VARIACIÓN EN LA COMPOSICIÓN DE ISOENZIMAS PEROXIDASAS EN PAPA (Solanum tuberosum L.)

Lourdes Iglesias, Ana Estévez, E. Costa e I. Rodríguez

ABSTRACT. Electrophoretic analyses were performed in a discontinuous system of polyacrilamide gels, to characterize peroxidase isoenzymes in a potato varietal group and several plantlets obtained by micropropagation from Desirée variety cultivated *in vitro* under a Murashige and Skoog medium, with the objective to evaluate the utility of this enzymatic system to complement the potato breeding program which has been conducted under our conditions. The presence of an important varietal polymorphism was detected in this crop, besides a higher resolution and repeatability in leaf tissue peroxidase composition compared to the results observed in stem and root samples. The presence of a substantial electrophoretic homogeneity was also proved in the genetic material obtained by micropropagation.

Key words: potato, *Solanum tuberosum*, electrophoresis, izoenzymes, peroxidases

RESUMEN. Se realizaron análisis electroforéticos en un sistema discontinuo de geles de poliacrilamida, para efectuar la caracterización de isoenzimas peroxidasas en un grupo de variedades de papa y de plántulas obtenidas por micropropagación a partir de la variedad Desirée cultivada *in vitro*, sobre un medio Murashige y Skoog, con el objetivo de evaluar la utilidad del empleo de este sistema enzimático, como complemento de los trabajos de mejoramiento genético que actualmente se desarrollan en este cultivo. Los resultados mostraron la existencia de un polimorfismo varietal importante en este cultivo, así como una mayor resolución y repetibilidad en la composición peroxidasa de tejido foliar en comparación con lo observado en muestras de tallo y raíz. Se comprobó asimismo la existencia de una notable homogeneidad electroforética en el material micropropagado.

Palabras clave: papa, *Solanum tuberosum*, electroforesis, isoenzimas, peroxidasas

INTRODUCCIÓN

El empleo de la técnica electroforética para la caracterización de los perfiles proteicos e isoenzimáticos, se ha convertido en una herramienta muy útil en los estudios genéticos en papa, ya que entre otras ha sido ampliamente utilizada en la identificación de variedades (Zwartz, 1966; Sharon Desborough y Peloquin, 1968; Stegemann y Loeschke, 1976; Stegemann, 1979; Grison, Cuny y Besson, 1979; Sharon Desborough, 1983; María P. Bianchini y Cristina Monti, 1985; Oliver y Martínez-Zapater, 1985; y Lourdes Iglesias, 1994) así como para investigar las relaciones interespecíficas (Rickerman y Desborough, 1978; Hosaka y Matsubayashi, 1983; Oliver y Martinez-Zapater, 1984; y Hosaka y Hanneman, 1991).

De igual forma, se ha resaltado la utilidad que puede brindar el uso de las variantes electroforéticas para monitorear la variación generada en los trabajos de micropropagación que se realizan en diferentes cultivos (Moore y Litz, 1984; y Nancy Santana, 1993).

Es por ello que fue desarrollado el presente trabajo, con el objetivo de evaluar la utilidad potencial del empleo de las variantes de isoenzimas peroxidasas, como complemento de los trabajos de mejoramiento genético que actualmente se desarrollan en este cultivo en Cuba.

Dras. Lourdes Iglesias y Ana Estévez, Investigadores Titulares; E. Costa, Investigador Agregado del Departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal No.1, San José de las Lajas; Dr. I Rodríguez, Investigador Auxiliar del Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", Quivicán, La Habana, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del presente trabajo, se examinaron un grupo de cultivares y clones de papa (Tabla I) y de plántulas obtenidas por micropropagación a partir de la variedad Desirée.

Tabla I. Relación de variedades y clones de papa examinados

Nombre	Abreviaturas	Procedencia
Desirée	D	Holanda
Baraka	B	Holanda
Spunta	Sp	Holanda
Retnic	R	-
Claudia	C	Francia
Chieftain	Ch	Canada
Mariella	Ma	Alemania
Aninca	A	Cuba
Marinca	M	Cuba
Jorinca	J	Cuba
Cubanita	Cb	Cuba
Josema	Jo	Cuba
Candita	Ca	Cuba
Clon 3820	3820	-
Clon 45-1	45-1	-

Para la realización de los análisis electroforéticos, se tomaron muestras de tejido foliar (0.2 g) de cada genotipo en estudio, las que fueron homogeneizadas en frío en 1 mL de tampón de extracción consistente en Tris ClH 0.05M pH 8.3 conteniendo sacarosa al 20 %, Polivinil pirrolidona al 5 %, Tritón x 100 al 10 % y 14 μM de 2-mercaptoetanol.

Para el estudio del polimorfismo existente en diversos tejidos, se tomaron de forma similar muestras de tallo y raíz de la variedad Desirée. Se determinó la aditividad en los patrones tisulares de bandas por mezclas mecánicas de extractos de dichos tejidos en proporción 1:1.

Los análisis electroforéticos fueron efectuados en un sistema de tampones discontinuos y geles de poliacrilamida al 10 %, según la metodología descrita por Laemmli (1970). Se utilizó Tris-borato 0.16M pH 9.0 como tampón de los compartimientos y la técnica de tinción utilizada por Lourdes Iglesias, Lima y Simón (1974) para la caracterización de la composición de isoenzimas peroxidasas.

Los fenotipos enzimáticos de cada individuo examinado fueron establecidos sobre la base del número, la posición relativa e intensidad de tinción, siguiendo en este último caso la escala propuesta por Brewbaker y Hasegawa (1975).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se comprobó la existencia de marcadas diferencias en los patrones de bandas peroxidasas, al analizar las muestras de tejido foliar, tallo y raíz de la variedad Desirée (Fig. 1).

Figura 1. Polimorfismo tisular en papa. Isoenzimas peroxidasas en hoja, tallo y raíz de la variedad Desirée

Los resultados obtenidos revelaron la presencia de un mayor número e intensidad de tinción de bandas al analizar la composición peroxidasa de tejido foliar, aunque en estudios previos realizados (Lourdes Iglesias, datos no publicados) se detectó, en general, un mayor número de bandas en muestras de tubérculos. Sin embargo, por la baja repetibilidad mostrada en los análisis realizados, no se incluyó dicho tejido en este estudio.

La presencia de formas moleculares específicas a los tejidos examinados, concuerda con lo obtenido por diversos autores en diferentes cultivos (Brewbaker y Hasegawa, 1975; Lourdes Iglesias, 1986; y Lourdes Iglesias y María C. González, 1991), ya que está relacionado con el hecho de que cada tejido posee su propio patrón característico en virtud de las marcadas diferencias fisiológicas existentes entre las mismas.

Muchos autores creen que la diversidad isoenzimática responde a los roles metabólicos, que difieren ligeramente de un tejido a otro, y que la regulación de la información genética es la base para la especificidad metabólica de los diferentes tejidos de la planta (Shaw, 1965).

Por otra parte, se observó (Figura 1) la presencia de una marcada aditividad en los patrones tisulares de bandas peroxidasas, al mezclar mecánicamente los extractos provenientes de los diversos tejidos examinados, lo que evidencia la probable estructura monomérica que se ha indicado y que por lo regular posee esta isoenzima (Endo, 1973 y Lima, 1979).

Considerando la mayor actividad, resolución y repetibilidad obtenidas en los perfiles de isoenzimas peroxidasas de tejido foliar, se determinó la conveniencia de proseguir los ulteriores análisis a partir de tejido foliar.

De hecho, los resultados obtenidos al analizar la composición peroxidasa de un grupo de cultivares de papa, permitió apreciar la presencia de ciertas bandas polimórficas -especialmente en la región Px2 de mayor movilidad aniónica (Figura 2)-, que posibilitaron distinguir a la mayoría de las variedades examinadas.

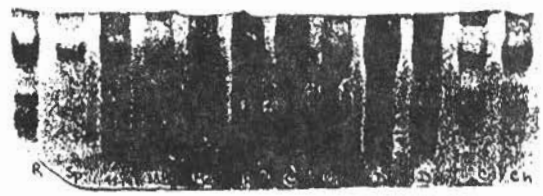

Figura 2. Isoenzimas peroxidasas en variedades de papa cultivadas in vitro

Sobre la base de estas bandas polimórficas se detectaron algunos patrones distintivos como el de la variedad Desirée, caracterizada por presentar cinco bandas (Px 2, 3, 4, 5), tres bandas en el clon 45-1 (Px 1, 3, 6), dos bandas en la variedad Retnic (Px 2, 4), Chieftain (Px 3, 4), Claudia (Px 1, 3) así como en las variedades Spunta, Mariella y el clon 3820, que mostraron dos bandas de muy tenue intensidad de tinción (Px 2, 3) en dicha zona electroforética.

Por otra parte, los resultados obtenidos al efectuar la caracterización de algunas variedades cubanas, obtenidas por cruzamientos entre las variedades Desirée y Baraka, así como algunos otros genotipos de interés para nuestro país como son las variedades Josema y Candita, mostraron (Figura 3) la presencia de algunas bandas distintivas incluso en la región Px1 de menor movilidad aniónica, que permitieron distinguir las variedades Aninca y Candita del resto.

De igual forma, se pudo apreciar que los híbridos Marinca, Jorinca y Cubanita mostraron al igual que su progenitor masculino Baraka, una mayor intensidad de tinción de las bandas 1 y 2 en la región Px2, lo que confirma su origen híbrido.

Sin embargo, cabe resaltar la mayor similitud electroforética observada entre las variedades Marinca y Josema (Figura 3) y especialmente entre esta última con la variedad Desirée, dado el mayor complemento de bandas de rápida movilidad aniónica detectado entre las mismas.

Por otra parte, se observó la presencia de una adecuada repetibilidad en los patrones de bandas de isoenzimas peroxidasas en tejido foliar de materiales micropropagados. Así, se comprobó (Figura 4) la presencia de una marcada repetibilidad y homogeneidad electroforéticas en la composición peroxidasa de la variedad Baraka, lo que evidencia la utilidad del empleo de esta técnica bioquímica.

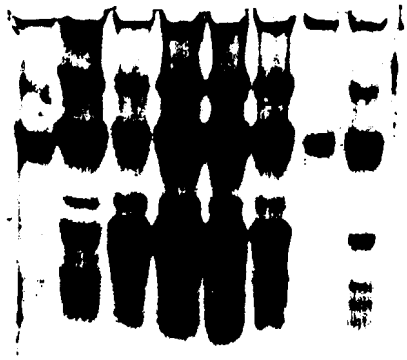

Figura 3. Isoenzimas peroxidasas en un grupo de variedades cubanas de papa (de izquierda a derecha: Candita, Josema, Baraka, Cubanita, Josema, Marinca, Aninca y Desirée)

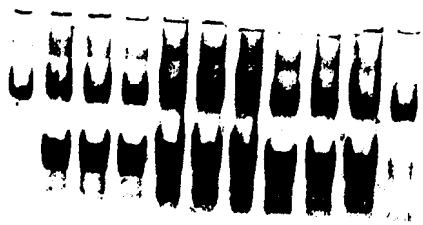

Figura 4. Isoenzimas peroxidasas en tejido foliar de plántulas de la variedad Baraka cultivadas in vitro

Resultados similares han sido detectados por diversos autores (Moore y Litz, 1984; y Nancy Santana, 1993), quienes han resaltado la utilidad que brinda el empleo de la tecnología isoenzimática en esta dirección.

La presencia de un cierto grado de polimorfismo bioquímico así como una adecuada repetibilidad y resolución, en la composición peroxidasa de tejido foliar en los materiales genéticos evaluados, posibilita el uso de este sistema enzimático, como complemento para los trabajos de mejoramiento que se desarrollan actualmente en nuestro país dentro de este cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

Bianchini, María R. y Cristina Monti. Identificación de cultivares y clones de papa mediante electroforesis. Revista de Investigaciones Agropecuarias. INTA (Buenos Aires)20 (1): 117-130, 1985.

Brewbaker, J. L. Polimorphisms of the Major Peroxidase of Maize. /J. L. Brewbaker, P. M. Hasegawa.- **En**: Isozyme. III. Development Biology.-London: Academic Press. 1975.- 15p.

Desborough, Sharon y S. J. Peloquin. Potato Variety Identification by Use of Electrophoretic Patterns of Tuber Proteins and Enzymes. Am. Potato Journal (Orono)45:220-225, 1986.

Desborough, Sharon. Potato (Solanumtuberosum L.). /Sharon Desborough. **En**: Isozymes in Plant Genetics and Breeding.- Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1983.- p.167-188.

Endo, T. Isozyme Loci and a Strategy of Differentiation Plant. Seiken Ziho 24:89-104, 1973.

Grison, C. Mise au point d'une méthode de determination des varietes par electrophorese./C. Grison, B. Cuny, A. Besson - **En**: Documento interno ITPT.- París : INRA, 1979.- 33p.

Hosaka, K. y M. Matsubayashi. Studies on the Phylogenetic Relationships in TuberousSolanums by Isozyme Analysis 2. Phylogenetic Relationship between Mexican and South American Diploid Species. Science Reports (Kobe)15: 217-228, 1983.

Hosaka, K. y R. E. Hanneman. Seed Protein Variation within Accessions of Wild and Cultivated Potato Species and Inbred Solanum chacoense. Potato Research (Wageningen)34:419-428, 1991.

Iglesias, Lourdes, H. Lima y J. F. Simón. Isoenzyme Identification of Zygotic and Nucellar Seedling in Citrus. J. Hered. (Nueva York) 65: 81-84, 1974.

Iglesias, Lourdes. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya (Glycine max (L) Merrill). Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas) INCA, 1986.- 236 h.

Iglesias, Lourdes y María C. González. Estudio del polimorfismo bioquímico en arroz (O. zativa L.). Cultivos Tropicales (La Habana)12(2): 42-47, 1991.

Iglesias, Lourdes. Utilización de marcadores bioquímicos y moleculares en el mejoramiento genético de la papa. Cultivos Tropicales (La Habana) 15(2):108-120, 1994.

Laemmli, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature (Nueva York)227: 680-685, 1970.

Lima, H. Polimorfismos enzimáticos en cítricos.I. Peroxidasas. Ciencia y Técnica de la Agricultura. Cítricos y otros frutales (La Habana) 2(3):29-50, 1979.

Moore, G. A. y R. E. Litz. Biochemical Markers for Carica papaya, Carica caulifora and Plants from Somatic Embryos of Their Hybrids. J. Amer. Soc. Hort. Sci. (Alexandria)109:213-218, 1984.

Oliver, J. L. y M. Martínez-Zapater. Allozyme Variability and Phylogenetic Relationships in the Cultivated Potato (Solanumtuberosum) and Related Species. Plant Systematics and Evolution (Nueva York)148; 1-18, 1984.

Oliver, J. L. y M. Martínez-Zapater. A Genetic Classification of Potato Cultivars Based on Allozyme Patterns. TAG (Nueva York)69: 305-311, 1985.

Rickerman, V. S. y S. L. Desborough. Elucidation of the Evolution and Taxonomy of Cultivated Potatoes with Electrophoresis 1. Groups Tuberosum, Andigena, Phureja and Stenotomum. TAG (Nueva York)52: 217-220, 1978.

Santana, Nancy. Embriogénesis somática en el cultivo del cafeto (Coffea sp)./Nancy Santana.-Tesis de grado (Dr. en Ciencias Agrícolas); INCA, 1993.

Shaw, C. R. Electrophoretic Variation in Enzymes. Science (Washington)149: 936-943, 1965.

Stegemann, H. y V. Loeschke. Index of European Potato Varieties Based on Electrophoretic Spectra. Mitteilungen der Biologischen Bundesantalt für Land und Forstwirtshaft (Berlin)168: 1-215, 1976.

Stegemann, H. Characterization of Protein from Potatoes and the "Index of European Varieties"./H.Stegemann.- **En**: The Biology and Taxonomy of the Solanaceae.-London: Academic Press, 1979.- 279 p.

Zwartz, J. A. Potato Varieties and Their Protein Electropherogram Characteristics. American Potato J. (Orono) 9(2):111-128, 1966.

Recibido: 12 de septiembre de 1994
Aceptado: 16 de septiembre de 1994