1.6 x Ch-1.4// <sup>a</sup>	2//2	0//0	0//0	Comp// I <sup>1/3</sup>	-	-	-
Ch-1.6 x Ch-1.4	1	0	0	Comp	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>16</b>	<b>0</b>	<b>0<sup>d</sup></b>		<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

//<sup>a</sup> cruzamientos recíprocos; <sup>b</sup> Comp = Cruzamiento Compatible; I<sub>E</sub> tubos polínicos detenidos en el estigma; I<sub>1/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio superior del estilo; I<sub>2/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio medio del estilo; I<sub>3/3</sub> tubo polínico detenidos en el tercio inferior del estilo; <sup>c</sup> A = semillas llenas; B = semillas más pequeñas que A; C = semillas reducidas; <sup>d</sup> promedio de semillas por fruto.

### 3.2.2.2 Cruzamientos Interpoblacionales

El 71,5 % de las combinaciones genotípicas realizadas entre las poblaciones CN-1 y Ch-1, fueron compatibles a nivel polen-pistilo. En los cruzamientos incompatibles, la detención de los tubos polínicos fue en el segundo y tercer tercio, observándose nuevamente el recíproco de una de compatible. En el 40% de las combinaciones compatibles se obtuvieron frutos con un promedio de 133,75 semillas por fruto, de las cuales el 78% fueron semillas de tipo A (Tabla 8). Los cruzamientos entre genotipos de las poblaciones CN-2 y Ch-1, resultaron el 63% compatibles y se observó el detenimiento de los tubos polínicos a la altura del primer tercio en dos combinaciones genotípicas y en el recíproco de una de ellas se presentó incompatibilidad en el tercer tercio del pistilo. Se polinizaron 11 flores, obteniendo 1 fruto (20% de las combinaciones compatibles) con 57 semillas en total, solo el 28% de esas semillas resultaron ser de tipo A (Tabla 9). En los cruzamientos realizados entre genotipos de las dos poblaciones de Cerro Negro, CN-1 y CN-2, el 86% de las combinaciones fueron compatibles. En el segundo tercio del estilo de se detuvieron los tubos polínicos de dos combinaciones genotípicas y el recíproco de una de ellas resultó ser compatible. Del 50% de las combinaciones compatibles se obtuvieron frutos con un promedio de 148,3 semillas/fruto con el 94% de semillas de tipo A (Tabla 10).

Tabla 8.- Cruzamientos entre las poblaciones CN-1 y Ch-1. Número de flores polinizadas, frutos, semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas.

CN-1 x Ch-1							
Combinación genotípica	Número de flores polinizadas	Número de frutos	Número de semillas/fruto	Relación polen-pistilo <sup>b</sup>	Tipo de Semilla <sup>c</sup>		
					A	B	C
CN-1.4 x Ch-1.4	1	1	82	Comp	66	11	5
CN-1.6 x Ch-1.4	2	0	0	Comp	-	-	-
CN-1.7 x Ch-1.4// <sup>a</sup>	1//2	0//0	0//0	I <sup>2/3</sup> //Comp	-//-	-//-	-//-
CN-1.9 x Ch-1.4	1	1	192	Comp	183	9	0
CN-1.9 x Ch-1.1	1	1	154	Comp	93	30	31
CN-1.11 x Ch-1.1	3	1	107	Comp	79	15	13
CN-1.11 x Ch-1.1	4	0	0	Comp	-	-	-
CN-1.11 x Ch-1.6	1	0	0	I <sup>2/3</sup>	-	-	-
Ch-1.1 x CN-1.7	1	0	0	Comp	-	-	-
Ch-1.4 x CN-1.3	1	0	0	Comp	-	-	-
Ch-1.4 x CN-1.10	2	0	0	I <sup>3/3</sup>	-	-	-
Ch-1.6 x CN-1.7	4	0	0	Comp	-	-	-
Ch-1.6 x CN-1.11	2	0	0	I <sup>2/3</sup>	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>4</b>	<b>133,75<sup>d</sup></b>		<b>105,25<sup>d</sup></b>	<b>16,25<sup>d</sup></b>	<b>12,25<sup>d</sup></b>

//<sup>a</sup> cruzamientos recíprocos; <sup>b</sup> Comp = Cruzamiento Compatible; I<sub>E</sub> tubos polínicos detenidos en el estigma; I<sub>1/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio superior del estilo; I<sub>2/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio medio del estilo; I<sub>3/3</sub> tubo polínico detenidos en el tercio inferior del estilo; <sup>c</sup> A = semillas llenas; B = semillas más pequeñas que A; C = semillas reducidas; <sup>d</sup> promedio de semillas por fruto.

Tabla 9.- Cruzamientos entre las poblaciones CN-2 y Ch-1. Número de flores polinizadas, frutos, semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas.

Combinación genotípica	Número de flores polinizadas	Número de frutos	Número de semillas/fruto	Relación polen-pistilo <sup>b</sup>	Tipo de Semilla <sup>c</sup>		
					A	B	C
CN-2.3 x Ch-1.4// <sup>a</sup>	2//3	0//1	0//57	Comp//Comp	-//16	-//23	-//18
CN-2.4 x Ch-1.1	1	0	0	Comp	-	-	-
CN-2.4 x Ch-1.4	1	0	0	Comp	-	-	-
CN-2.6 x Ch-1.6	1	0	0	I <sup>1/3</sup>	-	-	-
CN-2.7 x Ch-1.4// <sup>a</sup>	1//1	0	0	I <sup>1/3</sup> // I <sup>3/3</sup>	-	-	-
Ch-1.3 x CN-2.3	1	0	0	Comp	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>11</b>	<b>1</b>	<b>57<sup>d</sup></b>		<b>16<sup>d</sup></b>	<b>23<sup>d</sup></b>	<b>18<sup>d</sup></b>

//<sup>a</sup> cruzamientos recíprocos; <sup>b</sup> Comp = Cruzamiento Compatible; I<sub>E</sub> tubos polínicos detenidos en el estigma; I<sub>1/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio superior del estilo; I<sub>2/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio medio del estilo; I<sub>3/3</sub> tubo polínico detenidos en el tercio inferior del estilo; <sup>c</sup> A = semillas llenas; B = semillas más pequeñas que A; C = semillas reducidas; <sup>d</sup> promedio de semillas por fruto.

Tabla 10.- Cruzamientos entre las poblaciones CN-1 y CN-2. Número de flores polinizadas, frutos, semillas por fruto, relación polen-pistilo y clasificación de semillas.

Combinación Genotípica	Número de flores polinizadas	Número de frutos	Número de semillas/fruto	Relación polen-pistilo <sup>b</sup>	Tipo de Semilla <sup>c</sup>		
					A	B	C
CN-1.3 x CN-2.4	1	1	231	Comp	225	4	2
CN-1.4 x CN-2.3// <sup>a</sup>	1//1	1//1	84//133	Comp//Comp	63//130	19//3	2//0
CN-1.5 x CN-2.3	2	1	130	Comp	123	7	0
CN-1.7 x CN-2.6// <sup>a</sup>	2//1	0	0	I <sup>2/3</sup> // Comp	-	-	-
CN-1.7 x CN-2.7	1	1	158	Comp	151	7	0
CN-1.9 x CN-2.7// <sup>a</sup>	2//2	0//1	0//154	Comp // Comp	-//150	-//2	-//2
CN-1.9 x CN-2.7	2	0	0	I <sup>2/3</sup>	-	-	-
CN-1.11 x CN-2.2	2	0	0	Comp	-	-	-
CN-1.11 x CN-2.6	1	0	0	Comp	-	-	-
CN-2.3 x CN-1.9	1	0	0	Comp	-	-	-
CN-2.6 x CN-1.8	1	0	0	Comp	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>6</b>	<b>148,3<sup>d</sup></b>		<b>140,3<sup>d</sup></b>	<b>7<sup>d</sup></b>	<b>1<sup>d</sup></b>

//<sup>a</sup> cruzamientos recíprocos; <sup>b</sup> Comp = Cruzamiento Compatible; I<sub>E</sub> tubos polínicos detenidos en el estigma; I<sub>1/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio superior del estilo; I<sub>2/3</sub> tubos polínicos detenidos en el tercio medio del estilo; I<sub>3/3</sub> tubo polínico detenidos en el tercio inferior del estilo; <sup>c</sup> A = semillas llenas; B = semillas más pequeñas que A; C = semillas reducidas; <sup>d</sup> promedio de semillas por fruto.

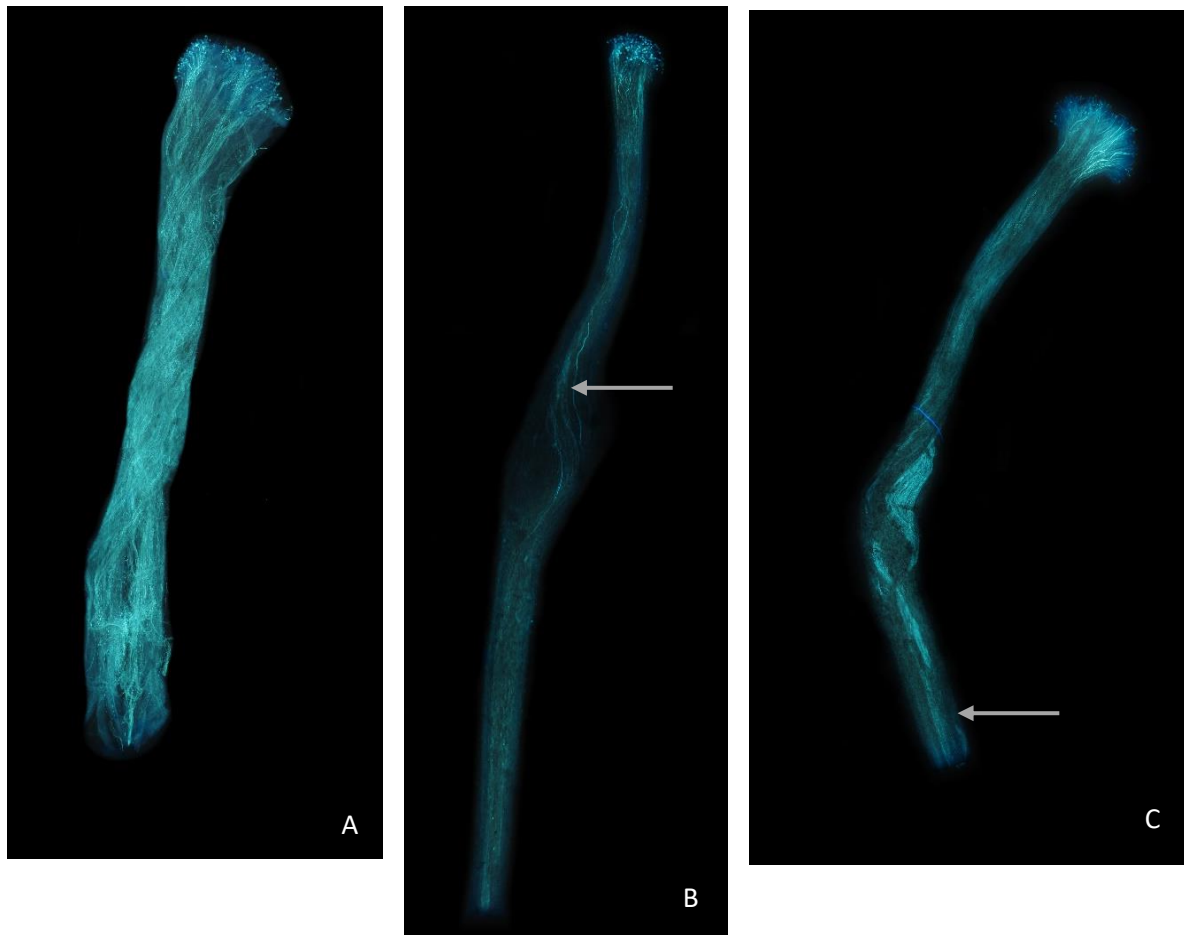


Figura 12.- Compatibilidad a nivel polen-pistilo. A: Combinación genotípica CN-2.4 x Ch-1.4, compatible. B: Combinación genotípica CN-1.7 x Ch-1.4, incompatible en el segundo tercio. C: Combinación genotípica CN-1.8 x CN- 1.7, incompatible en el tercer tercio. Las flechas señalan la zona donde se interrumpe el crecimiento de los tubos polínicos.

## 4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis morfológico de las poblaciones de *S. brevicaula* del PNLC demuestran que existe variabilidad morfológica intrapoblacional, por lo tanto, se acepta la primera hipótesis planteada en esta tesis. Ispizúa (1994), observó que los agrupamientos no se establecían entre poblaciones simpátricas o próximas geográficamente. Asociando las características ecológicas descritas por Erazzú et al. (2009) de los sitios de recolección de cada una de las poblaciones que conforman los grupos morfológicos definidos por Ispizúa (1994), se detectó que las poblaciones de un mismo grupo provenían de ambientes similares. Sin embargo, no se observa el mismo comportamiento en otras ESP, Prieto et al. (2016) analizaron la variabilidad morfológica de poblaciones de *S. commersonii* de diferentes ambientes de la pampa húmeda. Los resultados del análisis morfológico mostraron variación intraespecífica en las poblaciones de *S. commersonii* que no se encontraba asociada a un patrón de distribución geográfica, es decir, no se detectó asociación entre ambiente y variantes morfológicas medidas. Considerando importante entender esta tendencia de agrupamiento entre las poblaciones y su ambiente.

El fenograma obtenido en la presente tesis con clasificación por población, se observó generalmente un agrupamiento de las poblaciones simpátricas, por un lado, CN-1 y CN-2, por otro CN-3 y CN-4. Sin embargo, a pesar de encontrarse estas 4 poblaciones mencionadas en el sitio Cerro Negro, a pocos kilómetros de distancia, las mismas no se agrupan. Más bien, se puede apreciar un ligero agrupamiento entre poblaciones provenientes de unidades vegetales similares, separándose con un alto valor de diferenciación la población VE-1 proveniente de un ambiente rico en vegetación del PNLC. Los caracteres que más influyeron en la diferenciación de las poblaciones de *S. brevicaula* del PNLC fueron: largo foliolo terminal, nº de pares de foliolos laterales, área foliar, relación de altura por ancho del pétalo, ancho del pétalo y largo del estilo. Solo el primer carácter de los mencionados fue identificado por Ispizúa (1994) como el menos influenciado por el ambiente.

Bedogni y Camadro (2009) estudiaron la variabilidad morfológica y genética en introducciones de las ESP de *S. spegazzinii* ( $2n=2x=24$  2EBN), *S. chacoense* ( $2n=2x=24$  2EBN) y *S. kurtzianum* ( $2n=2x=24$  2EBN). Sus resultados demuestran que la variabilidad genética y morfológica observada en estas especies podría ser consecuencia de la hibridación entre poblaciones simpátricas, ya que las introducciones se agruparon en base a su origen geográfico y no por su categoría taxonómica y, además, se han reportado cruzamientos exitosos entre estas especies. La alta variabilidad morfológica encontrada en las poblaciones de *S. brevicaula* del PNLC podría deberse a la presencia de híbridos interespecíficos en estas poblaciones. Es importante destacar que las poblaciones analizadas en esta tesis crecen simpátricamente con poblaciones de otras ESP tales como *S. acaule* ( $2n=4x=48$  2EBN), *S. vernei* ( $2n=2x=24$  2EBN) y *S. boliviense* ( $2n=2x=24$  2EBN) (Kozub et al. 2019), tema relevante para seguir estudiando en futuras investigaciones.

La viabilidad de polen mostró un amplio rango de variación, tomando valores promedios entre 67% a 95% con diferencias significativas entre las poblaciones. Similares fueron los resultados obtenidos por Erazzú et al. (1999) al trabajar con poblaciones de *S. spegazzinii* del noroeste argentino, las cuales presentaron porcentajes de viabilidad de polen del 81% en promedio, solo 7 genotipos de 5

poblaciones presentaron menos del 60% de viabilidad. Poulsen Hornum y Camadro (2014) y Marfil y Masuelli (2014) en poblaciones naturales de las ESP *S. chacoense* y *S. kurtzianum*, respectivamente, también obtuvieron resultados similares a los presentados en esta tesis. Los estudios de viabilidad de polen son relevantes para estimar la fertilidad masculina y por ende el éxito de los cruzamientos entre y dentro de las poblaciones, aunque esto último también depende de otros factores. Por ejemplo, la población CN-1 es la que mostró un alto porcentaje de viabilidad de polen (95%) y a la vez presentó en los cruzamientos intrapoblacionales el crecimiento de una gran cantidad de tubos polínicos en los pistilos y se formaron frutos con mayor número de semillas. Este comportamiento podría también deberse a que en esta población existe una alta variabilidad genética que permite mayor éxito en los cruzamientos.

La androesterilidad está frecuentemente relacionada con la presencia de genotipos de origen híbrido en las poblaciones, como resultado de la hibridación entre poblaciones simpátricas (Camadro et al. 2004; Larrosa et al. 2012; Poulsen Hornum y Camadro 2014). Kozub et al. (2019) identificaron poblaciones de otras ESP creciendo simpátricamente con las poblaciones estudiadas en esta tesis. Las poblaciones con mayor porcentaje de viabilidad fueron aquellas que no crecían simpátricamente con otras especies (CN-1; VT-1 y Ch-1). La población CN-2, muestreada junto a un campo de cultivo de *S. tuberosum* grupo *Andigenum*, presentó alta, media y baja viabilidad de polen, lo que sugiere que ciertas plantas de esta población podrían tener un origen híbrido producto del cruzamiento con las variedades cultivadas de papa. Sin embargo, la segunda población con mayor viabilidad de polen (CN-4) se encuentra creciendo con una población de la especie *S. acaule* ( $2n=4x=48$  2EBN), con la que pueden formar híbridos naturales. Así se demostró en los resultados de Masuelli y Camadro 1997, en donde se comprobó con cruzamientos entre *S. acaule* ( $2n=4x=48$  2EBN) como madre y *S. gourlayi* ( $2n=2x=24$  2ENB) como padre, se obtenían frutos con numerosas semillas de tipo A. En este sentido sería conveniente analizar un mayor número de plantas de cada una de las poblaciones, y realizar análisis del comportamiento meiótico y análisis con marcadores moleculares para detectar eventos de hibridación en las mismas.

En los análisis de compatibilidad polen-pistilo llevados a cabo en la presente tesis, más del 60% de los cruzamientos intrapoblacionales resultaron compatibles, y sin embargo solo en las poblaciones CN-1 y CN-2 el 54% y 33,3% respectivamente de las combinaciones compatibles formaron frutos, con un alto porcentaje (mayor a 92%) de semillas de tipo A. Estos resultados son similares a los reportados por Erazzú et al. (2009) y Maune et al. (2018) quienes realizaron cruzamientos intrapoblacionales en las especies *S. spegazzinii* y *S. gourlayi*, categorizadas recientemente como *S. brevicaulis* (Spooner et al. 2014), presentes en la provincia de Salta. También Ispizúa et al. (2015) estudiaron las relaciones de compatibilidad polen-pistilo en cruzamientos intrapoblacionales en las ESP *S. gourlayi* ( $2n=4x=48$  4EBN) y *S. infundibuliforme* ( $2N=2X=24$  2EBN). Un alto porcentaje de combinaciones genotípicas ensayadas fueron exitosas, aunque mencionan que en ciertos casos a pesar de que los tubos polínicos alcanzaron la base del estilo no se obtuvieron frutos o que los mismos se formaron, pero con semillas vacías o sin semillas (Ispizúa et al. 2015).

En el caso de los cruzamientos interpoblacionales realizados entre CN-1 y CN-2, el 86% de las combinaciones fueron compatibles y produjeron poca cantidad de frutos con un promedio de 133 semillas por fruto, en su mayoría de tipo A. Mientras que en los cruzamientos realizados entre CN-1 y Ch-1 y CN-2 y Ch-1 disminuye la



compatibilidad a 71,5% y 63%, respectivamente, obteniéndose frutos con un menor número de semillas y a la vez un menor porcentaje de semillas de tipo A. En base a estos resultados podemos decir que hay una similitud en la compatibilidad polen-pistilo en los cruzamientos intra e interpoblaciones, sin embargo, hay un mayor número de semillas por fruto y un elevado porcentaje de semillas de tipo A en los cruzamientos intrapoblacionales, disminuyendo estos parámetros en los cruzamientos entre poblaciones simpátricas y más aún entre poblaciones más alejadas dentro del PNLC. Erazzú (2009) evaluó la compatibilidad polen-pistilo en poblaciones de *S. spegazzinii* ( $2n=2x=24$  2EBN) recolectadas de las provincias de Jujuy y Salta, y estableció que los mayores porcentajes de combinaciones incompatibles a nivel polen-pistilo se presentaron en cruzamientos interpoblacionales. También considerando los cruzamientos realizados por Erazzú et al. (1999) tanto entre y dentro de los grupos morfológicos de poblaciones de *S. spegazzinii* señalados por Ispizúa (1994), se observó un alto porcentaje de inhibición de los tubos polínicos en varios sitios del estilo en combinaciones genotípicas de poblaciones pertenecientes al mismo grupo morfológico, como también entre los grupos morfológicos, excepto entre las poblaciones del Grupo 1, donde se encontró una alta compatibilidad a nivel polen-pistilo.

En base a los resultados obtenidos en el análisis del comportamiento reproductivo de las poblaciones de *S. brevicaula* del PNLC, se acepta la segunda hipótesis planteada en esta tesis, ya que se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones en la viabilidad de polen y hubo compatibilidad polen-pistilo tanto en cruzamientos intra como interpoblacionales. En los análisis de compatibilidad polen-pistilo, si bien los porcentajes de compatibilidad dentro y entre poblaciones fueron similares, se detectaron diferencias en el porcentaje de formación de frutos y en el porcentaje de semillas de tipo A. Se puede decir en cuanto a la presencia de barreras precigóticas, se encontraron actuando mecanismos asociados a la incompatibilidad cruzada, ya que se observó la inhibición de los tubos polínicos en distintos niveles del estilo y en ocasiones resultaron inhibidos en uno o en los dos sentidos de las combinaciones. También se puede estimar que las poblaciones presentan una gran variabilidad de haplotipos S, ya que no se observó en ningún cruzamiento la inhibición del tubo polínico en el estigma y se descarta la barrera de autoincompatibilidad gametofítica en estas poblaciones.

Debido a que el número de combinaciones genotípicas en las que se formaron frutos fue bajo en relación al número de combinaciones compatibles (es decir, combinaciones en las que los tubos polínicos alcanzaron la base del estilo) y al elevado porcentaje de formación de semillas de tipo B y C, se propone la existencia de barreras postcigóticas en cruzamientos interpoblacionales. Siendo una barrera postcigótica diferente al EBN, ya que en todo momento se trabajó con poblaciones de igual EBN, por lo que puede estar asociado a otro tipo de barrera postcigótica que genera el aborto de las semillas por disfunción del endosperma, embrión o ambos (Masuelli y Camadro 1997; Ispizúa et al. 2015). Siendo necesario analizar un mayor número de cruzamientos para comprender las relaciones de compatibilidad entre y dentro de las poblaciones.

Contar con conocimiento sobre la biología reproductiva de las poblaciones naturales de ESP es fundamental para comprender los patrones de variación morfológica y molecular de las mismas. En conjunto, la información sobre la variabilidad genética, morfológica y citogenética, la biología reproductiva y la dinámica



poblacional son la base para generar planes adecuados de monitoreo y recolección de germoplasma y estrategias de conservación *in situ* de estas poblaciones. (Camadro et al. 2012). Además, el estudio de la biología reproductiva es indispensable para avanzar en la incorporación de germoplasma silvestre en los planes de mejoramiento de la papa cultivada.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Bedogni, M. C.; Camadro, E. L. 2009. Morphological and molecular evidence of natural interspecific hybridization in the diploid potato *Solanum kurtzianum* from Argentina. *Botany*, 87(1), 78-87.
- Bianchi, A. R.; Cravero, S. A. C. 2010. Atlas climático digital de la República Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: Salta, Argentina.
- Bradshaw, J. E.; Ramsay, G. 2005. Utilisation of the Commonwealth Potato Collection in potato breeding. *Euphytica*, 146(1-2), 9-19.
- Cadima, X.; Van Zonneveld, M.; Scheldeman, X.; Castañeda, N.; Patiño, F.; Beltran, M.; Van Damme, P. 2014. Endemic wild potato (*Solanum* spp.) biodiversity status in Bolivia: Reasons for conservation concerns. *Journal for Nature Conservation*, 22(2), 113-131.
- Camadro E. L.; Carputo D.; Peloquin S.J. 2004. Substitutes for genome differentiation in tuber-bearing *Solanum*: interspecific pollen-pistil incompatibility, nuclear-cytoplasmic male sterility, and endosperm. *Theoretical and Applied Genetics* 109, 1369–1376.
- Camadro, E. L. 2011. Hibridación y flujo génico en especies silvestres de papa de la Argentina. *BAG. Journal of basic and applied genetics*, 22(1).
- Camadro, E. L.; Peloquin, S. J. 1981. Cross-incompatibility between two sympatric polyploid *Solanum* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 60(2), 65-70.
- Cara, N.; Ferrer, M. S.; Masuelli, R. W.; Camadro, E. L.; Marfil, C. F. 2019. Epigenetic consequences of interploidal hybridisation in synthetic and natural interspecific potato hybrids. *New Phytologist*. 222: 1981 - 1993
- Cara, N.; Marfil, C. F.; Masuelli, R. W. 2013. Epigenetic patterns newly established after interspecific hybridization in natural populations of *Solanum*. *Ecology and evolution*, 3(11), 3764-3779.
- CBD 1992. Convention on Biological Diversity: text and annexes. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal. Disponible en: [www.biodiv.org](http://www.biodiv.org).
- Clausen AM, Peralta IE, Spooner DM. 2013. Grupo VIII. Potato. In: Anton, A.M.; Zuloaga, F.O. (eds.) *Flora Argentina (Flora Vascular de la República Argentina)*. Vol. 13, Estudio Sigma S.R.L., Bs. As. pp 264-289.
- Clausen, A. M.; Colavita, M.; Butzonitch, I.; Carranza, A. V. 2005. A potato collecting expedition in the province of Jujuy, Argentina and disease indexing of virus and fungus pathogens in Andean cultivars. *Genetic resources and crop evolution*, 52(8), 1099-1109.
- Clausen, A. M.; Crisci, J. V. 1989. Análisis multivariado de la variación morfológica de poblaciones diploides y tetraploides de *Solanum gourlayi* (Solanaceae) y especies relacionadas. *Darwiniana*, 247-259.
- Crop wild relatives. Consultada el 27 de enero de 2020. [https://www.cwrdiversity.org/checklist/cwr-details.php?specie\\_id=684](https://www.cwrdiversity.org/checklist/cwr-details.php?specie_id=684)
- Erazzú, L. E. 2009. Caracterización genética de las especies silvestres de papa *Solanum gourlayi* y *Solanum spegazzinii* e incorporación de germoplasma silvestre a la papa cultivada (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata).
- Erazzú, L. E.; Camadro, E. L. 2008. Barreras a la hibridación intra e interespecifica en las especies de papa *Solanum spegazzinii* bitt. In *S. gourlayi*

hawkes y *S. tuberosum* ssp. *Tuberosum*. XXXVII Congreso Argentino de Genética, Tandil (pp. 21-24).

- Erazzú, L. E.; Camadro, E. L.; Clausen, A. M. 1999. Pollen-style compatibility relations in natural populations of the wild diploid potato species *Solanum spegazzinii* Bitt. *Euphytica*, 105(3), 219-227.

- Erazzú, L. E.; Camadro, E. L.; Clausen, A. M. 2009. Persistence over time, overlapping distribution and molecular indications of interspecific hybridization in wild potato populations of Northwest Argentina. *Euphytica*, 168(2), 249-262.

- FAO 2014. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/agriculture/crops/mapatematica-del-sitio/theme/>

- FAOSTAT 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat3.fao.org/home>

- Ford-Lloyd, B. V.; Schmidt, M.; Armstrong, S. J.; Barazani, O.; Engels, J.; Hadas, R.; ... Li, Y. 2011. Crop wild relatives—undervalued, underutilized and under threat? *BioScience*, 61(7), 559-565.

- Hawkes J. G. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press.

- Hawkes J.G.; Hjerting J.P. 1969. The potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay. A biosystematic study. Oxford University Press, Oxford.

- Hawkes, J. G. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In Bradshaw and Mackay (ed.). *Potatoes Genetics*. CAB International. Wallingford. UK. 3-42.

- Hayes, R. J.; Thill, C. A. 2002. Introgression of cold (4 C) chipping from 2x (2 Endosperm Balance Number) potato species into 4x (4EBN) cultivated potato using sexual polyploidization. *American journal of potato research*, 79(6), 421-431.

- Hijmans, R. J.; Jacobs, M.; Bamberg, J. B.; Spooner, D. M. 2003. Frost tolerance in wild potato species: Assessing the predictivity of taxonomic, geographic, and ecological factors. *Euphytica*, 130(1), 47-59.

- Hijmans, R. J.; Spooner, D. M. 2001. Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany*, 88(11), 2101-2112.

- Hogenboom, N. G. 1973. A model for incongruity in intimate partner relationship. *Euphytica* 22:219–233. doi: 10.1007/BF00022629.

- InfoStat. Software estadístico 2019. <https://www.infostat.com.ar/>

- Ispizua, V. N. 1994. *Solanum spegazzinii* Bitt: variabilidad intraespecífica y su relación con especies afines. Trabajo de Graduación Ing. Agr., FCA, UNMdP, Balcarce, Argentina.

- Ispizúa, V. N.; Camadro, E. L.; Clausen, A. M. 2015. Variation patterns in natural populations of wild potatoes along Quebrada de Inca Cueva, northwestern Argentina. *Genetic resources and crop evolution*, 62(2), 235-253.

- Jansky S.H.; Dempewolf H.; Camadro E.L.; Simon R.; Zimnoch-Guzowska E.; Bisognin D.A.; Bonierbale M. 2012. A Case for Crop Wild Relative Preservation and Utilization in Potato (*S. tuberosum* L.). *Crop Science* 53, 746–754.

- Jansky, S. H.; Dempewolf, H.; Camadro, E. L.; Simon, R.; Zimnoch-Guzowska, E.; Bisognin, D. A.; Bonierbale, M. 2013. A case for crop wild relative preservation and use in potato. *Crop Science*, 53(3), 746-754.

- Jarvis, A.; Lane, A.; Hijmans, R. J. 2008. The effect of climate change on crop wild relatives. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 126(1-2), 13-23.

- Kermicle J. L.; Evans M. M. S. 2010. The *Zea mays* sexual compatibility gene *ga2*: naturally occurring alleles, their distribution, and role in reproductive isolation. *J. Hered.* 101:737–749. doi:10.1093/jhered/esq090
- Kozub, P. C.; Ibañez, V. N.; Digilio, A.; Atencio, H. M.; Garavano, M. E.; Sánchez, M. E.; Marfil, C. F. 2019. Wild potato Genetic Reserves in Protected Areas: prospection notes from Los Cardones National Park, Salta, Argentina. *Revista De La Facultad De Ciencias Agrarias UNCuyo*, 51(2), 461-474.
- Larrosa, F. H., Maune, J. F., Erazzú, L. E., & Camadro, E. L. (2012). Meiotic abnormalities underlying pollen sterility in wild potato hybrids and spontaneous populations. *Plant Biology*, 14(1), 223-233.
- Lynch, D. R.; Kawchuk, L. M.; Chen, Q.; Kokko, M. 2003. Resistance to *Fusarium sambucinum* in wild and cultivated *Solanum* species. *American journal of potato research*, 80(6), 353-358.
- MAGyP 2017. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Mercado Externo de la Papa. Disponible en: [https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss\\_mercados\\_agropecuarios/areas/hortali zas/archivos/000030\\_Informes/000995\\_Mercado%20Externo%20de%20la%20OPapa%20-%202017.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/areas/hortali zas/archivos/000030_Informes/000995_Mercado%20Externo%20de%20la%20OPapa%20-%202017.pdf)
- Marfil, C. F.; Camadro, E. L.; Masuelli, R. W. 2009. Phenotypic instability and epigenetic variability in a diploid potato of hybrid origin, *Solanum ruiz-lealii*. *BMC Plant Biology*, 9(1), 21.
- Marfil, C. F.; Hidalgo, V.; Masuelli, R. W. 2015. *In situ* conservation of wild potato germplasm in Argentina: Example and possibilities. *Global Ecology and Conservation*, 3, 461-476.
- Marfil, C. F.; Masuelli, R. W. 2014. Reproductive ecology and genetic variability in natural populations of the wild potato, *Solanum kurtzianum*. *Plant Biology*, 16(2), 485-494.
- Martin F.W. (1958). Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Tech* 34, 125–128
- Masuelli, R. W.; Camadro, E. L. 1997. Crossability relationships among wild potato species with different ploidies and Endosperm Balance Numbers (EBN). *Euphytica*, 94(2), 227-235.
- Masuelli, R. W.; Camadro, E. L.; Erazzú, L. E.; Bedogni, M. C.; Marfil, C. F. 2009. Homoploid hybridization in the origin and evolution of wild diploid potato species. *Plant systematics and evolution*, 277(3-4), 143-151.
- Maune, J. F.; Camadro, E. L.; Erazzú, L. E. 2018. Cross-incompatibility and self-incompatibility: unrelated phenomena in wild and cultivated potatoes? *Botany*, 96(1), 33-45.
- Maxted N.; Ford-Lloyd B.V.; Hawkes J.G. 1997a. Complementary conservation strategies. En: Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., & Hawkes, J.G. (Eds.), *Plant Genetic Conservation: The in situ Approach*. Chapman & Hall, London, pp. 15–39.
- Maxted N.; Hawkes J.G.; Ford-Lloyd B.V.; Williams J.T. 1997b. A practical model for in situ genetic conservation. In: *Plant genetic conservation: the in situ approach* (eds. Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V. & Hawkes, J.G.), Pp. 339–367. Chapman & Hall, London.
- Maxted N.; Kell S.; Ford-Lloyd B.; Dulloo E.; Toledo A. 2012. Toward the systematic conservation of global crop wild relative diversity. *Crop Sci.* 52, 774–785

- Maxted, N.; Kell, S. P. 2009. Establishment of a global network for the *in situ* conservation of crop wild relatives: status and needs. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Rome, Italy, 266.
- Maxted, N.; Kell, S. P.; Ford-Lloyd, B. V.; Iriondo, J. M.; Dulloo, E.; Turok, J. 2008. Crop wild relative conservation and use: establishing the context. *Crop wild relative conservation and use*, 3-30.
- Maxted, N.; Scholten, M.; Codd, R.; Ford-Lloyd, B. 2007. Creation and use of a national inventory of crop wild relatives. *Biological Conservation*, 140(1), 142-159.
- Nettancourt, D. 2001. *Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants* (2nd ed.). Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Noé, Y. E.; Gonzalez, A. C.; Elena, H. J.; Bianchi, A. R. 2012. Distribución geográfica de las lluvias en el noroeste de Argentina (región NOA). Ediciones INTA.
- Poulsen Hornum, A., & Camadro, E. L. (2014). Morphological phenotypes, pollen viability and pollen-pistil relations in three natural populations of the wild potato *Solanum chacoense* Bitter. *Basic and Applied Genetics*; 25 (2) ; 7-2014; 16-31
- Prieto, A.; Ispizúa, V. N.; Clausen, A. M. 2016. Distribución y variabilidad morfológica de poblaciones de *Solanum commersonii* (Solanaceae) en la región pampeana de la Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(1), 59-71.
- Ramos N.E. 2000. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Plural editores.
- Sajama, M. J. 2017. Los parientes silvestres de la papa en el noroeste de Argentina: distribución geográfica, amenazas y conservación (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Sánchez, M. E. 2009. Línea base de vegetación del Parque Nacional Los Cardones - Salta. Argentina. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Salta. Argentina.
- Solanaceae Source. Consultada el 27 de enero de 2020. <http://solanaceaesource.org/content/solanum-brevicaule#>
- Spooner, D. M.; Alvarez, N.; Peralta, I. E.; Clausen, A. M. 2016. Taxonomy of wild potatoes and their relatives in Southern South America (Solanum sect. Petota and Etuberosum). *Syst Bot Monogr*, 100, 240.
- Spooner, D. M.; Ghislain, M.; Simon, R.; Jansky, S. H.; y Gavrilenko, T. 2014. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *The botanical review*, 80(4), 283-383.
- Vincent, H.; Wiersema, J.; Kell, S.; Fielder, H.; Dobbie, S.; Castañeda-Álvarez, N. P.; ... Maxted, N. 2013. A prioritized crop wild relative inventory to help underpin global food security. *Biological conservation*, 167, 265-275. (la República Argentina). Vol. 13: 264-289.