



Proyecto
SAN Nariño



El mejoramiento de la producción de papa como contribución a la seguridad alimentaria en comunidades nativas en Colombia

***XIII Congreso de Fitomejoramiento:
Contribuyendo al sostenimiento de la vida a través del fitomejoramiento
6 - 8 de noviembre, Corpoica, Tibaitatá – Mosquera, Cundinamarca***

Caracterización fenotípica del contenido de almidón
en tubérculos de *Solanum tuberosum* Grupo *Andigenum*
(*Solanum phureja*)

Alejandra Guateque



Foreign Affairs, Trade and
Development Canada

Affaires étrangères, Commerce
et Développement Canada



IDRC | CRDI

International Development Research Centre
Centre de recherches pour le développement international



INTRODUCCIÓN

- ➔ *Solanum tuberosum*
(Grupo Phureja)
- ➔ Importancia
- ➔ Textura del tubérculo
- ➔ Mejoramiento genético,
enfoque de gen candidato,
SNPs

INTRODUCCIÓN

- *Solanum tuberosum*
(Grupo Phureja)
- Importancia
- Textura del tubérculo
- Mejoramiento genético,
enfoque de gen candidato,
SNPs

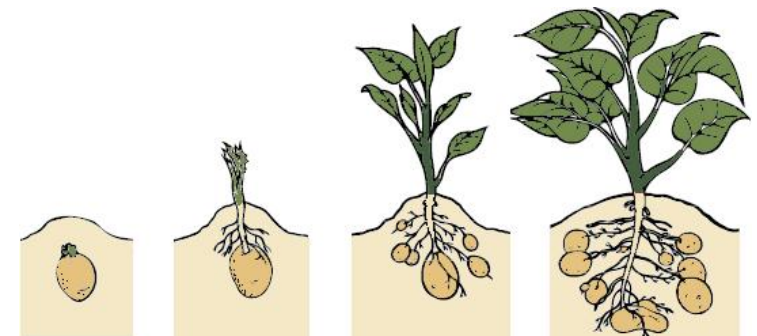


Solanum tuberosum

- ▶ La papa (*Solanum tuberosum*) pertenece a la familia de las solanáceas
- ▶ Domesticación en la cordillera de los Andes de América del Sur
- ▶ Estolones modificados
- ▶ Multiplicación vegetativa “tubérculo-semilla”



Colección Central Colombiana *S. phureja*



- ▶ Seguridad alimentaria.
- ▶ Tercer cultivo más importante, 300mil ton.
- ▶ 100 países productores.
- ▶ Cultivo nativo, tradicional y de interés para exportación.



Fotos: Guateque y Villamil (2008)

http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=45409

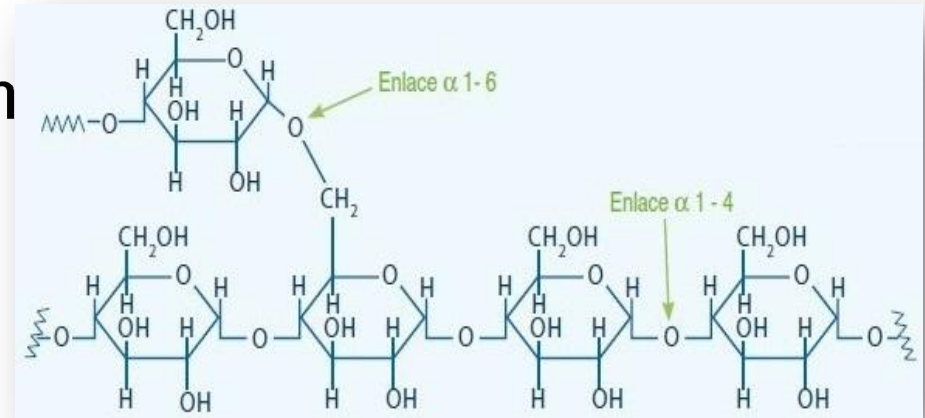


- ▶ Consumo fresco
- ▶ USA, 60% de la dieta diaria corresponde a algún producto procesado de papa (papas fritas, congeladas o deshidratadas)
- ▶ Ampliación del mercado



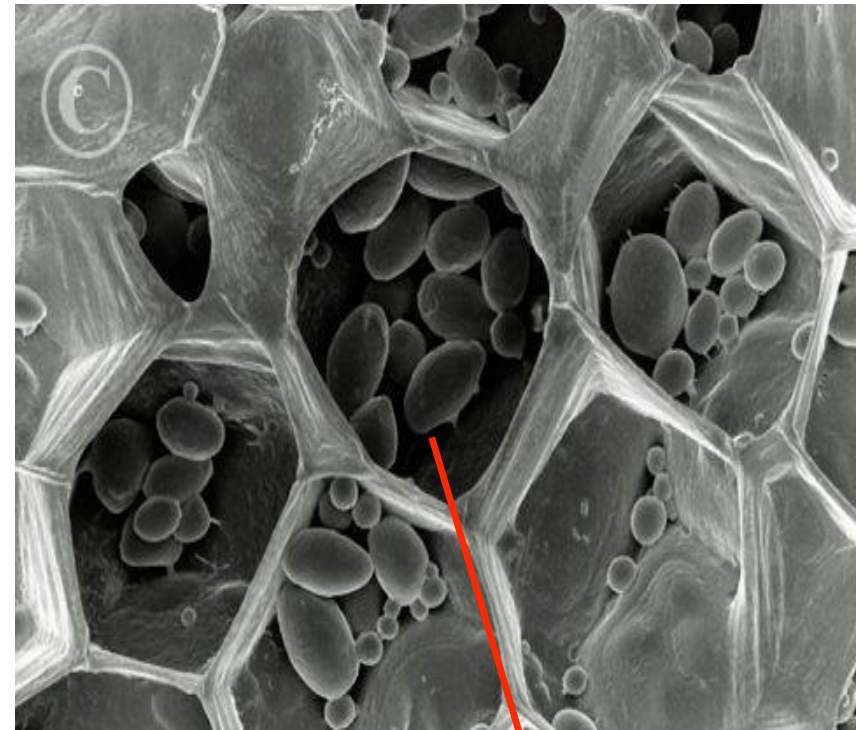
Almidón

- ▶ Almacenamiento de energía en plantas.
- ▶ Amilosa y amilopectina.
- ▶ Son útiles procesos industriales (alimentos, textil, papel).
- ▶ Importante en la nutrición humana (fibra dietaria: implicaciones fisiológicas, tracto digestivo, colonización bacterial)

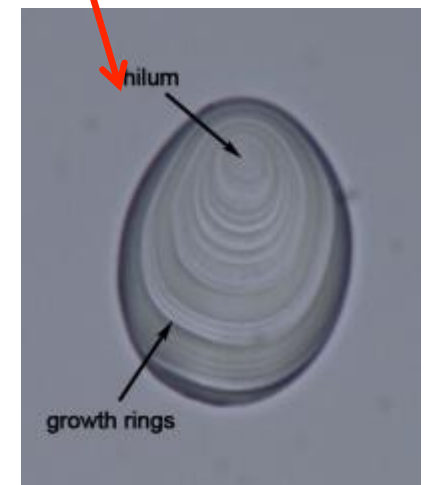


Características de textura en tubérculo

- ▶ Calidad de la papa resulta de la combinación de sabor, aroma y **textura**.
 - ▶ Rasgo complejo: materia seca, contenido de azúcares (almidón), proteínas y nitrógeno.
- 1) Contenido y distribución de almidón: granos de almidón, **relación amilosa y amilopectina** – gelatinización (grupos OH^+).
 - 2) Estructura y composición química de la pared celular. Pectina



b100013 [RM] © www.visualphotos.com

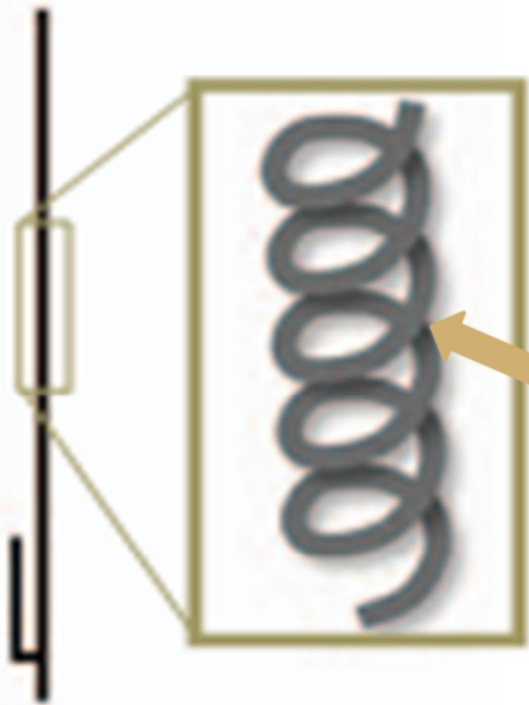


Tomado de: <http://archaeobotany.dept.shef.ac.uk/wiki/images/thumb/PotatoStarchLamellae.jpg>

Estructura del almidón

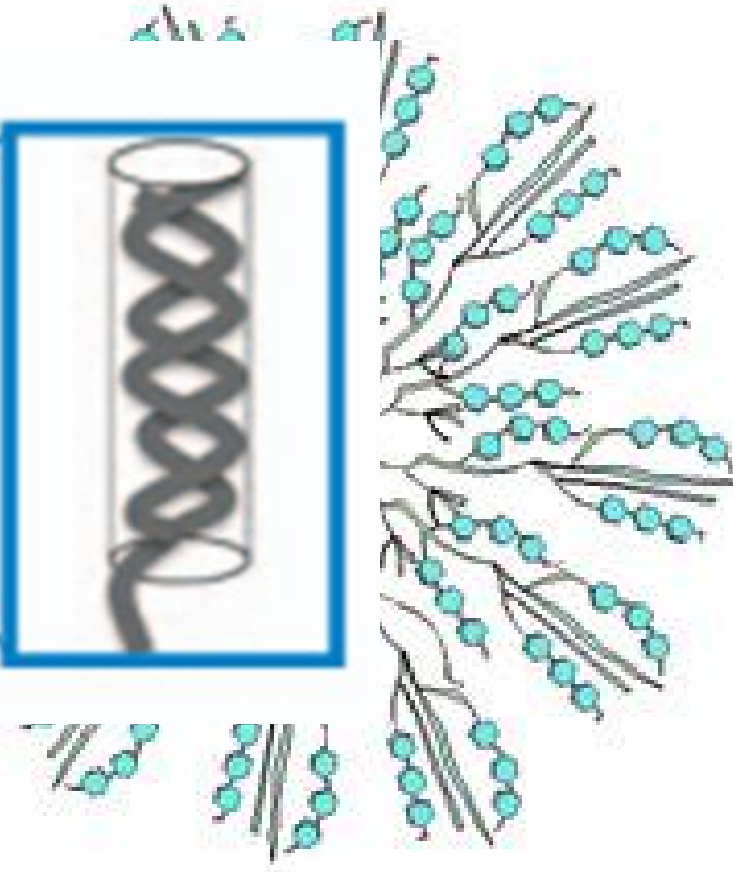
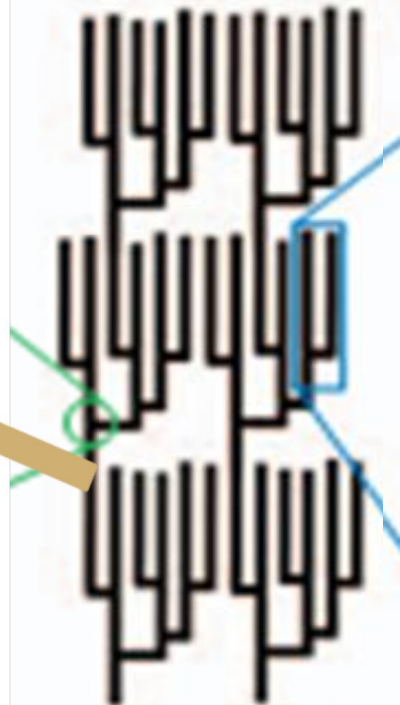
ALMIDÓN

Amylose



Amylose chains
form single helices

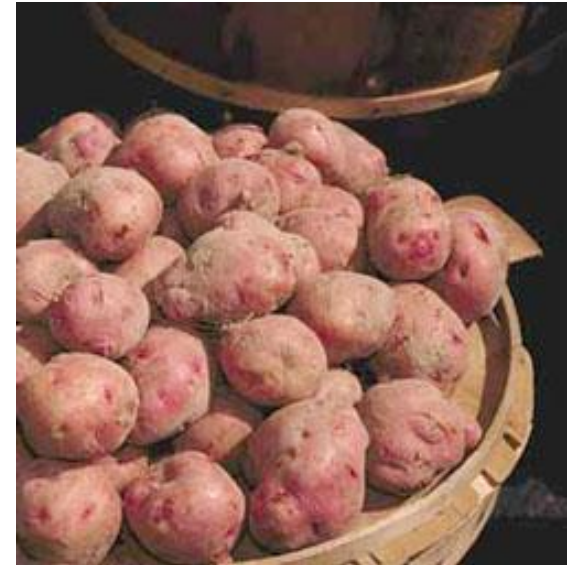
Amylopectin



¿Cómo se afecta la textura?

Textura: harinosa → cerosa

- 1) seco y granular
- 2) húmedo y pegajoso



Amilopectina, almidón resistente = mejor textura + fibra

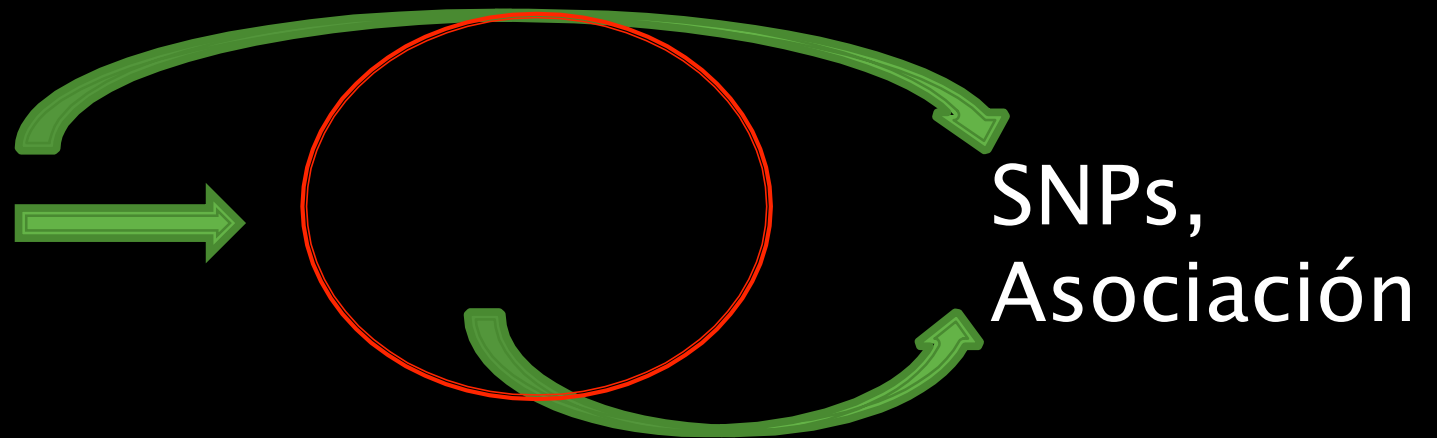


OBJETIVO GENERAL

Identificar genes candidatos asociados a
textura de tubérculo en la Colección Central
Colombiana (CCC) de papa
(*Solanum tuberosum* Grupo Phureja)



¿QUÉ ESPERAMOS?



MATERIAL VEGETAL

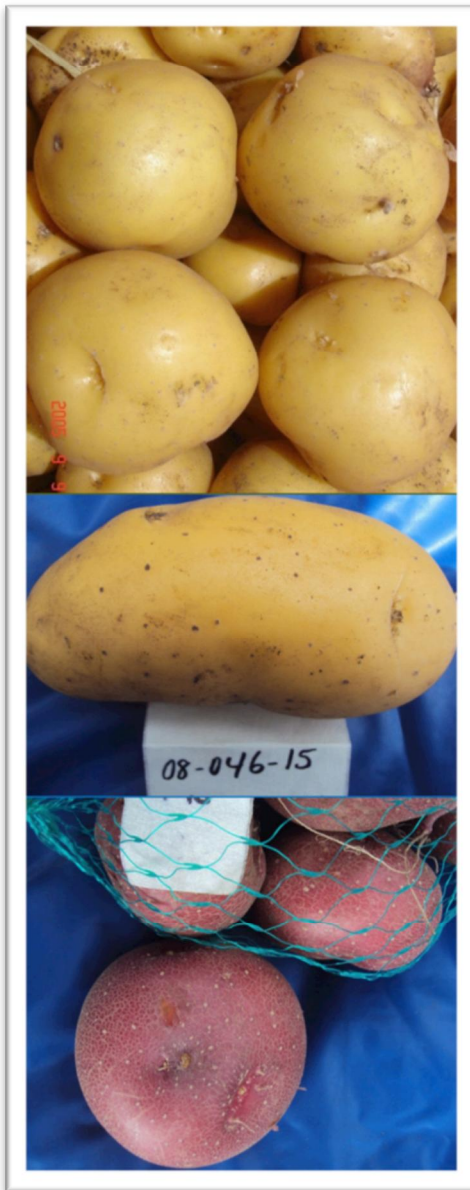


CCC: 110 genotipos de la Colección Central Colombiana

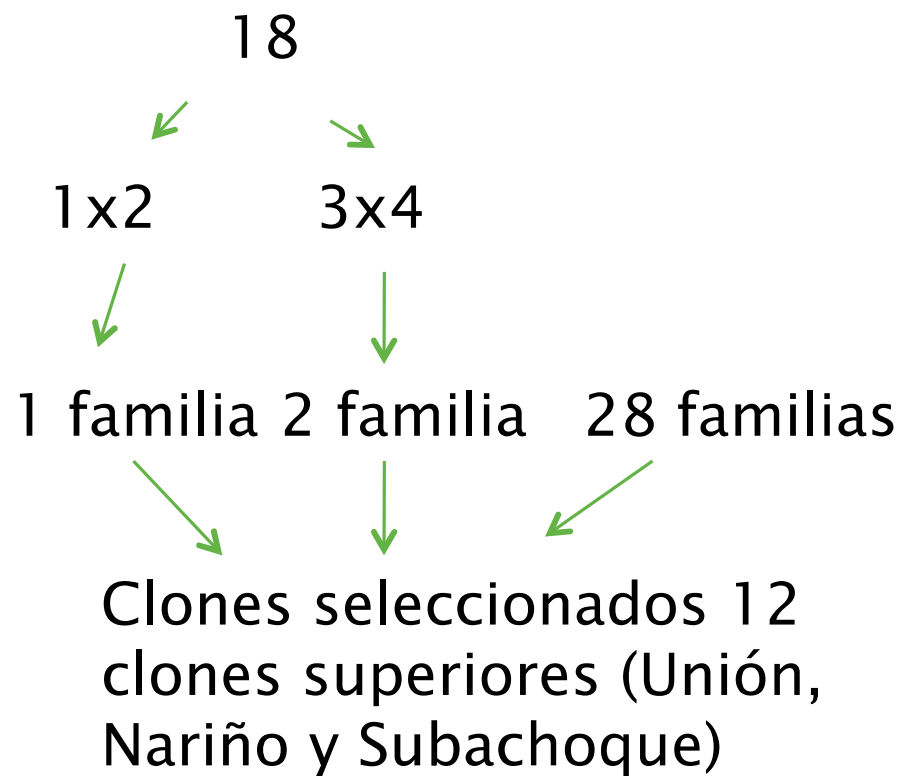


CA: 12 Clones seleccionados. Proyecto iniciado en 2006.

Obtendor: Prof. Luis Ernesto Rodríguez-Universidad Nacional



- ▶ Clones seleccionados.
Obtentor: Prof. Luis Ernesto Rodríguez–
Universidad Nacional de Colombia



Fotos:
Profesor Ernesto Rodríguez



COSECHA

Facatativa,
Cundinamarca



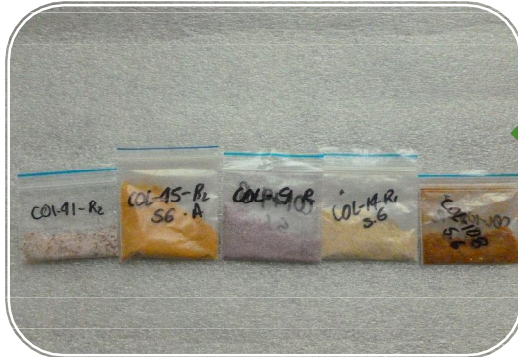
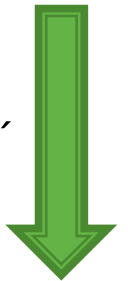
LAVADO

Riguroso de
tubérculos



COCCIÓN

Proporción agua 1:3
Cero: 30' Primera: 25'
Richie: 20'



MOLIENDA



LIOFILIZACIÓN



CORTE

Rodajas de tubérculos
almacenadas a -80°

METODOLOGÍA

A. Fenotipificación

Almidón total: MÉTODO A.O.A.C.
996.11 Amilosa

Método
enzimático:
hidrólisis del
almidón en un
medio alcalino

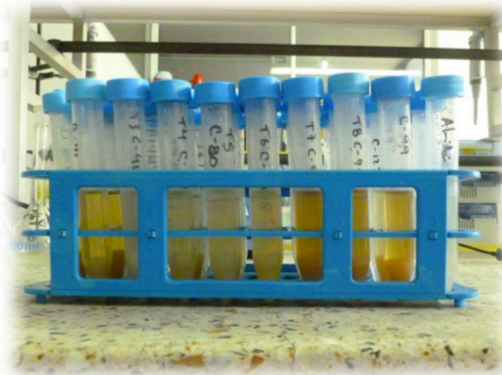
Textura instrumental: TPA perfil de
textura

Método de
doble
compresión

Análisis proximal:
90–100 mg



ALMIDÓN TOTAL (AOAC 996.11):
solubilización en medio alcalino (pH
4.5)



Hidrólisis con α -amilasa y
amiloglucosidasa

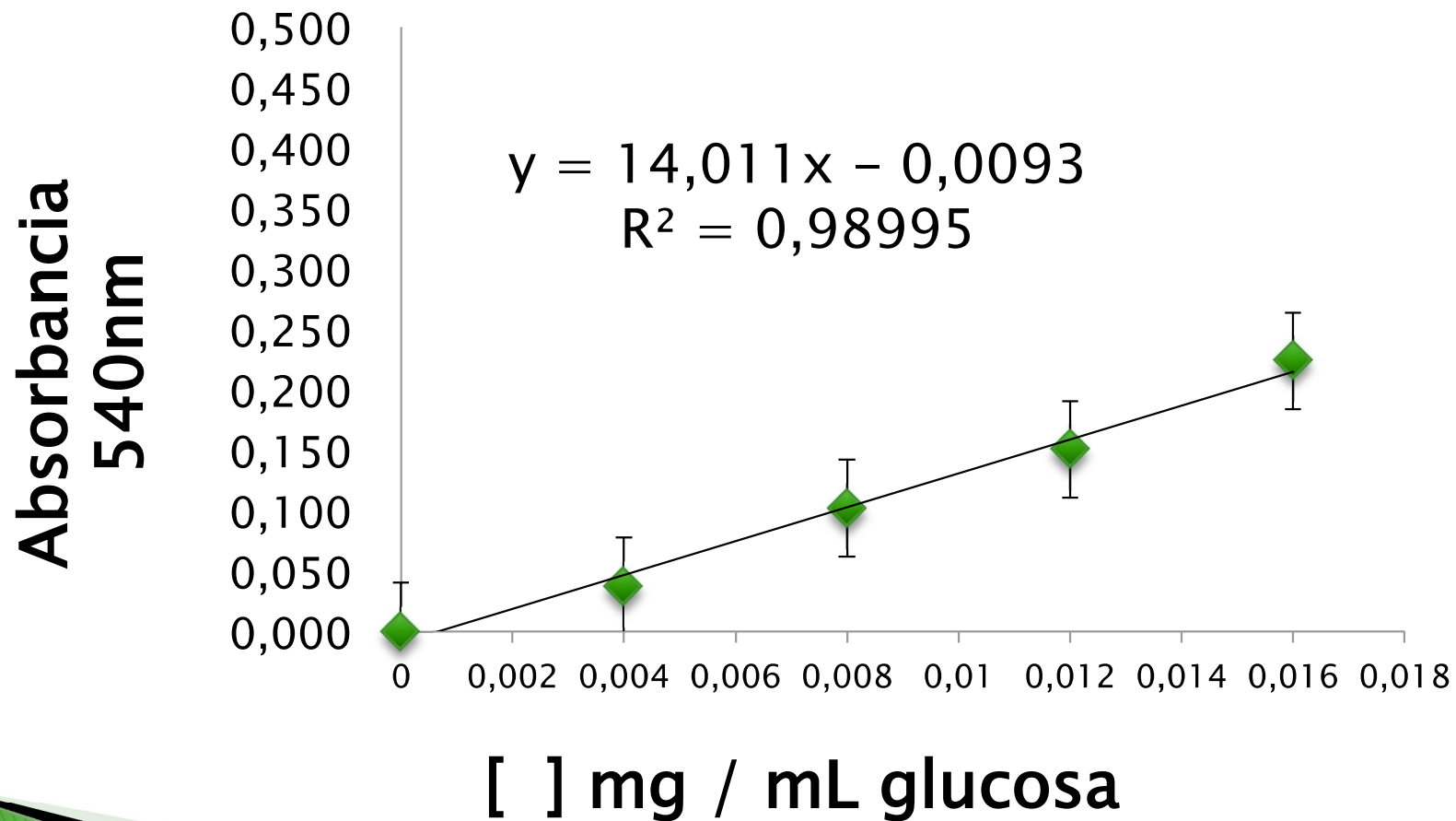
Método Kit GO-Assay
oxidasa-peroxidasa



Cuantificación de glucosa libre
por espectrofotometría
540nm

Curvas de calibración

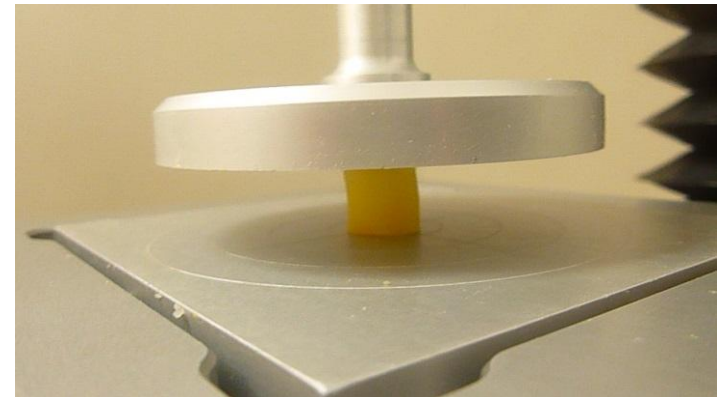
- ▶ Estándares de glucosa para posterior interpolación y cálculo de $\mu\text{mol/mL}$ glucosa



- ▶ $\% \text{ Almidón total} = A \times F \times 1000 \times (1 / 1000) \times (100 / W) \times 162 / 180 = A \times F / W \times 90$
- ▶ Donde, A= absorbancia de las soluciones con respecto al blanco, F= factor de conversión de los valores de absorbancia, $162 / 180 =$ factor de conversión de la glucosa libre, $100 / W =$ conversión de 100 mg de muestra.
- ▶ $\mu\text{g de almidón/mg papa}$

TPA, perfil de textura

- ▶ Estandarización de los parámetros de evaluación: papas cocidas almacenadas a 21°C por 24 h, cocidas almacenadas a 4°C por 24h, cocidas y evaluadas de inmediato y crudas.
- ▶ Parámetros: 75 % y 50% de compresión, velocidad 2,5 mm/s.

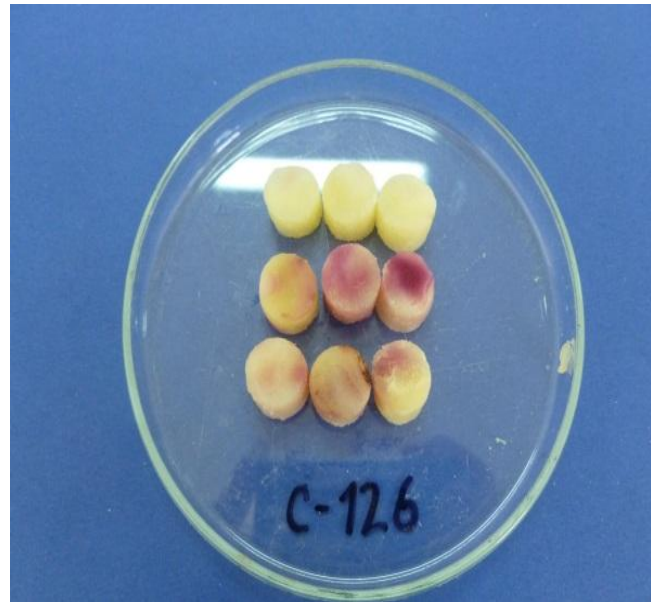
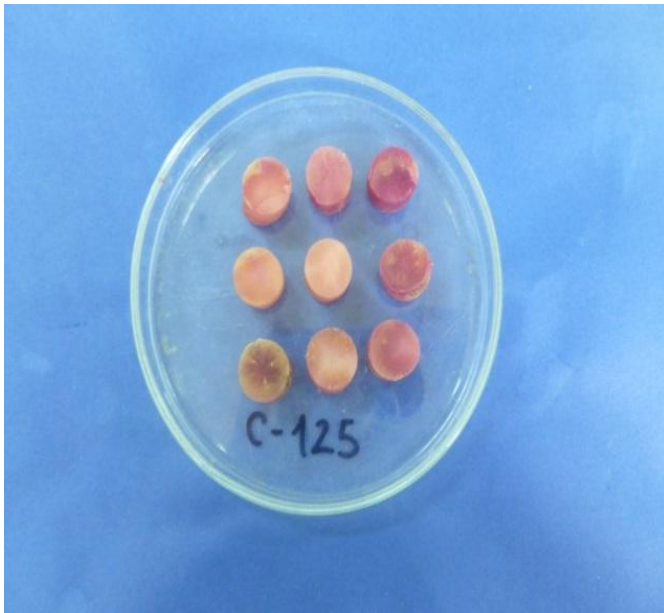


Muestra	Dureza	Fracturabilidad	Adhesividad	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Plasticabilidad	Resilencia
4°Cocida 50b	32,819	0,124	-14,137	0,460	0,107	3,521	1,619	0,055
4°Cocida 50c	75,015	0,119	-3,921	0,803	0,179	13,464	10,805	0,091
4°Cocida 50a	86,889	0,125	-12,953	0,618	0,186	16,125	9,967	0,091
4°Cocida 75a	33,723	0,124	-12,479	0,296	0,055	1,849	0,547	0,026
4°Cocida 75b	25,331	9,216	-17,852	0,350	0,075	1,894	0,663	0,032
4°Cocida 75c	14,356	8,504	-25,274	0,138	0,058	0,835	0,115	0,021
21°Cocida 50a	18,260	0,114	-14,350	0,276	0,065	1,194	0,329	0,022
21°Cocida 50b	17,503	0,109	-13,584	0,349	0,051	0,886	0,309	0,025
21°Cocida 50c	6,945	0,106	-12,354	0,328	0,093	0,648	0,213	0,030
21°Cocida 75a	21,017	0,116	-24,189	0,204	0,036	0,766	0,156	0,017
21°Cocida 75b	23,942	17,905	-21,205	0,288	0,057	1,362	0,392	0,029
21°Cocida 75c	24,530	14,236	-16,912	0,215	0,076	1,855	0,398	0,033
Cocida 50a	5,472	0,122	-5,819	0,246	0,107	0,587	0,145	0,032
Cocida 50b	4,891	0,118	-7,852	0,437	0,091	0,447	0,195	0,028
Cocida 50c	8,952		-10,733	0,172	0,089	0,797	0,137	0,033
Cocida 75a	9,705	4,041	-22,818	0,221	0,059	0,575	0,127	0,024
Cocida 75b	14,089	7,427	-32,180	0,269	0,064	0,901	0,242	0,021
Cocida 75c	12,754	8,602	-36,306	0,301	0,065	0,830	0,250	0,024
Cruda 50a	186,660	0,120	-5,520	0,692	0,472	88,073	60,954	0,292
Cruda 50b	137,943		-3,673	0,706	0,169	23,374	16,495	0,075
Cruda 50c	176,479		-11,293	0,723	0,187	33,051	23,890	0,091
Cruda 75a	158,383	140,163	-14,649	0,750	0,154	24,369	18,288	0,084
Cruda 75b	130,909	156,778	-11,500	0,686	0,120	15,764	10,814	0,062
Cruda 75c	159,278	147,122	-4,002	0,662	0,137	21,867	14,478	0,079

Se decidió trabajar con muestras cocidas y evaluadas inmediatamente con un porcentaje de compresión del 75%, dieron valores y curvas similares a las reportadas en literatura

Poner título a esta gráfica

- ▶ Tres tubérculos por material y de cada uno se toma una muestra de los extremos y el medio (dependiendo el tamaño).



PANEL SENSORIAL



Tubérculos hervidos.
Cortar las muestras y servir
a un panel de expertos
para hacer una prueba
sensorial.

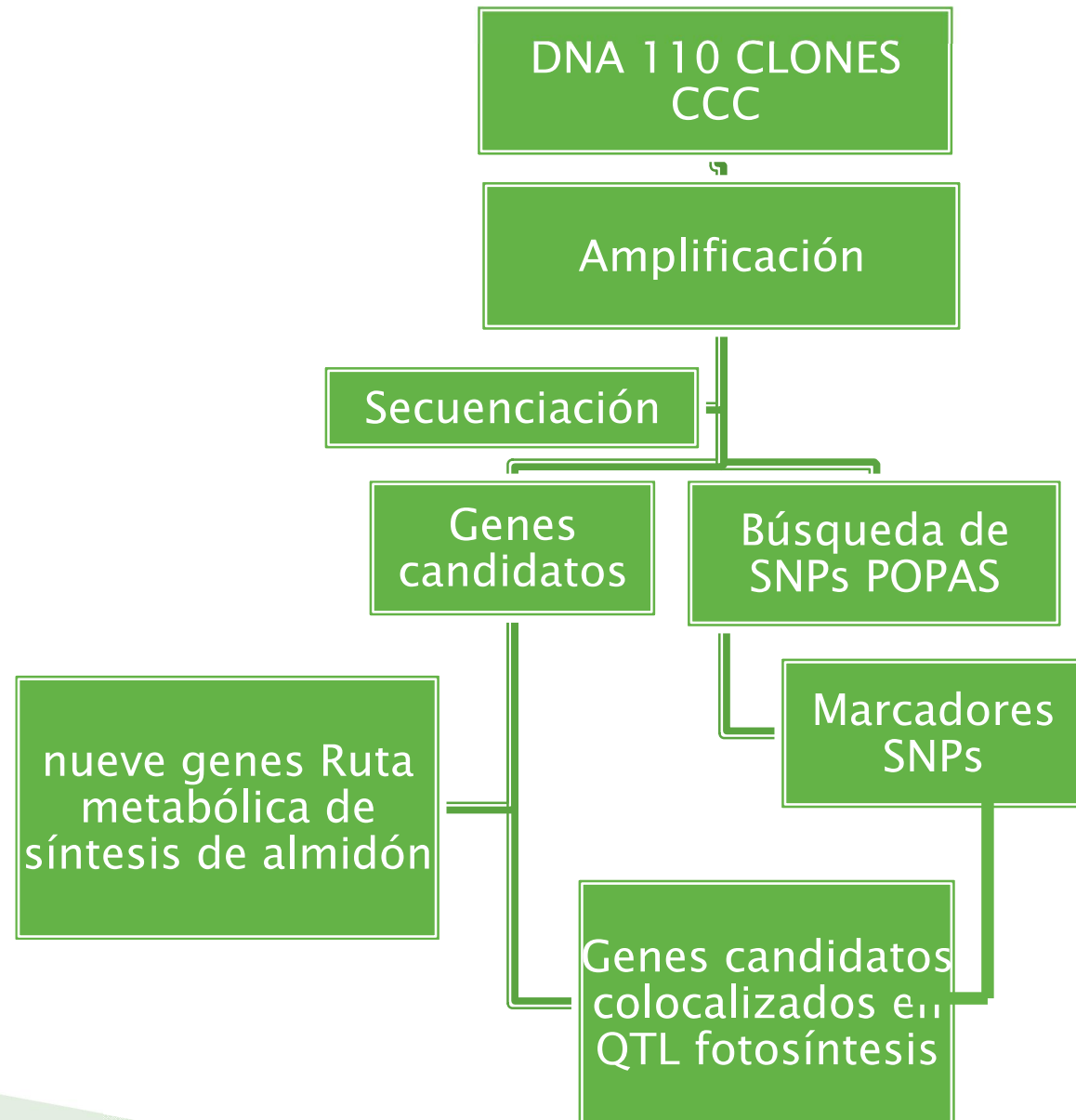
1. Realizar un panel de
entrenamiento, 7
panelistas

Dureza: 0-10 fuerza para
cortar en dos partes con
los dientes frontales

Harinosidad: como se siente
después de masticar,
harinosa /cerosa

**Fenotipificar los clones, teniendo en cuenta todos los
datos fisicoquímicos.**

B. GENOTIPIFICACIÓN Y ASOCIACIÓN



- *Potato Genome Sequencing Consortium* (<http://potatogenomics.plantbiology.msu.edu/blast.html>)

Genes candidatos	
Sbe, strach branching enzyme	PGSC0003DMT400057446
Starch synthase iv	PGSC0003DMT400021444
Starch synthase V	PGSC0003DMT400078688
Soluble starch synthase 1	PGSC0003DMT400047731
Soluble starch synthase 3	PGSC0003DMT400042496
Granule-bound starch synthase 1	PGSC0003DMT400031568
Granule-bound starch synthase 2	PGSC0003DMT400003356
Alpha_amylase chr4	PGSC0003DMT400020591
Alpha_amylase chr5	PGSC0003DMT400045435



RESULTADOS

Fenotipificación

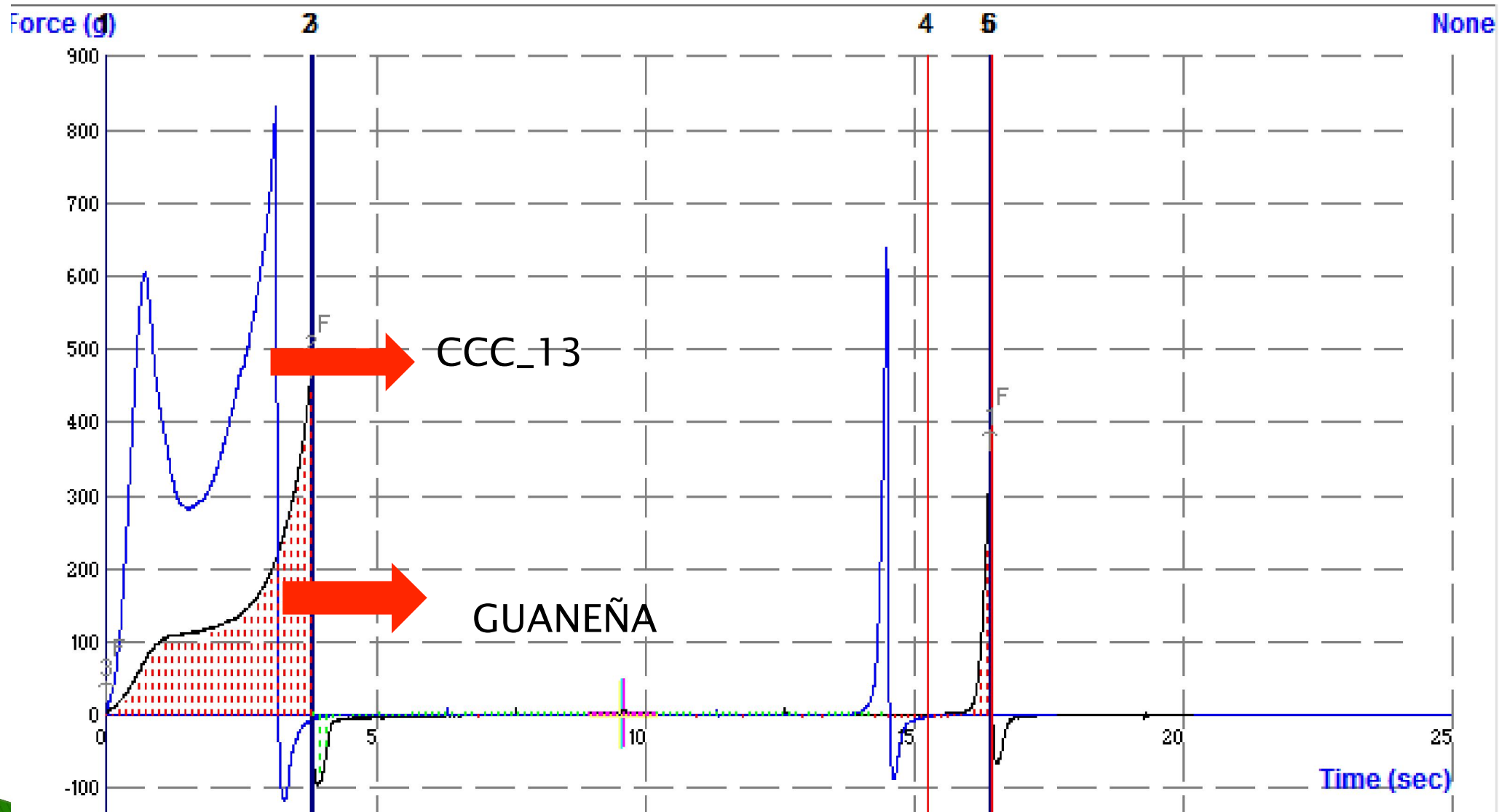
1. Análisis enzimático

Material	Rango (%)		Promedio(%)	
	AT	AR	AT	AR
CCC	12,83 – 17,94	0,045 – 0,09	12,75 $\pm$ 2,06	0,07 $\pm$ 0,01
CA	10,29 – 33,76	0,04 – 0,05	24,75 $\pm$ 7,10	0,05 $\pm$ 0,004
CONTROL			33,95 $\pm$ 2,58	0,07 $\pm$ 0,01

Poner título a esta tabla

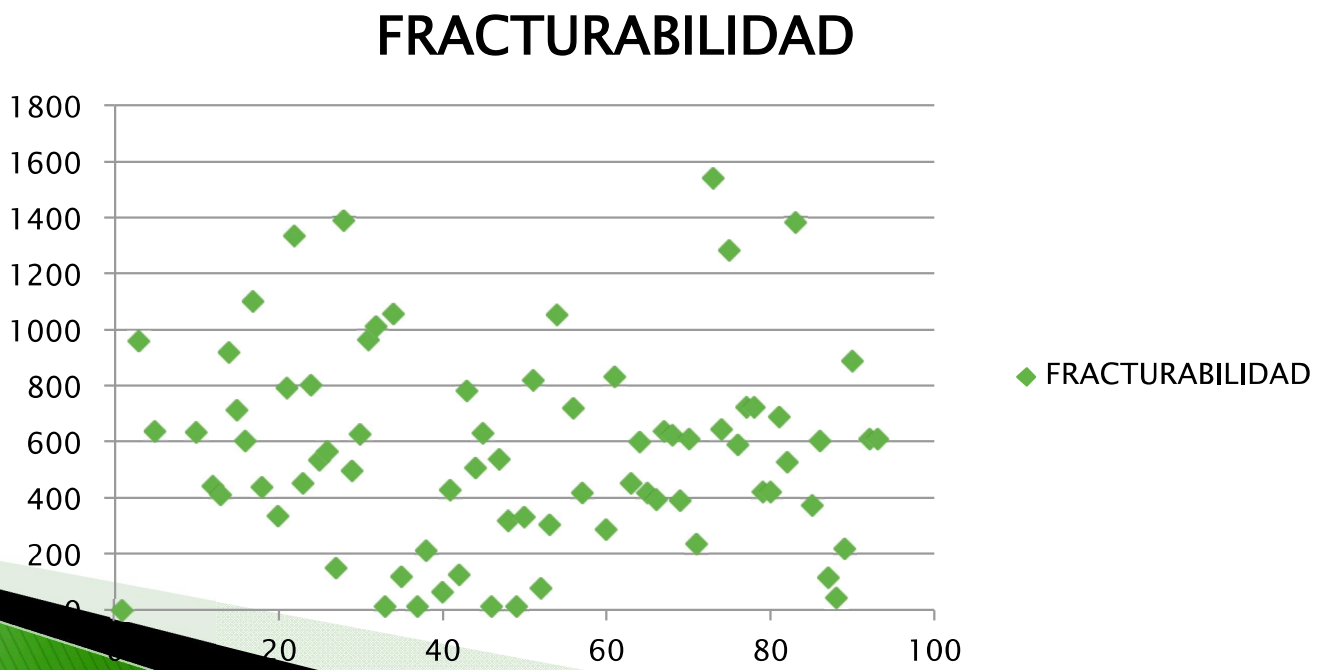
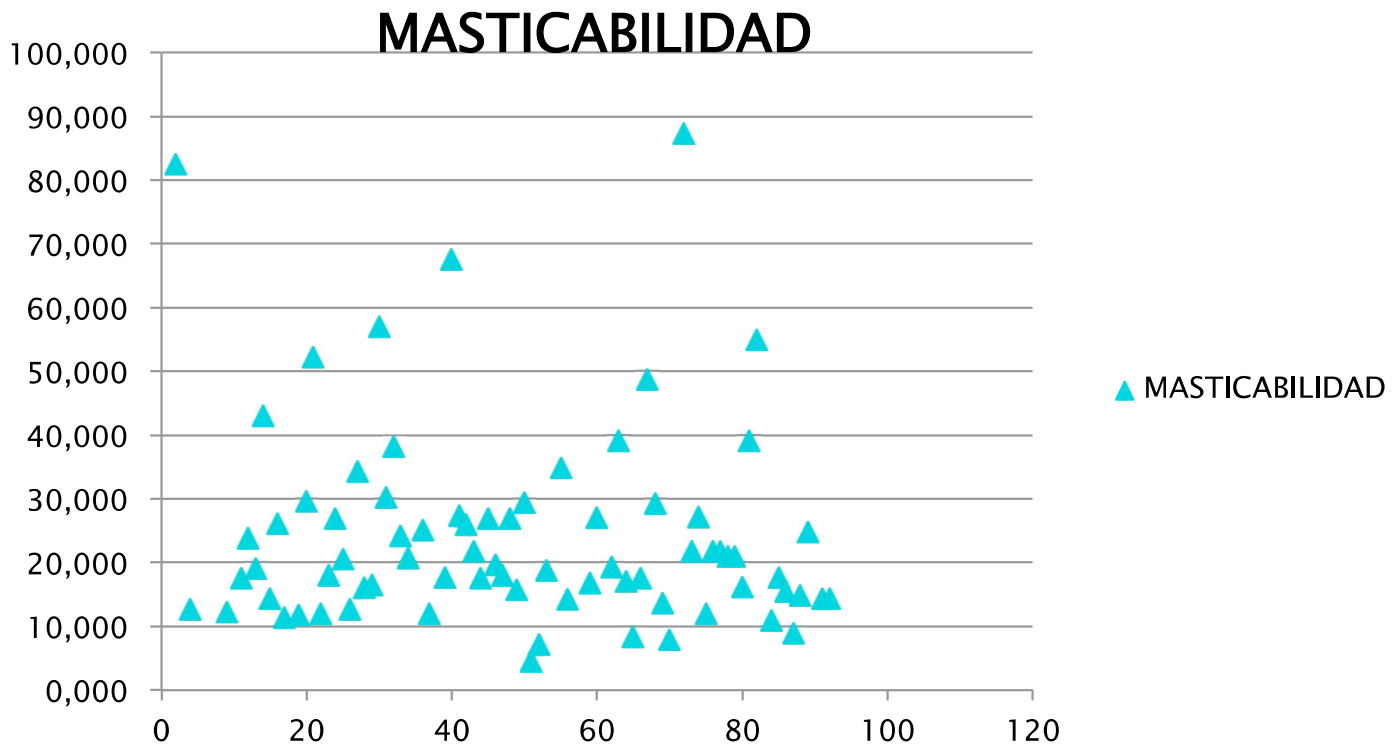
<i>Almidón</i>	<i>Genotipo</i>	<i>Promedio(%)</i>	<i>SD</i>
AT	CA-9	33,76	0,92
	CA-62	29,29	0,50
	CA-4	28,97	0,68
AR	CCC-83	0,09	0,009
	CCC-30	0,09	0,03
	CCC-3	0,07	0,005

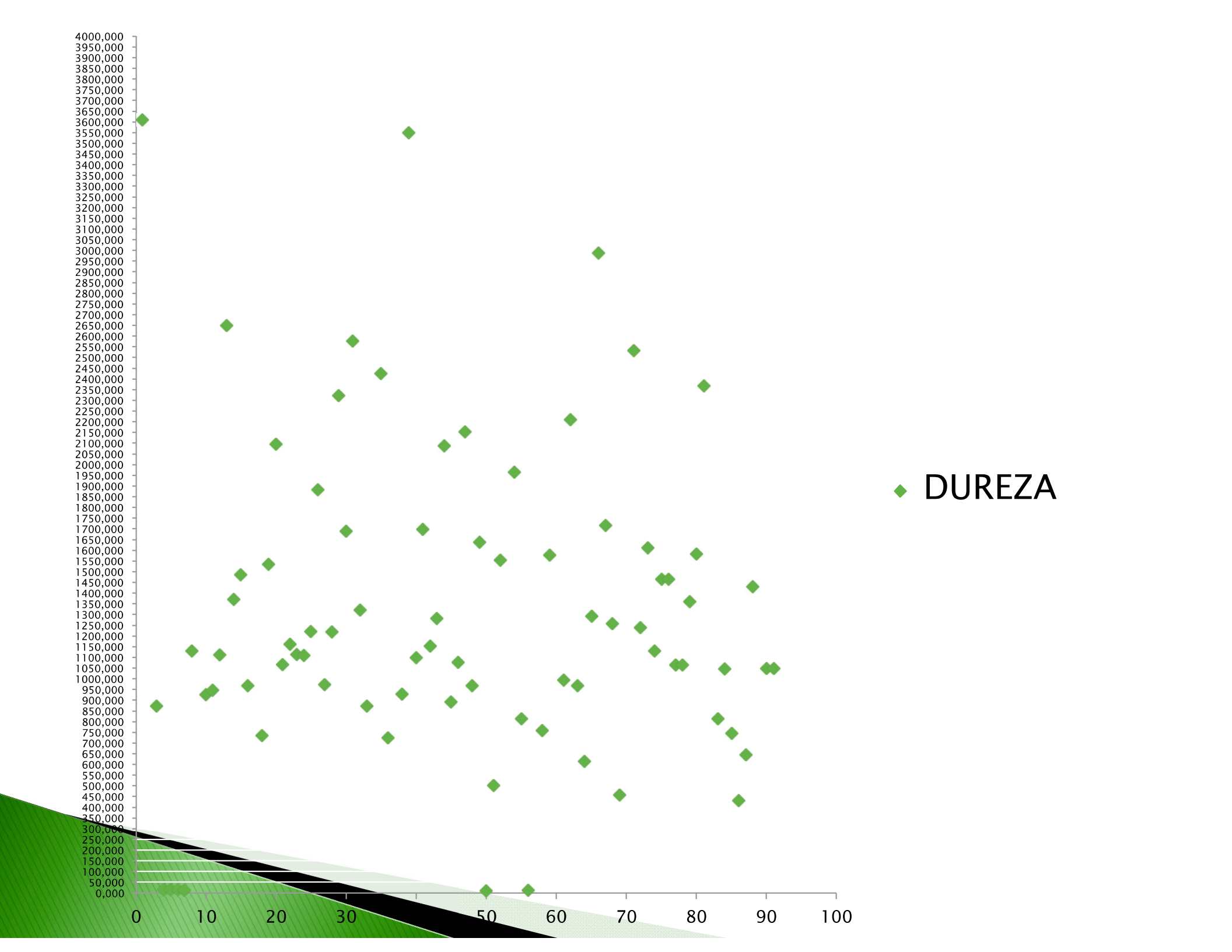
2. TPA perfil de textura en qué



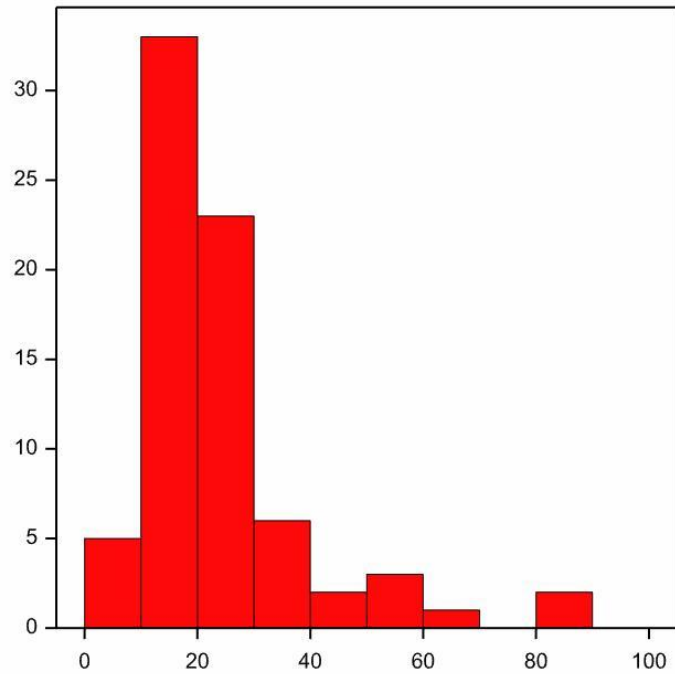
► Software TEXTURE EXPONENT 32 ®

PARAMETROS

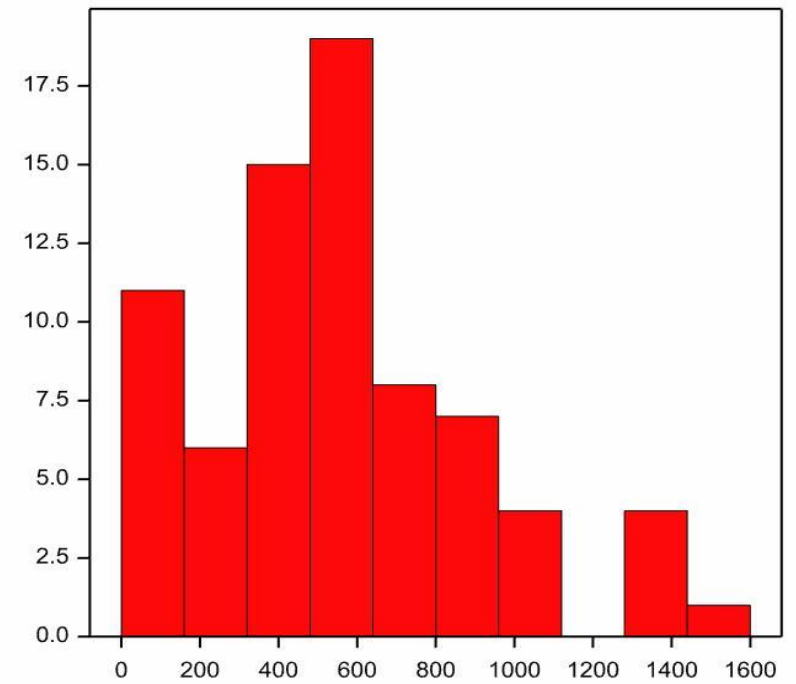




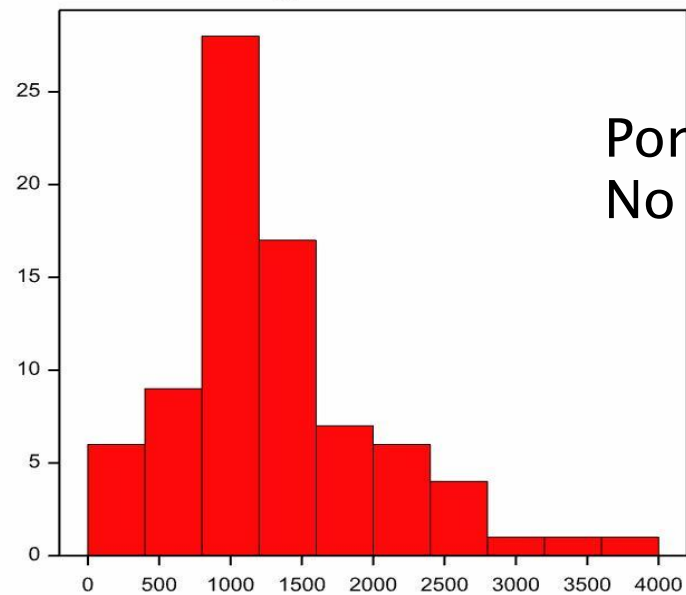
Histogram for MASTICABILIDAD



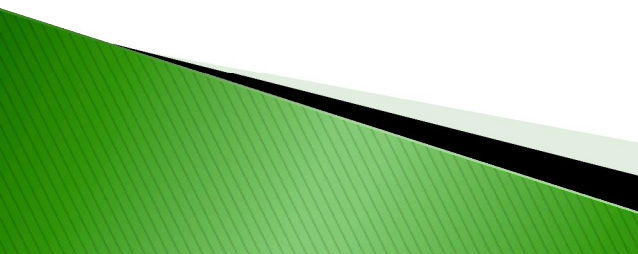
Histogram for FRACTURABILIDAD



Histogram for DUREZA



Poner título a estas gráficas.
No se sabe de qué se trata



Genotipificación

ALMIDON %			
GENES CANDIDATOS		SNPs	
MARCADOR	P	MARCADOR	P
TM10SNP166	0,058	TM46PHUSNP8	0,023
TM27SNP366	0,006	TM46PHUSNP7	0,047
TM14SNP66	0,059		
MF8PHUSNP5	0,057		
MF19PHUSNP6	0,034		
MF19PHUSNP5	0,058		
MF19PHUSNP3	0,029		
MF19PHUSNP2	0,032		
MF19PHUSNP1	0,008		

TEXTURA DUREZA			
GENES CANDIDATOS		SNPs	
MARCADOR	P	MARCADOR	P
MF12PHUSNP4 (6)	0,015	MF12PHUSNP4 (4)	0,016
MF19PHUSNP6 (4)	0,002	MF19PHUSNP6 (4)	0,003
TM11SNP94	0,011	TM11SNP94	0,015
TM15SNP223	0,057	TM18SNP88 (2)	0,008
TM18SNP88 (4)	0,007	TM27SNP366 (2)	0,037
TM27SNP366 (2)	0,033	TM30SNP115	0,053
TM30SNP115	0,026 (3)	TM35PHUSNP9	0,002
TM35PHUSNP9	0,003		
TOTAL	20	15	

Falta titulo a estas tablas

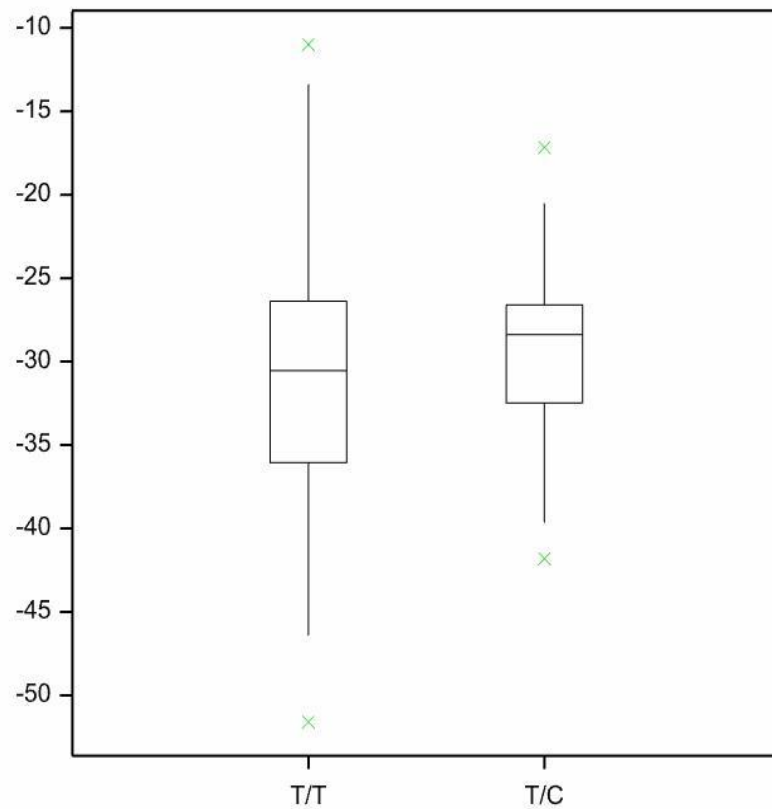
TEXTURA FRACTURABILIDAD			
GENES CANDIDATOS		SNPs	
MARCADOR	P	MARCADOR	P
MF7PHUSNP1	0,023	MF7PHUSNP4	0,015
MF7PHUSNP2	0,038	MF7PHUSNP2	0,037
MF7PHUSNP4	0,018	MF7PHUSNP1	0,01
MF7PHUSNP7	0,028	MF7PHUSNP5	0,047
RNAseq9SNP227	0,054	MF7PHUSNP7	0,011
TM18SNP66	0,032	TM18SNP88	0,007
		TM18SNP108	0,002
		TM27SNP459	0,035
TOTAL	6	8	

TEXTURA MASTICABILIDAD			
GENES CANDIDATOS		SNPs	
MARCADOR	P	MARCADOR	P
TM11SNP94	0,047	TM18SNP88	0,005
TM11SNP160	0,052	TM18SNP108	0,02
TM18SNP66	0,055	TM18SNP139	0,046
TM18SNP88	0,005	TM27SNP37	0,008
TM18SNP108	0,018	TM27SNP459	<.001
TM18SNP139	0,024		
TM27SNP37	0,007		
TM27SNP459	0,001		
TM35PHUSNP9	0,049		
TOTAL	9		5

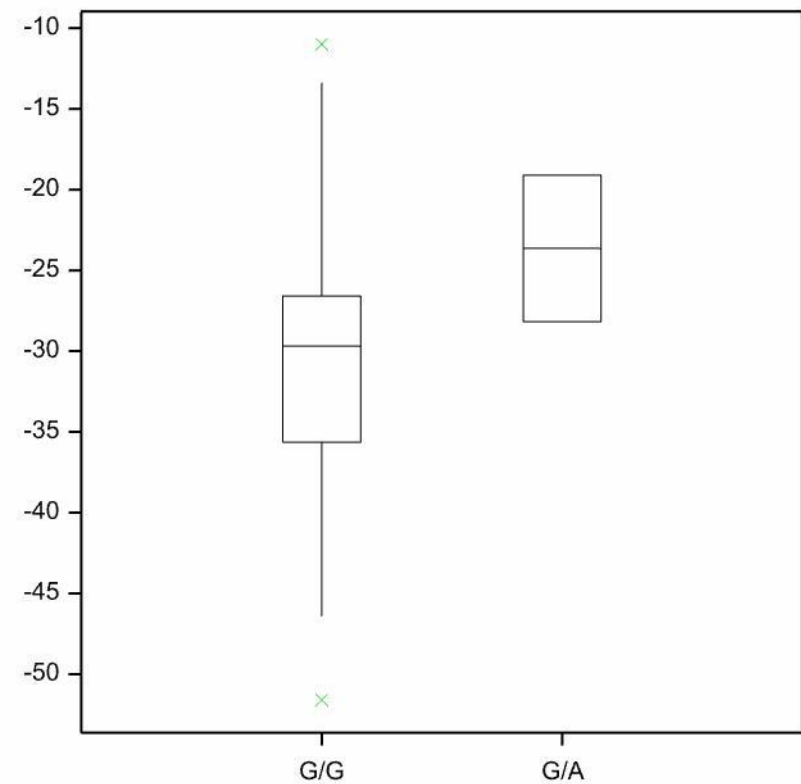
DOSIS ALÉLICA

1. ADHESIVIDAD

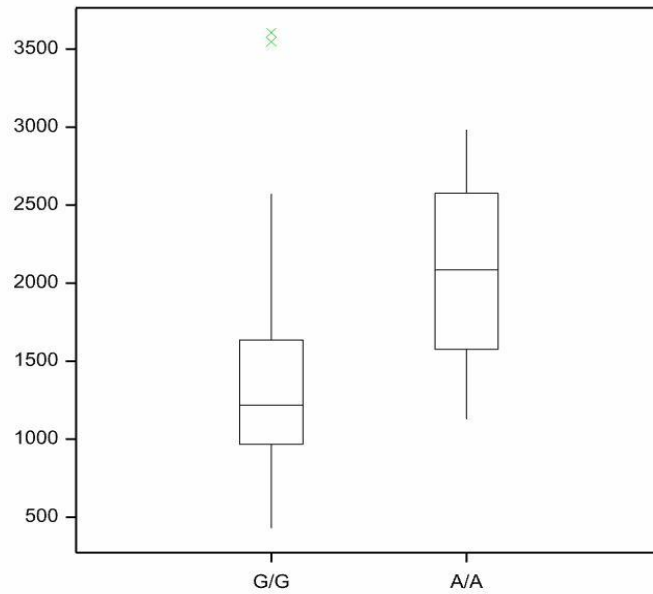
TM27 SNP226



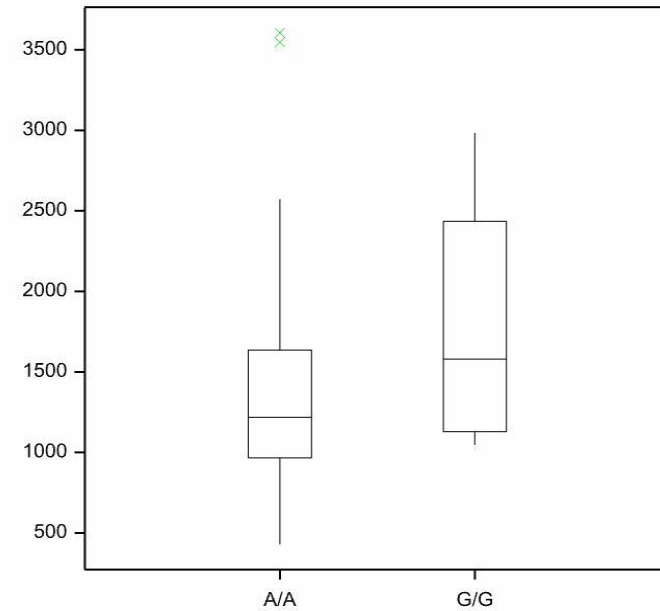
TM41 SNP85



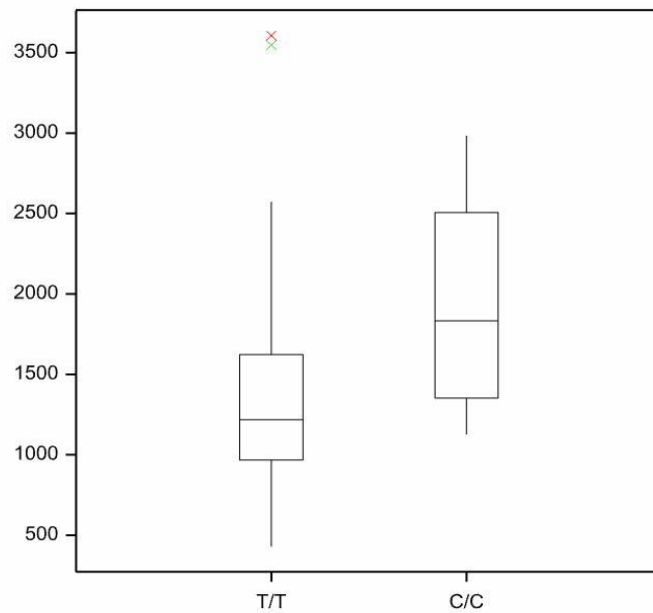
2. DUREZA



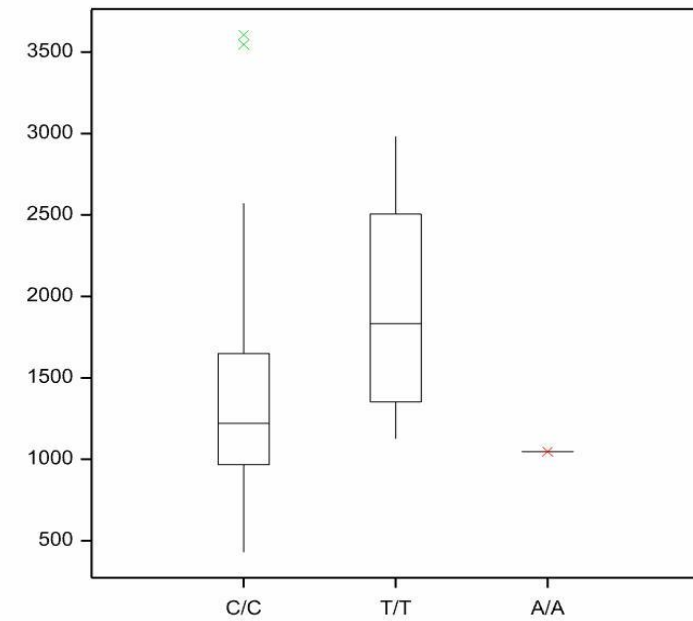
MFPHUSNP4



MFPHUSNP12



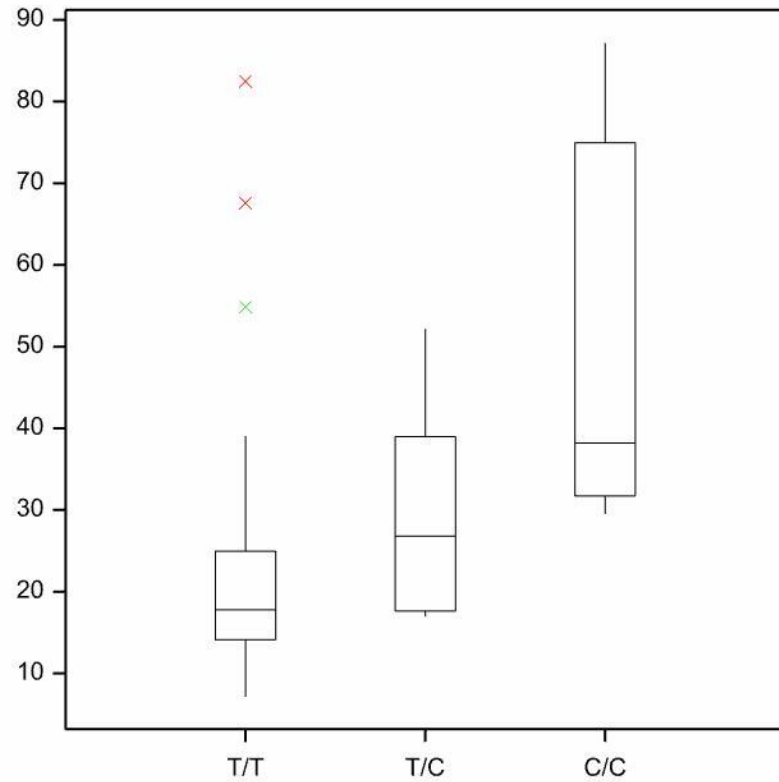
MFPHUSNP11



MFPHUSNP6

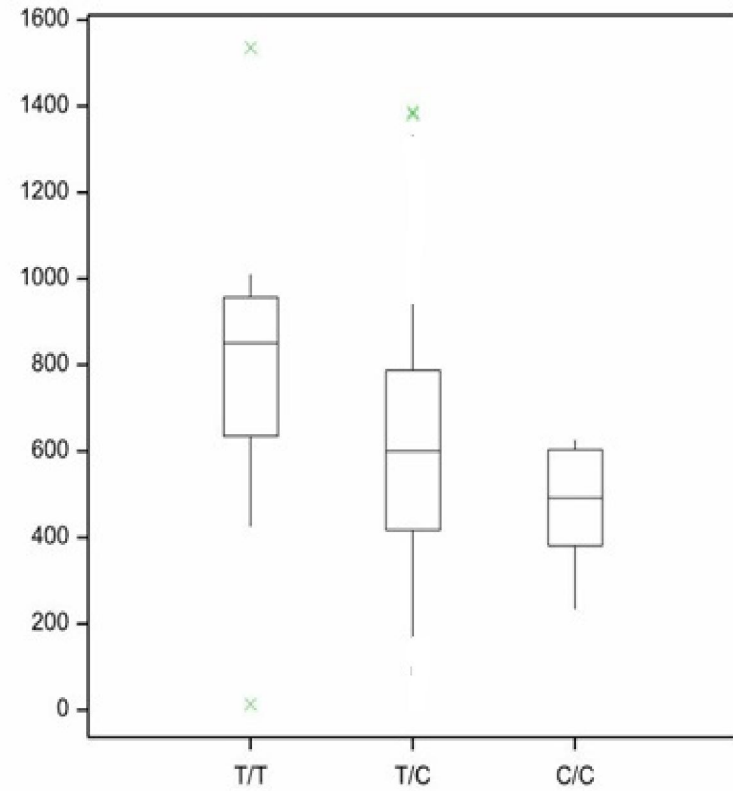
3. MASTICABILIDAD

TM27 SNP37



4. FRACTURABILIDAD

TM18 SNP88



► ASOCIACIÓN



Proyecto SAN Nariño

Seguridad Alimentaria y Nutrición

El mejoramiento de la producción de papa como contribución a la seguridad alimentaria en comunidades nativas en Colombia

Agradecimientos



MinAmbiente
Ministerio de Ambiente
y Desarrollo Sostenible

**PROSPERIDAD
PARA TODOS**

Contrato de acceso al recurso genético RGE0069

Proyecto desarrollado con el apoyo financiero del *International Development Research Centre (IDRC)*, www.idrc.ca, y el Gobierno de Canadá, a través del Department of Foreign Affairs, Trade and Development Canada (DFATD), Canada, www.international.gc.ca



Foreign Affairs, Trade and
Development Canada

Affaires étrangères, Commerce
et Développement Canada



IDRC | CRDI

International Development Research Centre
Centre de recherches pour le développement international



Gracias por su atención

Objetivo: Evaluar la composición proximal de papas del grupo *Andigenum*
ALMIDÓN TOTAL (*Solanum phureja*)

Contenido de
almidón total
Método oficial
996.11 AOAC

Con anterioridad preparar
enzimas (α amilasa,
amiloglucosidasa) con sus
respectivos buffers y
mantener almacenadas en
frio

Pesar 90 - 100 mg
de tubérculo
líoofilizado

Adicionar 0.2mL Etanol 80%, 3mL de α - amilasa, incubar en agua hirviendo ,
mezclar

Adicionar 400 mL de buffer de acetato de sodio y 0.1mL de la solución de
amiloglucosidasa, mezclar e incubar 50°C

Transferir cuantitativamente el contenido y llevar a volumen 100 mL, tomar una
alícuota y centrifugar 10 min a 1000 x g, transferir el sobrenadante y evaluar
utilizando la metodología para evaluación de glucosa GO Assay Kit de Sigma®

Realizar los ajustes y cálculos de mg de glucosa por cada
mol de almidón hidrolizado por acción enzimática. Curva
de calibración y regresión lineal

Tomado
de: Goñi
et al.,
1997

Objetivo: Evaluar la composición proximal de **ALMIDÓN
RESISTENTE**

Pesar 90 – 100 mg de
tubérculo liofilizado

Adicionar 10ml Buffer KCL-HCL pH1.5, 1g
pepsina, incubar 60 min 40°C

Adicionar 9ml de 0.1 M buffer tris-maleato,
pH 6.9 Adicionar 1ml α - amilasa incubar
16h 37°C

Centrifugar, conservar pellet, adicionar KOH,
incubar 30 min, adicionar buffer acetato,
0.8ml de amiloglucosidasa 45 min 60°C

Centrifugar 3000g coleccionar sobrenadante,
lavar y volver a centrifugar, continuar con la
metodología para evaluación de glucosa GO
Assay Kit de Sigma®

Realizar los ajustes y cálculos de mg de
glucosa por cada mol de almidón
hidrolizado por acción enzimática. Curva de
calibración y regresión lineal