
DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA COLECCIÓN VENEZOLANA DE LA FAMILIA CARICÁCEAS

ARIADNE VEGAS GARCÍA, ARIADNA MILIANI,
DILIA RODRÍGUEZ, ASIA Y. ZAMBRANO†,
JOSÉ LUÍS VICENTE-VILLARDÓN y JHONNY R. DEMEY

RESUMEN

Se estudió la diversidad genética de la colección venezolana de la familia Caricáceas a través de 15 iniciadores aleatorios de las series OPA, OPK, OPM, OPY, OPO y OPW, de Operon Technologies Inc., y se identificaron los fragmentos de amplificación asociados a la discriminación entre *Carica papaya* L y tres especies del género *Vasconcellea*: *V. cundinamarcensis* Linden, *V. cauliflora* Jacq y *V. microcarpa* Jacq (subespecie *microcarpa* y *pilifera*). Los 15 iniciadores RAPDs utilizados para la amplificación produjeron un total de 403 fragmentos polimórficos con tamaños entre 186-2550 pares de bases (pb), una proporción de reproducibilidad >90% y permitieron la separación de las cuatro especies, utilizando la disimilaridad debida al coeficiente de emparejamiento simple y los grupos obtenidos bajo el algoritmo UPGMA, aplicados a las tres primeras dimensiones del análisis de coordenadas principales (ACoP). Los fragmentos de am-

plificación seleccionados, después del ajuste del biplot logístico externo (BLE), que intervienen directamente en la clasificación de las accesiones fueron: OPA-07(466pb), OPY-07(640pb), OPY-09(390pb), OPO-10(680pb), OPW-06(230pb) y OPW-06(420pb) que discriminan entre los dos géneros; y OPA-02(1111pb), OPA-07(675pb) y OPW-06(740pb) que separan las especies de *Vasconcellea*. Los análisis no detectaron ningún patrón asociado al origen geográfico. Los resultados obtenidos para la colección de Caricáceas venezolana a través de los iniciadores RAPDs probados coinciden con los reportados por varios autores en estudios morfológicos, análisis bioquímicos y moleculares, y cruzamientos intergenéricos, y han generado información que facilita el manejo de la colección, la elección de progenitores y selección en programas de mejoramiento genético.

La lechosa, *Carica papaya* L., es la única especie del género y como centro de origen se identifican el sur de México y el norte de América Central

(Badillo, 1993, 2000). Al final de la década de los 90 estudios basados en la morfología del ovario, las relaciones de cruzamiento y la filogenia han permitido reclasificar las caricas silvestres y semi-

comerciales en el género *Vasconcellea* St. Hil., denominadas comúnmente 'papayuelas', que incluye unas 21 especies de América del Sur (Aradhya *et al.*, 1999; Badillo, 2000; Badillo *et al.*,

PALABRAS CLAVE / Análisis de Coordenadas Principales / Biplot Logístico Externo / *Carica papaya* / Identidad Genética / RAPDs / *Vasconcellea* /

Recibido: 09/06/2010. Modificado: 04/03/2013. Aceptado: 19/03/2013.

Ariadne Vegas García. Doctora en Ciencias Agrícolas, Universidad Central de Venezuela (UCV), Venezuela. Investigadora y Docente, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP). Maracay, Venezuela. e-mail: avegas@inia.gob.ve

Ariadna Miliani. Master en Agronomía, UCV, Venezuela. Estudiante de Doctorado en Genética, Universidad de León, España. e-mail: amilis00@estudiantes.unileon.es

Dilia Rodríguez. Master en Horticultura, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Venezuela. Investigadora, Centro Nacional de Conservación de los Recursos Fitogenéticos (CNCRF-MPPAMB), Venezuela. e-mail: di-rodriguez@minamb.gob.ve

Asia Yusely Zambrano. Doctora en Ciencias Agrícolas, UCV, Venezuela. Investigadora y Docente, INIA-CENIAP, Venezuela. † 11/2009.

José Luís Vicente-Villardón. Doctor en Estadística, Universidad de Salamanca (USAL), España. Profesor, USAL, España. e-mail: villardon@usal.es

Jhonny R. DemeY. Doctor en Estadística, USAL, España. Bioestadístico, Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Venezuela. Dirección: Laboratorio de Biometría y Estadística, IDEA. Carretera Nacional Hoyo de la Puerta. Valle Sartenejas. Baruta, Venezuela. e-mail: jdemeY@idea.gob.ve

2000). Aunque dentro de la familia Caricácea la lechosa es la especie más importante desde el punto de vista económico, las papayuelas, al igual que la lechosa, producen frutos comestibles jugosos, aromáticos y nutritivos de sabor agradable, los cuales se utilizan en las industrias alimenticia, textil, de pieles, de cauchos y farmacéutica, así como en la repostería doméstica y la medicina popular (Badillo, 1971; NRC, 1989). Además de la diversidad de usos, las papayuelas representan un recurso fitogenético potencial importante por poseer características de adaptabilidad y resistencia a estreses bióticos y abióticos que permiten considerarlas fuentes de genes de resistencia en programas de mejoramiento genético de la lechosa (Mekako y Nakasone, 1975).

En Venezuela, algunas poblaciones de lechosa se consideran asilvestradas por ser dioicas y por encontrarse en zonas alejadas a las áreas cultivadas y se les denomina 'pajarera' (Badillo, 2000). Entre las poblaciones comerciales se encuentran 'Maradol', 'Cartagena', y 'Paraguanera' y otros híbridos introducidos de 'Maradol', 'Red Lady' y 'Carmen'. Las plantaciones abarcan 1-50ha y, además, el cultivo forma parte de la mayoría de los huertos familiares (Vegas *et al.*, 2004). Así mismo, se han identificado tres especies del género *Vasconcellea* o papayuelas. Las papayas de altura: *V. cundinamarcensis* y *V. microcarpa* subesp *pilifera*, y las papayas de altitudes medias a bajas: *V. cauliflora* y *V. microcarpa* subesp *microcarpa* (Badillo, 1971, 2000).

La *V. cundinamarcensis* V.M. Badillo es abundante en sitios templados desde Panamá hasta Bolivia, a alturas de 1500-3000msnm. Frecuentemente protegida y semicultivada; es posible hallarla en situaciones disímiles, bien a campo abierto y a veces ventoso y seco, así como en lugares umbríos y húmedos dentro del bosque. En Venezuela se distribuye exclusivamente en la región andina, estados Mérida, Táchira y Trujillo, entre los 1900 y 2800msnm. Son plantas arborescentes de hasta más de 10m de altura; hojas grandes de hasta 60cm de ancho y pecíolo de hasta 40cm de largo. Posee flores masculinas, femeninas y bisexuales, verde o crema o amarillo-verdosas, corto-pedunculadas. Los frutos son amarillos, de cinco lados, con longitud de 15-20cm, peso hasta 130g, ácidos, con muchas semillas puntiagudas, pulpa y una fragancia fuerte, agradable y penetrante (Badillo, 1993; Rodríguez *et al.*, 2005a, b). En Chile y Perú se cultiva comercialmente, y los frutos se utilizan en la elaboración de jaleas, conservas, mer-

meladas y bebidas (Hoyos, 1989; Morales *et al.*, 2004).

Vasconcellea cauliflora (Jacq.) A. DC es una especie propia de selvas tropicales o de transición; se distribuye desde el sur de México hasta el norte de Sur América, incluyendo la isla de Trinidad, a alturas de 0-1200msnm. En general, esta especie coincide en gran parte con el área de distribución de la *C. papaya*. En Venezuela se distribuye desde el centro-occidente hasta el nororiental, abarcando los estados Anzoátegui, Aragua, Barinas, Carabobo, Guárico, Lara, Mérida, Sucre, Trujillo, Yaracuy y Zulia. Las plantas son vigorosas, con altura que en algunos casos exceden los 6m, no tienen ramificaciones, de hojas grandes de hasta 0,5m², de cinco lóbulos, palmatilobadas, haz de color verde claro y pecíolo de más de 60cm de largo. Flores masculinas de 3-3,5cm de largo, con pedicelo corto y corola blanco-verdosa. Flores femeninas grandes de 3-5cm, con pedicelo de 2-3cm y corola blanca. Los frutos son ovoides, amarillos, de hasta 7cm de largo, peso entre 25 y 112g, y semillas numerosas. Es comestible en ciertas partes, limitadamente (Badillo, 1971, 1993; Rodríguez *et al.*, 2005a, b).

Vasconcellea microcarpa (Jacq.) A. DC es propia de bosques subtropicales húmedos y dos de las cinco subespecies se encuentran en Venezuela. La subespecie *microcarpa* además se distribuye en zonas bajas de Colombia, Ecuador, Guayana Francesa, Panamá y Perú, a alturas de 500-1200msnm y en Venezuela se ha reportado en los estados Apure, Aragua, Distrito Federal, Falcón, Mérida y Miranda. La subespecie *pilifera* solo ha sido reportada en Venezuela, en los estados Lara y Mérida, a alturas de 1200-2400msnm; las plantas son de tamaño pequeño a mediano, con tallo simple, presentan una alta variabilidad en cuanto a las dimensiones de hojas y flores, y alcanzan hasta 2m de altura. Sus hojas son medianas a grandes, frecuentemente del mismo verde en ambas caras. Inflorescencias masculinas verde-amarillentas, amarillas o blancas, de 15-20cm de largo, generalmente largo-pedunculadas. Flores femeninas con pedúnculo corto o raramente hasta 9cm de largo. Los frutos son redondeados, de color amarillo hasta anaranjado, pequeños y ácidos, de 1,2-4cm de largo, con pesos entre 2,8-3,5g, semillas abundantes y pulpa escasa, no útiles para el consumo humano (Badillo, 1971, 1993, 2000; Rodríguez *et al.*, 2005a, b). De acuerdo a Vickers y Plowman (1984) los frutos de la subespecie *heterophylla* se colectan y se consumen en el Ecuador.

Basados en el espectro de variabilidad genética descrito, la existencia de información previa, la tecnología disponible, la importancia económica y estratégica ya que son especies con potencial alimenticio, arraigadas en las comunidades agrícolas venezolanas y que pueden ser utilizadas dentro de un sistema de agricultura sustentable, el Centro Nacional de Conservación de los Recursos Fitogenéticos (CNCRF), adscrito a la Oficina Nacional de Diversidad Biológica (ONDB) del Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MPPAMB) estableció la colección de la familia Caricáceas de Venezuela, con el objetivo de preservar, medir y caracterizar su diversidad genética, y generar información requerida para agricultores y mejoradores de plantas que incentive y contribuya al uso y desarrollo de cultivos que permitan proteger estos recursos genéticos, superar las limitaciones naturales y obtener mayores beneficios.

En conjunto con la caracterización morfológica de las accesiones, las técnicas de marcadores moleculares constituyen una herramienta poderosa para la detección y evaluación de la variabilidad genética del germoplasma. Además, contribuyen en acelerar el proceso de mejoramiento, en la selección de características agrónomicamente deseables, por su rapidez, confiabilidad y reproducibilidad. En la familia Caricácea se han desarrollado marcadores moleculares a nivel mundial, basados en el ligamiento genético y utilizados para estudiar la relación entre el marcador molecular y características agronómicas importantes. Sus aplicaciones, entre otras, abarcan la selección temprana de los mejores segregantes de poblaciones mejoradas, la identificación y evaluación de la variación genética de cultivares de lechosa, especies de *Vasconcellea* e híbridos, determinación del sexo, estudios taxonómicos y la construcción de mapas genéticos (Magdalita *et al.*, 1997; Paranis *et al.*, 2000; Van Droogenbroeck *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2004; Kyndt *et al.*, 2005, 2007; Lai *et al.*, 2006; Sánchez-Betancourt y Núñez-Zarantes, 2008; Yu *et al.*, 2009).

En los géneros *Carica* y *Vasconcellea*, ambos caracterizados por un genoma pequeño diploide $2n=18$, 372-744Mbp (Arumuganathan y Earle, 1991), su diversidad ha sido investigada a través de estudios isoenzimáticos, RAPDs, RFLPs, AFLPs, microsatélites y PCR-RFLPs. Para la mayoría de los marcadores moleculares se han detectado suficientes patrones polimórficos con un alto número de fragmentos específicos que permiten identificar cultivares y

progenies F1 de lechosa y especies de *Vasconcelleas* (Aradhya *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2002; Van Droogenbroeck *et al.*, 2002, 2004; Kyndt *et al.*, 2005, 2007; Morales *et al.*, 2004; Ocampo Pérez *et al.*, 2006; Eustice *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2008; Carrasco *et al.*, 2009). La mayoría de los estudios muestran una limitada diversidad genética de *Carica papaya* y soportan la separación en dos géneros. No obstante, la enorme diversidad intra e interespecifica de las especies de *Vasconcellea*, que combinada con la condición de alogamia y la ocurrencia de hibridación natural dentro del género, complican su identificación y clasificación taxonómica, y favorecen la aparición de nuevos genotipos que amplían la base genética del género, por lo cual cobra importancia el trabajo molecular (Badillo, 2000; Morales *et al.*, 2004; Kyndt *et al.*, 2005, 2007; Scheldeman *et al.*, 2007).

El presente trabajo estudia la diversidad genética de la colección venezolana de la familia Caricáceas a través de iniciadores RAPDs, e identifica los fragmentos de ADN del área del genoma estudiado que están asociados a la discriminación entre *Carica papaya* y tres especies del género *Vasconcellea*, con el objeto de generar la información básica que contribuya al conocimiento de la base genética disponible para la conservación de las especies, la elección de posibles progenitores y la selección en los programas de mejoramiento genético.

Materiales y Métodos

El desarrollo experimental de las actividades se llevó a cabo en la Unidad de Biotecnología Agrícola Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP). Para el cálculo de la capacidad informativa y discriminatoria de los iniciadores se utilizó Info-Gen ver 2011 (Balzarini *et al.*, 2011). Para los cálculos y representaciones gráficas de los procedimientos estadísticos utilizados se usó un conjunto de rutinas desarrolladas bajo Matlab versión 2011 (Matlab, 2011) que pueden ser obtenidas a través de www.biplot.usal.es.

Material vegetal, extracción y amplificación del ADN

Se realizó la extracción de ADN genómico total según metodología descrita por Shure *et al.* (1983), en muestras de tejido foliar joven de plantas mantenidas en condiciones de umbráculo o de campo de 61 accesiones pertene-

cientes a la colección de Caricáceas del CNCRF, las cuales constituyen una muestra representativa del germoplasma venezolano de esta familia. La muestra por género se distribuyó en: 28 accesiones del género *Carica* (*C. papaya* L. o lechosa) y 33 del género *Vasconcellea*, de las cuales 21 correspondían a *V. cundinamarcensis* Linden, ocho a *V. cauliflora* Jacq y cuatro a *V. microcarpa* Jacq (dos de la subespecie *microcarpa* y dos de la subespecie *pilifera*). La amplificación fue realizada en un temociclador MJResearch - PC200, en un volumen total de 25µl conteniendo 2,5mM MgCl₂, Buffer B 1X, 200µM DNTPs, 1µM de primer, 1U de Taq Polimerasa Promega® y 25ng de ADN genómico. Los ciclos PCR se iniciaron con una desnaturalización a 94°C durante 5min, seguido por 45 ciclos de amplificación, una desnaturalización a 93°C por 1min, una alineación del iniciador a 45°C por 30s y una extensión final a 72°C por 7min, y se conservó a 4°C (Sharon *et al.*, 1992; Stiles *et al.*, 1993; Jobin-Décor *et al.*, 1997; Parasnis *et al.*, 2000; Tokumoto *et al.*, 2000). Los productos de amplificación se separaron mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa 1,2%, con bromuro de etidio (0,5µg/ml), a 45mA y 100V, durante 2,5h en buffer TBE 0,5X, pH 8,3 y luego se digitalizó la imagen con el Chemidoc de BIORAD®. Para la cuantificación del ADN y la determinación del peso molecular de los patrones de bandas se utilizó la escalera 1Kb. Se utilizaron 15 iniciadores RAPDs de Operon Technologies Inc: OPA-01, OPA-02, OPA-07, OPA-09, OPA-10, OPK-06, OPK-15, OPK-20, OPM-04, OPM-20, OPY-03, OPY-07, OPY-09, OPO-10 y OPW-06, seleccionados de la literatura y en el patrón polimorfismo diferencial resultante en pruebas preliminares (Jobin-Décor *et al.*, 1997; Magdalita *et al.*, 1998).

Análisis de datos

En los criterios de análisis se consideraron solo los fragmentos de amplificación con una intensidad >50%, debido a que fragmentos más débiles pudieran incluir artefactos resultantes de la técnica (Kyndt *et al.*, 2006). En ausencia de análisis de segregación no se hizo ningún supuesto sobre la naturaleza genética de los alelos; los fragmentos de amplificación fueron codificados de acuerdo a un marcador dominante, es decir, $A_1A_1 = A_1A_2 = 1$ y $A_2A_2 = 0$, generando una columna por locus para cada iniciador. El nivel de polimorfismo y la capacidad discriminatoria de cada iniciador se valoró a través del contenido de

información polimórfica (PIC) y la probabilidad de obtener parejas idénticas de alelos entre las muestras estudiadas (Anderson *et al.*, 1993; Demey *et al.*, 2003). La relación genética entre las 61 accesiones pertenecientes a la colección de Caricáceas fue estudiada aplicando la estrategia metodológica propuesta por Demey *et al.* (2008), que plantea el uso combinado del análisis de coordenadas principales (ACoP), el análisis de conglomerados (AC) y el ajuste de un biplot logístico externo (BLE), sobre datos de disimilitud utilizando los coeficientes de Jaccard, emparejamiento simple, Dice y Rogers y Tanimoto (Sneath y Sokal, 1973). El número k de dimensiones a ser retenidas, el coeficiente de similitud que mejor define la estructura de los datos y las medidas de la calidad fueron calculados utilizando también los procedimientos descritos por Demey *et al.* (2008).

Resultados y Discusión

El protocolo de extracción fue eficiente y se obtuvo ADN de buena calidad para todas las muestras con una concentración promedio de 86ng·µl⁻¹. Los 15 iniciadores aleatorios (RAPDs) utilizados para la amplificación produjeron un total de 403 fragmentos polimórficos, con un tamaño entre 186-2550 pares de bases (pb) y una proporción de reproducibilidad >90%. El menor número de fragmentos fue generado con el iniciador OPA-07, con un total de 12, y el mayor número fue amplificado con el iniciador OPA-10 con un total de 38 (Tabla I). Los iniciadores más informativos para el conjunto de las accesiones evaluadas fueron OPA-02, OPA-07 y OPW-06 con valores del contenido de información polimórfica cercano al 50% del intervalo teórico de 0,01 a 0,50 y además mostraron la mayor capacidad discriminatoria, evaluada ésta a través de la probabilidad de que dos accesiones diferentes tengan igual identidad. Utilizando los 15 iniciadores la probabilidad media de que dos accesiones diferentes tuvieran igual identidad fue de $1,54 \times 10^{-121}$. El grado de reproducibilidad obtenido en la amplificación de los fragmentos y la probabilidad media revelaron un alto grado de confianza en el conjunto de iniciadores seleccionados, dado que la región del genoma explorada permite la discriminación de hasta 10^{121} muestras de manera simultánea (Tabla I). Como ilustración, en la Figura 1 se muestra la huella digital de los 403 fragmentos polimórficos; las alternativas alélicas $A_1A_1 = A_1A_2 = 1$ y $A_2A_2 = 0$ se representan en negro y blanco, respectivamente. El código de barra obtenido ofrece una idea de la variabilidad esperada entre

TABLA I
RANGO DE AMPLIFICACIÓN, NÚMERO DE FRAGMENTOS POLIMÓRFICOS, CONTENIDO DE INFORMACIÓN POLIMÓRFICA Y PROBABILIDAD DE IGUAL IDENTIDAD DE LOS 15 INICIADORES RAPDS

| Iniciador RAPD | Secuencia | Rango de amplificación (pb) | Fragmentos polimórficos | Contenido de información polimórfica | Probabilidad de igual identidad ¹ |
|----------------|------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------------|--|
| OPA-01 | 5'-CAGGCCCTTC-3' | 268-1810 | 24 | 0,1721 (0,0253) | 6,0x10 ⁻⁰⁹ |
| OPA-02 | 5'-TGCCGAGCTG-3' | 186-1126 | 18 | 0,2240 (0,0220) | 1,6x10 ⁻¹⁰ |
| OPA-07 | 5'-GAAACGGGTG-3' | 466-1720 | 12 | 0,2160 (0,0210) | 6,4x10 ⁻¹¹ |
| OPA-09 | 5'-GGGTAACGCC-3' | 312-1510 | 25 | 0,1869 (0,0209) | 5,8x10 ⁻⁰⁹ |
| OPA-10 | 5'-GTGATCGCAG-3' | 219-1936 | 38 | 0,1295 (0,0178) | 4,0x10 ⁻⁰⁶ |
| OPK-06 | 5'-CACCTTTCCC-3' | 250-1600 | 26 | 0,1214 (0,0128) | 2,2x10 ⁻⁰⁵ |
| OPK-15 | 5'-CCCGCTACAC-3' | 240-1650 | 37 | 0,1599 (0,0166) | 3,4x10 ⁻⁰⁹ |
| OPK-20 | 5'-CCCCCCCCAC-3' | 200-1700 | 24 | 0,1135 (0,0114) | 1,3x10 ⁻⁰⁶ |
| OPM-04 | 5'-GGCGTTGTC-3' | 200-2060 | 34 | 0,1513 (0,0180) | 4,0x10 ⁻⁰⁸ |
| OPM-20 | 5'-AGGTCTTGGG-3' | 230-1900 | 35 | 0,1705 (0,0200) | 2,9x10 ⁻⁰⁹ |
| OPY-03 | 5'-GGCTGCAATG-3' | 300-1800 | 22 | 0,1895 (0,0141) | 1,1x10 ⁻⁰⁹ |
| OPY-07 | 5'-AGAGCCGTCA-3' | 230-1530 | 34 | 0,1524 (0,0192) | 2,9x10 ⁻⁰⁸ |
| OPY-09 | 5'-AGCAGCGCAC-3' | 220-2550 | 28 | 0,1625 (0,0163) | 1,2x10 ⁻⁰⁷ |
| OPO-10 | 5'-TCAGAGCGCC-3' | 300-1650 | 23 | 0,1950 (0,0167) | 1,4x10 ⁻⁰⁹ |
| OPW-06 | 5'-AGGCCCGATG-3' | 230-1700 | 23 | 0,2036 (0,0148) | 1,8x10 ⁻¹⁰ |

¹Probabilidad de que dos individuos para el *Loci* evaluado tengan igual identidad.

las especies como resultado de la región del genoma explorada con los 15 iniciadores.

La Tabla II detalla los fragmentos de ADN amplificados y la proporción de *loci* polimórficos de los 15 iniciadores RAPD en las cinco especies de Caricácea estudiadas. Se definen tres grupos de diversidad genética ($p \leq 0,05$); el de mayor diversidad formado por las muestras *V. cundinamarcensis*; el de diversidad intermedia formado por las muestras de *V. cauliflora* y *C. papaya*; y el de baja diversidad formado por las subespecies *pilifera* y *microcarpa* de *V. microcarpa*. Este gradiente de diversidad genética está asociado a la proporción de *loci* polimórficos calculados para cada especie. Es así como los iniciadores que sean más informativos podrán asociarse a regiones del genoma con mayor capacidad para separar algunas especies del resto, y su interacción es la que permite la definición de grupos. Cabe destacar que aunque pueda suponerse que los resultados están asociados al número de accesiones utilizadas por especies o subespecies, se observa, por ejemplo, como en ambas subespecies de *V. microcarpa* existe una clara especificidad discriminadora de los iniciadores OPA-02, OPA-10, OPM-20, OPK-06 y OPK-15.

En la Figura 2a se muestra el espacio bi-

dimensional obtenido del análisis de coordenadas principales (ACoP), utilizando el coeficiente de similitud de emparejamiento simple, que según la metodología de análisis propuesta, refleja la mayor coherencia entre la matriz de distancias observadas y estimadas, la cual garantiza la mayor estabilidad de la representación, permite establecer con claridad la calidad de las visualizaciones, ofrece una mejor aproximación de cómo son las relaciones entre las accesiones e indica que no es necesario retener más de tres dimensiones para extraer la mayor cantidad de información. En términos de similitud, esto significa que es posible probar que dos individuos con posiciones más cercanas en la representación bidimensional o tridimensional, tendrán patrones más similares de ADN respecto a las secuencias aleatorias utilizadas.

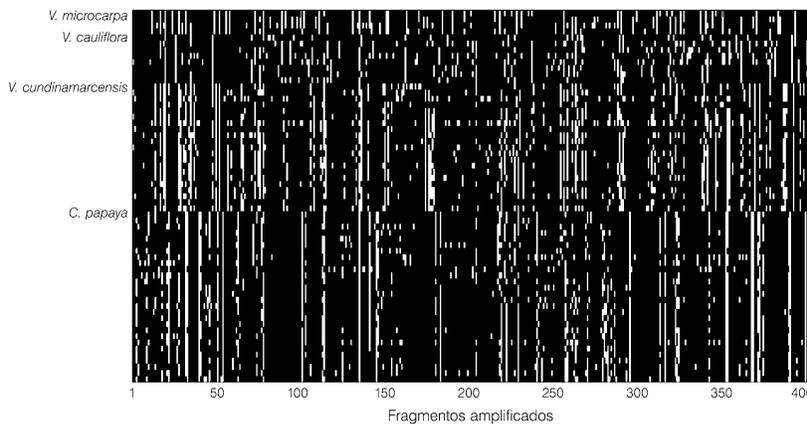


Figura 1. Huella digital de los 403 fragmentos polimórficos para las 61 accesiones de la familia Caricácea.

Las dos primeras dimensiones explican el 38,43% de la variabilidad total y permiten la formación de tres grupos de accesiones utilizando los 15 iniciadores RAPDs y que son claramente demarcados por el diagrama de Voronoi. El primer grupo formado por las accesiones de *V. cundinamarcensis*, el segundo grupo formado por las accesiones de *C. papaya* y el tercer grupo formado por las accesiones de *V. cauliflora* y *V. microcarpa*, con una similitud genética media de $0,8551 \pm 0,0020$; $0,8994 \pm 0,0013$; y $0,8238 \pm 0,0063$; y una calidad de representación calculada con las dos primeras dimensiones de 99,34; 99,82; y 97,47%, para el primero, segundo, y tercer grupo, respectivamente. Obsérvese que la técnica de agrupación preserva la estructura de grupos esperada y sugiere que la menor calidad de representación asociada al grupo que incluye *V. cauliflora* y *V. microcarpa* puede tener una mejor representación en otra dimensión.

La Figura 2b muestra el primer paso del ajuste del biplot logístico externo (BLE) sin haber iniciado el proceso de selección de variables, es decir, se incluyen los 403 fragmentos amplificados y su relación con los grupos generados vía ACoP. Nótese que los iniciadores, por su condición aleatoria exploran, además del área del genoma considerado, otras regiones que no tienen ninguna relación con la clasificación. Después del ajuste en el BLE, el porcentaje de coincidencias entre la matriz de los datos binarios original y la estimada de los modelos logísticos o porcentaje de clasificación correcta (PCC) y el porcentaje de clasificación correcta de las accesiones fueron $>90\%$. Esta estrategia metodológica permite estudiar en la misma representación no solo la relación entre los individuos como en el análisis de conglomerados clásico, sino que además permite estudiar la relación entre individuo-alelo y alelo-alelo. Para más detalles sobre su aplicación e interpretación se puede consultar a Demey *et al.* (2008).

En la Figura 3a se muestra el espacio tridimensional obtenido del ACoP. Estas tres dimensiones explican el 43,95% de la variabilidad total y permiten separar las especies *V. cauliflora* y *V. microcarpa*, que en la representación previa formaban un solo grupo, mejorando

TABLA II
TOTAL DE FRAGMENTOS DE ADN AMPLIFICADOS, PROPORCIÓN
DE *LOCI* POLIMÓRFICOS Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE LOS INICIADORES RAPD
POR ESPECIE DE CARICÁCEA

| Iniciador RAPD | <i>C. papaya</i> | <i>V. cundinamarcensis</i> | <i>V. cauliflora</i> | <i>V. macrocarpa</i> subespecie <i>microcarpa</i> | <i>V. macrocarpa</i> subespecie <i>pilifera</i> |
|--|------------------|----------------------------|----------------------|---|---|
| OPA-01 | 14 | 9 | 5 | 2 | 0 |
| OPA-02 | 6 | 12 | 6 | 0 | 0 |
| OPA-07 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| OPA-09 | 9 | 17 | 6 | 2 | 1 |
| OPA-10 | 7 | 14 | 21 | 9 | 5 |
| OPK-06 | 13 | 7 | 8 | 4 | 0 |
| OPK-15 | 17 | 22 | 11 | 5 | 2 |
| OPK-20 | 9 | 15 | 11 | 2 | 1 |
| OPM-04 | 17 | 25 | 8 | 3 | 4 |
| OPM-20 | 28 | 15 | 18 | 4 | 2 |
| OPY-03 | 14 | 14 | 9 | 5 | 2 |
| OPY-07 | 12 | 18 | 18 | 3 | 7 |
| OPY-09 | 10 | 15 | 15 | 3 | 1 |
| OPO-10 | 6 | 10 | 12 | 2 | 4 |
| OPW-06 | 6 | 8 | 6 | 0 | 2 |
| Proporción de <i>loci</i> polimórficos (95) ¹ | 0,3002 (0,0238) | 0,3573 (0,0240) | 0,3821 (0,0247) | 0,1092 (0,0151) | 0,0769 (0,0127) |
| Diversidad genética | 0,0970 (0,0119) | 0,1380 (0,0120) | 0,1279 (0,0124) | 0,0546 (0,0076) | 0,0385 (0,0063) |

¹ El locus es considerado polimórfico si la frecuencia del alelo más común excede de 0,95. Números entre paréntesis se refieren al error estándar Bootstrap.

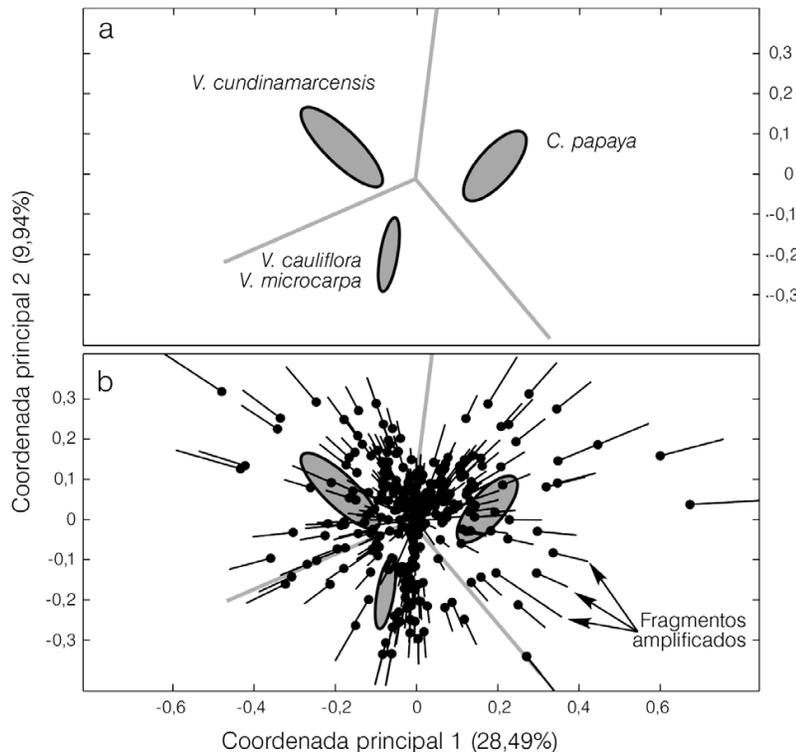


Figura 2. Relaciones genéticas entre las 61 accesiones de la familia Caricácea basadas en la disimilitud debida al coeficiente de emparejamiento simple y los quince iniciadores RAPDs. a: grupos obtenidos bajo el algoritmo UPGMA utilizando las dos primeras coordenadas principales retenidas, y b: representación de grupos y todos los fragmentos de amplificación generados por los quince iniciadores después del ajuste del biplot logístico externo (BLE).

así la calidad de la representación. Adicionalmente, la Figura 3a muestra la variabilidad muestral de la configuración, generada a través del remuestreo sobre los residuales usando como método de transformación el Procrustes generalizado. El análisis revela que la configuración presenta una estabilidad de 86,29%; es decir, las accesiones serán proyectadas en esas coordenadas, en promedio, con un error <14%. Estos resultados garantizan la confiabilidad de la clasificación y exoneran de posibles errores a la selección del tamaño de muestra diferencial por especies, corroborado ésto por la amplitud moderada de las elipses. Los dos nuevos grupos generados en la representación tridimensional presentan una similitud genética media de $0,8539 \pm 0,0065$ y $0,9061 \pm 0,0088$, para las especies *V. cauliflora* y *V. microcarpa*, respectivamente.

En la Figura 3b se muestra en el espacio tridimensional las accesiones y los fragmentos de amplificación seleccionados después del ajuste del BLE, una vez aplicados acumulativamente los criterios de corrección del ajuste por el p-valor ($p \leq 0,01$), Bonferroni y el pseudo R^2 de Nagelkerke/Cragg & Uhler's ($R^2 \geq 0,75$). Se puede observar que de los 403 fragmentos amplificados solo nueve intervienen directamente en la clasificación de las especies, a saber: OPA-07(466pb), OPA-09(390pb), OPO-10(680pb) y OPW-06(230pb) altamente correlacionados con el eje 1; OPY-07(640pb) y OPW-06(420pb) altamente correlacionados con el eje 2; y OPA-02(1111pb), OPA-07(675pb) y OPW-06(740pb) altamente correlacionados con el eje 3. Si se consideran las dimensiones de la solución de las coordenadas principales como gradientes genéticos latentes, las significancias de las correlaciones con los fragmentos representan la importancia en la separación entre los géneros y dentro de especies. Es así como los fragmentos asociados con los ejes 1 y 2, permitirán discriminar más apropiadamente las *Caricas* de las *Vasconcelleas*, y los asociados al eje 3 entre las especies de *Vasconcelleas*. Como ayuda a la interpretación, la Figura 4 muestra la proyección para cada uno de los nueve fragmentos de amplificación

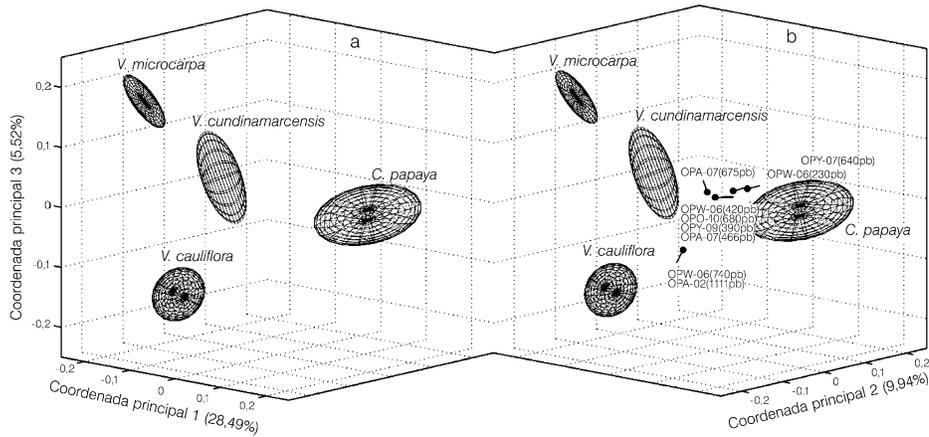


Figura 3. Relaciones genéticas entre las 61 accesiones de la familia Caricácea basada en la disimilitud debida al coeficiente de Emparejamiento simple y los quince iniciadores RAPDs. a: grupos obtenidos bajo el algoritmo UPGMA utilizando las tres primeras coordenadas principales retenidas, y b: representación de grupos y fragmentos de amplificación seleccionados después del ajuste del biplot logístico externo (BLE) y corregida por el p-valor, Bonferroni y el pseudo R^2 de Nagelkerke/Cragg & Uhler's.

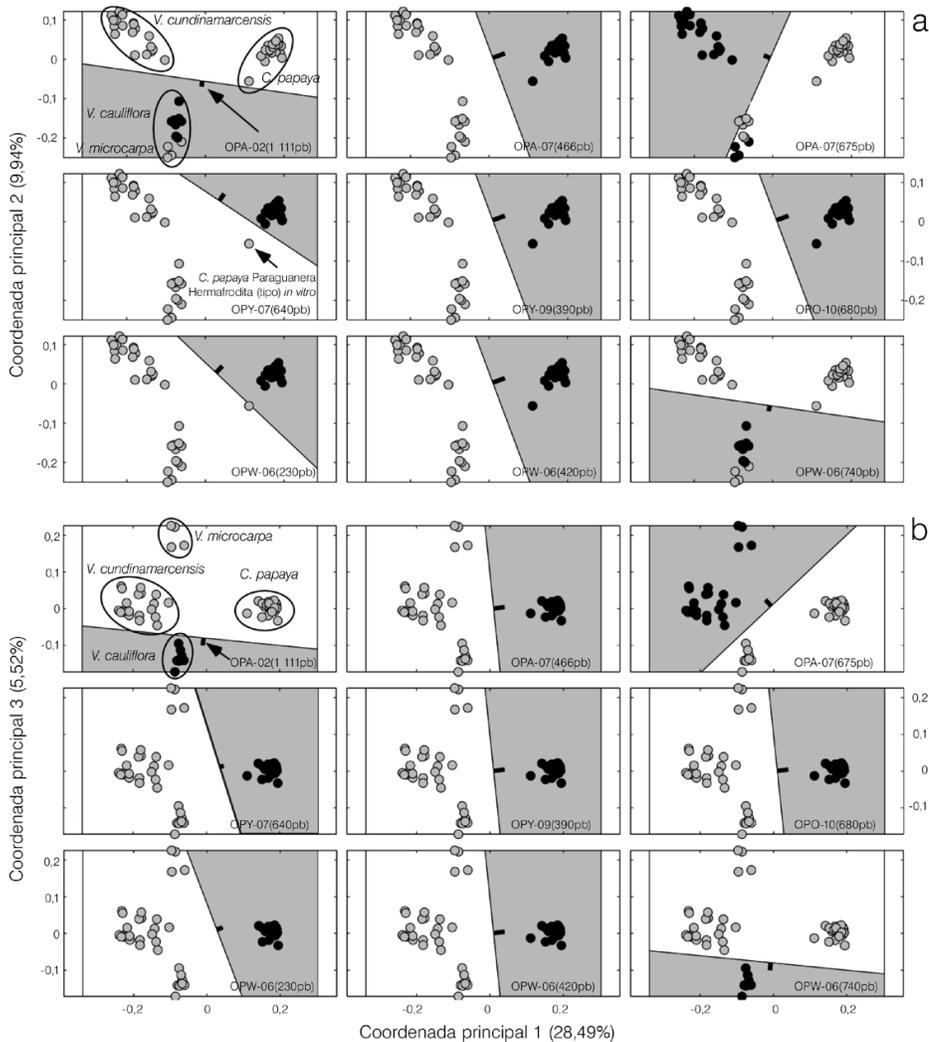


Figura 4. Proyección para cada fragmento de amplificación seleccionados después del ajuste del biplot logístico externo (BLE) corregido por el p-valor, Bonferroni y el pseudo R^2 de Nagelkerke/Cragg & Uhler's y su relación con la formación de grupos entre las 61 accesiones de la familia Caricácea.

seleccionados después del ajuste del BLE corregido por el p-valor, Bonferroni y el pseudo R^2 de Nagelkerke/Cragg & Uhler's y su relación con la formación de grupos (distinguidos por los fondos oscuro y claro en la figura), entre las 61 accesiones de la familia Caricácea (representadas por los círculos negros).

Aunque fue mencionada la limitada diversidad genética de *C. papaya*, es necesario hacer referencia al caso de la *C. papaya* tipo Paraguanera hermafrodita, *in vitro*, que en todos los gradientes estudiados se aleja del grupo de las Caricas (Figura 4) aunque no lo suficiente como para considerarlo un grupo diferente. No obstante, en esta accesión se observa una variabilidad considerable en el caso de los fragmentos OPY-07(640pb) y OPW-06(230pb), dimensiones 1-2 que, como fue indicado, representa el gradiente genético que permite separar los dos géneros. Esto puede deberse a que en la multiplicación acelerada y prolongada *in vitro* de los brotes axilares y adventicios, por más de 3 años, se hayan inducido y acumulado mutaciones somáticas que las diferencien de los demás tipos de papaya, inclusive de las otras tipo Paraguanera, procedentes de muestras de hojas de campo (Pérez, 1998; Morales *et al.*, 2004). En otro caso, se ha encontrado amplia diversidad intraespecífica, a nivel citoplásmico, nuclear y morfológico, en los híbridos naturales de *V. x heilbornii* (*V. M. Badillo*) *V. M. Badillo*, propagados asexualmente por estacas (Kyndt *et al.*, 2005, 2007).

Consideraciones Finales

Los resultados obtenidos para la colección venezolana de Caricáceas a través de iniciadores RAPDs coinciden con los reportados por varios autores en análisis moleculares (Jobin-Décor *et al.*, 1997; Aradhya *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2004; Kyndt *et al.*, 2005, 2006, 2007) y bioquímico (Jobin-Décor *et al.*, 1997); en estudios morfológicos (Badillo, 1971, 1993) y cruza-mientos intergenéricos (Horovitz y Jiménez, 1967; Mekako y Nakasone, 1975; Manshardt y Wenslaff, 1989; Vegas *et al.*, 2003). Un hecho importante que distingue a la lechosa de las otras papayas es su origen centro americano, a diferencia del origen sur americano de las *Vasconcelleas* (Aradhya *et al.*, 1999). Así mismo se demuestra que entre las especies de *Vasconcelleas* estudiadas, *V. cauliflora* y *V. microcarpa* presentan mayor afinidad, y probablemente entre estas especies pudo haber ocurrido introgresión, puesto que *V.*

cauliflora y *V. microcarpa* subespecie *microcarpa* comparten áreas de distribución (Rodríguez *et al.*, 2005a) y son alógamas de fácil cruzabilidad (Horovitz y Jiménez, 1967). Además, estudios de cruzamiento de las *Vasconcelleas* han demostrado que existe compatibilidad completa entre estas tres especies estudiadas y sus recíprocos, lo cual corrobora su cercanía genética (Horovitz y Jiménez, 1967; Mekako y Nakasone, 1975; Mandshardt y Wenslaff, 1989). Dentro de los materiales evaluados no se detectó un patrón asociado al lugar de origen, como ha sido encontrado en otros trabajos (Van Droogenbroeck *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2004).

Basados en los iniciados RAPDs, se estableció la huella genética de 61 accesiones de la colección de Caricáceas venezolana y sus relaciones genéticas; además, se identificaron los fragmentos de ADN asociados a la clasificación entre los géneros *Carica* y *Vasconcellea*. Este conocimiento complementa la caracterización morfológica de las accesiones del banco de germoplasma venezolano, orienta sobre la elección de parentales y ayuda la selección en programas de mejoramiento genético.

AGRADECIMIENTOS

Las actividades de recopilación de información y colectas fueron financiadas en el marco del proyecto 'Conservar y Evaluar Recursos Fitogenéticos Estratégicos o Promisarios para el País: Piña, Lechosa, Cacao, Café, Ají, entre Otros' (MPPAMB). El estudio molecular fue financiado a través del Proyecto 'Caracterización Molecular de Cuatro Colecciones de Especies Autóctonas de Importancia Agronómica en Venezuela. Subproyecto: Caracterización Molecular de Especies de Caricáceas', FONACIT (2000001391) e INIA (2000001391-602-04006-005).

REFERENCIAS

Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD, Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36: 181-186.

Aradhya M, Manshardt R, Zee F, Morden C (1999) A phylogenetic analysis of the *Carica* sp. Caricaceae based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region. *Genet. Resour. Crop Evol.* 46: 579-586.

Arumuganathan K, Earle ED (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 208-218.

Badillo VM (1971) *La Familia Caricaceae*. Asociación de Profesores. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. pp. 7-11.

Badillo VM (1993) Caricaceae. Segundo esquema. *Rev. Fac. Agron. UCV* 43: 1-111.

Badillo VM (2000) *Carica* L. vs. *Vasconcellea* St.-Hil. (Caricaceae) con la rehabilitación de este último. *Ernstia* 10: 74-79.

Badillo V, van den Eynden V, van Damme P (2000) *Carica palandensis* (Caricaceae), a New Species from Ecuador. *Novon* 10: 4-6.

Balzarini MG, Di Rienzo JA. *InfoGen* versión 2011. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. www.info-gen.com.ar

Carrasco B, Avila P, Perez-Diaz J, Muñoz P, García R, Lavandero B, Zurita-Silva A, Retamales JB, Caligari PDS (2009) Genetic structure of highland papayas (*Vasconcellea pubescens* (Lenne' et C. Koch) Badillo) cultivated along a geographic gradient in Chile as revealed by Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). *Genet. Resour. Crop Evol.* 56: 331-337.

Demey JR, Zambrano AY, Fuenmayor F, Segovia V (2003) Relación entre las características moleculares y morfológicas en una colección de yuca. *Interciencia* 28: 684-689.

Demey JR, Vicente-Villardón JL, Galindo-Villardón MP, Zambrano AY (2008) Identifying molecular markers associated with classification of genotypes by External Logistic Biplots. *Bioinformatics* 24: 2832-2838.

Eustice M, Yu Q, Lai CW, Hou S, Thimmapuram J, Liu L, Alam M, Moore PH, Presting GG, Ming R (2008) Development and application of microsatellite markers for genomic analysis of papaya. *Tree Genet. Genom.* 4: 333-341.

Hoyos J (1989) *Frutales en Venezuela*. Monografía N° 36. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Caracas, Venezuela. 371 pp.

Horovitz S, Jiménez H (1967) Cruzamientos interespecíficos e intergenéricos en Caricáceas y sus implicaciones fitotécnicas. *Agron. Trop.* 17: 323-343.

Jobin-Décor M, Graham G, Henry R, Drew R (1997) RAPD and isoenzyme analysis of genetic relationships between *Carica papaya* and wild relatives. *Genet. Resour. Crop Evol.* 44: 471-477.

Kim M, Moore P, Zee F, Fitch M, Steiger D, Manshardt R, Paull R, Drew R, Sekioka T, Ming R (2002) Genetic and molecular characterization of *Carica papaya* L. *Genome* 45: 503-512.

Kyndt T, Gheysen G (2007) Evolutionary relationships between and within the Highland Papayas (Genus *Vasconcellea*) and the Common Papaya (*Carica papaya*). In Chan YK, Paull RE (Eds.) *Proc. 1st IS on Papaya. Acta Hort.* 740, ISHS 2007: 61-72.

Kyndt T, Romeijn-Peeters E, Van Droogenbroeck B, Romero-Motochi JP, Gheysen G, Goetghebeur P (2005) Species relationships in the genus *Vasconcellea* (Caricaceae) based on molecular and morphological evidence. *Am. J. Bot.* 92: 1033-1044.

Kyndt T, Van Droogenbroeck B, Haegeman A, Roldan-Ruiz I, Gheysen G (2006) Cross-species microsatellite amplification in *Vasconcellea* and related genera and their use in germoplasm classification. *Genome* 49: 786-798.

Lai CWJ, Yu Q, Hou S, Skelton RL, Jones MR, Lewis KLT, Murray J, Eustice M, Guan P, Agbayani R, Moore PH, Ming R, Presting GG (2006) Analysis of papaya BAC end sequences reveals first insights into the organization of a fruit tree genome. *Mol. Genet. Genom.* 276: 1-12.

Magdalita P, Drew R, Adkins S, Godwin I (1997) Morphological, molecular and cytological analysis of *Carica papaya* × *C. cauliflora* interspecific hybrids. *Theor. Appl. Genet.* 95: 224-229.

Magdalita P, Drew R, Godwin I, Adkins S (1998) Randomly amplified polymorphic DNA Markers for *Carica* interspecific hybrid. *ISHI Int. Symp. On Biotechnology of Tropical and Subtropical Species. Part 2. Acta Hort.* 461: 133-140.

Manshardt R, Wenslaff T (1989) Interspecific hybridization of papaya with other *Carica* species. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114: 689-694.

Mekako H, Nakasone H (1975) Interspecific hybridization among 6 *Carica* species. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 100: 237-242.

Morales AR, Medina DL, Yaguache BD (2004) Genetic diversity, phylogeny and geographic distribution of the genus *Vasconcellea* in Southern Ecuador. *Lyonia* 7: 15-27.

NRC (1989) Highland papayas. En Ruskin FR (Ed.) *Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation*. National Research Council. National Academy Press. Washington DC, EEUU. pp. 252-261.

Ocampo Pérez J, Dambier D, Ollitrault P, D'Eeckenbrugge GC, Brottier P, Froelicher Y, Risterucci AM (2006) Microsatellite markers in *Carica papaya* L.: isolation, characterization and transferability to *Vasconcellea* species. *Mol. Ecol. Notes* 6: 212-217.

Parasnis A, Gupta V, Tamhankar P, Ranjekar P (2000) A highly reliable sex diagnostic PCR assay for mass screening of papaya. *Mol. Breed.* 6: 337-344.

Pérez J (1998) *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba. 390 pp.

Rodríguez D, Marín C, Ortiz R, Quecan H (2005a) Áreas potenciales para colectas del género *Vasconcellea* Badillo en Venezuela. *Bioagro* 17: 3-10.

Rodríguez D, Marín C, Ortiz R, Quecan H (2005b) Caracterización climática de los sitios de colecta del género *Vasconcellea* en Venezuela. SABER Suplemento 17:221-224.

Sánchez-Betancourt E, Núñez-Zarantes VM (2008) Evaluación de marcadores moleculares tipo SCAR para determinar sexo en plantas de papaya (*Carica papaya* L.) *Corpoica. Cienc. Tecnol. Agropec.* 9: 31-36.

Scheldeman X, Willemen L, Coppens D' Eeckenbrugge G, Romeijn-Peeters E, Restrepo MT, Romero-Motoche J, Jiménez. D, Lobo M, Medina CI, Reyes C, Rodríguez P, Ocampo JA, Van Damme P, Goetghebeur P (2007) Distribution, diversity and environmental adaptation of highland papayas (*Vasconcellea* spp.) in tropical and subtropical America. *Biodiv. Cons.* 16: 1867-1884.

Sharon D, Hillel J, Vainstein A, Lavi U (1992) Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of *Carica papaya* and other *Carica* species. *Euphytica* 62: 119-126.

- Shure M, Wessler S, Federoff N (1983) Molecular identification and isolation of the Waxy locus in maize. *Cell* 35: 225-233.
- Sneath PHA, Sokal RR (1973) *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. Freeman. San Francisco, CA, EEUU. 573 pp.
- Stiles JI, Lemme C, Sondur S, Morshidi BM, Manshardt R (1993) Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 85: 697-701.
- Matlab (2011) *MATLAB Programming*. The MathWorks, Inc. Natick, MA, EEUU.
- Tokumoto M, Tabei Y, Kayano T, Oku H, Iwasaki H, Chinen I (2000) Adventitious embryogenesis and plantlet regeneration from ovules of unpollinated ovaries of papaya. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 69: 195-201.
- Van Droogenbroeck B, Breyne P, Goetghebeur P, Romeijn-Peeters E, Kyndt T, Gheysen G (2002) AFLP analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. *Theor. Appl. Genet.* 105: 2876-2297.
- Van Droogenbroeck B, Kyndt T, Maertens I, Romeijn-Peeters E, Scheldeman X, Romero-Motochi J, Van Damme P, Goetghebeur P, Gheysen G (2004) Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (Caricaceae) using PCR-RFLP. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1473-1486.
- Vegas A, Trujillo G, Sandra Y, Mata J (2003) Obtención, regeneración y evaluación de híbridos intergenéricos entre *Carica papaya* y *Vasconcellea cauliflora*. *Interciencia* 28: 710-714.
- Vegas A, Trujillo G, Marys E, González A, Fermín G, Cermeli M (2004) El virus de la mancha anillada de la lechosa en Venezuela: Descripción e importancia, medidas de prevención y control. CENIAP HOY. Octubre-Diciembre. www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/n6/arti/vegas.
- Vickers W, Powman T (1984) Useful plants of the Sione and Secoya indians of eastern Ecuador. *Fieldiana Bot.* 15: 1-63.
- Yu Q, Tong E, Skelton RL, Bowers JE, Jones MR, Murray JE, Hou S, Guan P, Acob RA, Luo MC, Moore PH, Alam M, Paterson AH, Ming R (2009) A physical map of the papaya genome with integrated genetic map and genome sequence. *BMC Genomics* 10: 371.
- Wang J, Chen C, Na JK, Yu Q, Hou S, Paull RE, Moore PH, Alam M, Ming R (2008) Genome-Wide Comparative Analyses of Microsatellites in Papaya. *Trop. Plant Biol.* 1: 278-292.

GENETIC DIVERSITY OF THE VENEZUELAN CARICACEAE FAMILY COLLECTION

Ariadne Vegas García, Ariadna Miliani, Dilia Rodríguez Asia Y. Zambrano†, José Luís Vicente-Villardón and Jhonny R. Demey

SUMMARY

The genetic diversity of Venezuelan Caricaceae family collection was studied using 15 random primers of the series OPA, OPK, OPM, OPY, OPO and OPW from Operon Technologies Inc, and the amplification fragments linked with the discrimination among *Carica papaya* L. and three species of *Vasconcellea* genera: *V. cundinamarcensis* Linden, *V. cauliflora* Jacq and *V. microcarpa* Jacq (subspecies *microcarpa* and *pilifera*) were identified. The 15 RAPDs markers produced 403 polymorphic amplification fragments with sizes between 186-2550 base pairs (bp), a reproducibility >90%, and allowed a clear separation of the four species, using the simple matching coefficient and the groups obtained from the UPGMA cluster algorithm applied to the first three principal axes. After external logistic

biplot fitting, nine amplification fragments were selected: OPA-07(466pb), OPY-07(640pb), OPY-09(390pb), OPO-10(680pb), OPW-06(230pb) and OPW-06(420pb), directly involved in the classification of the two genera; and OPA-02(1111pb), OPA-07(675pb) and OPW-06(740pb) allowing to distinguish among *Vasconcellea* species. The analysis did not detect any pattern associated with the geographic origin of the entrances. The results obtained for Venezuelan Caricaceae collection using RAPDs markers are similar to those reported by several authors in morphological, biochemistry and molecular studies, and in intergeneric crosses, and generated information to facilitate the handling of the collection, choosing of parentals and selection in breeding programs.

DIVERSIDADE GENÉTICA DA COLEÇÃO VENEZUELANA DA FAMÍLIA CARICÁCEAS

Ariadne Vegas García, Ariadna Miliani, Dilia Rodríguez Asia Y. Zambrano†, José Luís Vicente-Villardón e Jhonny R. Demey

RESUMO

Estudou-se a diversidade genética da coleção venezuelana da família Caricáceas a través de 15 iniciadores aleatórios das séries OPA, OPK, OPM, OPY, OPO e OPW, de Operon Technologies Inc., e se identificaram os fragmentos de amplificação associados à discriminação entre *Carica papaya* L e três espécies do gênero *Vasconcellea*: *V. cundinamarcensis* Linden, *V. cauliflora* Jacq e *V. microcarpa* Jacq (subespécies *microcarpa* e *pilifera*). Os 15 iniciadores RAPDs utilizados para a amplificação produziram um total de 403 fragmentos polimórficos com tamanhos entre 186-2550 pares de bases (pb), uma proporção de reprodutibilidade >90% e permitiram a separação das quatro espécies, utilizando a dissimilaridade devida ao coeficiente de emparelhamento simples e os grupos obtidos sob o algoritmo UPGMA, aplicadas às três primeiras dimensões da análise de coordenadas principais (ACO). Os fragmentos de amplifica-

ção selecionados, depois do ajuste do biplot logístico externo (BLE), que intervêm diretamente na classificação das acessões foram: OPA-07(466pb), OPY-07(640pb), OPY-09(390pb), OPO-10(680pb), OPW-06(230pb) e OPW-06(420pb) que discriminam entre os dois gêneros; e OPA-02(1111pb), OPA-07(675pb) e OPW-06(740pb) que separam as espécies de *Vasconcellea*. As análises não detectaram nenhum padrão associado à origem geográfica. Os resultados obtidos para a coleção de Caricáceas venezuelana a través dos iniciadores RAPDs provados coincidem com os reportados por vários autores em estudos morfológicos, análises bioquímicas e moleculares, e cruzamentos intergenéricos, e tem gerado informação que facilita a manipulação da coleção, a eleição de progenitores e seleção em programas de melhoramento genético.