

## DIVERSIDAD GENÉTICA MOLECULAR DE *Mirabilis expansa* MEDIANTE RAPD

### MOLECULAR GENETIC DIVERSITY OF *Mirabilis expansa* USING RAPD

Julio A. Chia W.<sup>1</sup>, Cesar F. López B.<sup>1</sup>, Raúl Blas S.<sup>1</sup>, J. Seminario<sup>2</sup>, R. Mansilla<sup>1</sup> y J. P. Baudoin<sup>3</sup>

#### Resumen

Se estudió la diversidad genética mediante la técnica de RAPD en 37 accesiones de una colección del norte del Perú de “chago” o “mauka” *Mirabilis expansa*; Se obtuvieron 60 marcadores polimórficos con 9 de 19 iniciadores decaméricos. Se calcularon los índices de iniciador RAPD, obteniéndose los valores más altos con los iniciadores OPA04, OPA09 y OPA13, lo cual sugiere su uso valioso en futuras investigaciones con RAPD en colecciones más grandes o para especies de *Mirabilis*. Con el coeficiente de Simple Matching y el algoritmo UPGMA se obtuvo un dendograma del cual, a un coeficiente de 1, se observan 31 grupos. Esto indicaría unos 16.216 % de posibles duplicados en la colección de Germoplasma. Con un índice de similitud de 0.85 se encontró que se forman 8 clusters o grupos, sin coincidir en su mayoría con los 5 morfotipos reportados. Además se realizó un Análisis Molecular de Variancia con 2 componentes: interregional y entre accesiones/ región, cuyos valores fueron 21.69% y 78.3%, respectivamente; valores que sugieren una considerable contribución de variación genética gracias a las muestras de diversas partes del país.

**Palabras clave:** RAPD, *Mirabilis expansa*, raíz tuberosa, diversidad genética, AMOVA

#### Abstract

A collection of 37 accessions of *Mirabilis expansa*, “chago” or “mauka” from northern Perú, was analyzed by RAPD assays and the molecular genetic diversity determined. In order to know which primer was more informative, the PIC values were summed up and a RAPD primer index calculated, resulting in the primers OPA04, OPA09 and OPA13 with the highest indexes, suggesting their potential utility in further research in *Mirabilis* species. From 9 of the 19 RAPD primers selected, we obtained 60 polymorphic markers, which yielded a Simple Matching Coefficient Dendogram, which shows 31 groups at a similarity index of 1. It also indicates a 16.216% of possible duplicates in the collection and with a similarity index of 0.85 we observed 8 clusters, with a significant difference compared to the morphological characterization data. An Analysis of Molecular Variance was performed, separating 2 variation components: among regions and among accessions/within region. The values obtained were 21.69% and 78.3% respectively, being both relatively high and showing considerable contribution of genetic variation from samples of diverse collection places.

**Key words:** RAPD, *Mirabilis expansa*, Tuber roots, genetic diversity, AMOVA

#### Introducción

*Mirabilis expansa* (Ruiz & Pavón) Standley conocida como “chago” en Cajamarca y como mauka en el sur del Perú o Bolivia. Es una *Nyctaginaceae*, planta promisoría distribuida desde el Ecuador, Perú hasta Bolivia; encontrándose parientes silvestres desde Venezuela hasta Chile (Seminario, 1993).

Su importancia radica en que posee raíces reservantes con mayor contenido de proteínas, calcio y fósforo con respecto a otras tuberosas (Franco & Uceda, 1996), pudiendo complementar las deficiencias nutricionales del poblador andino. En otros estudios se ha encontrado que plantas del género *Mirabilis* poseen proteínas inactivadoras de ribosomas (*Ribosome Inactivating Proteins*) con propiedades antivirales, que impiden la infección de virus y viroides transmitidos mecánicamente en cultivos como papa y tomate

previamente aplicados con extractos crudos de tales plantas (Vivanco, 1999).

El cultivo es prácticamente desconocido para el consumidor común de la costa y en menor magnitud al de la sierra, ya que sólo los campesinos que aprecian sus cualidades la siembran para autoconsumo, incluso no posee las características agronómicas y comerciales que le permita competir con otros productos de mayor consumo (Ejemplo: la papa), por ello el productor grande no le ve importancia en estudiar ni mejorar el cultivo. De esta manera, el cultivo está siendo olvidado o desplazado, perdiéndose como recurso que podría ser aprovechado en el futuro por su potencial en la alimentación ganadera y como fuente de genes.

Se han realizado caracterizaciones morfológicas preliminares de la colección en Cajamarca (Seminario & Seminario, 1995); sin embargo, los rasgos fenotípicos aislados no proporcionan evaluaciones

minuciosas de la diversidad genética dado que los caracteres morfológicos pueden representar loci limitados dentro de todo genoma (Zhang *et al.*, 1998); adicionalmente, los factores medioambientales influyen mucho en los resultados (Spooner *et al.*, 1996), por lo que es conveniente añadir caracterizaciones a nivel bioquímico y/o molecular, que permitan definir con mayor certeza las relaciones de parentesco entre cultivares y silvestres. Para este estudio planteamos los objetivos de estudiar la diversidad genética a nivel genotípico mediante los marcadores RAPD y conocer la distribución de la variación genética a nivel intra e interregional.

### Materiales y Métodos

#### Material Vegetal

Se analizaron 37 accesiones pertenecientes al Banco de Germoplasma del Programa de Biodiversidad de Raíces y Tubérculos Andinos de la Universidad Nacional de Cajamarca. Según los datos pasaporte proporcionados por Seminario (Tabla 1), 1995. 24 accesiones pertenecen al departamento de Cajamarca, 12 a La Libertad y una accesión a Puno. La accesión CCHuNC033 es *Mirabilis postrata* (Ruiz & Pavón) Heimerl y la accesión CCHuNC041 *Mirabilis intercedens* Heimerl son parientes silvestres del *M. expansa*; la accesión CCHuNC034, es una *M. expansa* silvestre; las accesiones CCHuNC047, CCHuNC048, CCHuNC049, CCHuNC051 no han sido tipificadas en ningún morfotipo (Tabla 5), siendo agrupadas entonces como *Mirabilis* spp.

#### Extracción del ADN genómico

Se modificó el protocolo de Tai & Tanskley (1990) utilizando una concentración mayor de NaCl y sin nitrógeno líquido, para la extracción de ADN de muestras de hojas jóvenes desecadas, tomadas al azar de 3 individuos. Se priorizó la obtención de una mayor calidad y pureza de ADN, basándose en el índice de pureza (Absorbancia a 260 nm / Absorbancia a 280 nm:  $A_{260}/A_{280}$ ) cercano al 1.8 – 2.0 y la corrida electroforética para verificar la calidad del ADN. Sin embargo, las muestras aún presentaron gran cantidad de poli fenoles, proteínas y ADN degradado. Se realizaron las medidas a través de un espectrofotómetro Beckman UV-VIS y se diluyeron las soluciones stock de ADN hasta una concentración de 9 a 12 ng/ul.

#### Ensayos RAPD

Se estandarizó en el laboratorio la técnica RAPD, Williams *et al.* (1990) y Welsh & McClelland (1990); y se ensayaron 19 iniciadores RAPD decaméricos (Operon Technologies Inc.), usando 4 accesiones tomadas al azar.

Todas las pruebas PCR se realizaron en un termociclador Perkin Elmer 9700 en un volumen total de 15 ul de mezcla de reacción compuesto por: buffer de actividad 1X, MgCl<sub>2</sub> 3.5 mM, dNTPs Sigma® 0.25 mM, iniciador 1 uM, ADN molde 9-12 ng, Bovine

Serum Albumin Sigma® (BSA) 0.1 ug/ul, Taq polimerasa (Perkin Elmer®) 1 unidad, agua libre de nucleasas c.s.p.; adicionando 20 ul de aceite mineral para evitar la excesiva evaporación. El programa de PCR usado comprendió un ciclo inicial de 94°C x 1 minuto; luego 3 ciclos de [94°C x 15 segundos, 35°C x 15 segundos, 72°C x 75 segundos]; seguido de 40 ciclos de [94°C x 15 segundos, 40°C x 15 segundos, 72°C x 75 segundos]; 1 ciclo de 72°C x 7 minutos y finalmente 1 ciclo de 4°C.

**Tabla 1.** Datos pasaporte de las 37 accesiones de *Mirabilis expansa* y *Mirabilis* spp. utilizadas para la caracterización molecular (Seminario & Seminario, 1995)

Accesiones	Especie	País	Departamento
CChUNC001	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC002	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC006	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC007	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC008	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC009	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC010	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC011	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC013	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC014	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC015	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC016	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC019	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC020	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC021	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC023	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC024	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC025	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC026	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC027	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC028	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC030	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC031	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC033	<i>Mirabilis postrata</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC034	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC037	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC038	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC039	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	La Libertad
CChUNC040	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC041	<i>Mirabilis intercedens</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC042	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Puno

CChUNC043	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC044	<i>Mirabilis expansa</i>	Perú	Cajamarca
CChUNC047	<i>Mirabilis</i> spp.	Perú	Cajamarca
CChUNC048	<i>Mirabilis</i> spp.	Perú	Cajamarca
CChUNC049	<i>Mirabilis</i> spp.	Perú	La Libertad
CChUNC051	<i>Mirabilis</i> spp.	Perú	La Libertad

Las corridas electroforéticas se realizaron en geles de agarosa al 2.5%, posteriormente teñidas con bromuro de etidio 1% por 10 minutos. La visualización se realizó en un transiluminador y mediante una cámara digital se guardaron las imágenes en archivos gráficos. Estos fueron analizados mediante inspección visual asignando valores de 1 (uno) a la presencia de banda y 0 (cero) a la ausencia. Las bandas de presencia dudosa se le asignaron el valor de 9 (nueve). Se asume que el patrón de todas las bandas muestra dominancia, es decir, la presencia de la banda representa el genotipo homocigótico dominante y heterocigótico, y la ausencia corresponde al genotipo recesivo.

#### Análisis de los datos

Se determinó el índice de contenido polimórfico PIC (Senior *et al.*, 1998) para cada marcador. Los PIC fueron sumados para cada marcador RAPD generado obteniéndose el Índice de iniciador RAPD (Ghislain *et al.*, 1999).

Para el análisis de datos se ingresaron éstos a una matriz básica de datos con el paquete estadístico NTSYS v2.1p y se corrió la opción de análisis multivariado, obteniendo una matriz de similitud utilizando el Coeficiente de Concordancia Simple o *Simple Matching Coefficient* (SMC) (Crisci & López, 1983). Para el análisis de agrupamientos se utilizó el programa NTSyspc v2.1p, basado en el UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages*), con el objetivo de obtener el dendograma. Para estimar la variancia de los componentes interregional e intra regional se utilizó el análisis molecular de variancia o AMOVA (Zhang *et al.*, 1998).

#### Resultados y Discusión

De la prueba con los 19 iniciadores RAPD finalmente se seleccionaron solo 9 considerando los que produjeron fragmentos de ADN bien definidos y de intensidad considerable, estos fueron: OPA01 5'-CAGGCCCTTC-3', OPA03 5'-AGTCAGCCAC-3', OPA04 5'-AATCGGGCTG-3', OPA07 5'-GAAACGGGTG-3', OPA08 5'-GTGACGTAGG-3', OPA09 5'-GGGTAACGCC-3', OPA10 5'-GTGATCGCAG-3', OPA13 5'-CAGCACCCAC-3', OPA20 5'-GTTGCGATCC-3'; con los cuales se obtuvieron 60 marcadores polimórficos, algunos de los cuales se aprecian en la Figura 1. La Tabla 3 contiene los índices de iniciadores y se observa que

los valores más altos los tienen los iniciadores OPA04, OPA09 y OPA13, pudiendo sugerir su gran valor para futuras investigaciones en identificación genotípica de *M. expansa* y *Mirabilis* spp.

**Tabla 3.** Índices de iniciador RAPD

Iniciador RAPD	Índice de iniciador RAPD
OPA01	0.66
OPA03	1.46
OPA04	2.34
OPA07	1.10
OPA08	0.72
OPA09	2.15
OPA10	0.41
OPA13	2.03
OPA20	0.55

Al realizar el análisis de similaridad se comparó el dendograma basado en el coeficiente de concordancia simple o Simple Matching con el obtenido con el coeficiente Jaccard; aunque la topología de ambos árboles resultantes es similar, se escogió el primero debido a que tiene mayor índice de similitud que el segundo y, se ajusta más a los datos pasaporte y morfológicos; define una mayor similaridad entre las accesiones y ;finalmente, considera a la accesión CCHuNC042 como una OTU separada. Además, se consideraron a las accesiones con un índice de similitud mayor (con respecto al coeficiente de Jaccard) por los siguientes factores: provienen de una pequeña área geográfica de colecta, la cual se circunscribe a localidades de Cajamarca, La Libertad y una de Puno; este material genético ha estado sometido a erosión genética (Seminario, 1993; Franco & Uceda, 1996) como consecuencia hay una pérdida de variabilidad genética. En relación a su sistema reproductor, el cultivo es principalmente autógamo (Valderrama *et al.*, 1999); además su propagación es principalmente clonal y escasamente por semilla, lo cual no permite un incremento de la variabilidad genética. Sobre las accesiones silvestres no se cuenta con mucha información acerca de su forma de propagación, pero es muy posible que sea a través de semillas, y esto implica una mayor base genética en este material. Hay pocos morfotipos (cinco hasta el momento) descritos para los cultivares de *M. expansa* (Seminario & Seminario, 1995), sugiriendo que la variabilidad a nivel de genes cualitativos es poca, explicándose también por el estado primitivo de este cultivo.

A un coeficiente de 1 se observan 31 grupos. Esto indicaría un 16.216 % de posibles duplicados en el Banco de Germoplasma. Por lo tanto, las accesiones duplicadas serían CChUNC006 = CChUNC008,

CChUNC007 = CChUNC019, CChUNC027 = CChUNC048, CChUNC014 = CChUNC026 = CChUNC040, CChUNC015 = CChUNC030.

Entre los posibles duplicados encontrados el denominador común es que la mayoría pertenece al mismo grupo morfológico (Tabla 2, en apéndice), a excepción del par CChUNC027 = CChUNC048, siendo éste último aun no identificado a nivel de especie ni de morfotipo. A diferencia del Cluster II, cuyos elementos comparten el mismo morfotipo y provienen del departamento de Cajamarca, los grupos de accesiones restantes formadas en el dendograma no guardan estricta relación con los datos geográficos o los datos morfológicos (Tabla 2).

Al tomar un índice de similitud de 0.85 en el dendograma (Figura 2), se pueden observar 8 clusters cuyos elementos, en la mayoría de los casos no comparten características morfológicas entre sí; lo cual sugiere una mayor variación a nivel molecular entre las accesiones. Las accesiones CChUNC001, CChUNC002, CChUNC006, CChUNC007, CChUNC008, CChUNC009, CChUNC010, CChUNC011, CChUNC019, CChUNC039 son identificadas en el mismo morfotipo, pero a nivel molecular aún presentan variabilidad. Lo mismo ocurre con las accesiones CChUNC013, CChUNC014, CChUNC015, CChUNC025, CChUNC026, CChUNC028, CChUNC030, CChUNC031, CChUNC037, CChUNC038, CChUNC040.

Las accesiones, CChUNC016, CChUNC020, CChUNC021, CChUNC023 y CChUNC027, pertenecientes al morfotipo 3, se agrupan junto con accesiones del morfotipo 2 en el Cluster I. La accesión silvestre CChUNC034 no pertenece a ningún cluster. CChUNC033, *Mirabilis postrata* y CChUNC049, *Mirabilis* spp. forman el cluster III.

La accesión CChUNC047 considerada como *Mirabilis* spp. (procedente de Cajamarca) está agrupado en el cluster IV junto con otras *M. expansa* (por ejemplo, con CChUNC039 de La Libertad) sugiriendo que la similitud genética puede no tener relación con la zona de cultivo y se presumiría que podría pertenecer a la especie *M. expansa*.

El Análisis Molecular de variancia (AMOVA), usando  $p=0.01$ , mediante el cual se desagregaron 2 componentes de variación: interregional e ínter accesiones por región, mostró valores de 21.69% y 78.3%, respectivamente y se exhiben en las Tablas 4 y 5. Ambos valores son medios y altos en relación a trabajos parecidos (Zhang *et al.*, 1998), por lo que se recomienda hacer énfasis en las colectas a nivel intra e interregional, ya que la participación de ambos componentes es importante por incrementar la variabilidad de la colección. Sin embargo, la variación interregional obtenida en la presente trabajo, tiene el inconveniente de tener en la región Puno solo una

accesión, que podría generar un sesgo estadístico en el análisis.

**Tabla 4.** AMOVA ( $p=0.01$ ) para las accesiones de *Mirabilis expansa* y *Mirabilis* spp. de los departamentos (regiones) de Cajamarca, La Libertad y Puno.

Fuente. variación	Grados de libertad	S.C.	C.M.
Entre Regiones	2	31.523	15.761
Entre Accesiones/Reg	34	403.287	11.861
TOTAL	36	434.810	
F. Cal. 1.28	F. tab (0,01) 3.28		

**Tabla 5.** Porcentajes de variabilidad de los componentes jerárquicos en el AMOVA.

	Variancia	% Variación
Varianza.Acesión $\sigma_j^2 =$	11.861	78.304
Varianza.Regional $\sigma_i^2 =$	3.286	21.696
Varianza.Total $\sigma_T^2 =$	15.147	100

### Conclusiones

Se obtuvo un porcentaje de individuos posiblemente duplicados de aproximadamente 16% en la colección estudiada.

No se apreció correspondencia entre los datos de la caracterización morfológica (fenotípica) y los datos de la caracterización molecular.

Se puede considerar el análisis molecular para definir la identidad taxonómica de especie en aquellas accesiones aun desconocidas o de identificación morfológica ambigua.

La variación intrarregional fue más significativa, posiblemente explicada por la reproducción sexual del cultivo.

### Agradecimientos

Trabajo posible gracias al financiamiento del Conseil de la InterUniversitaire communauté Française (CIUF) de Bélgica.

Agradecemos toda la colaboración de los miembros del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Agradecemos al Ing. Miguel Valderrama (Cajamarca) por su ayuda y su aporte en la realización del trabajo.

### Literatura citada

- Crisci J. & López M. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Serie n°26 OEA Washington D.C.
- Franco P. & Uceda J. 1996. El Chago o Yuca Inca *Mirabilis expansa*: Raíz andina en peligro de extinción. Informe Técnico – Estación experimental y forestal “Baños del Inca” n°1.
- Ghislain M., Dapeng Z., Fajardo D., Huaman Z. & Hijmans R.J. 1999. Marker assisted sampling of the cultivated

Andean potato *Solanum phureja* collection using RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution. 46: 547-555.

Seminario C.J. 1993. Aspectos etnobotánicos y morfológicos del chago, miso o mauca (*Mirabilis expansa* R. y P.) en el Perú. Boletín de Lima. 15(86): 71-79.

Seminario C.J. & Seminario A. 1995. Colección Regional de Germoplasma de Raíces Andinas. Mimeografiado. Universidad Nacional de Cajamarca. Programa Colaborativo Biodiversidad de Raíces y Tubérculos Andinos (Convenio CIP-COTESU). Cajamarca.

Senior M.L., Murphy J.P., Murphy M.M. & Struber C.W. 1998. Utility of SSR for determining genetic similarities and relationships in Maize using an Agarose gel system. Crop Science. 38: 1088-1098.

Spooner D. M., Tivang J., Nienhuis J., Miller J. T., Douches D.S. & Contreras-M. A. 1996. Comparisons of four molecular markers in measuring relationships among the wild potato relatives *Solanum* section *Etuberosum* (subgenus Potatoe). Theoretical and Applied Genetics 92: 532-540.

Tai T.H. & Tanksley S.D. 1990. A rapid and inexpensive method for isolation of total DNA from dehydrated plant tissue. Plant Molecular Biology Reporter .8(4): 297-303.

Valderrama M., Seminario J. & Cabanillas J. 1999. Estudio de la Biología Floral de cuatro cultivares y tres parientes silvestres de chago; *Mirabilis expansa* (R. y P.) Standley. Artículo Científico. Universidad Nacional de Cajamarca.

Vivanco J.M. 1999. Studies on the Biochemistry and Physiology of root-specific ribosome inactivating proteins (RIPs) in *Mirabilis expansa* and related species. Tesis para optar por el grado de Doctor en Filosofía. Pennsylvania State University. EE.UU.

Welsh J. & McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research. 18: 7213-7218.

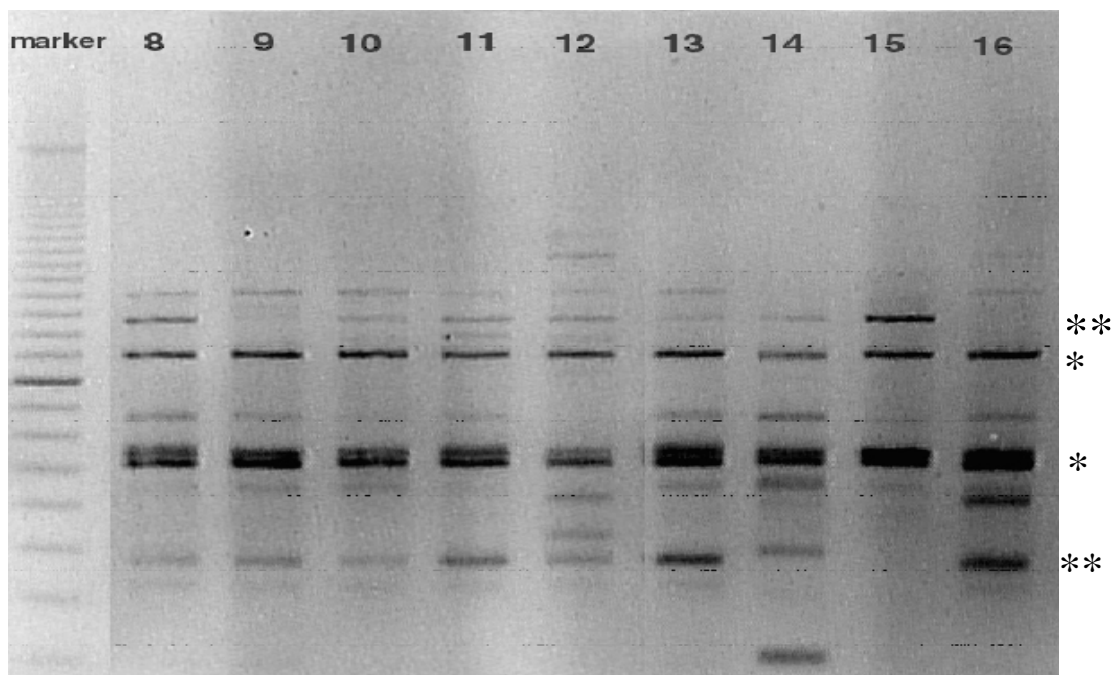
Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. & Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. 18: 6531-6535.

Zhang D., Ghislain M., Huaman Z., Golmirzaie A. & Hijmans R. 1998. RAPD variation in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars from South America and Papua New Guinea. Genetic Resources and Crop Evolution. 45: 271-277.

Apéndice de tablas y figuras

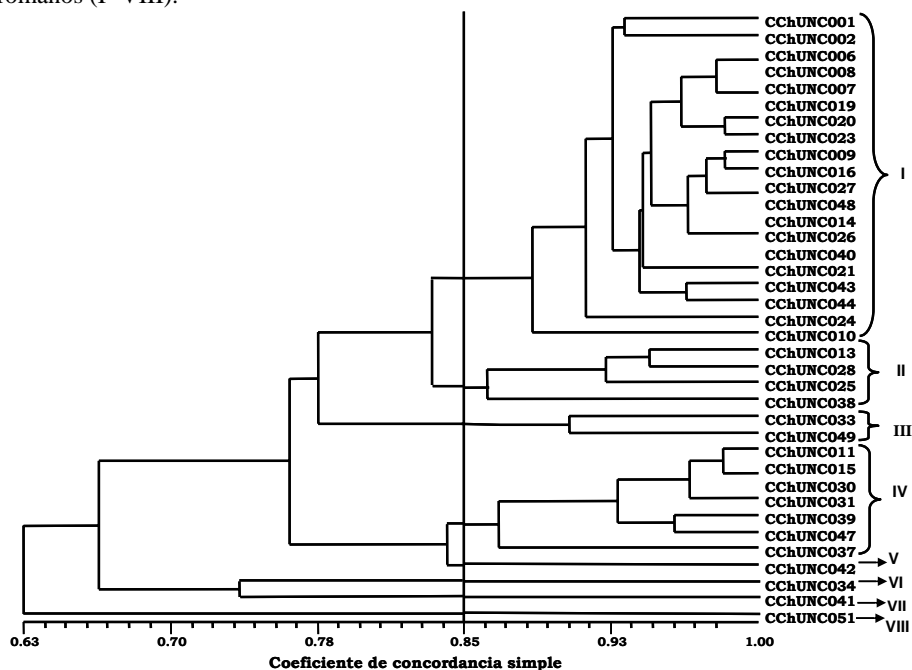
Tabla 2. Morfortipos, descriptores y respectivas accesiones de *Mirabilis* spp. y *Mirabilis expansa*.

Morfo-tipo	Hábito	tallo color	Hoja			flor color	Raíz		Accesiones
			Forma lámina	Color lámina	color nervadura		Color externo	color pulpa	
1	decumbente	púrpura	Cordada	verde con pigmentación púrpura/verde con pigmentación púrpura	púrpura verdoso/púrpura verdoso	lila	Crema amarillento	Blanco crema	CChUNC013, CChUNC014, CChUNC015, CChUNC024, CChUNC025, CChUNC026, CChUNC028, CChUNC030, CChUNC031, CChUNC037, CChUNC038, CChUNC040, CChUNC043.
2	decumbente	verde oscuro	ovalada	verde oscuro/verde	verde claro/verde	blanco liláceo	Crema amarillento	Blanco crema	CChUNC001, CChUNC002, CChUNC006, CChUNC007, CChUNC008, CChUNC009, CChUNC010, CChUNC011, CChUNC019, CChUNC039.
3	decumbente	verde amarillento	cordada	verde claro/verde claro	verde amarillento/verde	blanco	blanco	Blanco	CChUNC016, CChUNC020, CChUNC021, CChUNC023, CChUNC027.
4	decumbente	púrpura	ovalada	verde con pigmentación púrpura/verde oscuro	verde claro con pigmentación púrpura/verde claro	lila	canela anaranjado	Anaranjado pálido	CChUNC042.
5	decumbente	púrpura	cordada	verde claro/verde claro	púrpura verdoso/púrpura verdoso	lila claro	crema amarillento	Blanco crema	CChUNC044.
No determ.									CChUNC033, CChUNC034, CChUNC041, CChUNC047, CChUNC048, CChUNC049, CChUNC051.



**Figura 1:** Patrón de bandas RAPD con el iniciador OPA-07 en 9 genotipos en agarosa 2,5%/EtBr. marker: EZ Load 100 (ladder 100 pb). Un asterisco indica carácter monomórfico, dos asteriscos muestra los polimorfismos.

**Figura 2:** Dendrograma mostrando el parentesco entre las 37 accesiones de *M. expansa* y *Mirabilis* spp con marcadores RAPD. A un índice de similitud de 0.85 se pueden observar 8 subgrupos o clusters, indicados en números romanos (I- VIII).



<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Agraria La Molina. Apartado postal 12056 Lima 12 - Perú.  
 julio.chiawong@gmail.com / cflb@lamolina.edu.pe

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de Cajamarca,

<sup>3</sup>Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Bélgica.