

Caracterización morfológica y molecular de accesiones de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) para estimar variabilidad genética

Año
2017

Autor
Allende Ciballero, María José

Este documento está disponible para su consulta y descarga en el portal on line de la Biblioteca Central "Vicerrector Ricardo Alberto Podestá", en el Repositorio Institucional de la **Universidad Nacional de Villa María**.

CITA SUGERIDA

Allende Ciballero, M.J. (2017). *Caracterización morfológica y molecular de accesiones de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) para estimar variabilidad genética*. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN MEJORAMIENTO GENÉTICO DE
PLANTAS**

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE
ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) PARA
ESTIMAR VARIABILIDAD GENÉTICA”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:
MARÍA JOSÉ ALLENDE CIBALLERO**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg.Sc. Julián Chura Chuquija
PRESIDENTE

Ph.D. Jorge Jiménez Dávalos
PATROCINADOR

Mg.Sc. Jenny Valdez Arana
CO-PATROCINADOR

Dr. Raúl Blas Sevillano
MIEMBRO

Mg.Sc. Amelia Huaranga Joaquín
MIEMBRO

Dedicada

A mis padres Gladys y Raúl por darme la vida y enseñarme que con esfuerzo y perseverancia ningún sueño es imposible de cumplir.

A mis hermanos Natalia, Emiliano y Ezequiel por estar siempre a mi lado y apoyar mis decisiones.

A mis abuelos, que me acompañan desde el cielo, por transmitirme su amor por el campo el cual hice mi profesión.

Y a mis cuatro amores Florencia, Leandro, Santino y Mauricio por su amor incondicional e incentivar mi superación cada día.

AGRADECIMIENTOS

Hoy me encuentro aquí sentada frente a la computadora por escribir los agradecimientos de la tesis. Pasé por tanto que creí que esta instancia no iba a llegar nunca. Alguien anónimo escribió que no existe piedra en tu camino que no puedas utilizar en tu beneficio... y doy fe de eso.

Conocer y trabajar en un nuevo cultivo no fue tarea fácil, vivir largo tiempo lejos de tu familia y amigos tampoco, pero fue muy gratificante porque uno siempre aprende de lo que el camino trae como desafío. Mientras lo transitaba fui conociendo personas que se transformaron en parte de mi nueva vida y que sin ellas y su ayuda desinteresada no podría haber desarrollado este trabajo.

Doy gracias a los que me acompañaron en lo académico e hicieron posible la conducción del trabajo de tesis, mi patrocinador Dr. Jorge Jiménez y co-patrocinador Mg Sc. Jenny Valdez y a los miembros del comité consejero Dr. Raúl Blas y Mg Sc. Amelia Huaranga por su guía en este proceso. A mis compañeros de maestría, en especial a Jonell Soto, por su amistad incondicional y compañerismo. Al Dr. Gastón Zolla por sus consejos en momentos difíciles. A los chicos y personal de campo del programa de cereales por su apoyo incondicional. A mis compañeros de trabajo en Argentina que me “bancaron” en esta loca experiencia. A la Dr. Julia Carreras, mi mamá de la vida y amiga incondicional, por su apoyo y aliento incansable en todo momento. A mi familia por la confianza plena, mis padres, Gladys y Raúl y mis hermanos Nati, Emi y Sequi, que me bancaron en TODO y a los que quiero con todo el corazón.

Al Fondo para la Innovación, la Ciencia y la Tecnología (FINCyT), por los fondos disponibles para que esta tesis pudiera desarrollarse. Al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), por proporcionar el material genético. Al Programa de Investigación y Proyección Social en Cereales y Granos Andinos, por brindar el lugar de trabajo. A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba (FCA-UNC) y al Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Nacional de Villa María (IAPCB-UNVM) por permitir realizar la maestría en el exterior.

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|---|------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| 2.1. Características generales de la quinua..... | 4 |
| 2.2. Origen y evolución del cultivo..... | 5 |
| 2.3. Características botánicas y morfológicas..... | 6 |
| 2.4. Requerimientos edafo-climáticos del cultivo..... | 9 |
| 2.5. Diversidad y variabilidad genética..... | 10 |
| 2.5.1. Cuantificación de la diversidad genética..... | 11 |
| 2.7. Marcadores genéticos en estudios de diversidad..... | 13 |
| 2.8. Marcadores moleculares. Antecedentes en el cultivo de quinua..... | 15 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 18 |
| 3.1. Material vegetal..... | 18 |
| 3.2. Experimento en campo. | 19 |
| 3.2.1. Sitio experimental..... | 19 |
| 3.2.2. Diseño experimental..... | 19 |
| 3.2.3. Manejo agronómico del experimento..... | 20 |
| 3.2.4. Descriptores evaluados..... | 20 |
| 3.3. Experimento en laboratorio..... | 21 |
| 3.3.1. Colecta de material..... | 21 |
| 3.3.2. Extracción de ADN..... | 22 |
| 3.3.3. Evaluación de la calidad, integridad y concentración de ADN..... | 23 |
| 3.3.4. Amplificación por PCR..... | 24 |
| 3.4. Análisis de datos..... | 25 |
| 3.4.1. Caracterización morfológica..... | 25 |
| 3.4.2. Análisis multivariado..... | 25 |
| 3.4.2.1. Análisis de componentes principales (ACP)..... | 26 |
| 3.4.2.2. Análisis de conglomerados o <i>cluster</i> | 27 |
| 3.4.2.3. Análisis de coordenadas principales (ACoP)..... | 28 |
| 3.4.3. Caracterización molecular..... | 29 |
| 3.4.3.1. Diversidad molecular..... | 29 |
| 3.4.3.2. Diversidad genética de las accesiones..... | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4.4. Estructura genética de las poblaciones..... | 30 |
| 3.4.5. Test de Mantel..... | 31 |
| 3.4.6. Caracterización conjunta..... | 31 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 32 |
| 4.1. Caracterización morfológica..... | 32 |
| 4.1.1. Medidas estadísticas descriptivos..... | 32 |
| 4.1.2. Coeficientes de correlación de Pearson..... | 33 |
| 4.1.3. Análisis de Componentes principales..... | 34 |
| 4.1.4. Análisis de conglomerados..... | 36 |
| 4.2. Caracterización molecular..... | 38 |
| 4.2.1. Diversidad molecular..... | 38 |
| 4.2.2. Diversidad genética de las accesiones y comparación entre grupos..... | 42 |
| 4.2.3. Análisis de conglomerados..... | 45 |
| 4.2.4. Análisis de coordenadas principales..... | 48 |
| 4.3. Estructura genética de la población..... | 50 |
| 4.4. Caracterización conjunta..... | 51 |
| V. CONCLUSIONES..... | 54 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 55 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 56 |
| VIII. ANEXO..... | 63 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 1. Condiciones climáticas (humedad y temperatura) disponible para la producción de <i>Ch. quinoa</i> según la zona agroecológica (Tapia, 1996)..... | 10 |
| Tabla 2. Origen y número de accesiones de la población seleccionada de INIA y de la colecta de agricultores. Altiplano: Puno; Valle Interandino: Cusco..... | 18 |
| Tabla 3. Detalle de los 5 <i>loci</i> microsatélites utilizados: locus, secuencia del oligonucleotido y temperatura de <i>annealing</i> | 24 |
| Tabla 4. Estadística de los descriptores utilizados para la caracterización de las accesiones (n= 268)..... | 32 |
| Tabla 5. Matriz de correlación simple entre las variables cuantitativas utilizadas para caracterizar el germoplasma de quinua..... | 34 |
| Tabla 6. Matriz factorial correspondiente a las variables en estudio en las accesiones de quinua..... | 35 |
| Tabla 7. Estadística descriptiva para datos de marcadores..... | 40 |
| Tabla 8. Locus, Heterocigosidad total (Ht), Número de alelos (A) y media aritmética de los valores de Contenido de información polimórfica (PIC) ^a e Índice de información (I) ^a | 41 |
| Tabla 9. Patrones de diversidad genética para cada población..... | 43 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 1. Distribución de los ecotipos de quinua en los sub-centros de diversidad: A. Valles Interandinos, B. Altiplano, C. Yungas, D. Salares, y E. Costa © Francisco Fuentes Carmona..... | 6 |
| Figura 2. Tipos de panojas de <i>Ch. quinoa</i> . Izquierda tipo glomerular, derecha tipo amarantiforme. © M. J. Allende..... | 7 |
| Figura 3. Sección media longitudinal del grano de <i>Ch. quinoa</i> . Se observa el pericarpio (PE) que cubre la semilla, el embrión consiste en un eje hipocotile-radícula (H) y dos cotiledones (C). El endosperma (EN) está presente en la región micropilar. F, funículo; P, perisperma; PE, pericarpio; R, radícula; SA, brote apical. Barra 500 µm (Prego et al., 1998 citado por Costa, 2014)..... | 8 |
| Figura 4. Variabilidad de colores en inflorescencia de <i>Ch. quinoa</i> proporcionado por diferentes colores del perigonio, pericarpio y episperma. © M. J. Allende..... | 8 |
| Figura 5. Microsatélites, ejemplo de un di-nucleótido A-C(n) (Aranguren-Méndez et al., 2005)..... | 14 |
| Figura 6. Ensayo de germinación del material disponible, en Tinglado del PIPS en Cereales y Granos Nativos-UNALM para seleccionar población en estudio. © M. J. Allende..... | 19 |
| Figura 7. Labores culturales realizadas al ensayo durante el ciclo del cultivo. © M. J. Allende..... | 21 |
| Figura 8. Proceso de recolección del material para extracción de ADN. Izquierda: colecta en campo. Centro: estado del cultivo al momento de la cosecha. Derecha: conservación del material colectado. © M. J. Allende..... | 22 |
| Figura 9. Gel de integridad de ADN. Las calles representan diferentes muestras de <i>Ch. quinoa</i> . © M. J. Allende..... | 23 |
| Figura 10. Distribución de accesiones de quinua y variables en estudio teniendo en cuenta las dos primeras componentes (CP1 y CP2). Referencias: Días emergencia a floración (DEF); Días emergencia a madurez fisiológica (DEMF); Altura de planta (AP); Diámetro de tallo (DT); Longitud de panoja (LPj); Diámetro de panoja (DPj); Rendimiento por planta (RP); Peso de 100 semillas (P100) y Diámetro de grano (DG). El ovalo de línea llena agrupa las accesiones de la región de Puno y el de punto la de Cusco..... | 36 |
| Figura 11. Dendrograma de distancia entre las accesiones de quinua (<i>Ch. quinoa</i>) evaluadas en la costa peruana. Punto de corte 4,5 media distancia euclídea..... | 37 |

| | |
|---|----|
| Figura 12. Ejemplo de marcadores de microsatélites polimórficos de <i>Ch. quinoa</i> . Amplificación del ADN de 18 accesiones de quinua, con A) QAAT001, B) QAAT022, y C) QAAT071. Los patrones cargados en los carriles exteriores muestran una resolución de 100, 200 y 300 pb..... | 39 |
| Figura 13. Perfiles promedios (con sus errores estándar) para cada una de las medidas de variabilidad analizadas. Arriba: izquierda Diversidad genética y derecha heterocigosis (conteo directo). Abajo: izquierda heterocigosis insesgada de Nei (He) y derecha Contenido de información polimórfica (PIC). El promedio está representado para cada origen..... | 45 |
| Figura 14. Dendrograma generado a partir de la matriz de distancia basada en el índice de similitud de Jaccard. Se indica la distancia promedio = 0.878 (línea punteada), nivel al que se forman seis grandes grupos: G1, G2, G3, G4, G5 y G6. <i>Correlación cofenética</i> = 0,808..... | 47 |
| Figura 15. Ordenación de las accesiones sobre las dos primeras coordenadas principales. Se indican con círculos verdes (números en negrita) accesiones de Valle Interandino y con círculos azules (números sin negrita) las accesiones del Altiplano. Ovalo punteado indica agrupamiento de accesiones de Valle Interandino..... | 48 |
| Figura 16. Ordenación de las accesiones sobre las dos primeras coordenadas principales y superposición de árbol de recorrido mínimo: segmentos de mayor longitud indican menor similitud entre las accesiones. Se representan con círculos verdes accesiones de Valle Interandino y círculos azules accesiones del Altiplano..... | 49 |
| Figura 17. Ordenación consenso resultante del APG con variables morfológicas y moleculares. Los puntos negros indican el consenso y círculos rojos indican accesiones de Valle Interandino. El ovalo punteado indica agrupamiento de las accesiones de Valle Interandino..... | 52 |
| Figura 18. Ordenamiento consenso para las accesiones de Valle Interandino. Cuadrados rojos indican alineación entre las variables morfo-fenológicas y las moleculares. Círculos negros indican consenso..... | 53 |
| Figura 19. Ordenamiento consenso para las accesiones de Valle Interandino. Cuadrados rojos indican las alineaciones entre las variables morfo-fenológicas y las variables moleculares y los círculos negros indican el consenso..... | 53 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | Pág. |
|--|------|
| Anexo 1. Datos de pasaporte de las Accesiones Evaluadas..... | 63 |
| Anexo 2. Descriptiva para datos de marcadores..... | 68 |
| Anexo 3. Descriptiva para datos de marcadores particionado por origen..... | 69 |
| Anexo 4. Frecuencias alélicas relativas y frecuencia genotípicas relativas para cada primer y para cada población..... | 70 |
| Anexo 5. Índice de Información (I) y Heterocigosis insesgada de Nei (He) por accesión en cada locus y para todos los <i>loci</i> Heterocigosis total (Ht) e Índice de Información total (It)..... | 72 |
| Anexo 6. Medidas de diversidad genética..... | 76 |
| Anexo 7. Análisis de la varianza molecular (AMOVA)..... | 77 |
| Anexo 8. Prueba de Mantel..... | 77 |

ABREVIATURAS

- A:** número de alelos
- ACP:** análisis de componentes principales
- ACoP:** análisis de coordenadas principales
- AMOVA:** análisis de la varianza molecular
- AP:** altura de planta
- APG:** análisis de procruster generalizado
- ARM:** árbol de recorrido mínimo
- CoP1:** coordenada principal 1
- CoP2:** coordenada principal 2
- CP1:** componente principal 1
- CP2:** componente principal 2
- CV:** coeficiente de variación
- DEF:** días emergencia a floración
- DEMF:** días emergencia a madurez fisiológica
- DG:** diámetro de grano
- DPj:** diámetro de panoja
- DT:** diámetro de tallo
- Fi:** índice de fijación
- He:** heterocigosidad promedio esperada de Nei
- Ht:** heterocigosidad total
- I:** índice de información
- LPj:** longitud de panoja
- Na:** riqueza alélica
- P:** proporción de *loci* polimórficos
- PCR:** *polimerase chain reaction*
- PIC:** índice de contenido polimórfico
- P100:** peso de 100 semillas
- r:** coeficiente de correlación
- RP:** rendimiento por planta
- SSR:** *simple sequence repeats* o microsatélites
- UV:** ultra violeta

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la variabilidad y la estructura genética de 180 accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) del Perú a través de la caracterización morfológica y molecular. Para la descripción morfológica se utilizaron descriptores recomendados por Bioversity y para la descripción molecular se utilizaron 5 *primers* microsatélites. Los resultados morfológicos mostraron variación morfo-fenológica entre las accesiones provenientes del Altiplano y Valle Interandino. Se hizo un análisis de Componentes Principales (PCA), donde el primer componente (CP1) explicó la mayor parte de la variación (53.2 por ciento) y ordenó accesiones según un gradiente de tamaño de planta y rendimiento. El CP2 explicó 16.2 por ciento de la variación y separó accesiones precoces de tardías. Por un lado el análisis de conglomerados resultó en tres, consistente con la distribución de las accesiones en los ejes 1 y 2 en el PCA, con diferente característica morfo-fenológica. Por otro lado, los resultados moleculares revelaron que todos los *loci* SSR analizados fueron altamente polimórficos detectando un total de 20 alelos entre todas las accesiones con un promedio de 2 alelos por locus. La variabilidad genética muestra un rango de heterocigosidad entre 0.64 a 0.94 para todos los *loci* y todas las accesiones fueron polimórficas. El análisis de Coordenadas Principales también mostró un patrón de agrupamiento consistente con la distribución de las accesiones en el PCA y agrupó accesiones de Valle Interandino y Altiplano. Los análisis de AMOVA de mostraron baja estructura genética entre las poblaciones ($F_{st}=0.08$). El germoplasma caracterizado presentó leve estructura genética. A pesar de ello las accesiones se ordenaron en dos grupos Altiplano y Valle Interandino.

Palabras clave: Recursos genéticos, descriptores quinua, estructura genética, análisis multivariados

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the variability and genetic structure of 180 accessions of Peruvian quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from INIA gene banks, through morphological and molecular characterization. On one hand, a selection of quinoa descriptors from the Bioversity International list was applied and on the other hand, five molecular microsatellite primers were used for the molecular description. The data were analyzed using descriptive and multivariate techniques. The morphological results showed morpho-phenological variation among the accessions coming from Altiplano and Valley Interandino. A principal component analysis (PCA) was done, where the first component (CP1) explained (53.2 percent) of variation and ordered accessions according to a gradient of plant size and yield. The CP2 explained 16.2 percent of the variation and separated precocious and belated accessions. Moreover, a cluster analysis showed a grouping pattern (three groups), consistent with the distribution of accessions axes one and two in the PCA, with different morpho-phenological characteristics. The molecular results revealed that all SSR loci analyzed were highly polymorphic detecting a total of 20 alleles among all accessions with an average of two alleles per locus. Genetic variability showed a range of heterozygosity between 0.64 and 0.94 for all loci and all accessions were polymorphic. The Principal Coordinates analysis also showed a clustering pattern consistent with the distribution of accessions in the PCA and grouped accessions of Valley Interandino and Altiplano. The AMOVA analyzes showed low genetic structure among populations ($F_{st}=0.08$). The characterized germplasm presented slight genetic structure. In spite of this, the accessions were ordered in two groups Altiplano and Valle Interandino.

Key words: Genetic resources, quinoa descriptors, genetic structure, multivariate analysis.

I. INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) fue desde épocas precolombinas un componente central de la base alimenticia de las culturas andinas (Bioversity Internacional *et al.*, 2013) junto a maíz, papa y otras especies tuberosas (Gómez y Eguiluz, 2012). Posee características sobresalientes como: amplia variabilidad genética cuyo acervo es estratégico para desarrollar variedades superiores, capacidad de adaptación a condiciones adversas, ventaja nutricional debida a la composición de aminoácidos esenciales y diversidad de usos (Tapia *et al.*, 1979; Bioversity Internacional *et al.*, 2013). Eso generó interés, nacional como internacional, en conocer, investigar, producir y consumir quinua, además de intensificar en forma sostenible la producción para asegurar soberanía alimenticia (Ruales y Nair, 1992; Vidal *et al.*, 2013; Bioversity Internacional *et al.*, 2013).

La distribución geográfica del cultivo en América del Sur se extiende desde los 5° Lat. N hasta los 43° Lat. S (Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Argentina y Chile) y su distribución altitudinal varía desde el nivel del mar hasta los 4000 m (Vidal *et al.*, 2013). Tapia (1996) en función de las características agroecológicas de los Andes clasifica las quinuas en: del Altiplano que comparten Perú, Bolivia y Argentina, de Valles Interandinos, de Costa en el centro sur de Chile, de los Salares en el Altiplano sur de Bolivia y las de Selva y Yungas (Gómez y Eguiluz, 2012; Vidal *et al.*, 2013).

En Perú la quinua se cultiva en diferentes zonas agroecológicas donde la región de Puno concentra el 55 por ciento de la superficie cultivada y en menor proporción la región de Cusco (5 por ciento). Las estadísticas del Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) (2017) registraron 61667ha cultivadas y una producción total de 93823tn con un rendimiento promedio de ~1800kg/ha (rango 1120 y 3600 kg/ha). La producción a gran escala provoca que la diversidad genética se erosione por la pérdida de variedades locales, manifestación de problemas sanitarios y de manejo (Jacobsen, 2003; Gómez y Eguiluz, 2012; Tapia, 2012; Vidal *et al.*, 2013).

La caracterización y evaluación de accesiones consisten en describir las características cualitativas y cuantitativas para discriminar entre ellas, determinar su utilidad, formar colecciones núcleo, identificar duplicados en colecciones, así como también para intercambiar datos y promover su utilización en programas de mejoramiento (Rojas *et al.*, 2014). Los bancos de germoplasma mantienen la variabilidad genética entendiendo por esta como toda variación (medible) producto de la diferenciación entre poblaciones de una misma especie. Dichos bancos conservan *ex situ* genes de interés y así evitar su pérdida. De esta forma los recursos genéticos conservados se encuentran disponibles para ser utilizados en programas de mejora. A nivel mundial existen 16422 accesiones de quinua y sus parientes silvestres que se conservan en 59 bancos de semillas de 30 países. Los bancos de semilla de la región Andina conservan más del 88 por ciento de la variabilidad genética del cultivo (Rojas *et al.*, 2014).

El conocimiento de la variabilidad genética juega un papel esencial en su mejora y existen diferentes formas para su evaluación. Durante años se utilizó como descriptores a los rasgos morfológicos para cuantificar la variabilidad genética de la especie. La principal limitación es que el ambiente puede afectar la expresión del fenotipo. Pese a ello es importante considerarlos para poder ver el comportamiento en campo de la variabilidad. En los últimos años, los marcadores de ADN se han convertido en una herramienta complementaria importante para estudios de diversidad y mejoramiento genético de plantas capaz de acelerar el alcance de los objetivos de mejora (Becerra y Paredes, 2000; Jiménez, 2006; Fuentes *et al.*, 2009b). Las técnicas moleculares permiten la evaluación de la variabilidad genética directamente a nivel de ADN por lo que el ambiente no afecta su expresión (Jiménez, 2006).

Desde siempre, las diferentes especies vegetales han estado sometidas a una activa interacción con el ambiente, lo cual ha generado un gran número de genotipos adaptados a diferentes condiciones locales, ampliando la diversidad genética. Sin embargo, el conocimiento de la organización genética y la relación existente entre el material disponible es escaso, lo que restringe su utilización en fitomejoramiento. Incluso dentro de estos genotipos considerados diferentes resultan ser duplicaciones del mismo material, lo cual conlleva a una sobreestimación de la diversidad existente. Los recursos genéticos representan la fuente biológica para desarrollar cultivos más productivos, resistentes a factores bióticos y abióticos y de mejor calidad.

El objetivo fundamental de este trabajo ha sido evaluar y determinar la variabilidad y la estructura genética de una colección de quinuas del Perú, procedentes del banco de germoplasma del Instituto Nacional de Innovación Agrícola (INIA), a través de la caracterización morfológica y molecular.

Ello ha implicado los siguientes objetivos específicos:

- Caracterizar mediante descriptores morfo-fenológicos y marcadores moleculares microsatélites (SSR) las accesiones de quinua.
- Determinar la existencia de estructura genética en la población en estudio.
- Evaluar la relación entre la variación genética y morfo-fenológica para las accesiones evaluadas.
- Definir alelos exclusivos y marcadores microsatélites más polimórficos que permitan identificar accesiones de quinua.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Características generales de la quinua

Los cultivos andinos, que antiguamente formaron parte de la dieta alimenticia de los pueblos prehispánicos en las tierras altas de los Andes desde Colombia hasta Argentina y Chile, se consideran actualmente alimentos de muy buena calidad. Entre los granos andinos encontramos quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen.), kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.) y tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) con características nutritivas esencial en la seguridad y soberanía alimenticia para cubrir las necesidades básicas de la población nacional y mundial (Jacobsen *et al.*, 2003; Mujica y Jacobsen, 2006; Rojas y Pinto, 2013; Tapia, 2014).

La importancia de la quinua reside en su calidad como alimento, la utilización completa de la planta y su amplia adaptación a condiciones agroecológicas. Es considerada el alimento más completo por presentar un balance ideal de aminoácidos esenciales, rico en lisina y arginina (5.6 y 8.1mg de aminoácido/16g de nitrógeno, respectivamente), ácidos grasos insaturados en forma equilibrada (24.5 por ciento de ácido oleico, 50.2 por ciento de ácido linoleico y 5.4 por ciento de ácido linolénico), vitaminas y minerales como calcio y hierro (Repo-Carrasco *et al.*, 2003; Nolasco *et al.*, 2013). Por ello es demandada últimamente por Alemania, Dinamarca, Francia, Japón, Gran Bretaña y USA (Mujica y Jacobsen, 2006). Su uso fue común en las regiones andinas hasta el inicio del siglo pasado, cuando los países de la zona andina iniciaron la importación masiva de trigo (Tapia, 2014).

Dada su naturaleza halófila, la quinua es ideal para suelos agrícolas cada vez más salinizados de todo el mundo. También se la considera un cultivo rústico ya que muestra tolerancia a otros factores ambientales adversos como heladas y sequía (Mujica *et al.*, 2010; Biondi *et al.*, 2014). Por esta razón, muestra potencial como cultivo alternativo frente a la disminución en la calidad del agua y suelo utilizados actualmente en agricultura.

2.2. Origen y evolución del cultivo

Existen importantes hallazgos arqueológicos que muestran que los granos andinos eran antiguamente consumidos de manera abundante (Tapia, 2014). La utilización se puede situar al menos 2000 a 3000 años por presencia de restos de semillas e inflorescencias en sitios arqueológicos del norte de Chile y Perú. En la provincia de Ayacucho (Perú) se han hecho hallazgos que indicarían que la domesticación ocurrió hace 7000 años A.C. También se han encontrado referencias al uso de la quinua en Bolivia y varios lugares del norte de Perú en asociación al cultivo del maíz (*Zea mais* L.) (Tapia, 2014). Además, se le encuentra representada en la cerámica de la cultura Tiahuanaco mostrando diversas partes de la planta (Tapia y Fries, 2007; Mujica *et al.*, 2010). En Argentina, se mencionan esos cultivos en los Valles Calchaquíes y en cercanías de la provincia de Córdoba (Tapia, 2014).

El origen de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) aún no está claro. Algunos autores la consideran originaria de México o Estados Unidos y otros la consideran una evolución independiente de las especies del norte. Sin embargo, la mayor variabilidad y diversidad genética se encuentra en la región andina, en especial a los alrededores del Lago Titicaca, por lo cual es mayoritariamente aceptado como centro de diversidad (Valdivia *et al.*, 1997; Tapia y Fries, 2007; Mujica *et al.*, 2010; Bioersivity International *et al.*, 2013).

Wilson (1990 citado por Tapia, 2014) propone a *Chenopodium hircimun* como uno de los progenitores de las quinuas actuales a partir de la cual evolucionó y se domesticó. Por su parte, Mujica y Jacobsen (2006) mencionan en su trabajo que existen al menos 4 especies del género *Chenopodium* afines a la quinua, ampliamente distribuidas en la región sur de los Andes como parientes y progenitores desde donde evolucionaron y domesticaron las actuales (*Chenopodium carnosolum*, *Ch. hircinum*, *Ch. incisum*, *Ch. petiolare*). La domesticación surgió probablemente en la cuenca interior del lago Titicaca (3500msnm) y experimentó una selección prolongada en un ambiente extremadamente adverso con respecto al estrés abiótico (exceptuado el calor), pero bastante leve en términos de estrés biótico. Pero con el tiempo, el cultivo se expandió a través de los Valles Andinos diversificando el proceso en cinco ecotipos principales: Altiplano, Salar, Valle, Costa, y Yunga (Tapia, 1996; Jellen *et al.*, 2014) (Figura 1).



Figura 1. Distribución de los ecotipos de quinua en los sub-centros de diversidad: A. Valles Interandinos, B. Altiplano, C. Yungas, D. Salares, y E. Costa © Francisco Fuentes Carmona.

2.3. Características botánicas y morfológicas

La especie pertenece a la familia de las Amarantáceas, sub-familia Chenopodioideae. Es una planta dicotiledónea, anual y herbácea. *Ch. quinoa* es una especie alotetraploide ($2n=4x=36$) que exhibe una herencia disómica para la mayoría de los marcadores genéticos, tanto morfológicos como moleculares (Bonifacio, 1990; Ward, 2000; Maughan *et al.*, 2004; Costa, 2014). Su sistema reproductivo es principalmente autógamo (95 por ciento) (Risi y Galley 1984). Su crecimiento es erecto alcanzando alturas variables dependiendo del genotipo, condiciones ambientales donde crece y fertilidad de los suelos. El período vegetativo es muy variable, desde los 90 hasta los 240 días. La coloración que pueden adquirir las plantas varían desde el verde hasta el rojo, pasando por el púrpura oscuro, amarillento, anaranjado y granate según los genotipos y etapas fenológicas (Mujica y Cahahua, 1989). Presenta un sistema radicular pivotante, muy ramificado y fibroso. Tiene un tallo erecto, cilíndrico hacia el cuello de la planta y anguloso a partir de las ramificaciones. Es de color verde, rojo o amarillo con o sin estrías que junto al tallo pueden ser coloreadas. La planta puede presentar un solo tallo o poseer varias ramificaciones.

Las hojas son alternas, de longitud y forma variable dentro de la misma planta, la lámina es polimorfa (Tapia *et al.*, 1979) y la morfometría es variable según el genotipo. Las láminas son de consistencia algo succulenta y presentan en ambas superficies cristales de oxalato de calcio de colores variables que cumplen función de captación de humedad y disminución del exceso de radiación directa incidente (Tapia y Fries, 2007).

La inflorescencia es una panoja de longitud variable con un eje principal del cual se originan ejes secundarios y terciarios (Risi y Galwey, 1984). Pueden ser laxas o compactas. Se describen dos tipos de inflorescencia: amarantiforme y glomerulada, dependiendo de la inserción del glomérulo (Figura 2). Las flores están agrupadas en glomérulos, son incompletas por carecer de pétalos. El glomérulo puede presentar flores perfectas y pistiladas. La flor perfecta presenta un perigonio sepaloide, anteras y un ovario superior del cual emergen dos o tres estigmas (Hunziker, 1943 citado por Costa, 2014). En general las flores perfectas están ubicadas en el extremo distal del glomérulo sobresaliendo sobre las pistiladas, ubicadas en el extremo proximal (Gandarillas, 1979).



Figura 2. Tipos de panojas de *Ch. quinoa*. Izquierda tipo glomerular, derecha tipo amarantiforme.

© M. J. Allende.

El fruto es un aquenio que presenta una única semilla, tiene forma elipsoidal o redonda de colores diferentes dado por el perigonio que lo recubre y que se desprende fácilmente cuando está seco. El pericarpio del fruto está adherido a la semilla pudiendo algunas veces separarse

fácilmente y es donde está presente la saponina, un factor anti-nutritivo que le transfiere sabor amargo y es muy dependiente del genotipo. La semilla está envuelta por el episperma en forma de una delgada membrana. El embrión es periférico y curvado por lo que es muy susceptible al daño mecánico (Tapia y Fries, 2007). Está formado por un eje hipocotile-radícula y los cotiledones, que envuelven al perisperma como un anillo. El perisperma, tejido de reserva, es almidonoso, generalmente de color blanco y constituye la mayor parte de la semilla (Figura 3). Los diferentes colores del perigonio, pericarpio y episperma dan a la inflorescencia de quinua esa gran variabilidad de colores (Gandarillas, 1979) (Figura 4).

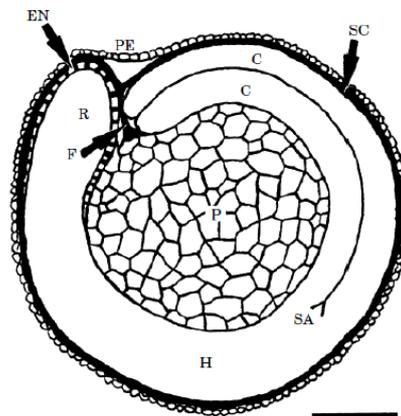


Figura 3. Sección media longitudinal del grano de *Ch. quinoa*. Se observa el pericarpio (PE) que cubre la semilla, el embrión consiste en un eje hipocotile-radícula (H) y dos cotiledones (C). El endosperma (EN) está presente en la región micropilar. F, funículo; P, perisperma; PE, pericarpio; R, radícula; SA, brote apical. Barra 500 μ m (Prego *et al.*, 1998 citado por Costa, 2014).



Figura 4. Variabilidad de colores en inflorescencia de *Ch. quinoa* proporcionado por diferentes colores del perigonio, pericarpio y episperma. © M. J. Allende.

2.4. Requerimientos edafo-climáticos del cultivo

En forma general los requerimientos del cultivo de quinua (Tapia, 2000; Tapia y Fries, 2007; Canahua *et al.*, 2010; Mujica *et al.*, 2010) son:

Referente al suelo la quinua se desarrolla mejor en suelo franco, semi profundo, con buen drenaje y alto contenido de materia orgánica y un contenido medio de nutrientes, puesto que la planta es exigente en nitrógeno y calcio, moderadamente en fósforo y poco de potasio. También se adapta a suelos franco arenosos, arenosos o franco arcillosos, siempre y cuando se le dote de nutrientes y no exista la posibilidad de encharcamiento, puesto que es muy susceptible al exceso de humedad sobre todo en los primeros estados. Prefiere suelos de pH neutro o alcalino, pero se ha observado que produce bien en suelos con rango de pH de 4.5 a 9.

El cultivo se produce aceptablemente con precipitaciones mínimas de 200-250mm anuales, dependiendo del genotipo y del manejo adecuado a dichas condiciones de déficit de humedad. Sin embargo, se ha encontrado que la humedad del suelo a capacidad de campo constituye exceso de agua para el normal crecimiento. Alta humedad relativa no afecta el cultivo, solo requiere tener precaución por la proliferación de mildiú (*Peronospora variabilis*) y otro tipo de enfermedades fúngicas (Tapia y Fries, 2007; Canahua *et al.*, 2010; Mujica *et al.*, 2010). La temperatura media adecuada para el mejor desarrollo del cultivo está alrededor de 15-20°C, sin embargo se ha observado que con temperaturas medias de 10°C se desarrolla perfectamente. Lo mismo ocurre con temperaturas medias y altas de hasta 25°C, prosperando adecuadamente. Se ha determinado que esta especie posee mecanismos de escape y tolerancia a bajas temperaturas, pudiendo soportar hasta -8°C, en determinadas etapas fenológicas, siendo la más tolerante ramificación y las más susceptibles floración y llenado de grano (Tapia 2000; Tapia y Fries, 2007; Canahua *et al.*, 2010; Mujica *et al.*, 2010).

La quinua, por ser una planta muy plástica y tener amplia variabilidad genética, se adapta a diferentes climas. Desde el desértico, caluroso y seco de la costa hasta el frío y seco de las grandes altiplanicies, pasando por los Valles Interandinos templados y lluviosos, llegando hasta las cabeceras de ceja de selva con mayor humedad relativa y a la Puna y zonas cordilleranas de grandes altitudes (Tabla 1). Por ello es necesario conocer que genotipos son adecuados para cada una de las condiciones climáticas (Tapia 2000; Tapia y Fries, 2007; Canahua *et al.*, 2010; Mujica *et al.*, 2010).

Tabla 1. Condiciones climáticas (humedad y temperatura) disponible para la producción de *Ch. quinoa* según la zona agroecológica (Tapia, 1996).

| Grupo agroecológico | Precipitaciones (mm) | Temperatura mínima (°C) |
|---------------------|----------------------|-------------------------|
| Valle Interandino | 700-1500 | 3 |
| Altiplano | 400-800 | 0 |
| De los salares | 250-400 | -1 |
| De Costa | 0-250 | 5 |
| Selva o Yungas | 800-1500 | 11 |

La quinua tolera radiaciones extremas de las zonas altas de los Andes, lo que permite compensar las horas de calor necesarias para cumplir con su período vegetativo y productivo. En la zona de mayor producción de Perú (Puno), el promedio anual de radiación global (RG) que recibe la superficie del suelo, asciende a 462cal/cm²/día, y en la costa (Arequipa), alcanza a 510cal/cm²/día. Mientras que en el altiplano central de Bolivia (Oruro) la radiación alcanza a 489cal/cm²/día y en La Paz 433cal/cm²/día. Sin embargo el promedio de radiación neta (RN) recibida por la superficie del suelo o de la vegetación, llamada también radiación resultante, alcanza en Puno a 176cal/cm²/día y en Arequipa a 175cal/cm²/día (Tapia y Fries, 2007; Canahua *et al.*, 2010; Mujica *et al.*, 2010).

Por su amplia variabilidad genética y gran plasticidad se encuentran genotipos de días cortos, de días largos e incluso indiferentes al fotoperíodo, adaptándose fácilmente a estas condiciones de luminosidad. El cultivo prospera adecuadamente con tan solo 12 horas diarias en el hemisferio sur sobre todo en los Andes de Sud América, mientras que en el hemisferio norte y zonas australes prospera en forma adecuada con días de hasta 14 horas de luz. La quinua crece y se adapta desde el nivel del mar hasta cerca de los 4000msnm. Quinuas sembradas al nivel del mar disminuyen su período vegetativo, comparados a la zona andina (Tapia y Fries, 2007; Canahua *et al.*, 2010; Mujica *et al.*, 2010).

2.5. Diversidad y variabilidad genética

Por diversidad genética se entiende la variación entre poblaciones de una especie más la variación dentro de las poblaciones que la integran. Es decir, está constituida por todas las variaciones genéticas (medible) producto de la diferencia entre poblaciones pero sin

confundir con variabilidad genética que es característica de poblaciones dentro de una especie (Frankham *et al.*, 2002; Sevilla y Holle, 2004) por lo tanto es un componente de la diversidad genética.

Tanto en quinua como en otras especies, el mantenimiento de una amplia variabilidad y diversidad genética tiene un alto impacto sobre el rendimiento y la estabilidad del comportamiento para determinar líneas promisorias con atributos de interés. Por ello, la preservación de la diversidad genética de quinua a través de estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*, permite implementar programas de mejoramiento genético (Fuentes *et al.*, 2009a). Además, la amplia variabilidad genética ofrece la oportunidad de incorporar genes que no se encuentran en el germoplasma cultivado o que se hallan en frecuencias bajas. Los agricultores de los Andes mantienen mezclas de diversas variedades en cultivo como una sabia estrategia de defensa contra los patógenos y/o insectos que no podrán atacar con igual intensidad los diversos genotipos (Vía, 2015). Por tanto, el entendimiento de la diversidad genética de una especie cultivada permitirá manejarla, protegerla y utilizarla de manera óptima.

Por otra parte, es de vital importancia considerar el uso de la biotecnología como una herramienta capaz de acelerar el alcance de objetivos en los programas de mejoramiento mediante el estudio de ADN y otras técnicas. Estudios que pueden ir desde la determinación del nivel de diversidad en un proceso de selección, hasta el estudio de genes específicos que controlan importantes características, tales como la resistencia a enfermedades, control genético de la producción de saponinas en el grano, o la comprensión de características más complejas como la tolerancia a sequía y/o salinidad (Fuentes *et al.*, 2009a).

2.5.1. Cuantificación de la diversidad genética

Para la estimación o cuantificación de la diversidad genética los estudios se basan principalmente en frecuencias alélicas o frecuencias genotípicas. A partir de las frecuencias con que aparecen cada una de las variantes (alelos) se calculan diversos parámetros que nos dan la medida de la diversidad. Los estimadores más utilizados son: riqueza alélica, diversidad alélica, porcentaje de *loci* polimórficos, heterocigosidad esperada.

- Riqueza alélica: se define como el número total de alelos distintos, que pueden pertenecer a diferentes *locus*, de una muestra poblacional. Este estimador está influenciado por la cantidad de individuos en la muestra ya que por lo general a mayor cantidad de individuos mayor riqueza alélica.

- Diversidad alélica: es una medida de variabilidad apropiada para poblaciones endocriadas o con alto grado de autogamia donde hay muy pocos individuos heterocigotas pero muchos tipos diferentes de alelos que se encuentran en homocigosis. La diversidad genética para múltiples *loci* es función de la heterocigosis y se calcula a partir de la suma de cuadrados de frecuencias alélicas (Balzarini *et al.*, 2010). La frecuencia alélica es considerada un indicador fundamental en estudios evolutivos, porque un cambio genético en una población es usualmente descripto por un cambio en la frecuencias de sus alelos (Nei y Kumar, 2000).

- Porcentaje de *loci* polimórficos: un *locus* se considera polimórfico si se observan variaciones en la población para ese *locus* y si la frecuencia del alelo más común no supera 0.99 o 0.95 (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005; Balzarini *et al.*, 2010). Se consideran alelos raros en una población aquellos que presenten una frecuencia bastante baja ($<0,005$). La proporción de *loci* polimórfico se calcula como el número de *loci* polimórfico sobre el número total de *loci*. Cuando existen múltiples *loci* y cada *locus* se clasifica como polimórfico o no, es posible calcular el porcentaje de *loci* polimórfico (Balzarini *et al.*, 2010).

- Heterocigosidad: la heterocigosis de un *locus* estima la probabilidad de que un individuo sea heterocigota para ese *locus* en la población. La heterocigosidad puede ser estimada de dos maneras: (1) por conteo directo, como la proporción de individuos muestreados que son heterocigotas (H_o) y (2) realizando una estimación insesgada basado en el valor esperado condicional de la frecuencias alélicas denominada heterocigosis esperada o insesgada de Nei (H_e) (Balzarini *et al.*, 2010). Nei (1978) la definió como la probabilidad que dos alelos escogidos al azar en una población sean diferentes o dicho de otra forma, es la probabilidad de que en un *locus* único cualquier par de alelos escogidos al azar de la población sean diferentes entre sí. Es importante remarcar que la heterocigosis será mayor cuando hay más alelos y/o cuando la distribución de las frecuencias alélicas sea menos uniforme. La endocria podría reducir la heterocigosis (Balzarini *et al.*, 2010). Ott

(1992) considera a un *locus* como un marcador polimórfico cuando su heterocigosis es ≥ 0.1 y como altamente polimórfico cuando su heterocigosis es ≥ 0.7 .

- Índice de Contenido Polimórfico (PIC): es una medida relativa de la informatividad de un marcador genético que depende del número de alelos para ese marcador y de sus frecuencias relativas en la población. El PIC al igual que la heterocigosis oscila entre 0 y 1. Un valor de PIC alto indica mayor contenido de información de ligamiento. Cuando el número de alelos es grande, el contenido de PIC se aproxima a la heterocigosis, pero si todos los alelos tienen la misma frecuencia el PIC es menor que la heterocigosis (Balzarini, *et al.*, 2010).

2.7. Marcadores genéticos en estudios de diversidad

El conocimiento de la diversidad genética en los cultivos juega un papel esencial en su mejora y existen diferentes formas para su evaluación. Durante años se utilizó como descriptores a los rasgos morfológicos para cuantificar la variabilidad genética de la especie. Ello constituye una herramienta utilizada en la selección de genotipos por los mejoradores en los programas. Si bien muestran ciertas limitaciones en la evaluación de la diversidad debido a su número, a que pueden ser modificados por factores ambientales y estar controlados por genes con efectos pleiotrópicos o epistáticos (Jiménez, 2006); pese a ello es importante considerarlos para poder ver el comportamiento en campo de la diversidad.

En los últimos años, los marcadores de ADN se han convertido en una herramienta complementaria importante para estudios de diversidad y mejoramiento genético de plantas capaz de acelerar el alcance de los objetivos de mejora (Becerra y Paredes, 2000; Jiménez, 2006; Fuentes *et al.*, 2009a). Las técnicas moleculares permiten la evaluación de la variabilidad genética directamente a nivel de ADN por lo que el ambiente no afecta su expresión, no tienen efecto perjudicial sobre el fenotipo, son numerosos y pueden detectar variación alélica sin límites entre los genomas (Jiménez, 2006).

Los marcador de ADN se definen como cualquier segmento específico cuya secuencia de bases es diferente (polimórfico) en diferentes organismos y por lo tanto es de diagnóstico para cada uno de ellos (Kahl, 2001 citado por Jiménez, 2006). Han demostrado ser eficientes en la estimación de la distancia genética entre las poblaciones naturales y/o cultivares (Weising *et al.*, 2005 citados por Jiménez, 2006).

Se han propuesto varios sistemas de marcadores moleculares para la evaluación de la diversidad genética y los estudios filogenéticos. Los primeros marcadores se basaron en la digestión del ADN con enzimas de restricción y detección de polimorfismo por hibridación. Los marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) encontraron aplicaciones en genética vegetal, sobre todo en la construcción de mapas genéticos, pero su uso era técnicamente exigente y llevaba mucho tiempo y trabajo (Jiménez, 2006). Sin embargo, después del desarrollo de las técnicas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) se crearon nuevos tipos de marcadores y su aplicación se ha extendido rápidamente a nuevos campos de la investigación básica y aplicada. RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), SSR (*Simple sequence Repeats*) y AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*).

Los microsatélites (SSR) fueron descritos por primera vez por el equipo de trabajo de Hamad en 1982 (citado por Blas, 2010) como secuencias cortas de ADN constituidas por motivos de 1 a 6 nucleótidos repetidos en tándem. Esta clase de secuencias simples de ADN se encuentran de forma abundante y uniforme en los genomas de la mayoría de organismos eucariotas. No se transcriben a ARN y, entre la amplia variedad de funciones que se les atribuye se incluyen la regulación genética y la de actuar como señales para la conversión genética y la recombinación. El número de repeticiones es variable y, en general, el grado de polimorfismo aumenta con la longitud total del microsatélite, que no suele superar las 0.1Kb. El diseño de iniciadores específicos para las secuencias únicas que flanquean el motivo repetido, frecuentemente más conservadas, permite la amplificación por PCR de la región repetitiva y la visualización de todos los alelos posibles para un locus microsatélite, debido a la frecuente variación en el número de repeticiones del motivo (Blas, 2010) (Figura 5).

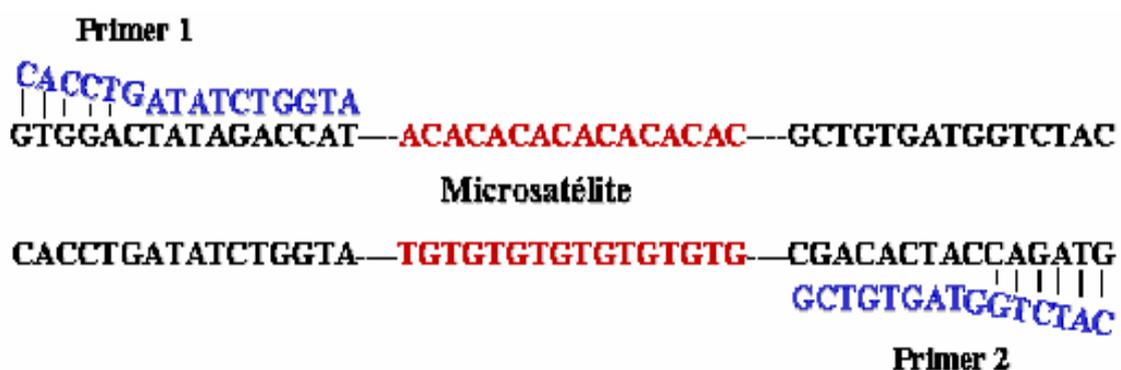


Figura 5. Microsatélites, ejemplo de un di-nucleótido A-C(n) (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005).

Los SSRs son marcadores codominantes y altamente reproducibles. Generalmente detectan un solo *locus*. De modo que los individuos heterocigotos muestran patrones simples de dos bandas cada una de ellas heredada por uno de sus progenitores, mientras que los individuos homocigotos mostraran solo una banda (Blas, 2010). Son ideales para identificación varietal aunque su desventaja es que es muy elevado su costo de construcción (Cubero, 2003).

2.8. Marcadores moleculares. Antecedentes en el cultivo de quinua

Los nuevos avances en el fitomejoramiento utilizan las herramientas de la genética molecular para acelerar la selección de nuevos genotipos aumentando la eficiencia de ésta mientras se reduce el tiempo de desarrollo de variedades.

El primer paso hacia el avance de marcadores moleculares para quinua fue el desarrollo de un mapa de ligamiento genético por Maughan *et al.* (2004). Este mapa, cubre un estimado del 60 por ciento del genoma, se basó principalmente en los polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP). La selección de la población de mapeo se estableció en un análisis de similitud preliminar. Se seleccionaron dos parentales con un coeficiente de similitud bajo (0.31) y bien distanciados geográficamente, uno pertenecía al bajo chileno y el otro al altiplano peruano. El mapa genético se basa en 80 individuos F2 del cruzamiento de los parentales elegidos y se compone de 230 polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP), 19 repeticiones de secuencias simples (SSR) y seis marcadores de ADN polimórfico amplificado al azar (Maughan *et al.*, 2004). Los autores no observaron agrupamiento de los marcadores AFLP, pero si registraron el lugar y secuencias de 19 marcadores SSR considerando a estos como herramienta valiosa para futuras investigaciones del genoma de la quinua. Este trabajo fue el punto de partida inicial para estudios genéticos en la identificación de características de importancia agronómica como: contenido de saponina del grano, rendimiento y resistencia a factores bióticos y abióticos.

El siguiente paso en el desarrollo de marcadores de quinua fue la caracterización de 400 marcadores microsatélites (SSRs) reportado por Mason *et al.* (2005) y Jarvis *et al.* (2008). En su trabajo, Mason *et al.* (2005) evaluaron 397 *loci* microsatélites utilizando un panel de diversas accesiones de quinua y un pariente silvestre *Ch. berlandieri* Moq. El 52 por ciento de los marcadores microsatélites (208) fueron polimórficos entre las accesiones de quinua y un adicional de 25 de los marcadores evaluados (seis por ciento) fueron polimórficos cuando el pariente silvestre fue incluido en el análisis. El número de alelos observados varió de 2 a

13, con un promedio de cuatro alelos detectados por *locus*. Los valores de heterocigosidad variaron de 0.20 a 0.90 con un valor medio de 0.57. Sesenta y siete marcadores (32 por ciento) fueron altamente polimórficos ($H \geq 0.70$). Por su parte Jarvis *et al.* (2008) construyeron un mapa de ligamiento para una nueva línea endogámica recombinante (RIL) de quinua a base de SSR que contiene 275 marcadores que incluye 200 SSR y encontraron 38 grupos de ligamientos. Los autores consideran que el mapa tiene un valor especial para futuras investigaciones ya que es el primer mapa basado principalmente en SSR fácilmente transferibles.

Estos marcadores de microsatélites ya habían sido utilizados en quinua para evaluar la diversidad genética entre las accesiones de la colección del USDA y para caracterizar genéticamente el germoplasma chileno y andino (Christensen *et al.*, 2007). Para el estudio se utilizaron 36 marcadores microsatélites para caracterizar la diversidad genética de 121 accesiones de *Ch. quinoa* del banco de germoplasma del USDA y 22 accesiones de la colección vivero internacional CIP-FAO. Los análisis realizados por Christensen *et al.* (2007) detectaron un total de 420 alelos entre las accesiones con un promedio de 11 alelos por *locus* microsatélite. La heterogeneidad se observó en el 32 por ciento de las accesiones de quinua en un *locus* dado, lo que sugiere que muchas de estas accesiones representan lotes de semillas o variedades locales heterogéneas. También el análisis dividió a las accesiones en dos grupos principales. El primer grupo importante consistió en accesiones de las tierras altas andinas de Perú, Bolivia, Ecuador, Argentina y el extremo noreste de Chile. El otro grupo principal contenía accesiones de las tierras bajas de Chile.

En otro estudio, Fuentes *et al.* (2009b) desarrollaron un conjunto fluorescente múltiple de microsatélites para estudiar los patrones de diversidad genética de las accesiones del norte y sur de Chile. Caracterizaron y cuantificaron la diversidad genética de 28 accesiones del Altiplano y 31 de la Costa chilena utilizando marcadores microsatélites. Se detectaron un total de 150 alelos entre las accesiones, que fueron de 2 a 20 alelos por *locus* con un promedio 7.5 alelo/*locus*. Como era de esperar, las accesiones se agruparon en los dos ecotipos: Costero y Altiplano. Curiosamente, las quinuas altiplánicas chilenas eran genéticamente menos diversas que las quinuas costeras, lo que sugiere una potencial pérdida de la diversidad genética en las zonas de cultivo comercial de Chile.

Costa *et al.* (2012) evaluaron la estructura genética de 35 accesiones de germoplasma colectado a lo largo de la región Noroeste de Argentina (NOA) para lo cual se utilizaron 22 marcadores microsatélites (SSRs). Todos los *loci* analizados fueron altamente polimórficos detectaron un total de 354 alelos entre todas las poblaciones, con un promedio de 16 alelos por *locus*. Las accesiones mostraron un alto nivel de diversidad genética que se agruparon en cuatro grupos eco-geográficos regionales, en consonancia con el origen geográfico de las accesiones: i) una región de transición caracterizada por elevadas altitudes, ii) la Puna (Altiplano), iii) Valles Húmedos del Este y iv) Valles Secos.

En Bolivia, la colección de germoplasma de quinua tiene una amplia variabilidad genética con 3121 accesiones de materiales cultivados y silvestres. Sus colectas se realizaron en la región del Altiplano y los Valles Interandinos de los departamentos de La Paz, Oruro, Potosí, Cochabamba, Chuquisaca y Tarija y germoplasma proveniente de Perú, Ecuador, Colombia, Argentina entre otros (Rojas, 2010). Con el propósito de conocer mejor esa diversidad Veramendi *et al.* (2013) caracterizaron 2513 accesiones utilizando para ello ocho marcadores microsatélites, los cuales presentaron un alto nivel de polimorfismo con valores >0.73 . También encontraron 129 alelos, con un rango de 5 a 30 alelos por *locus* y tamaño que va de 111 a 239 pb. Los resultados mostraron en general una elevada diversidad genética. El análisis de conglomerados y de coordenadas principales revela una estructura genética al interior de la población con accesiones que se agrupan por regiones a excepción de las silvestres que se distribuyen entre éstas. El estudio encontró ocho accesiones duplicadas y la información generada permitió la conformación de una colección núcleo con 189 accesiones únicas en total.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Parte del material vegetal utilizado pertenece a la colección de *Ch. quinoa* conservado en el Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Innovación Agrícola (INIA). A esa colección se le adicionó una colecta en campo de agricultores de la zona de Cusco quienes donaron las semillas utilizadas por ellos. Cada donación fue considerada como una entrada y como una accesión en este estudio.

Para definir las accesiones a evaluar se realizó previo a la siembra en campo una prueba de germinación del material disponible. Para ello se sembraron en maceta 20 semillas de cada accesión, en el Tinglado del Programa Investigación y Proyección Social (PIPS) en Cereales y Granos Nativos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, para evaluar el poder germinativo de la semilla (Figura 6). Del análisis se seleccionaron las accesiones que presentaron buen poder germinativo por lo que las accesiones de quinuas para este estudio quedó integrada por: 152 accesiones del Banco de germoplasma, 24 entradas de la colecta de agricultores (Tabla 2- Anexo 1) y cuatro cultivares comerciales cedidos por INIA.

Tabla 2. Origen y número de accesiones de la población seleccionada de INIA y de la colecta de agricultores. Altiplano: Puno; Valle Interandino: Cusco.

| País de origen | Departamento | Provincia | Altitud | N° de accesiones |
|----------------|------------------------------|---------------------------|---------|------------------|
| Perú | Cusco (Valle Interandino) | ANTA | 3372 | 5 |
| | | CALCA | 2900 | 11 |
| | | CANCHIS | 3550 | 2 |
| | | CUSCO | 3200 | 6 |
| | Puno (Altiplano) | CHUCUITO | 3896 | 21 |
| | | EL COLLAO | 3865 | 16 |
| | | LAMPA | 3964 | 2 |
| | | MELGAR | 3833 | 3 |
| | | PUNO | 3864 | 95 |
| | | YUNGUYO | 3845 | 3 |
| | | Sin Información de origen | - | 16 |



Accesiones con excelente poder germinativo y sanidad



Accesiones con regular a escaso poder germinativo y sanidad

Figura 6. Ensayo de germinación del material disponible, en Tinglado del PIPS en Cereales y Granos Nativos-UNALM para seleccionar población en estudio. © M. J. Allende.

3.2. Experimento en campo.

3.2.1. Sitio experimental

El ensayo se realizó en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima-Perú (12° 04' latitud Sur y 74° 57' de longitud Oeste a una elevación de 235msnm) en el período agrícola 2015. Las condiciones climáticas medias correspondientes al año agrícola fueron: T máx. 24.42°C, T mín. 17.25°C, HR 76.85%, precipitación 3.4mm (Von Humbolt, 2017).

3.2.2. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental alfa Látice (20x9) con dos repeticiones. La unidad experimental constó de dos surcos de 1.5m de longitud con una separación entre surco de 0.75m.

3.2.3. Manejo Agronómico del experimento

Previo a la siembra se realizó un control de malezas aplicando Glifosato a la dosis de 2l/200l. La siembra se realizó el 25 de agosto de 2015. La cosecha se realizó en función de la precocidad de las accesiones iniciando luego de la segunda quincena de diciembre (112 días posteriores a la siembra). Para la fertilización se utilizaron 100Kg de N/ha y 80Kg de P/ha. A la siembra se colocó el total del fósforo y la mitad del nitrógeno como fosfato di amonio $[(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4]$ y al aporque se completó con el nitrógeno para lo cual se utilizó urea $[\text{CON}_2\text{H}_4]$. El experimento recibió un primer riego inmediatamente posterior a la siembra y luego cada 10 o 15 días (riego por surcos) para evitar déficit hídrico durante el ciclo de cultivo. Para el control de mildiu se aplicó Metalaxil más Mancozeb a la dosis de 1kg/200l, cuando se observen los síntomas de la enfermedad en el cultivo. Para el control de insectos se utilizaron trampas amarillas con pegamento agrícola y cuando fue necesario se aplicó Abamectina a la dosis de 150ml/200l (Figura 7).

3.2.4. Descriptores evaluados

Las accesiones se evaluaron por caracteres morfo-fenológicos usando descriptores propuestos por Bioversity Internacional *et al.* (2013). Las mediciones se hicieron sobre 10 plantas por cada repetición. Se midieron nueve variables cuantitativas clasificadas en tres grupos para su mejor análisis.

- Fenológicas: días emergencia a floración (DEF) medida desde la siembra hasta que el 50% de las plantas hayan alcanzado el 50% de la floración y días emergencia a madurez fisiológica (DEMF) medido desde la siembra hasta que el 50% de las plantas hayan alcanzado el 50% de madurez fisiológica.

- Morfológicas: altura de planta (AP) medida desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la panoja; diámetro de tallo (DT) medido en la parte media del tercio inferior de la planta; longitud de panoja (LPj) medido desde la base hasta el ápice de la panoja principal; diámetro de panoja (DPj) es el diámetro máximo de la panoja principal. Todas las variables morfológicas fueron evaluadas en madurez fisiológica luego de la cosecha. Para realizar las mediciones se utilizó cinta métrica.

- Rendimiento: rendimiento por planta (RP) se tomó el promedio de las 10 plantas; peso de 100 semillas (P100) se tomó el promedio de tres plantas y sin considerar el perigonio de la semilla y diámetro de grano (DG) se midió el diámetro de 20 granos por la parte más

ancha sin considerar el perigonio y se realizó el promedio. Todas las variables fueron medidas a cosecha. Se utilizó una balanza de precisión 300g/0.001g para medir el peso y un calibre digital/Pie de Rey Acero 100mm para medir el diámetro de los granos.



Figura 7. Labores culturales realizadas al ensayo durante el ciclo del cultivo.

© M. J. Allende.

3.3. Experimento en laboratorio.

3.3.1. Colecta de material

La colecta del material para extracción de ADN se realizó a partir del 9 de septiembre de 2015 sobre las accesiones que mostraban el segundo par de hojas verdaderas totalmente

extendido del ensayo a campo (Figura 8). A mitad del proceso de recolección del material se produjo un ataque severo de mildiu (*Peronospora variabilis*) por lo que se aplicó un fungicida y se la pospuso hasta que el cultivo volviera a generar hojas nuevas. Debido a ello la colecta de hoja se realizó sobre el material correspondiente a la repetición I sobre 10 plantas de cada parcela. Las hojas se colocaron en bolsas con cierre hermético conteniendo silica gel y se guardaron en lugar fresco y seco hasta que la silica extrajera toda la humedad del material. Fue necesario disponer, para la colecta, de los siguientes elementos: tijera, algodón, alcohol, guantes de látex, lápiz y planillas de datos.



Figura 8. Proceso de recolección del material para extracción de ADN. Izquierda: colecta en campo. Centro: estado del cultivo al momento de la cosecha. Derecha: conservación del material colectado. © M. J. Allende.

3.3.2. Extracción de ADN

El procedimiento de extracción del ADN se realizó siguiendo el protocolo CTAB establecido por Doyle y Doyle (1990) con algunas modificaciones. Este protocolo fue estandarizado en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina y utilizado en este estudio con buenos resultados. Para cada muestra se siguió el procedimiento: (1) Se colocó en un tubo de 1,5ml 4 hojas bien secas y cinco bolitas de metal. (2) Se llevó el tubo al molino de muestras secas (Retsch MM200) durante 4min con una frecuencia de 30/s. (3) A los tubos con el material molido se le colocaron 700µl de una mezcla de CTAB- buffer de lisis y 5µl de β-mercaptoetanol bajo la campana de bioseguridad. (4) Se agitó manualmente el tubo por inversión para mezclar bien. (5) Posteriormente, se llevó el tubo al Termomixer Comfort (Eppendorf 1.5µl) y se incubó a una temperatura de 65°C durante 45 minutos agitándose cada 15 minutos durante 30 segundos a 300rpm. (6) una vez transcurrido ese tiempo se agregó al tubo 700µl de cloroformo:alcohol isopropilico (24:1) bajo la campana de bioseguridad y se mezcla bien

por inversión. (7) Luego el tubo se colocó en la centrífuga a 13-14000 rpm durante cinco minutos (8) El sobrenadante resultante de la centrífuga (Eppendorf 5415 D) se transfirió a un nuevo tubo (1.5ml). (9) Al nuevo tubo se le agrega 500µl de alcohol absoluto frio y se mezcló suavemente hasta observar en el centro del tubo una medusa de ADN. (10) Esta mezcla se llevó a una temperatura de -20°C por 30 minutos. (11) Transcurrido ese tiempo se centrifugó el contenido del tubo a 14000rpm por 20 minutos. (12) Posteriormente se eliminó el sobrenadante, dejando secar el tubo. El precipitado fue lavado dos veces con un ml de etanol al 70 por ciento a 14000rpm por tres minutos. (13) El etanol del último lavado fue descartado y se dejó que el precipitado o pellet se seque toda la noche a temperatura ambiente. (14) Luego se re suspendió el precipitado con 100µl de buffer TE y se lleva al Termomixer durante 15 minutos a 65°C posteriormente la muestra se homogenizó con micropipeta. (15) A la solución se le añadió 2µl de RNAasa (10mg/ml) y se llevó al Termomixer durante una hora a 37°C. (16) Finalmente se almacenó la solución a -20°C.

3.3.3. Evaluación de la calidad, integridad y concentración de ADN

La evaluación de la calidad y cantidad del ADN se realizó con un Biofotómetro (Eppendorf) para ello se colocó en un tubo de 1.5µl, 198µl de buffer TE y 2µl del concentrado de ADN, posteriormente la muestra se puso en el prisma. La lectura indicó dos valores: uno expresado en ng/µl que revela la cantidad de ADN y el otro da medidas de absorbancia de luz A260/A280 e indica la calidad del ADN. El rango de valores óptimos es entre 2.0 y 1.7, valores por encima o por debajo indican ADN de baja calidad. La integridad del ADN se testeó por electroforesis en geles de agarosa al uno por ciento, visualizado con luz UV (Figura 9).

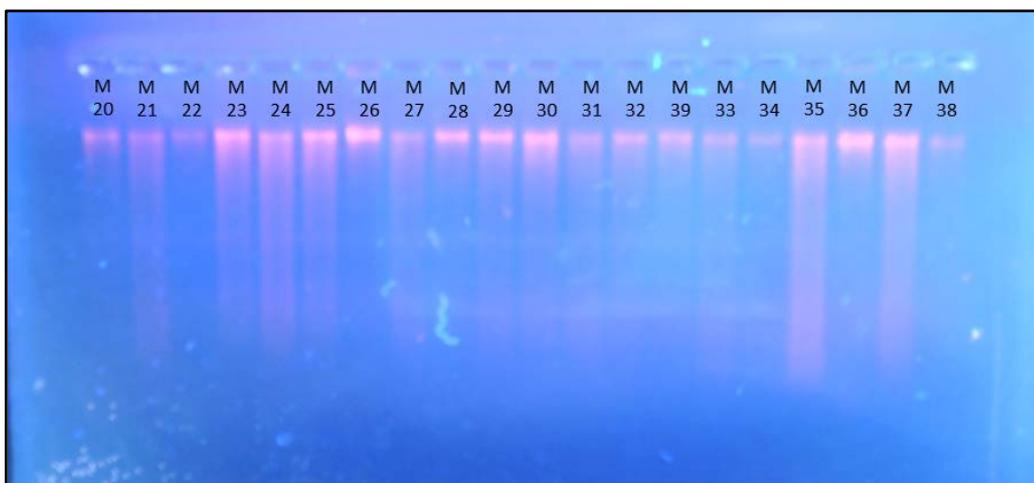


Figura 9. Gel de integridad de ADN. Las calles representan diferentes muestras de *Ch. quinoa*. © M. J. Allende

3.3.4. Amplificación por PCR

Se seleccionaron 18 marcadores SSR desarrollados por Mason *et al.* (2005) según el número de alelos observados y heterocigocidad. Se evaluaron preliminarmente sobre 3 accesiones y se eligieron cinco SSRs según la nitidez del patrón obtenido y el polimorfismo detectado (Tabla 3).

Tabla 3. Detalle de los cinco *loci* microsatélites seleccionados: *locus*, secuencia del oligo nucleotido y temperatura de *annealing*.

| Locus | | Secuencia del oligo nucleotido | T° <i>annealing</i> |
|---------|---|--------------------------------|------------------------|
| QAAT088 | F | TCCTAACTTCTTGTGACATTTCTT | 55°C |
| | R | CCACGATCCCAGAACAATTT | |
| QAAT001 | F | ATATTGCATGTCGAGCACCA | 58°C |
| | R | TGGGACTTCCATAAGGCAAC | |
| QAAT106 | F | TCAGTAAGATAATACCCATCAGTAAG | 55°C |
| | R | AAATCCCCTCTATAATTACCAA | |
| QAAT022 | F | TGGTCGATATAGATGAACCAAA | 58°C |
| | R | GGAGCCCAGATTGTATCTCA | |
| QAAT071 | F | CATCACCCGCTGAATAGACAC | 60°C |
| | R | TACCCTAATGCCACGATTCC | |

Las reacciones de amplificación de PCR se ajustaron a un volumen final de 15µl, cuya composición fue la siguiente: 2µl de cada primer (10 µM), 1.5µl de MgCl₂ (25mM), 0.5µl de dNTPs (2.5mM), 0.2µl de Taq polimerasa (5u/µl), 1.5µl de Buffer (10x) y 2µl de ADN (90ng) como molde. El volumen de 15µl de reacción se completó con agua miliq. Las amplificaciones se realizaron siguiendo el protocolo utilizado por Mason *et al.* (2005): 94°C por 1 minuto como desnaturalización general; seguida de 5 ciclos a 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos (disminuyendo un 1°C cada ciclo), 72°C por 1 minuto; 10 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto; 5 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos (disminuyendo 1°C cada ciclo), 72°C por un minuto; 10 ciclos de 94°C por 30 segundos, 45°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto; mantener la temperatura a 72°C por 5 minutos; disminuir la temperatura a 4°C indefinidamente.

3.4 Análisis de datos

Con el objeto de conocer el comportamiento de las accesiones en los ensayos se realizaron los siguientes análisis estadísticos:

3.4.1. Caracterización morfológica

Se realizó la estadística descriptiva para estimar y describir la posición de las accesiones en relación con cada descriptor cuantitativo. El estadístico *media* se refiere a la media aritmética. *Desviación estándar* (D.E.) corresponde a la raíz cuadrada de la varianza muestral calculada como la suma de los cuadrados de los desvíos con respecto a la media muestral, dividida por $(n-1)$. El *coeficiente de variación* (CV) es el cociente entre la desviación estándar y la media muestral, expresado en porcentaje.

El Coeficiente de correlación de Pearson se utilizó para cuantificar en términos relativos el grado de asociación íntima o variación conjunta entre pares de descriptores cuantitativos. Indica una medida de la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables originales. Para las variables j -ésima y k -ésima se define como:

$$r_{jk} = \frac{S_{jk}}{\sqrt{S_j^2 S_k^2}} = \frac{\left(\sum_{i=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_j)(x_{ik} - \bar{x}_k) \right) / (n-1)}{\sqrt{\left(\left(\sum_{i=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_j)^2 \right) / (n-1) \right) \left(\left(\sum_{i=1}^n (x_{ik} - \bar{x}_k)^2 \right) / (n-1) \right)}}$$

donde S_{jk} es la covarianza entre la variable j y la variable k , S_j^2 y S_k^2 son las varianzas de las variables j y k respectivamente (Balzarini *et al.*, 2008).

El coeficiente de correlación muestral representa la covarianza de los valores muestrales estandarizados. Asume valores en el intervalo $[-1;1]$ y el signo indica la dirección de la asociación (valores negativos se producen cuando la tendencia promedio indica que si un valor en el par observado es más grande que su media, el otro valor es más pequeño que su media) (Balzarini *et al.*, 2008). Para los análisis se utilizó el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2016).

3.4.2. Análisis multivariados

Un conjunto de análisis multivariados se utilizaron para examinar simultáneamente varias variables para cada accesión y para describir patrones de variación en el germoplasma

caracterizado (Franco e Hidalgo, 2003; Curti *et al.*, 2012). Para ello se utilizó el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2016).

3.4.2.1. Análisis de componentes principales (ACP)

El ACP Es una herramienta útil para analizar los datos que se generan de la caracterización y evaluación preliminar de germoplasma. Permite conocer la relación existente entre las variables cuantitativas consideradas y la semejanza entre las accesiones, saber cuáles variables están o no asociadas y el sentido de esa asociación. También permite saber cómo se distribuyen las accesiones y cuales tienen mayor semejanza entre ellas (Franco e Hidalgo, 2003). Este método se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. Los componentes deben ser interpretados independientemente unos de otros, ya que contienen una parte de la varianza que no está expresada en otro componente principal (Franco e Hidalgo, 2003, Balzarini *et al.*, 2008).

Los componentes principales contienen información en diferentes proporciones de todas las variables originales y su número depende del número de éstas que se incorporen en el análisis. La contribución de las variables a cada componente principal se expresa en valores y vectores *propios*. El valor *propio* representa la varianza asociada con el componente principal y decrece a medida que se generan dichos componentes. En cambio, el vector *propio* contiene los coeficientes de las combinaciones lineales de las p variables originales. Para la selección del número de componentes realmente importantes para el análisis existen diversos criterios que varían de acuerdo con la decisión del investigador (Franco e Hidalgo, 2003): (i) considerar como aceptables los componentes cuyos valores propios expliquen un 70 por ciento o más de la varianza total (ii) selección de los componentes cuyo valor *propio* sea ≥ 1 y (iii) un criterio gráfico que consiste en representar el número de componentes y su valor *propio* en la abscisa y el porcentaje de la varianza correspondiente en la ordenada, lo que permite observar en forma gráfica el decrecimiento de los primeros componentes en relación con los demás.

En este trabajo para realizar el análisis se utilizaron variables cuantitativas estandarizadas euclidianas y se representaron en un gráfico de dispersión de dos dimensiones (Bi-plot) (Cuadras, 2010). Se tomó como criterio para seleccionar el número de componentes aquellos cuyo valor propio explica más del 70 por ciento de la varianza total.

3.4.2.2. Análisis de Conglomerados o Cluster

Es un método analítico que se usa para clasificar las accesiones en grupos relativamente homogéneos con base en alguna similitud existente entre ellas. El objetivo del análisis es clasificar un conjunto de n accesiones en un número pequeño de grupos o conglomerados, donde la formación de estos grupos puede obedecer a leyes naturales o a cualquier conjunto de características comunes a las accesiones (Franco e Hidalgo, 2003). Los métodos de agrupamiento más usados en el análisis de conglomerado son (Franco e Hidalgo, 2003, Balzarini *et al.*, 2008): (i) jerárquico, que forma grupos a varios niveles. Para la formación de los conglomerados por este método existen diversas formas de enlace, siendo las más comunes: Simple, completo, UPGMA, centroide y *Ward*, todas con el mismo criterio de maximizar la variación entre los grupos y minimizarla dentro de ellos y (ii) no jerárquico o de partición forma grupos a través de criterios predefinidos. Se caracteriza por dividir el grupo de accesiones en un número preseleccionado de conglomerados que no tienen una estructura jerárquica.

Para el agrupamiento de las accesiones por los caracteres cualitativos se utilizó el método de aglomeración jerárquica con la suma de los cuadrados incrementales como criterios de agrupamiento (Ward, 1963) utilizando la distancia euclídea estandarizada.

Para el análisis se partió de una matriz de datos $n \times p$ (p variables en cada uno de los n accesiones), que luego fue transformada en una matriz de distancia ($n \times n$) donde el elemento i,j -ésimo mide la distancia entre pares de objetos i y j para $i,j=1,\dots,n$. Los resultados de agrupamientos jerárquicos se muestran en un *dendrograma* (diagramas de árboles en dos dimensiones), en el que se pueden observar las uniones y/o divisiones que se van realizando en cada nivel del proceso de construcción de conglomerados. Las ramas en el árbol representan los conglomerados.

Por otro lado, para expresar la magnitud de la identidad genética (similaridad) o su complemento (distancia) entre dos individuos caracterizados molecularmente a través de marcadores del tipo microsatélites (SSR), que son multilocus-multialélicos, es necesario elegir una métrica acorde con la naturaleza multivariada de los datos (Bruno y Balzarini, 2010).

Para el análisis se utilizó una distancia geométrica expresada desde datos binarios que sugieren presencia/ausencia de cada alelo en cada locus de un perfil individual.

Las distancias se expresaron como $(1-S)^{1/2}$ donde S representa el índice de similitud para datos binarios de Jaccard (no estandarizado).

Se usó el método de conglomerados jerárquico UPGMA (*unweighted pair-group method using an arithmetic average*) (Sokal y Michener, 1958 Citado por Balzarini *et al.*, 2008). En este método la distancia entre dos conglomerados se obtiene promediando todas las distancias entre pares de objetos, donde un miembro del par pertenece a uno de los conglomerados y el otro miembro al segundo conglomerado. Se han propuesto varias expresiones para calcular la distancia promedio, una de ellas es:

$$d_{(AB)C} = \frac{\sum_i \sum_j d_{ij}}{n_{(AB)}n_C}$$

donde d_{ij} es la distancia entre el objeto i , que pertenece al conglomerado AB y el objeto j que pertenece al conglomerado C, siendo la sumatoria sobre todos los posibles pares de objetos entre dos conglomerados y donde $n_{(AB)}$ y n_C son los números de objetos en los conglomerados AB y C respectivamente. El método tiende a producir grupos de igual varianza (Milligan, 1980 citado por Balzarini *et al.*, 2008). La formación de conglomerados en los distintos pasos del algoritmo de agrupamiento suele representarse gráficamente a través de un dendrograma (Balzarini *et al.*, 2008)

3.4.2.3. Análisis de Coordenadas Principales (ACoP)

El análisis de coordenadas principales es utilizado para mostrar las relaciones entre las observaciones multidimensionales de naturaleza discreta. Se definen distancias (o similitudes) en función de la naturaleza de la variable. En el caso de la caracterización molecular se realizó un análisis de coordenadas principales en el que la representación geométrica del ordenamiento de las OTUs se realiza a través de una medida de distancia que respete la estructura de semejanza definida por la matriz de distancia genética. Las distancias se expresaron como $(1-S)^{1/2}$ donde S representa el índice de similitud para datos binarios de Jaccard (no estandarizado). Se graficaron las OTUs en un bi-plot en que la distancia entre los puntos refleja las relaciones entre las poblaciones según la matriz: las más similares son representadas por puntos que están próximos, mientras que las más disímiles por puntos que están más alejados (Costa, 2014).

3.4.3. Caracterización molecular

Para la elaboración de la matriz básica de datos para los análisis moleculares, los resultados fueron evaluados manualmente mediante la observación de los geles obtenidos en un transiluminador de luz ultra violeta (UV). Para cada individuo de la población se registró la presencia o no de banda y el genotipo (homocigota o heterocigota), para todos los *loci* SSR estudiados. Sólo se consideraron los fragmentos o bandas cuyo peso molecular se encontraba en el rango citado en la bibliografía. Las bandas dudosas o datos perdidos fueron codificados como -1. A partir de esta base de datos se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas relativas de cada alelo. Para los análisis se utilizó el programa estadístico Infogen (Balzarini *et al.*, 2016).

3.4.3.1. Diversidad molecular

Se estimaron varios parámetros para caracterizar el grado de polimorfismo detectado en los *loci* SSR estudiados:

- Número de alelos por locus (A)
- Heterocigosidad (Ht): es una medida de diversidad alélica. Para cada *locus* analizado se interpreta como la probabilidad de que al extraer dos alelos al azar de la población, éstos sean diferentes. Representa la heterocigosidad esperada de cada *locus* para el total de las accesiones caracterizadas.

$$Ht = 1 - \sum \overline{pi}^2$$

donde pi es la frecuencia del alelo i -ésimo alelo, en promedio entre todas las poblaciones (Peakall y Smouse, 2006 citado por Costa, 2014).

- Índice de Información (I): equivalente al Índice de Shannon y Weaver utilizado en estudios ecológicos, se utilizó para evaluar la diversidad alélica detectada en cada locus analizado, calculado según la fórmula:

$$I = -1 \sum [pi * \ln(pi)]$$

donde pi es la frecuencia del alelo i - en la totalidad de los *loci* analizados (Peakall y Smouth, 2006 citado por Costa, 2014). El índice está basado en la frecuencia alélica en los *loci* polimórficos y se utiliza para caracterizar el *locus*, siendo más alto el nivel de diversidad detectada a medida que el valor de I se acerca a uno. Es útil para elegir los *loci* SSR más informativos.

3.4.3.2. Diversidad genética de las accesiones

La diversidad genética de las poblaciones fue estimada utilizando:

- Heterocigosidad promedio esperada de Nei (He):

$$He = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

donde p_i es la frecuencia del alelo i - en el *locus* l ; en todos los *loci* analizados para cada accesión. La He es una medida indirecta de la heterogeneidad genética.

- Riqueza alélica (N_a): es el número total de alelos presentes en una determinada accesión (Frankel et al., 1995 citado por Costa, 2014).
- Alelos exclusivos: son alelos presentes exclusivamente en un determinado grupo de genotipo o población. Además se registró la presencia de alelos raros, alelos cuya frecuencia de ocurrencia en la población es menor al 5 por ciento.
- Proporción de *loci* polimórficos (P): es el número de *loci* polimórficos dividido el número total de *loci* (polimórficos + monomórficos).

3.4.4. Estructura genética de las poblaciones

La estructura genética de las especies puede definirse como la distribución no al azar de alelos o genotipos en el espacio o el tiempo y es producto de su dispersión (Costa, 2014). Utilizando un Análisis de la Varianza Molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) se evaluó la estructura genética de las poblaciones de *Ch. quinoa* mediante el estudio de la diferenciación genética a través de la partición de la varianza en diferentes niveles jerárquicos (Peakall y Smouth, 2006 citado por Costa, 2014). Se utilizaron los estadísticos F (Wright, 1921 citado por Costa, 2014) estimados a partir del AMOVA para medir la estructuración entre las poblaciones. Los índices de fijación F miden la variación en la heterocigosidad comparando el valor observado con el esperado si las poblaciones estuvieran en equilibrio Hardy-Weinberg.

El índice de Fijación, F_{is} , considera la heterocigosidad de un individuo en promedio respecto a la de la sub-población en promedio; F_{it} , considera la heterocigosidad de un individuo respecto a la población total; F_{st} , considera la heterocigosidad de una sub-población respecto a la población total; F_{sr} , es la varianza de una sub-población respecto a una región determinada y F_{rt} , es la varianza de una región respecto al total (Peakall y Smouth, 2006

citado por Costa, 2014). Para el análisis se utilizó el programa estadístico Infogen (Balzarini *et al.*, 2016).

3.4.5. Test de Mantel

La significancia de la correlación entre matrices se evaluó utilizando el Test de Mantel (Mantel, 1967 citado por Costa, 2014).

$$Z = \sum_{i < j}^n x_{ij} \cdot y_{ij}$$

Siendo x_{ij} y y_{ij} elementos no diagonales de las matrices X e Y , si dos matrices muestran relaciones similares el valor de Z observado debe ser mayor al esperado de su distribución por permutaciones al azar. Se comparan las dos matrices elemento a elemento y se obtienen la correlación momento – producto, r , y el estadístico, Z , para medir el grado de significancia de relación entre las dos matrices. El valor de r se relaciona al Z obtenido de las permutaciones, o sea, la distribución obtenida si se compara una matriz X con todas las posibles matrices Y en las que el orden de los elementos o variables haya sido permutado aleatoriamente (Smouse *et al.*, 1986 citado por Costa, 2014). Valores en el coeficiente de correlación, r , superiores a 0.80 indican una buena representación (Mohammadi y Prasanna, 2003). Para el análisis se utilizó el programa estadístico Infogen (Balzarini *et al.*, 2016).

3.4.6. Caracterización conjunta

El Análisis de Procrustes Generalizado (APG) propuesto por Gower (1975 citado por Costa, 2014) tiene por objetivo examinar en qué medida dos configuraciones resultantes de algún método de ordenamiento son similares transformando cada configuración individual. La transformación consiste en la traslación, rotación, reflexión y escalamiento de la nube de puntos manteniendo la distancia relativa entre los elementos de cada configuración y minimizando la suma de cuadrados entre puntos análogos. Se utilizó el APG para generar una configuración consenso entre las configuraciones resultantes de la caracterización molecular y aquella con caracteres morfo-fenológicos. Sobre la configuración obtenida de cada método de ordenación se superpuso un Árbol de Recorrido Mínima (AEM) para interpretar las relaciones de similitud entre las poblaciones. Para el análisis se utilizó el programa estadístico Infogen (Balzarini *et al.*, 2016).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización morfológica

4.1.1. Medidas estadísticas descriptivas

La estadística descriptiva para cada descriptor se resume en la Tabla 4. Se observó gran dispersión en relación a la media y alto coeficiente de variación (CV) para todas las variables a excepción de las variables fenológicas (días emergencia-floración y días emergencia-madurez fisiológica), longitud de panoja y diámetro de grano. La duración del ciclo vegetativo es una característica dependiente del genotipo y es posible encontrar amplio rango de variación. En este estudio el intervalo entre duración del ciclo fue de 45 días donde la variabilidad observada puede ser útil para la siembra de quinua en la zona de costa. El peso de 100 semillas también presenta un amplio rango de variación lo cual es importante, junto a diámetro de grano, para la comercialización de la quinua.

Tabla 4. Estadística de los descriptores utilizados para la caracterización de las accesiones (n= 268).

| Variable | Media | D.E. | CV | Mínimo | Máximo |
|------------|--------|-------|-------|--------|--------|
| DEF(días) | 65,20 | 1,71 | 2,62 | 56 | 72 |
| DEMF(días) | 116,82 | 9,52 | 8,15 | 97 | 140 |
| AP(cm) | 79,46 | 13,98 | 17,59 | 53,25 | 121 |
| DT(cm) | 0,57 | 0,15 | 25,72 | 0,30 | 1,10 |
| LPj(cm) | 31,33 | 4,08 | 13,03 | 20,00 | 42,90 |
| DPj(cm) | 4,87 | 0,94 | 19,35 | 2,45 | 8,16 |
| RP(g) | 3,54 | 1,61 | 45,51 | 1,02 | 10,99 |
| P100(g) | 0,27 | 0,06 | 22,97 | 0,13 | 0,53 |
| DG(mm) | 1,82 | 0,20 | 10,73 | 1,05 | 2,52 |

Referencias: Días emergencia a floración (DEF); Días emergencia a madurez fisiológica (DEMF); Altura de planta (AP); Diámetro de tallo (DT); Longitud de panoja (LPj); Diámetro de panoja (DPj); Rendimiento por planta (RP); Peso de 100 semillas (P100) y Diámetro de grano (DG).

4.1.2. Coeficientes de correlación de Pearson

La matriz de correlación entre cada par de variable (Tabla 5) muestra que 32 coeficientes fueron altamente significativos ($p \leq 0,01$). Entre las características de arquitectura de planta se observaron las correlaciones más altas y significativas para la asociación entre la altura de planta y el rendimiento por planta y diámetro de grano ($r=0,68$ para ambas) y del diámetro de tallo con rendimiento por planta y diámetro de grano ($r=0,70$ y $r=0,64$, respectivamente). También se cuantificaron correlaciones positivas y significativas entre variables fenológicas y de arquitectura de planta. El tiempo entre emergencia y madurez fisiológica se asocia con la altura de planta y el diámetro de grano ($r=0,46$ y $r=0,44$, respectivamente). Estas correlaciones indicarían que accesiones de ciclo largo presentan planta de mayor tamaño, rendimiento con granos grandes y pesados. Las variables diámetro de grano y peso de 100 semillas muestran una alta correlación positiva entre ellas ($r=0,69$). Esta correlación sugiere que hay margen importante de variación en diámetro para un mismo peso existiendo la posibilidad de seleccionar genotipos con mayor diámetro de grano sin afectar el peso y los requerimientos de carbono para obtenerlo.

Para las variables morfológicas Rojas (2003) encontró correlaciones positivas entre diámetro de tallo con altura de planta, diámetro y longitud de panoja; también entre longitud de panoja con altura de planta. Las accesiones con mayores diámetros y altura de planta desarrollaron panojas más grandes. Por otro lado, Risi y Galwey (1989a) determinaron que altura de la planta, diámetro del tallo, longitud y diámetro de panoja se correlacionaron significativamente con los demás. Una correlación positiva entre madurez fisiológica con altura de planta y diámetro de tallo indica que las plantas tienden a desarrollar más cuando la duración del ciclo fenológico es más tardío. Sin embargo el autor observó correlación negativa entre madurez fisiológica y peso de 100 semillas por lo que ese mayor desarrollo de planta no se vio reflejado en un mayor tamaño y peso de grano (Rojas, 2003).

En Perú el germoplasma de quinua es muy diverso a nivel fenotípico que refleja la variación en torno al origen. Este estudio mostró un amplio rango de variabilidad en las accesiones para atributos morfo-fenológicos. La variabilidad observada por numerosos autores para características fenológicas es prometedor desde el punto de vista de la mejora genética, ya que será posible seleccionar materiales para hacer frente a limitaciones abióticas (frío y sequía) factores que afectan altamente la producción de cultivos locales (Curti *et al.*, 2012).

Por otro lado, la variación en los rasgos morfológicos es relevante para futuros estudios comparativos de accesiones de quinua de diferentes países ya que se asocian con el lugar de origen o la elevación de las poblaciones y que son consistentes con las caracterizaciones previas de colecciones de Perú, Bolivia y Chile (Gandarillas, 1968; Risi y Galwey, 1989a; Ortiz *et al*, 1998; Rojas, 2003; Curti *et al.*, 2012). Combinaciones de rasgos observados en las accesiones de Valle Interandino y Altiplano fueron congruentes con las accesiones de origen similar en colecciones de Perú y Bolivia, respectivamente (Ortiz *et al*, 1998; Rojas, 2003).

Tabla 5. Matriz de correlación simple entre las variables cuantitativas utilizadas para caracterizar el germoplasma de quinua.

| Variables | DEF | DEMF | AP | DT | LPj | DPj | RP | P100 | DG |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----|
| DEF | 1 | | | | | | | | |
| DEMF | 0,35** | 1 | | | | | | | |
| AP | 0,25** | 0,46** | 1 | | | | | | |
| DT | 0,26** | 0,32** | 0,80** | 1 | | | | | |
| LPj | -0,04 | 0,08 | 0,59** | 0,51** | 1 | | | | |
| DPj | 0,07 | 0,34** | 0,51** | 0,58** | 0,46** | 1 | | | |
| RP | 0,20** | 0,27** | 0,68** | 0,70** | 0,51** | 0,52** | 1 | | |
| P100 | 0,28** | 0,20** | 0,53** | 0,56** | 0,09 | 0,24** | 0,51** | 1 | |
| DG | 0,35** | 0,44** | 0,68** | 0,64** | 0,19** | 0,33** | 0,60** | 0,69** | 1 |
| | DEF | DEMF | AP | DT | LPj | DPj | RP | P100 | DG |

Referencias: Días emergencia a floración (DEF); Días emergencia a madurez fisiológica (DEMF); Altura de planta (AP); Diámetro de tallo (DT); Longitud de panoja (LPj); Diámetro de panoja (DPj); Rendimiento por planta (RP); Peso de 100 semillas (P100) y Diámetro de grano (DG).

4.1.3. Análisis de Componentes principales

Los resultados del ACP muestran que los tres primeros componentes concentran el 79.4 por ciento de la variación total (Tabla 6). El primer componente (CP1) explica la mayor parte de esta variación (53.2 por ciento) y ordenó accesiones según un gradiente de tamaño de planta y rendimiento. Como indica la Figura 10, accesiones con plantas más altas, tallo más grueso y un mayor rendimiento con grano grande y pesado fueron colocados a la derecha de la gráfica, ya que estas accesiones presentaron mayores valores positivas para los coeficientes de vectores propios para estas características. La mayoría de estas accesiones son de Valle Interandino. Accesiones en el lado izquierdo del eje 1 tienen valores negativas y mostraron plantas más bajas, tallos más delgados, y de menor rendimiento con grano pequeño y liviano. Se caracterizan por rasgos morfológicos similares a las accesiones de Altiplano.

CP2 explicó 16.2 por ciento de la variación y distinguió entre accesiones precoces y tardías (Figura 10). Los coeficientes de vector propio para todas las características fenológicas (floración primero y madurez fisiológica) fueron positivos (Tabla 6). Las variables longitud y diámetro de panoja y el resto de las características morfológicas fueron negativos. Las accesiones de Valle Interandino mostraron plantas más tardías de ciclo largo, plantas más chicas con granos grandes y pesados.

Estas accesiones se ubicaron en la parte superior derecha de la Figura 10. Por otra parte, las accesiones de Altiplano muestran plantas precoces de ciclo corto, menor tamaño y rendimiento con grano más pequeño y liviano. Se situaron en la parte inferior izquierda (Figura 10). El tercer componente explicó menor variación (10 por ciento) y diferenciaron accesiones de ciclo corto y mayor peso de grano de accesiones con mayor ciclo y granos más livianos. Días de emergencia a floración fue negativo (Tabla 6). Esto indica que el componente identificó accesiones de ciclo corto con mayor peso de semilla. Se observó una alta correlación entre variables fenológicas y componentes de rendimiento en contraposición con las variables morfológicas.

Tabla 6. Matriz factorial correspondiente a las variables en estudio en las accesiones de quinua.

| Componentes | 1° | 2° | 3° |
|---------------|-----------------------------|--------------|--------------|
| Valor propio | 4,78 | 1,46 | 0,90 |
| % de varianza | 53 | 16 | 10 |
| Variabes | Coeficientes de correlación | | |
| DEF | 0,19 | 0,58 | -0,29 |
| DEMF | 0,28 | 0,34 | -0,57 |
| AP | 0,41 | -0,11 | 0,01 |
| DT | 0,41 | -0,09 | 0,05 |
| LPj | 0,24 | -0,55 | -0,20 |
| DPj | 0,30 | -0,29 | -0,34 |
| RP | 0,38 | -0,16 | 0,16 |
| P100 | 0,32 | 0,22 | 0,60 |
| DG | 0,39 | 0,24 | 0,22 |

Referencias: Días emergencia a floración (DEF); Días emergencia a madurez fisiológica (DEMF); Altura de planta (AP); Diámetro de tallo (DT); Longitud de panoja (LPj); Diámetro de panoja (DPj); Rendimiento por planta (RP); Peso de 100 semillas (P100) y Diámetro de grano (DG). El ovalo de línea llena agrupa las accesiones de la región de Puno y el de punto la de Cusco.

Bertero *et al.* (2004) expresaron que determinadas accesiones pueden compensar con mayor tasa de crecimiento el potencial de rendimiento. Se puede considerar que ambas accesiones representan al Valle Interandino y al Altiplano propuesto por Tapia (1996), coincidiendo con una alta influencia del lugar de origen en la separación de los grupos o ecotipos de quinua (Risi y Galwey, 1989 a,b; Rojas, 2003; Fuentes *et al.*, 2009a,b; Curti *et al.*, 2010; Gómez y Eguiluz, 2012 y Gabriel *et al.*, 2013).

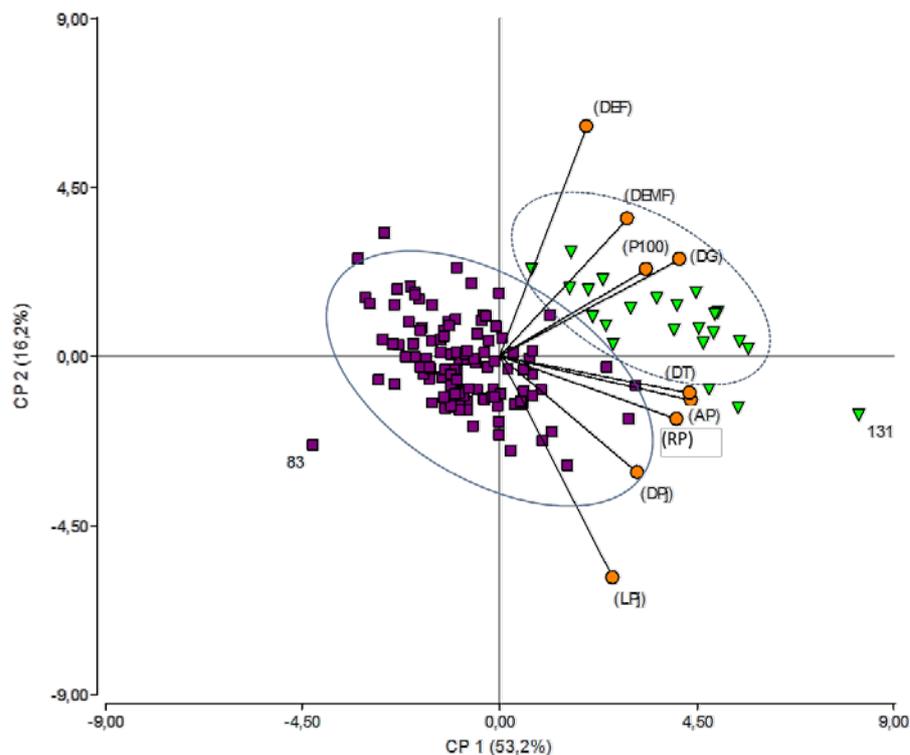


Figura 10. Distribución de accesiones de quinua y variables en estudio teniendo en cuenta las dos primeras componentes (CP1 y CP2). Referencias: Días emergencia a floración (DEF); Días emergencia a madurez fisiológica (DEMF); Altura de planta (AP); Diámetro de tallo (DT); Longitud de panoja (LPj); Diámetro de panoja (DPj); Rendimiento por planta (RP); Peso de 100 semillas (P100) y Diámetro de grano (DG). El ovalo de línea llena agrupa las accesiones de la región de Puno y el de punto la de Cusco.

4.1.4. Análisis de conglomerados

El dendrograma resultante del análisis de *Cluster* muestra tres grupos formados en un punto de corte de 4.5 distancia euclídea (Figura 11). Este patrón de agrupamiento es consistente con la distribución de las accesiones en los ejes 1 y 2 en la ACP. El primer grupo (G1) está integrado por accesiones pertenecientes al Altiplano. Estas presentaron plantas de arquitectura intermedia con peso de 100 semillas medio ($0.25 \pm 0.04g$) y tamaño pequeño ($1.74 \pm 0.1mm$), y de ciclo precoz (114 ± 8 días); similar a lo reportado por Rojas (2003) donde encontró mayor tamaño de grano en el Lago Titicaca. El segundo grupo (G2) está formado

por una mezcla de accesiones de diferentes orígenes donde predominan las accesiones de Valle Interandino. Ellas se caracterizaron por plantas con mayor desarrollo y peso de 100 semillas ($0.35\pm 0.06\text{g}$) y tamaño de grano grande ($2.11\pm 0.15\text{mm}$), con ciclo intermedio ($127\pm 9\text{días}$). Al grupo 3 (G3) lo integraron accesiones de Valle Interandino 131, 145 y 148. Se destacaron por tamaño de grano grande ($2.16\pm 0.13\text{mm}$) y peso de 100 semillas de $0.33\pm 0.06\text{g}$ de ciclo tardío ($130\pm 7\text{días}$). Por último la accesión 83 con plantas bajas, semillas pequeñas ($1.52\pm 0.07\text{mm}$) y de menor peso ($0.18\pm 0.03\text{g}$). Fue la accesión más precoz ($102\pm 7\text{días}$) perteneciente al Altiplano.

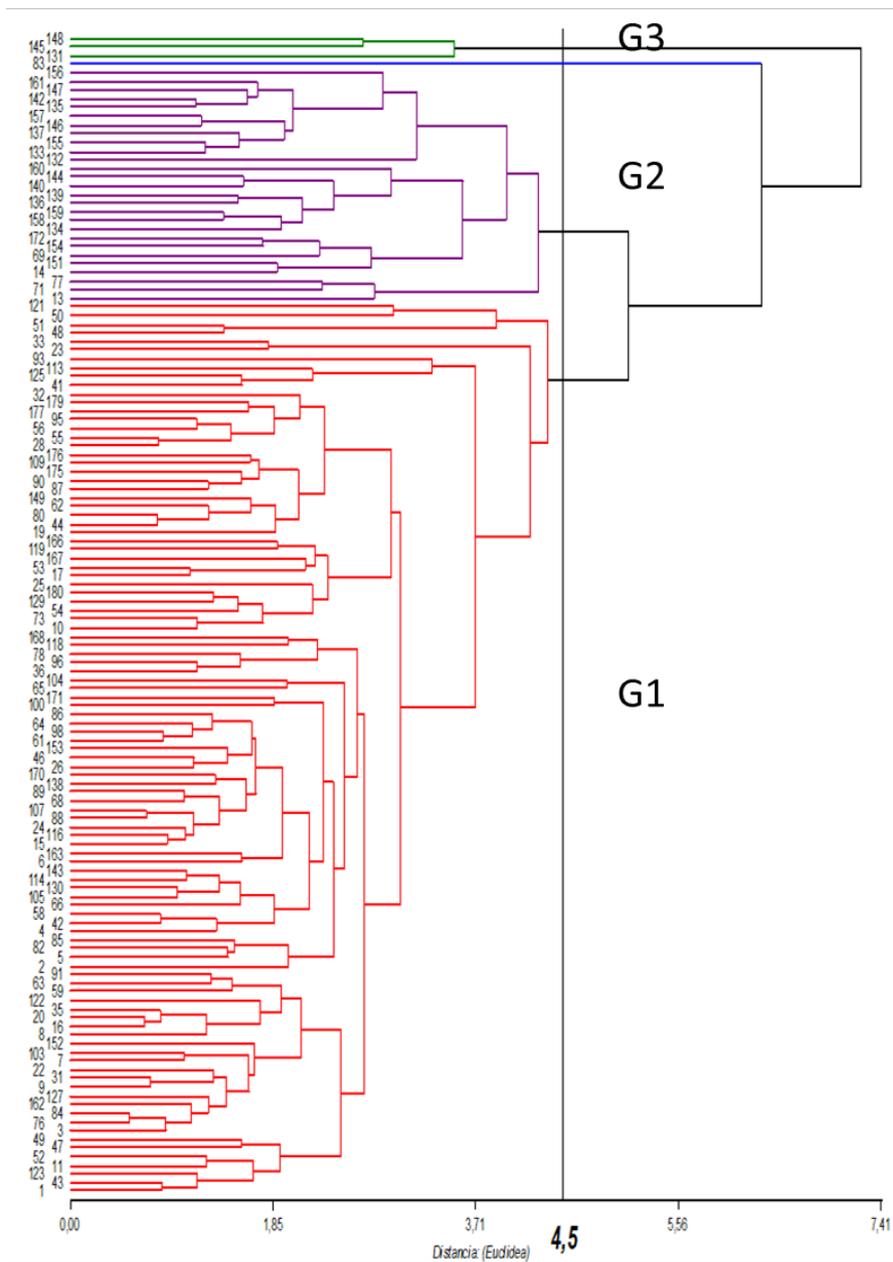


Figura 11. Dendrograma de distancia entre las accesiones de quinua (*Ch. quinoa*) evaluadas en la costa peruana. Punto de corte 4,5 media distancia euclídea.

La agrupación jerárquica de genotipos de acuerdo a sus respuestas relativas de tamaño y peso de grano encontrados en este estudio es consistente con los grupos genotípicos propuestos sobre la base de una clasificación morfo-fenológica (Risi y Galwey, 1989a,b; Ortiz *et al.*, 1998; Rojas, 2003; Curti *et al.*, 2012) y en el análisis de patrones observados de una amplia gama de cultivares evaluados a través de ambientes diferentes (Bertero *et al.*, 2004).

4.2. Caracterización molecular

La quinua es una especie autógama con porcentaje variable de alogamia (entre 2 y 10 por ciento) (Gandarillas, 1976). Ese valor es dependiente de la variedad y de la distancia entre plantas a campo por lo que se esperaría baja variabilidad genética intra-poblacional. Por ello se utilizó la técnica de *bulk* de plantas como muestra representativa de cada genotipo teniendo en cuenta los antecedentes de caracterización molecular mediante marcadores SSR de Christensen *et al.* (2007) y Fuentes *et al.* (2009b).

4.2.1. Diversidad molecular

Se evaluaron cinco *loci* SSR en 133 accesiones de *Ch. quinoa* nativas de Perú provenientes de diferentes orígenes: Valles Interandinos (Cusco n=23) y Altiplano (Puno n=110). Se caracterizó un *bulk* de tres individuos de cada accesión. Se corrieron en gel de agarosa al dos por ciento junto a un marcador de peso de 20 pb con el objetivo de permitir identificar el motivo del microsatélite, de acuerdo al tamaño (pb) sugerido en bibliografía, entre las diferentes accesiones y los distintos geles para cada *locus* analizado (Figura 12) (Mason *et al.*, 2005; Christensen *et al.*, 2007; Fuentes *et al.*, 2009b; Costa, 2014). El *loci* QAAT071 presentó patrones mono-nucleotídicos, incongruente con el motivo del microsatélite correspondiente. Estos patrones pueden ser producto de eventos de inserción o deleción (Chen *et al.*, 1997), mutaciones puntuales o fallas en la actividad de la polimerasa (deslizamientos) (Calabrese *et al.*, 2001). Todos los *loci* presentaron un patrón de amplificación monogénico y fueron codificados fácilmente como co-dominantes, al igual que lo reportado por Maughan *et al.* (2004), Mason *et al.* (2005) y Costa (2014).

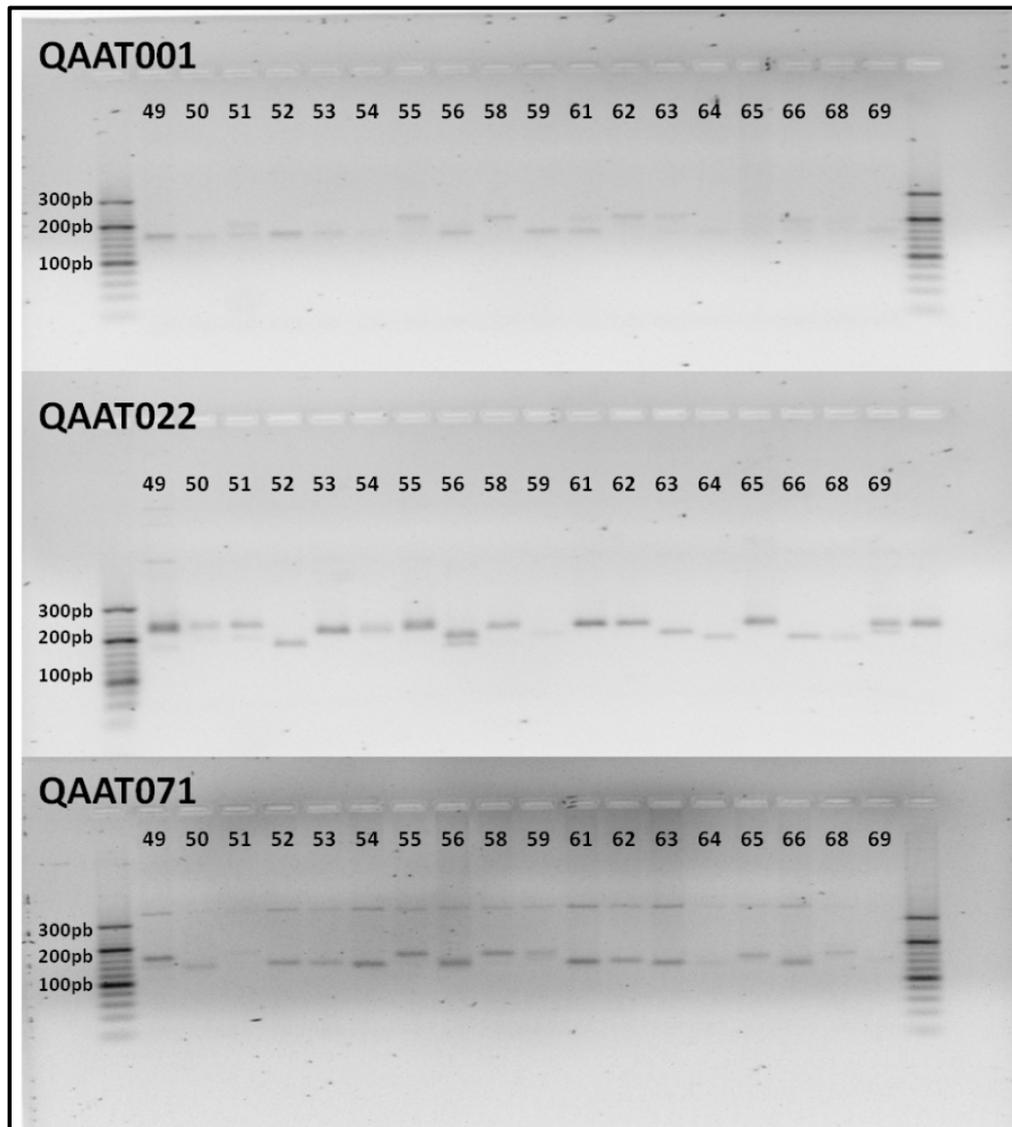


Figura 12. Ejemplo de marcadores de microsatélites polimórficos de *Ch. quinoa*. Amplificación del ADN de 18 accesiones de quinua, con A) QAAT001, B) QAAT022, y C) QAAT071. Los patrones cargados en los carriles exteriores muestran una resolución de 100, 200 y 300 pb.

El análisis descriptivo de los datos moleculares para todas las accesiones evaluadas sin tener en cuenta su origen informa que del total de las muestras evaluadas (n=133) se encontraron siete duplicadas (Tabla 7) (Anexo 2). Todos los marcadores fueron polimórficos (100 por ciento), cada uno amplificó hasta cuatro bandas con un promedio de 2 bandas por *primer* y no se observaron bandas monomórficas. Sin embargo cuando se estratifico en función del origen de las accesiones se observó que las muestras duplicadas correspondían a accesiones del Altiplano. También se encontró una banda monomórficas en el *primer* QAAT088 para las accesiones de Valle Interandino (Tabla 7) (Anexo 3).

Tabla 7. Estadística descriptiva para datos de marcadores

| Resumen | Total accesiones | Cusco | Puno |
|--------------------------|------------------|-------|------|
| Muestras | 133 | 23 | 110 |
| Muestras duplicadas | 7 | 0 | 7 |
| Bandas (número) | 20 | 20 | 20 |
| Patrón bandas duplicadas | 0 | 0 | 0 |
| Bandas monomórficas | 0 | 1 | 0 |
| Bandas polimórficas (%) | 100 | 95 | 100 |
| N° de <i>primers</i> | 5 | 5 | 5 |

Los cinco *loci* SSR se caracterizaron mediante parámetros de Heterocigosidad total (Ht), número de alelos por *locus* (A), alelos exclusivos o privados y el contenido de información polimórfica (PIC) que se describe en la Tabla 8 (Anexo 2 y 3).

El promedio de alelos detectados por *locus* fue de dos con un total 20 alelos diferentes entre todas las accesiones. El *primer* QAAT001 presentó el valor de PIC más alto y QAAT088 el valor más bajo. Todos los *primers* tienen capacidad discriminatoria y contenido de información polimórfica para reconocer que dos cultivares son distintos (Tabla 8) (Anexo 2). La menor probabilidad de que dos individuos compartan el mismo alelo (PDICMA), fue encontrada para el *primer* QAAT022 y QAAT001. Este valor indica que ambos *primers* pueden presentar un alto grado de confianza para la identificación de líneas de *Ch. quinoa*.

La diversidad genética es una medida de variabilidad apropiada para poblaciones endocriadas donde hay muy pocos individuos heterocigotas pero muchos tipos de alelos diferentes que se encuentran en homocigosis. Ott (1992) considera a un *locus* como marcador polimórfico si su heterocigosis es ≥ 0.1 y altamente polimórfico cuando H es ≥ 0.7 . Sobre la base de estos criterios, todos los *loci* SSR caracterizados fueron altamente polimórficos (Tabla 8). Encontrar estos valores de polimorfismo es sumamente importantes ya que permitirían discriminar individuos de *Ch. quinoa* estrechamente emparentadas. Excepto el *locus* QAAT106, todos los *loci* presentaron al menos un alelo exclusivo con una frecuencia relativa del cinco por ciento como mínimo (Anexo 4) detectándose un total de 5 alelos.

Tabla 8. Locus, Heterocigosidad conteo directo (Ho), Heterocigosidad total (Ht), Número de alelos (A) y media aritmética de los valores de Contenido de información polimórfica (PIC)^a e Índice de información (I)^a.

| Locus | Ho | Ht | A | Alelos exclusivos | PIC | I |
|---------|------|------|----|-------------------|-------------|-------------|
| QAAT001 | 0.30 | 0.87 | 4 | 1 | 0.32 (0.02) | 0.43 (0.01) |
| QAAT022 | 0.20 | 0.89 | 4 | 1 | 0.30 (0.03) | 0.41 (0.01) |
| QAAT071 | 0.10 | 0.88 | 4 | 2 | 0.29 (0.04) | 0.37 (0.01) |
| QAAT088 | 0.08 | 0.84 | 4 | 1 | 0.26 (0.05) | 0.36 (0.01) |
| QAAT106 | 0.05 | 0.90 | 4 | - | 0.29 (0.04) | 0.36 (0.01) |
| Total | | | 20 | 5 | | |

^a Números entre paréntesis corresponden a los valores de Error Estándar (EE)

La caracterización molecular muestra valores de heterocigosidad bastante similares entre los diferentes estudios con un alto nivel de polimorfismo. El contenido de información polimórfica (PIC) de los cinco *loci* SSR fue medio. El valor de Heterocigosidad total (Ht) obtenido fue mayor que lo citado por Mason *et al.* (2005), Jarvis *et al.* (2008) y Via (2015) (0.57, 0.57 y 0.60 respectivamente). Por el contrario, Costa *et al.* (2012) obtuvieron un valor de Ht=0.82 semejante al obtenido en este trabajo (0.87). Cuatro de los cinco *loci* SSR están localizados en diferentes grupos de ligamiento del mapa genético de quinua (Jarvis *et al.*, 2008) donde se ubicó un marcador por cromosoma lo que está indicando independencia. El número promedio de alelos por *locus* fue de dos muy diferente al obtenido por otros autores, pero a pesar de eso el valor de información polimórfica a través del índice de Información (I) refleja un amplio rango entre las accesiones similar a lo reportado por Costa *et al.* (2012).

En relación a los trabajos de caracterización molecular de *loci* SSR en accesiones de *Ch. quinoa* el promedio de alelos para accesiones de Perú fue mayor. Mason *et al.* (2005) analizaron 31 accesiones con 208 SSR obteniendo un total de 818 alelos entre todas las accesiones con un promedio de 4 por *locus*, mientras que Costa (2014) analizó 80 accesiones con 22 SSR detectando 553 alelos con un promedio de 25 alelos por *locus*. Como se puede observar todos los autores mencionados encontraron mayor número de alelos que los detectados en este trabajo. Esto se debe principalmente a la forma utilizada para la visualización de los productos de PCR ya que en este trabajo la separación fue realizada en geles de agarosa al dos por ciento, mientras que Mason *et al.* (2005) utilizó geles de agarosa al tres por ciento y Costa (2014) utilizó geles de poliacrilamida para la separación.

4.2.2. Diversidad genética de las accesiones y comparación entre grupos

Se calcularon los patrones de diversidad alélica: heterocigosis insesgada de Nei (H_e), riqueza alélica (N_a) y el índice de información (I) y el porcentaje de *loci* polimórfico (P) para cada accesión (Tabla 9) (Anexo 5). Los valores medios aritméticos de la heterocigosidad (H_e), el porcentaje de *loci* polimórfico y el índice de información fueron $0.86 (\pm 0.01 \text{ EE})$; 79 por ciento ($\pm 0.02 \text{ EE}$) y $0,38 (\pm 5.0E^{-3})$ respectivamente. Hubo una gama de diversidad genética bastante interesante con un rango de H_e entre 0.64 a 0.94 para todos los *loci* y todas las accesiones fueron polimórficas siendo la accesión 35 la que presentó porcentaje de polimorfismo (20 por ciento). La riqueza alélica presentó un valor promedio de $5.6 (\pm 0.08 \text{ EE})$ alelos para todos los *loci* en toda la población analizada. Las accesiones 107, 135 y 160 mostraron la mayor riqueza alélica, el mayor índice de información con valores altos de H_e (Tabla 9).

Sesenta y cinco por ciento de los alelos son compartidos entre ambas poblaciones, el 20 por ciento son alelos exclusivos del Altiplano y el 15 por ciento restante alelos exclusivos de Valles Interandinos. Ochenta por ciento de las frecuencias de los alelos en el grupo de Valle Interandino fueron mayor a 0.1; el 10 por ciento mostraban frecuencias entre 0.1 y 0.05 y el 10 por ciento menores a 0.05. En cambio en el grupo del Altiplano el 75 por ciento correspondían a valores de frecuencia mayor a 0.1; el 20 por ciento entre 0.1 y 0.05 y el 5 por ciento menor a 0.05. Esos porcentajes elevados para los alelos con frecuencias mayores a 0.1 son debido a una alta fijación de ellos en la población lo cual podría generar una cierta divergencia entre las poblaciones (Slatkin y Barton, 1989 citado por Costa, 2014).

Las accesiones evaluadas procedentes de Altiplano presentaron mayor porcentaje de alelos exclusivos y mayor porcentaje de heterocigosis lo que sugiere que dicha región presenta mayor diversidad alélica. Via (2015) en su trabajo para accesiones de Valle Interandino y Altiplano procedentes de Perú encontró mayor riqueza alélica en las accesiones de Valle interandino en comparación a las accesiones de Altiplano. Fuentes *et al.* (2009a) también reportaron menor riqueza alélica en accesiones del Altiplano chileno comparando accesiones de costa.

Tabla 9. Patrones de diversidad genética para cada accesión

| Accesión | Na | He | It | P | Accesión | Na | He | It | P | Accesión | Na | He | It | P |
|----------|----|------|------|-----|----------|----|------|------|-----|----------|----|------|------|-----|
| 1 | 5 | 0,86 | 0,36 | 1 | 50 | 6 | 0,86 | 0,38 | 0,8 | 103 | 6 | 0,87 | 0,35 | 1 |
| 2 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 51 | 7 | 0,83 | 0,48 | 1 | 104 | 7 | 0,87 | 0,40 | 1 |
| 3 | 6 | 0,83 | 0,40 | 1 | 52 | 5 | 0,84 | 0,36 | 1 | 105 | 7 | 0,87 | 0,42 | 1 |
| 4 | 5 | 0,91 | 0,33 | 0,8 | 53 | 5 | 0,90 | 0,41 | 0,8 | 107 | 7 | 0,79 | 0,57 | 1 |
| 5 | 6 | 0,88 | 0,40 | 0,8 | 54 | 6 | 0,86 | 0,41 | 1 | 109 | 6 | 0,84 | 0,43 | 1 |
| 6 | 5 | 0,90 | 0,31 | 0,6 | 55 | 6 | 0,84 | 0,43 | 1 | 113 | 6 | 0,81 | 0,51 | 1 |
| 7 | 5 | 0,84 | 0,36 | 1 | 56 | 6 | 0,87 | 0,41 | 0,8 | 114 | 6 | 0,86 | 0,47 | 1 |
| 8 | 5 | 0,87 | 0,34 | 0,8 | 58 | 5 | 0,93 | 0,32 | 0,6 | 116 | 7 | 0,83 | 0,47 | 0,6 |
| 9 | 5 | 0,88 | 0,33 | 0,8 | 59 | 5 | 0,87 | 0,36 | 1 | 118 | 5 | 0,86 | 0,43 | 1 |
| 10 | 5 | 0,87 | 0,34 | 0,8 | 61 | 6 | 0,85 | 0,43 | 1 | 119 | 7 | 0,85 | 0,43 | 0,8 |
| 11 | 5 | 0,86 | 0,36 | 1 | 62 | 6 | 0,89 | 0,41 | 0,6 | 121 | 5 | 0,84 | 0,43 | 0,6 |
| 13 | 5 | 0,88 | 0,33 | 0,8 | 63 | 6 | 0,86 | 0,42 | 0,8 | 122 | 5 | 0,84 | 0,43 | 0,6 |
| 14 | 5 | 0,84 | 0,37 | 1 | 64 | 6 | 0,87 | 0,39 | 0,8 | 123 | 7 | 0,86 | 0,39 | 0,6 |
| 15 | 5 | 0,86 | 0,36 | 1 | 65 | 6 | 0,84 | 0,43 | 1 | 125 | 7 | 0,89 | 0,40 | 0,6 |
| 16 | 5 | 0,86 | 0,36 | 1 | 66 | 6 | 0,83 | 0,43 | 1 | 127 | 8 | 0,84 | 0,36 | 0,6 |
| 17 | 5 | 0,89 | 0,35 | 0,6 | 68 | 6 | 0,87 | 0,43 | 0,8 | 129 | 6 | 0,85 | 0,46 | 0,6 |
| 19 | 5 | 0,90 | 0,34 | 0,6 | 69 | 6 | 0,85 | 0,43 | 0,8 | 130 | 7 | 0,89 | 0,32 | 1 |
| 20 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 71 | 6 | 0,89 | 0,38 | 0,8 | 131 | 5 | 0,92 | 0,33 | 0,4 |
| 22 | 6 | 0,85 | 0,42 | 1 | 73 | 6 | 0,83 | 0,44 | 1 | 132 | 7 | 0,90 | 0,43 | 0,6 |
| 23 | 5 | 0,87 | 0,35 | 0,8 | 76 | 5 | 0,92 | 0,30 | 0,4 | 133 | 6 | 0,88 | 0,41 | 0,8 |
| 24 | 6 | 0,88 | 0,39 | 0,8 | 77 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 134 | 6 | 0,90 | 0,44 | 0,6 |
| 25 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 78 | 5 | 0,87 | 0,35 | 0,8 | 135 | 7 | 0,89 | 0,51 | 0,6 |
| 26 | 5 | 0,89 | 0,34 | 0,8 | 82 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 136 | 6 | 0,91 | 0,40 | 0,6 |
| 28 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 83 | 5 | 0,86 | 0,35 | 0,8 | 137 | 5 | 0,89 | 0,45 | 0,6 |
| 31 | 6 | 0,89 | 0,38 | 0,6 | 84 | 6 | 0,83 | 0,43 | 1 | 138 | 6 | 0,93 | 0,30 | 0,6 |
| 32 | 5 | 0,90 | 0,33 | 0,6 | 85 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,6 | 139 | 5 | 0,91 | 0,42 | 0,6 |
| 33 | 5 | 0,90 | 0,35 | 0,8 | 86 | 6 | 0,88 | 0,41 | 0,6 | 140 | 5 | 0,89 | 0,41 | 0,6 |
| 35 | 5 | 0,94 | 0,32 | 0,2 | 87 | 6 | 0,87 | 0,41 | 0,8 | 142 | 6 | 0,93 | 0,36 | 0,8 |
| 36 | 5 | 0,91 | 0,33 | 0,4 | 88 | 6 | 0,86 | 0,41 | 0,8 | 143 | 5 | 0,87 | 0,45 | 0,4 |
| 41 | 6 | 0,90 | 0,41 | 0,8 | 89 | 7 | 0,90 | 0,32 | 1 | 144 | 6 | 0,93 | 0,38 | 1 |
| 42 | 5 | 0,88 | 0,35 | 0,8 | 90 | 5 | 0,88 | 0,41 | 0,4 | 145 | 6 | 0,92 | 0,33 | 1 |
| 43 | 6 | 0,85 | 0,41 | 1 | 91 | 5 | 0,84 | 0,49 | 0,6 | 146 | 7 | 0,93 | 0,37 | 0,6 |
| 44 | 5 | 0,89 | 0,33 | 0,8 | 93 | 6 | 0,94 | 0,31 | 0,8 | 147 | 5 | 0,91 | 0,33 | 0,6 |
| 46 | 5 | 0,89 | 0,34 | 0,6 | 95 | 6 | 0,89 | 0,35 | 0,8 | 148 | 6 | 0,91 | 0,34 | 0,6 |
| 47 | 6 | 0,86 | 0,42 | 0,6 | 96 | 5 | 0,87 | 0,42 | 0,8 | 149 | 7 | 0,87 | 0,41 | 1 |
| 48 | 5 | 0,91 | 0,32 | 0,6 | 98 | 5 | 0,88 | 0,38 | 0,8 | 151 | 7 | 0,92 | 0,32 | 1 |
| 49 | 5 | 0,86 | 0,36 | 0,8 | 100 | 8 | 0,89 | 0,35 | 1 | 152 | 7 | 0,84 | 0,43 | 0,6 |

Tabla 9. Patrones de diversidad genética para cada accesión.

Continuación

| Accesión | Na | He | It | P | Accesión | Na | He | It | P | Accesión | Na | He | It | P |
|------------|----|------|------|-----|------------|----|------|------|-----|------------|----|------|------|-----|
| 153 | 8 | 0,84 | 0,43 | 0,8 | 161 | 5 | 0,89 | 0,42 | 1 | 172 | 5 | 0,67 | 0,35 | 0,8 |
| 154 | 6 | 0,89 | 0,45 | 0,6 | 162 | 5 | 0,89 | 0,33 | 1 | 175 | 6 | 0,66 | 0,29 | 1 |
| 155 | 5 | 0,89 | 0,33 | 0,8 | 163 | 4 | 0,86 | 0,36 | 1 | 176 | 5 | 0,74 | 0,24 | 0,8 |
| 156 | 5 | 0,91 | 0,39 | 1 | 166 | 4 | 0,89 | 0,33 | 0,5 | 177 | 6 | 0,70 | 0,32 | 0,8 |
| 157 | 5 | 0,87 | 0,48 | 1 | 167 | 5 | 0,86 | 0,38 | 0,8 | 179 | 5 | 0,69 | 0,29 | 0,6 |
| 158 | 6 | 0,87 | 0,46 | 0,8 | 168 | 4 | 0,71 | 0,28 | 1 | 180 | 5 | 0,69 | 0,29 | 1 |
| 159 | 4 | 0,91 | 0,44 | 0,8 | 170 | 4 | 0,64 | 0,43 | 1 | | | | | |
| 160 | 6 | 0,88 | 0,50 | 1 | 171 | 5 | 0,67 | 0,35 | 1 | | | | | |

Para comparar los valores de medias entre grupos de los estimadores de variabilidad seleccionados se optó por las pruebas no paramétricas de Wilcoxon dado que esta es apropiada en el caso de poseer solo dos grupos de poblaciones. Permite contrastar la hipótesis nula de ‘no efecto de grupo’ *versus* la hipótesis alternativa de diferencias entre grupos. Si el valor p de la prueba es menor al nivel de significación (α) seleccionado, los datos sugieren el rechazo de la hipótesis nula indicando diferencias entre los grupos para la medida de variabilidad analizada (Balzarini *et al.*, 2010).

La Figura 13 muestra los perfiles promedios (con sus errores estándar) para cada una de las medidas de variabilidad analizadas (diversidad genética, heterocigosis por conteo directo, heterocigosis insesgada de Nei (He) y contenido de información polimórfica (PIC)). La prueba de Wilcoxon sugiere que se acepte la hipótesis de igualdad entre grupos para todas las medidas de variabilidad evaluadas ($p > 0.05$) (Anexo 6). No obstante, se observa una diversidad genética promedio (0.655), He (0.658) y contenido de información polimórfica (0.593) a favor de las accesiones provenientes de la región del Altiplano en comparación a las de Valles Interandinos. Pero la tendencia se invierte para heterocigosis por conteo directo a favor de las accesiones de Valle Interandino (0.232). Esto indicaría que entre las accesiones de este grupo se encuentra mayor número de heterocigotas.

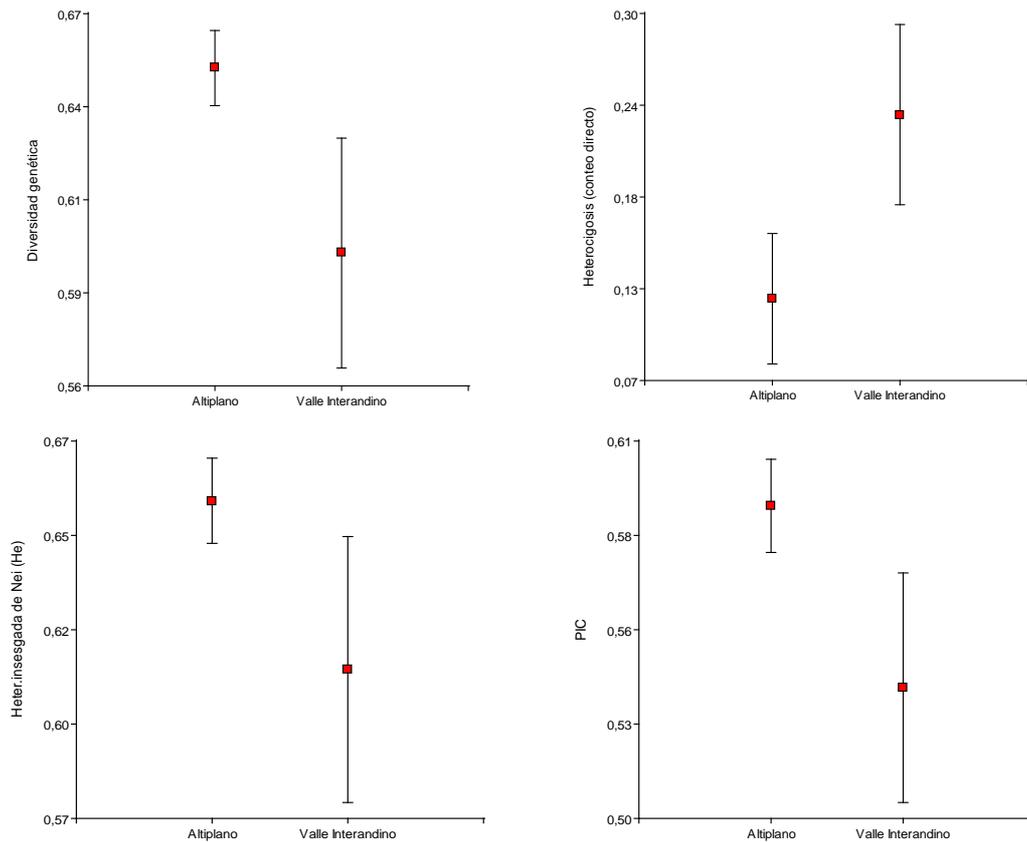


Figura 13. Perfiles promedios (con sus errores estándar) para cada una de las medidas de variabilidad analizadas. Arriba: izquierda Diversidad genética y derecha heterocigosis (conteo directo). Abajo: izquierda heterocigosis insesgada de Nei (He) y derecha Contenido de información polimórfica (PIC). El promedio está representado para cada origen.

4.2.3. Análisis de conglomerados

Los datos de marcadores genéticos no solo se usan para obtener distancias entre individuos y/o estudios de variabilidad genética sino también para clasificarlos. El objetivo del análisis de conglomerados es formar grupos en donde los individuos en cada grupo sean lo más parecido entre sí que con los individuos de otro grupo (Balzarini *et al.*, 2010).

Para visualizar las relaciones entre poblaciones según su distancia se construyó un dendrograma obtenido por el método de conglomerados UPGMA o encadenamiento promedio (jerárquico). La Figura 14 muestra el agrupamiento de las accesiones en función de la frecuencia genotípica y el distrito al cual pertenecen. La distancia media entre las accesiones fue de 0.878 la que permitió diferenciar seis grupos, los cuales no siempre guardaron relación con la procedencia de las accesiones. Se puede apreciar a simple vista tres bloques integrados por diferentes grupos y en algunos se puede apreciar sub grupos.

El primer bloque estaría integrado por el grupo 1 (G1) formado por las accesiones 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 17, 22, 23, 24, 26, 28, 32, 48, 49, 50, 51, 52, 55, 56, 61, 63, 65, 73, 76, 77, 82, 83, 84, 85, 90, 91, 98, 103, 104, 105, 107, 109, 113, 118, 119, **131, 134, 135, 136, 140**, 149, 152, 153, 167, 170, 171 y 175 que se une a una distancia de 0.905, aproximadamente, con el otro bloque. Por otro lado, el grupo 4 (G4), formado por las accesiones 1, 11, 25, 33, 35, 42, 44, 66, 68, 69, 87, **142, 143, 144, 145, 161** y el grupo 3 (G3) formado por las accesiones 2, 31, 36, 46, 47, 78, 138, 177, 176 se unen a una distancia de 0.878. Ambos grupos se unen a la misma distancia (0.897) con el grupo 2 (G2), formado por las accesiones 10, 14, 15, 16, 19, 20, 41, 43, 53, 54, 59, 62, 88, 100, 114, **146, 147, 151, 155, 157, 159**, 162, 168, 172, 179 y 180 y el grupo 5 (G5), integrado por 64, 71, 93, **132, 154, 156 y 158**. Por último, el grupo 6 (G6) constituido por las accesiones 58, **139, 148** se une, para finalmente agruparse con los otros bloques a una distancia de 0.91 (accesiones en negrita corresponden a Valles Interandinos).

Se observó en todos los grupos al menos una accesión que pertenecía al grupo de Valle Interandino (número en negrita). Debido a eso no hay una clara diferenciación de las accesiones en grupos definidos por origen como se podía observar en el agrupamiento por caracteres morfológicos (Figura 10 y 11). Esto quizás esté definido por la deriva génica, la baja diversidad alélica entre las accesiones evaluadas, el alto porcentaje de alelos compartidos entre ambas poblaciones y/o la proximidad geográfica que permiten el traslado de semillas de un lugar a otro con relativa facilidad. También se puede observar que tanto en el G1 como en el G2 hay accesiones que no muestran distancia genética (igual a cero), es decir que probablemente sean la misma accesión. Esto podría confirmar la deriva génica y/o intercambio de semilla entre localidades ya que como se observa pertenecen a diferentes distritos y provincias pero dentro del mismo departamento de Puno (ej. accesiones 152-153 y 9-13).

Ch. quinoa está clasificada según las zonas agroecológicas donde se cultiva por lo que se podrían catalogar en grupos genéticos o ecotipos (Tapia, 1996; Fuentes *et al.*, 2009a; Curti *et al.*, 2012; Costa, 2014). En este trabajo los grupos formados a nivel de la distancia genética media no representan cada uno a un ambiente diferentes de la región aunque si lo representaron en función de la distancia media de caracteres morfológicos.

Vía (2015) tampoco pudo encontrar relación entre los grupos y la procedencia, indicando que los grupos no estaban bien definidos y que probablemente esté relacionado con la no existencia de estructura genética en su población estudiada. Por el contrario, Costa *et al.* (2012) encontraron agrupamiento de las poblaciones del Noroeste Argentino congruentes con los diferentes entornos de origen: Valles Interandinos (húmedos y secos), Altiplano (Puna) y accesiones de transición entre ambos ambientes. Por su parte, Fuentes *et al.* (2009a) trabajaron con SSR para estudiar patrones de diversidad de accesiones de Chile (procedentes del norte y del sur) obteniendo un agrupamiento de las accesiones en dos grupos o ecotipos: Costero y Atiplano.

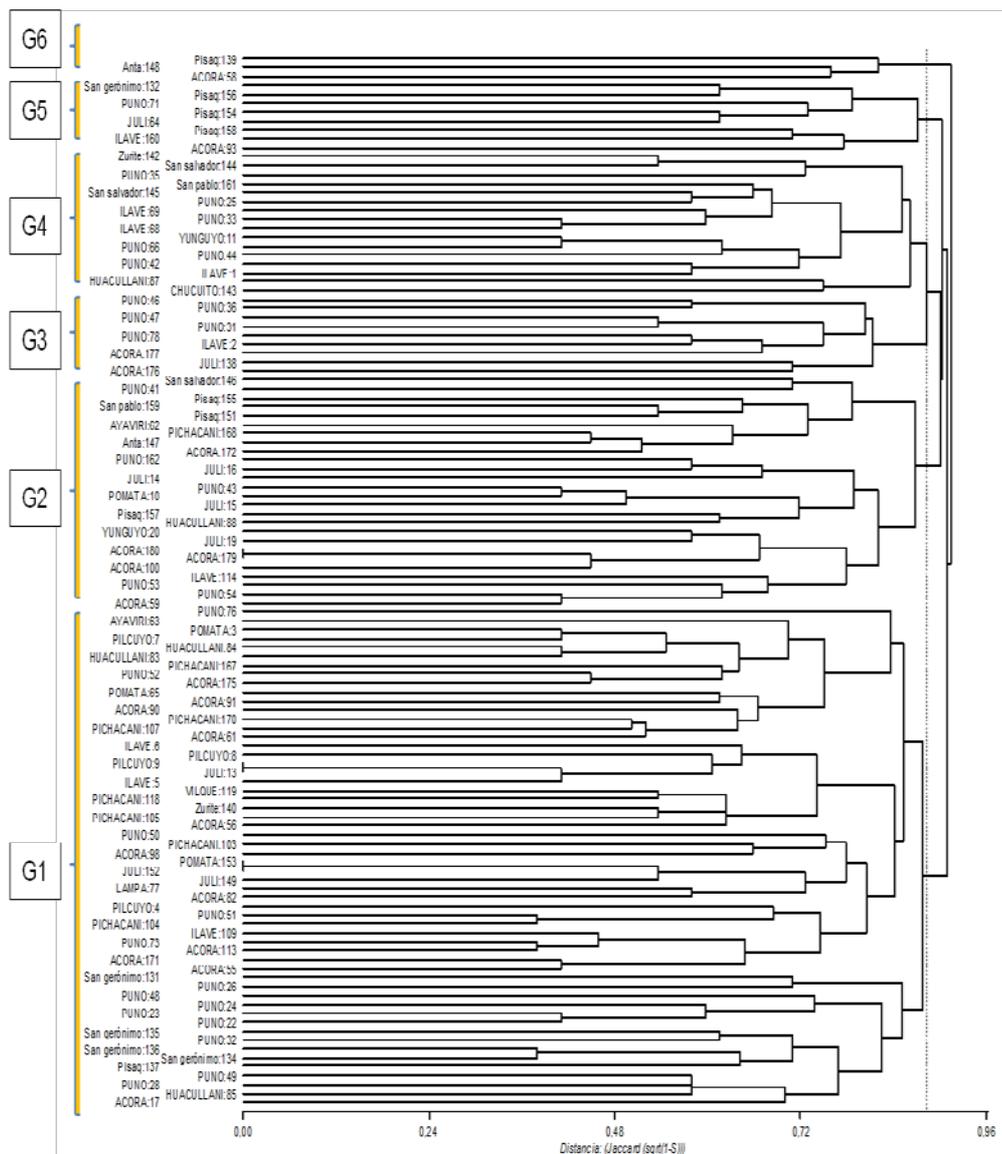


Figura 14. Dendrograma generado a partir de la matriz de distancia basada en el índice de similitud de Jaccard. Se indica la distancia promedio = 0.878 (línea punteada), nivel al que se forman seis grandes grupos: G1, G2, G3, G4, G5 y G6. *Correlación cofenética* = 0,808

4.2.4. Análisis de coordenadas principales

Los dos primeros coordenadas del análisis de Coordenadas Principales (ACoP) de la matriz de similitud explicaron el 14.8 por ciento y el 13.7 por ciento respectivamente. La Figura 15 muestra la configuración de las accesiones en el plano definido por las dos primeras coordenadas (CoP1 y CoP2). Las accesiones se ordenaron con un patrón semejante al observado en el ACP (Figura 10) donde se ve que la CoP2 agrupa en la parte superior las accesiones de Valle Interandino y a su vez la CoP1 subdivide las accesiones de Valle Interandino en dos subgrupos como lo observado en el dendrograma (Figura 11).

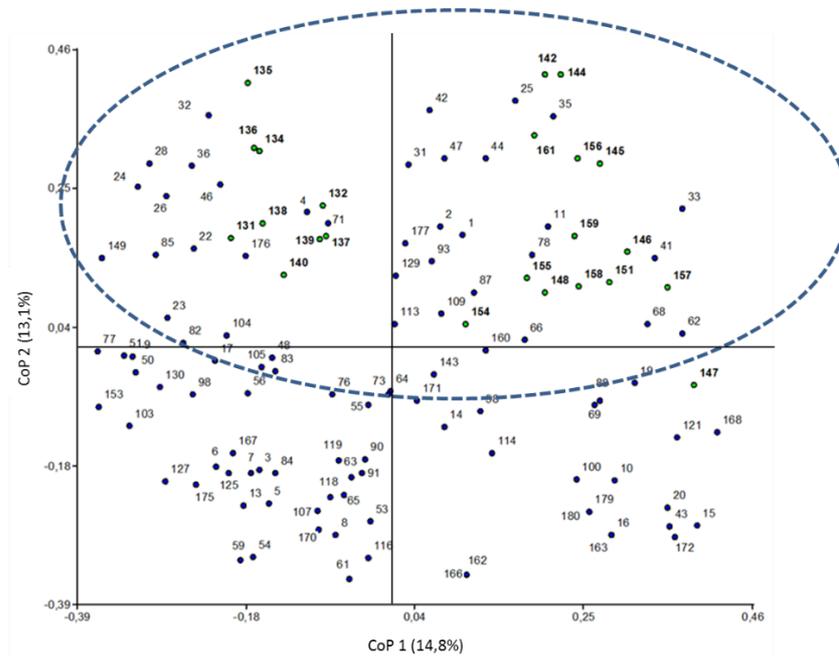


Figura 15. Ordenación de las accesiones sobre las dos primeras coordenadas principales. Se indican con círculos verdes (números en negrita) accesiones de Valle Interandino y con círculos azules (números sin negrita) las accesiones del Altiplano. Ovalo punteado indica agrupamiento de accesiones de Valle Interandino.

Las representaciones en planos conformados por componentes o coordenadas principales no siempre representan exactamente las relaciones que realmente existen entre los elementos en el espacio multidimensional ya que solo son proyecciones planares de estas. Las distancias en el plano pueden ser menor debido a deformaciones ocurridas en las proyecciones. La técnica conocida como árbol de recorrido mínimo (ARM) puede mejorar las interpretaciones ya que permite identificar estas deformaciones (Arroyo *et al.*, 2005 citado por Balzarini *et al.*, 2010). Un ARM se construye como la colección de segmentos de

líneas rectas que conectan puntos de una ordenación grafica sin formar circuitos cerrados. Cada punto está conectado con el resto de manera directa o indirecta a través del conjunto de segmentos.

El árbol de recorrido mínimo (ARM) superpuesto en el ACoP (Figura 16) muestra las relaciones entre las accesiones y el orden de unión entre los grupos según la semejanza entre ellos lo que permite identificar cuáles son las accesiones más cercanas. El ARM muestra que muchas de las accesiones de Valles Interandinos (círculos verdes) tienen más semejanza con accesiones de Altiplano (círculos azules) como lo indicó el dendrograma. Dichas semejanzas están representadas por la menor longitud de los segmentos que las unen.

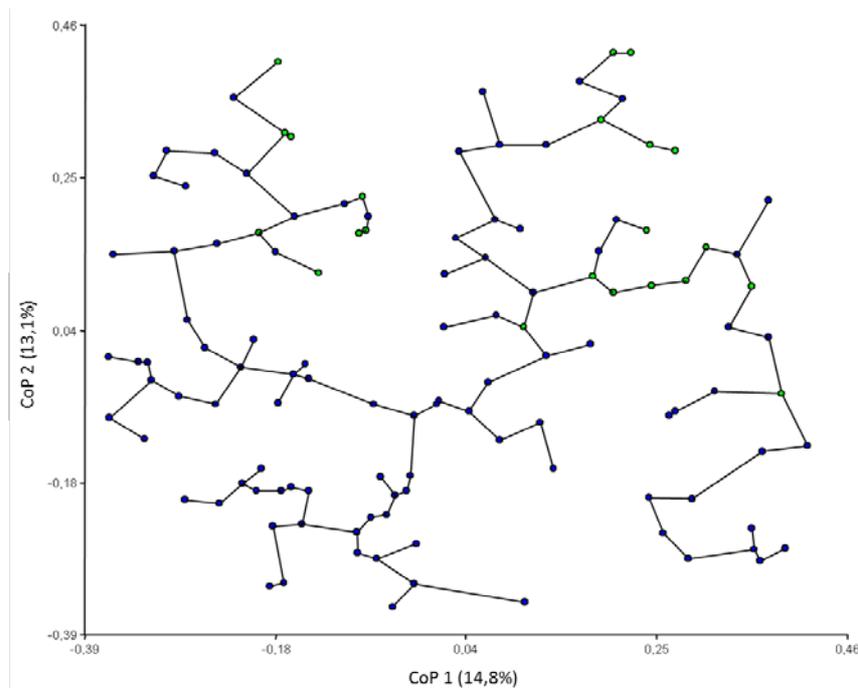


Figura 16. Ordenación de las accesiones sobre las dos primeras coordenadas principales y superposición de árbol de recorrido mínimo: segmentos de mayor longitud indican menor similitud entre las accesiones. Se indican con círculos verdes las accesiones de Valle Interandino y con círculos azules las accesiones del Altiplano.

Costa (2014), utilizando la técnica de ARM, le permitió identificar a qué grupo de los identificados en el ACoP pertenecía una de las poblaciones por la menor longitud del segmento.

4.2.5. Estructura genética de la población

En base al origen (poblaciones) se realizó un análisis de la varianza molecular (AMOVA). Este sugiere que existe variabilidad genética o que al menos una de las poblaciones se diferencia de la otra respecto al perfil molecular promedio ($p < 0.0001$) y dentro de cada una de las poblaciones también existe variabilidad genética ($p < 0.0001$) (Anexo 7). El 92.38 por ciento de la varianza se debió a la diferenciación dentro de las poblaciones y el 7.62 por ciento entre las poblaciones ($p < 0.0001$). El coeficiente F_{st} se interpreta como la correlación de los individuos dentro de una misma población relativa a la correlación entre cualquier par de muestras seleccionadas al azar del conjunto total (Balzarini *et al.*, 2010). El valor bajo del coeficiente F_{st} (0.08) indica que la diversidad genética dentro de las poblaciones es baja, pero como es estadísticamente significativo sugiere que el factor origen produce una estructuración genética muy leve. La diferenciación entre poblaciones de Valle Interandino y Altiplano es moderada. Esto podría estar indicando presencia de deriva génica que puede ser observada en el ACoP (Figura 15 y 16).

El análisis de la estructura genética mostró una débil diferenciación entre las subpoblaciones. Un valor F_{st} superior a 0.15 es considerado un indicador significativo de diferenciación genética entre sub-poblaciones (Frankham *et al.*, 2002). Via (2015) en su trabajo obtuvo un F_{st} con un valor de 0.06 mostrando un valor de diferenciación bajo igual que el obtenido en este trabajo ($F_{st}=0.08$). Costa *et al.* (2012) encontraron una estructura de agrupamiento por región ($F_{rt}=0.183$) y el índice de fijación F_{st} (0.58) lo que muestra una gran diferenciación entre las poblaciones debido no solo a la deficiencia heterocigótica como resultado de su sistema de reproducción, si no también refleja la influencia de las prácticas culturales, ya que parte de las accesiones seleccionadas para este estudio consistieron en variedades locales donadas por agricultores que informaron de su uso repetido durante largos períodos. Ambientes contrastantes pueden haber contribuido durante un largo período al desarrollo de una amplia diversidad genética de germoplasma de quinua adaptada a condiciones climáticas muy diferentes. El efecto de los factores mediados por humanos, como las distintas culturas que habitan los diferentes ambientes, o la influencia de las antiguas rutas de intercambio que afectan a la distribución del germoplasma, no pueden descartarse como factores que contribuyen a esta estructura genética (Costa *et al.*, 2012).

4.3. Caracterización conjunta

Ciento treinta y tres de las 180 accesiones sembradas fueron caracterizadas previamente con nueve variables morfo-fenológicas (Tabla 2) según lista de descriptores para quinua definidos por Bioversity Internacional *et al.* (2013). La disponibilidad de estos datos permitió realizar un análisis de caracterización conjunta y describir el patrón de variación genotípica de las poblaciones a partir de una configuración consenso. A partir de las configuraciones obtenidas del ACP y del ACoP se realizó el análisis de Procrustes Generalizado (APG). En paso previo se calculó la correlación entre ambas matrices de distancia derivadas de cada caracterización (Euclídea estandarizada para caracteres morfo-fenológicos y Jaccard para caracteres molecular) a través del test de Mantel (Anexo 8).

El test de Mantel mostró que la correlación fue baja ($r=0.18$) pero estadísticamente significativa ($p<0.0001$) indicando complementariedad en la información de los dos tipos de caracterización.

La aplicación del APG en la caracterización de recursos genéticos permitió obtener un análisis con mejor grado de agrupamiento de las accesiones en función de diferentes datos pudiendo llegar a un consenso con variables que son muy diferentes entre sí y que sin duda aportan información complementaria. La Figura 17 muestra el ordenamiento consenso obtenido para el conjunto de accesiones evaluadas. El primer eje explica el 59.4 por ciento del consenso entre las variables morfo-fenológicas y las variables moleculares. El ordenamiento consenso agrupó las accesiones según los ambientes de origen siendo consistente con los ordenamientos observados en el ACoP (Figura 15) y ACP (Figura 10). También este ordenamiento consenso ratifica la estructura que presentan las accesiones evaluadas respecto a las características del ambiente.

El uso de variables mixtas para caracterizar germoplasma genera resultados distintos pero igualmente importantes y el uso de uno u otro dependerá de los objetivos planteados. El conocimiento de características cualitativas en conjunto con variables moleculares hace posible análisis de asociación y optimiza el trabajo de los fitomejoradores (Costa *et al.*, 2011).

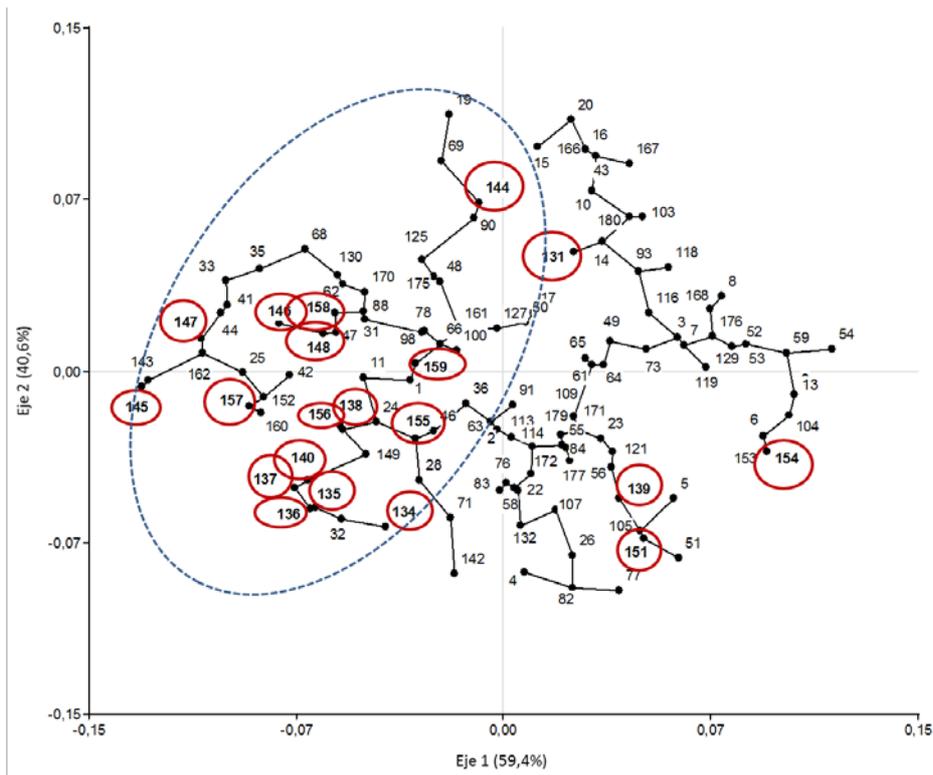


Figura 17. Ordenación consenso resultante del APG con variables morfológicas y moleculares. Los puntos negros indican el consenso y círculos rojos indican accesiones de Valle Interandino. El ovalo punteado indica agrupamiento de las accesiones de Valle Interandino.

Costa (2014) también encuentra complementariedad entre la información que brindaron ambas caracterizaciones. La correlación que obtuvo en su investigación del test de Mantel ($r=0.43$) fue estadísticamente significativa y mucho mayor que la correlación obtenida en este trabajo ($r=0.18$). El agrupamiento de sus accesiones se correspondió con los ambientes contrastantes presentes en el NOA ratificando también la estructura que presentan las accesiones respecto a las características del ambiente, resultando en diferentes ecotipos.

A mayor distancia entre los puntos y el consenso, mayor es la discrepancia de las caracterizaciones (Figura 18 y 19). Las accesiones 159, 158, 180, 20, 175 fueron las que presentaron mayor discrepancia entre ambas caracterizaciones.

V. CONCLUSIONES

- El germoplasma de quinua mostró amplio rango de variabilidad en las accesiones para atributos morfo-fenológicos reflejando dicha variación en torno al origen. La variabilidad observada es prometedora desde el punto de vista de la mejora genética.
- La variación encontrada en los rasgos morfológicos es relevante para estudios comparativos de accesiones de quinua de diferentes países ya que se asocian con el lugar de origen o su elevación.
- Combinaciones de rasgos observados en las accesiones de Valle Interandino y Altiplano fueron congruentes con las accesiones de origen similar en colecciones de Perú y Bolivia.
- El germoplasma caracterizado presentó baja estructura genética en los diferentes niveles estudiados. Aun así las accesiones se agruparon en dos grupos agroecológicamente diferentes: Altiplano y Valle Interandino.
- Las accesiones evaluadas procedentes de Altiplano presentaron mayor diversidad genética debido a la presencia de mayor porcentaje de heterocigosis.
- La escasa diferenciación genética entre las dos sub poblaciones estaría indicando la presencia de deriva génica y el transporte de semillas de un lugar a otro, lo cual se vio reflejado en los análisis genéticos que no mostraron un agrupamiento definido.
- Del total de marcadores moleculares microsatélites utilizados para la evaluación de las accesiones todos resultaron altamente polimórficos permitiendo distinguir accesiones emparentadas y la evaluación de la diversidad genética.
- Factores humanos como las distintas culturas que habitan los diferentes ambientes o la influencia de las diferentes rutas de intercambio que afectan a la distribución del germoplasma, no pueden descartarse como factores que contribuyen a esta estructura genética.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la caracterización de las accesiones con una estrategia de muestreo que abarquen diferentes provincias a fin de poder cubrir la principal región de cultivo y utilizar un número de individuos que permitan detectar la variabilidad genética inter e intra-poblacional y factible de caracterizar.
- Realizar la caracterización molecular en plantas individuales de cada población o accesión para estimar la variabilidad intra-poblacional para luego poder determinar el grado de diferenciación entre las poblaciones.
- Repetir el muestreo y genotipificación con SSR en las muestras evaluadas utilizando mayor número de marcadores y visualizar los productos de PCR en geles de poliacrilamida.
- Realizar la caracterización fenotípica por lo menos dos años consecutivos para disminuir el efecto del ambiente sobre ellos y asegurar una mayor certeza en la correspondencia entre los marcadores moleculares y morfológicos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aranguren J.; Roman, R.; Isea W.; Villasmil, Y., y Jordana, J. 2005. Microsatellites (STR's), ADN molecular markers for excellency for conservation programs: A review. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 13: 30-42.
- Balzarini M.; Gonzalez L., Tablada M., Casanoves F., Di Rienzo J.; Robledo W. 2008. Infostat. Manual del Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina. Pp: 336.
- Balzarini M., Di Rienzo J. InfoGen versión 2016. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.info-gen.com.ar>.
- Becerra V. y Paredes C. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. Agricultura Técnica, 60(3), 270-281. [Consulta el 20-09-2014]. http://www.scielo.cl/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0365-28072000000300007&lng=es&tlng=pt.10.4067/S0365-28072000000300007.
- Bertero, D., A. de la Vega, G. Correa, E. Jacobsen, A. Mujica. 2004. Genotype and genotype-by-environment interaction effects for grain yield and grain size in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as revealed by pattern analysis of international multi-environment trials. Field Crops Res. 89: 299-318.
- Biondi S., Ruiz k., Martínez E., Zurita-Silva A., Orsini F., Antognoni F., Dinelli G., Marotti I., Gianquinto G., Maldonado S., Burrieza H., Bazile D., Adolf V. y Jacobsen S. 2014. Tolerancia a condiciones salinas. Capitulo Numero 2.3. IN: BAZILE D. et al. (Editores), "Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013": FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): pp: 167-184.
- Bioversity International, FAO, PROINPA, INIAF y FIDA. 2013. Descriptores para quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. Bioversity International, Roma, Italia; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia; Fundación PROINPA, La Paz, Bolivia; Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal, La Paz, Bolivia; Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola, Roma, Italia. ISBN: 978-92-9043-927-1.
- Blas, R. 2010. Biotecnología Vegetal. Dpto Fitotecnia, Fac. Agronomía. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. Instituto de Biotecnología (IBT).

- Bonifacio, A. 1990. Caracteres hereditarios y ligamiento factorial en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Doctoral dissertation, Tesis Ing. Agr. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia).
- Bruno C. y Balzarini M. 2010. Ordenaciones de material genético a partir de información multidimensional. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 42(2), 183-200.
- Calabrese, P., Durrett R. y Aquadro C. 2001. Dynamics of microsatellite divergence under stepwise mutation and proportional slippage/point mutation models. *Genetics* 159: 839-852
- Canahua, A., Mujica, A., Saravia, R. 2010. Agronomía del cultivo de la quinua. EN: *Quinoa ancestral cultivo de los Andes*. Rubén Miranda Ed.
- Chen, X., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y. y McCouch, S. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.) *Theoretical and Applied Genetics*. 95: 553–567
- Christensen S., Pratt D., Pratt C., Nelson P., Stevens M., Jellen E., Coleman C., Fairbanks D., Bonifacio A. y Maughan P. 2007. Assessment of genetic diversity in the USDA and CIP-FAO international nursery collections of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) using microsatellite markers. *Plant Genetic Resources* 5:82-95.
- Costa S.; Curti, R; Bramardi, S; Manifiesto, M y Bertero D. 2011. Análisis simultáneo de variables morfológicas y cuantitativas y marcadores moleculares para la caracterización de accesiones nativas de quinua del noroeste Argentino. XVI Reunión Científica del GAB. Salta Argentina.
- Costa S, Manifiesto M, Bramardi S y Bertero D. 2012. Genetic structure in cultivated quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), a reflection of landscape structure in northwest Argentina. *Cons. Genet.* 13:1027-1038.
- Costa S. 2014. Variabilidad genética de *Chenopodium quinoa* Willd. en el Noroeste Argentino y su relación con la dispersión de la especie. 2014. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Argentina.
- Cuadras C. 2010 *Nuevos Métodos de Análisis Multivariantes*. Barcelona: CMC Editions. 285 pp.
- Cubero, J. 2003. *Introducción a la mejora genética vegetal*. 2 ed. Mundi Prensa, Madrid, España. 567pp.
- Curti, R.; Bertero, D.; Andrade, A.; Velázquez, B. y Bramardi, S. 2010. Caracterización morfo-fenológica preliminar del germoplasma nativo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) del Noroeste Argentino (NOA). In *Proceedings of the III Congreso Internacional de la Quinoa*, Bolivia.

- Curti R.; A. Andrade; S. Bramardi; B. Velásquez; D. Bertero. 2012. Ecogeographic structure of phenotypic diversity in cultivated populations of quinoa from Northwest Argentina. *Annals of Applied Biology*, 160 (2), 114-125.
- Di Rienzo J, Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M., Robledo W. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Doyle J., Doyle J. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Excoffier, L., Smouse, P. y Quattro, J. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics* 131: 479-491
- Franco T. e Hidalgo, R. (eds.). 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p. ISBN 92-9043-543-7.
- Frankham, R., Briscoe, D. y Ballou, J. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press. Pp: 607.
- Fuentes F., Maughan P. y Jellen E. 2009a. Diversidad genética y recursos genéticos para el mejoramiento de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Rev. geogr. Valpso.* (En línea) N° 42,20-33. ISSN 0718 - 9877
- Fuentes F., Martinez E., Hinrichsen P., Jellen E., Maughan P. 2009b. Assessment of genetic diversity patterns in Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm using multiplex fluorescent microsatellite markers. *Conservation Genetics*, Vol. 10, Issue 2, pp 369-377
- Gabriel J, Luna N, Vargas A, Magne J, Angulo A, La Torre J y Bonifacio A. 2013. Caracterización de 36 cultivares de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el valle bajo de Cochabamba-Bolivia. En: Vargas, M. (Ed). Congreso Científico de la Quinoa (Memorias). La Paz, Bolivia. 682 p.
- Gandarillas H. 1968. Razas de quinua. Boletín No. 34. del Instituto Boliviano de Cultivos Andinos, División de Investigaciones Agrícolas, La Paz, Bolivia.
- Gandarillas, H. 1979. Botánica; Genética y origen. En: La quinua y la kañiwa, cultivos andinos. IICA, Bogotá, 227 pp.
- Gómez, L. y Eguiluz A. 2012. Catálogo del Banco de Germoplasma de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), Universidad Nacional Agraria La Molina. p183. Segunda edición.
- Jacobsen, S. 2003. The worldwide potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Rev. Int.* 19:167-177.

- Jacobsen, S., Mujica, A., y Ortiz, R. 2003. La importancia de los cultivos andinos. *Fermentum*, 13(36), pp: 14-24.
- Jarvis D.; O. Kopp; E. Jellen; M. Mallory; J. Pattee; A. Bonifacio; C. Coleman; M. Stevens; D. Fairbanks; P. Maughan. 2008. Simple sequence repeats marker development and genetic mapping in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *J Genet* 87:39–51.
- Jellen E.; Maughan P.; Fuentes F.; Bozena A. 2014. Botánica, Filogenia y Evolución. Capítulo número 1.1. En: Bazile, D.; Bertero, D. y Nieto, C., “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): pp. 12-25.
- Jiménez, J. 2006. Biodiversity of traditional seed propagated crops cultivated in Peruvian Highland. Tesis doctoral departamento de genética de la University of Silensia, Katowice.
- Mason S, Stevens M, Jellen E, Bonifacio A., Fairbanks D, Coleman C, McCarty R, Rasmussen A and Maughan P. 2005. Development and use of microsatellite markers for germplasm characterization in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) *Crop Sci.* 45:1618-1630
- Maughan P., Bonifacio A., Jellen E., Stevens M., Coleman C., Ricks M., Mason S., Jarvis D., Gardunia B. and Fairbanks D. 2004. A genetic linkage map of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) based on AFLP, RAPD, and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* Vol. 109, Issue 6: 1188-1195.
- Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), 2017. Sistema Integrado de Estadística Agraria. Perú. [Consulta el 24-03-2017]. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/boletineselectronicos/estadisticaagrariamensual/.pdf>
- Mohammadi, S. y Prasanna, B. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43: 1235–1248
- Mujica A. y Canahua A. 1989. Fases fenológicas del cultivo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). INIAA, EEZA-ILLPA, PICA, PISA. Puno, Perú, pp23-27.
- Mujica A. y Jacobsen S. 2006. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, La Paz, Bolivia. pp: 449-457.
- Mujica, A., Izquierdo, J., Marathee, J. 2010. Origen y distribución de la quinua. EN: *Quinua ancestral cultivo de los Andes*. Rubén Miranda Ed.
- Muller, K. y Borsch, T. 2005. Phylogenetics of Amaranthaceae based on matK/trnK sequence data-evidence from parsimony, likelihood and bayesian analyses. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 92:66-102
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590

- Nei, M. y Kumar, S. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford university press. Pp: 329.
- Nolasco, O.; Cruz W.; Santa Cruz, C.; Gutiérrez, A. 2013. Evaluación del polimorfismo de ADN de seis variedades de *Chenopodium quinoa* willd, utilizando AFLP. *The Biologist* (Lima), 2013, 11(2), jul-dec: 277-286. ISSN Versión en línea 1994-9073.
- Ortiz R.; E. Tapia; A. Mujica. 1998. Sampling strategy for a core collection of Peruvian quinoa germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 475, 147–158, 483.
- Ott, J. 1992. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. *American Journal of Human Genetics* 51: 283–290.
- Planella M, López M, Bruno M. 2014. La domesticación y distribución prehistórica. Capítulo número 1.3. En: Bazile, D.; Bertero, D. y Nieto, C., “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): pp. 33-48.
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., y Jacobsen, S. 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food reviews international*, 19 (1-2): 179-189.
- Risi J. and N. Galwey. 1984. The *Chenopodium* grains of the Andes: inca crops for modern agriculture. *Adv Appl Biol* 10:145–216.
- Risi J, Galwey N. 1989a. The pattern of genetic diversity in the Andean grain crop quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), I. Associations between characteristics, *Euphytica*, 41:147-167.
- Risi J, Galwey N. 1989b. The pattern of genetic diversity in the Andean grain crop quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), II. Multivariate methods, *Euphytica*, 41:135-145.
- Rojas W. 2003. Multivariate analysis of genetic diversity of Bolivian quinoa germplasm. *Food Reviews International*. Vol. 19 (1-2): 9-23.
- Rojas, W. 2010. Granos Andinos: Avances, logros y experiencias desarrolladas en quinua, cañahua y amaranto en Bolivia, en el marco del proyecto IFAD-NUS I y II para Bolivia. 2001-2010, Fundación PROINPA. La Paz, Bolivia.
- Rojas, W. y Pinto, M. 2013. La diversidad genética de quinua de Bolivia. In Congreso Científico de la Quinua (No. CIDAB-SB191. Q2-C61). Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras (Bolivia) Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal.
- Rojas W., Pinto M., Alanoca C., Gómez L., León P., Alercia A., Diulgheroff S., Padulosi S. y Bazile D. 2014. Estado de la conservación ex situ de los recursos genéticos de quinua. Capítulo Numero 1.5. EN: BAZILE D. et al. (Editores), “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): pp. 65-94.

- Ruales, J. y Nair, M. 1992. Nutritional quality of the protein in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Plant Foods Human Nutr.* 42:1–11.
- Sevilla, R. y Holle M. 2004. Recursos Genéticos Vegetales. Lima, Perú. Pp: 113.
- Tapia, M., 1979. Historia y distribución geográfica. In: Tapia, M., Gandarillas, H., Alandía, S., Cardozo, A., Mujica, A., Ortiz, R., Otazu, V., Rea, J., Salas B., Zanabria, E. (Eds.), *Quinoa y Kañiwa*. CIID-IICA, Bogotá, Colombia, pp: 11-19.
- Tapia, M. 1996. Ecodesarrollo en los Andes altos. Fundación Friedrich Ebert, Lima Perú.
- Tapia, M. 2000. Cultivos andinos subexplotados y su contribución a la alimentación. 2^{da} edición. Santiago, Chile: FAO.
- Tapia, M. y Fries, A. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. Roma: FAO; Lima: ANPE. 220 p. ISBN 978-92-5-305682-8
- Tapia, M. 2012. La quinua: historia, distribución geográfica, actual producción y usos. *Ambienta: La revista del Ministerio de Medio Ambiente*, ISSN: 1577-9491, N°. 99. Pp: 104-119. [Consulta el 06-05-2016]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3952067>.
- Tapia, E. 2014. El largo camino de la quinua: ¿quiénes escribieron su historia? Introducción general. En: Bazile, D.; Bertero, D. y Nieto, C., “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): pp. 3-10.
- Valdivia, R., Paredes, S., Zegarra, A., Choquehuanca, V. y Reinoso, J. 1997. Manual del productor de quinua. CIRNMA. sl. 158 p.
- Veramendi S.; Bonifacio A.; Cadima X.; Rojas W. 2013. Caracterización de la diversidad genética de la colección boliviana de quinua, utilizando microsatélites. En: Vargas, M. (Ed). 2013. Congreso Científico de la Quinua (Memorias). La Paz, Bolivia. Pp: 43-53. Disponible en: http://www.iica.int/Esp/regiones/andina/bolivia/Documentos/Libro QUINUA_291113.
- Vía R. 2015. Determinación de la diversidad genética de 172 accesiones de la colección nacional de *Chenopodium quinoa* Willd. “Quinua” mediante marcadores microsatélites. Tesis para optar por el título profesional de: Licenciada en Biología. Universidad Ricardo Palma FCB, Lima. Perú.
- Von Humboldt A. 2017. Estación meteorológica Universidad Nacional Agraria La Molina. [Consulta el 07-04-2017]. <http://www.lamolina.edu.pe/FACULTAD/ciencias/CRFM/estacion/index.php/el-observatorio>.
- Vidal A., Cáceres G., Estrada R., Pinedo R. 2013. Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú. Primera edición, Lima, Perú. Pp: 82. [Consulta el 06-05-2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-as890s.pdf>.

- Ward J. 1963 Hierarchical grouping to optimise an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58, 236–244.
- Ward S. 2000. Allotetraploid segregation for single-gene morphological characters in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Euphytica* 116:11–16

VIII. ANEXO

Anexo 1. Datos de pasaporte de las accesiones evaluadas

| Código INIA | Ecotipos | Provincia | Distrito | Localidad | Altitud | Código costa 2015 |
|-------------|-----------|-----------|-----------|------------------------------|---------|-------------------|
| C-287 | Altiplano | Chucuito | Pomata | Pomata | 3915 | 65 |
| C-266 | Altiplano | Melgar | Ayaviri | Ayaviri | 3917 | 62 |
| C-293 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 66 |
| C-295 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 67 |
| C-312 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 70 |
| C-317 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 75 |
| C-333 | Altiplano | Lampa | Lampa | Huarta choque | 3964 | 80 |
| C-328 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 78 |
| C-331 | Altiplano | Melgar | Nuñoa | Nuñoa | 3750 | 79 |
| C-298 | Altiplano | El collao | Ilave | Ilave | 3847 | 69 |
| C-272 | Altiplano | Chucuito | Juli | Juli | 3869 | 64 |
| C-268 | Altiplano | Melgar | Ayaviri | Ayaviri | 3917 | 63 |
| C-315 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 73 |
| C-316 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 74 |
| C-318 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 76 |
| C-263 | Altiplano | Puno | Acora | Checcachata | 3850 | 61 |
| C-321 | Altiplano | Lampa | Lampa | Cerropata | 3964 | 77 |
| C-313 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 71 |
| C-314 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 72 |
| C-296 | Altiplano | El collao | Ilave | Ilave | 3847 | 68 |
| C-445 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 108 |
| C-457 | Altiplano | El collao | Ilave | Comunidad campesina jachiojo | 3878 | 111 |
| C-458 | Altiplano | El collao | Ilave | Antamarca | 3887 | 112 |
| C-426 | Altiplano | Puno | Acora | Tucantani | 3827 | 101 |
| C-474 | Altiplano | Puno | Acora | Canchon | 3827 | 117 |
| C-481 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 120 |
| C-477 | Altiplano | Puno | Pichacani | Oqe huichinca | 4028 | 118 |
| C-436 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 106 |
| C-461 | Altiplano | Puno | Acora | Cusini | 3902 | 113 |
| C-454 | Altiplano | El collao | Ilave | Carretera Ilave - tacna | 3907 | 110 |
| C-427 | Altiplano | Puno | Acora | Tucantani | 3827 | 102 |

Anexo 1. Datos de pasaporte de las accesiones evaluadas
Continuación

| Código INIA | Ecotipos | Provincia | Distrito | Localidad | Altitud | Código costa 2015 |
|-------------|-------------------|-----------|--------------|------------------------------|---------|-------------------|
| C-453 | Altiplano | El collao | Ilave | Comunidad campesina lacotuyo | 3861 | 109 |
| C-434 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 104 |
| C-471 | Altiplano | Puno | Acora | Quenafaja | 3856 | 115 |
| C-478 | Altiplano | Puno | Vilque | Kere - vilque | 3846 | 119 |
| C-432 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 103 |
| C-438 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 107 |
| C-473 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 116 |
| C-435 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 105 |
| C-468 | Altiplano | El collao | Ilave | Comunidad campesina ollaraya | 3907 | 114 |
| C-158 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 23 |
| C-175 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 35 |
| C-163 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 26 |
| C-168 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 31 |
| C-161 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 24 |
| C-172 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 33 |
| C-183 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 38 |
| C-171 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 32 |
| C-164 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 27 |
| C-165 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 28 |
| C-173 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 34 |
| C-166 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 29 |
| C-167 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 30 |
| C-177 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 36 |
| C-155 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 21 |
| C-162 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 25 |
| C-156 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 22 |
| C-192 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 40 |
| C-184 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 39 |
| C-178 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 37 |
| C-485 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 122 |
| C-495 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 128 |
| Q-001 | Valle Interandino | Cusco | San gerónimo | San gerónimo | 3200 | 131 |
| Q-054 | Valle Interandino | Anta | Zurite | Zurite | 3400 | 140 |
| Q-004 | Valle Interandino | Cusco | San gerónimo | San gerónimo | 3200 | 132 |

Anexo 1. Datos de pasaporte de las accesiones evaluadas
Continuación

| Código INIA | Ecotipos | Provincia | Distrito | Localidad | Altitud | Código costa 2015 |
|-------------|-------------------|-----------|--------------|-------------------|---------|-------------------|
| C-488 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 124 |
| Q-014 | Valle Interandino | Cusco | San gerónimo | San gerónimo | 3200 | 136 |
| C-493 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 126 |
| C-486 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 123 |
| Q-029 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Cuyo chico | 2900 | 137 |
| C-491 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 125 |
| Q-010 | Valle Interandino | Cusco | San gerónimo | San gerónimo | 3200 | 134 |
| C-526 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 129 |
| Q-038 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Cuyo grande | 2900 | 139 |
| C-494 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 127 |
| C-273 | Altiplano | Chucuito | Juli | Juli | 3869 | 138 |
| C-482 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 121 |
| Q-011 | Valle Interandino | Cusco | San gerónimo | San gerónimo | 3200 | 135 |
| Q-005 | Valle Interandino | Cusco | San gerónimo | San gerónimo | 3200 | 133 |
| C-527 | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 130 |
| C-377 | Altiplano | Puno | Acora | Titijo | 3827 | 90 |
| C-391 | Altiplano | Puno | Acora | Wila kconccori | 3827 | 97 |
| C-374 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Sin datos | 3959 | 89 |
| C-368 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Guitarrani patija | 3959 | 86 |
| C-363 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Jacha janco punc | 3959 | 83 |
| C-383 | Altiplano | Puno | Acora | Samajahuira | 3827 | 92 |
| C-348 | Altiplano | Puno | Acora | Huanconci | 3827 | 82 |
| C-372 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Sin datos | 3959 | 88 |
| C-387 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 95 |
| C-367 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Guitarrani patija | 3959 | 85 |
| C-392 | Altiplano | Puno | Acora | Challacollo | 3842 | 98 |
| C-425 | Altiplano | Puno | Acora | Tucantani | 3827 | 100 |
| C-371 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Sin datos | 3959 | 87 |
| C-382 | Altiplano | Puno | Acora | Sillaniamaya | 3827 | 91 |
| C-424 | Altiplano | Puno | Acora | Tucantani | 3827 | 99 |
| C-336 | Altiplano | Puno | Acora | Huanconci | 3827 | 81 |
| C-384 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 93 |
| C-366 | Altiplano | Chucuito | Huacullani | Huajahui | 3959 | 84 |
| C-388 | Altiplano | Puno | Acora | Katahuiputipajja | 3827 | 96 |
| C-386 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 94 |

Anexo 1. Datos de pasaporte de las accesiones evaluadas
Continuación

| Código INIA | Ecotipos | Provincia | Distrito | Localidad | Altitud | Código costa 2015 |
|-----------------|-------------------|-----------|-----------|--------------|---------|-------------------|
| C-148 | Altiplano | Chucuito | Pomata | Ampatiri | 3833 | 18 |
| C-267 | Altiplano | Puno | Acora | Culta | 3841 | 17 |
| C-125 | Altiplano | El collao | Ilave | Siraya | 3884 | 6 |
| C-111 | Altiplano | El collao | Ilave | Challacollo | 3849 | 1 |
| C-127 | Altiplano | El collao | Pilcuyo | Quety | 3823 | 7 |
| C-133 | Altiplano | El collao | Pilcuyo | Quety | 3823 | 9 |
| C-143 | Altiplano | Chucuito | Juli | Challa pampa | 3880 | 13 |
| C-136 | Altiplano | Chucuito | Pomata | Batalla | 3885 | 10 |
| C-142 | Altiplano | Yunguyo | Yunguyo | Yunguyo | 3826 | 12 |
| C-121 | Altiplano | El collao | Pilcuyo | Quety | 3823 | 4 |
| C-153 | Altiplano | Chucuito | Juli | Challa pampa | 3880 | 19 |
| C-124 | Altiplano | El collao | Ilave | Siraya | 3884 | 5 |
| C-146 | Altiplano | Chucuito | Juli | Challa pampa | 3880 | 16 |
| C-141 | Altiplano | Yunguyo | Yunguyo | Accari | 3865 | 11 |
| C-145 | Altiplano | Chucuito | Juli | Challa pampa | 3880 | 15 |
| C-154 | Altiplano | Yunguyo | Yunguyo | Accari | 3865 | 20 |
| C-131 | Altiplano | El collao | Pilcuyo | Quety | 3823 | 8 |
| C-112 | Altiplano | El collao | Ilave | Challacollo | 3849 | 2 |
| C-115 | Altiplano | Chucuito | Pomata | Batalla | 3885 | 3 |
| C-144 | Altiplano | Chucuito | Juli | Challa pampa | 3880 | 14 |
| C-447 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 169 |
| C-416 | Altiplano | Puno | Acora | Tucantani | 3827 | 179 |
| C-417 | Altiplano | Puno | Acora | Tucantani | 3827 | 180 |
| C-396 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 172 |
| C-415 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 178 |
| C-414 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 177 |
| Negra collana | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 165 |
| Blanca kancolla | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 166 |
| Blanca Taraco | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 163 |
| C-412 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 175 |
| C-437 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 167 |
| Q-143 | Valle Interandino | Canchis | San pablo | San pablo | 3550 | 161 |
| C-398 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 173 |
| C-446 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 168 |
| Negra Airampo | Altiplano | Sd | Sd | Sd | sd | 164 |
| C-395 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 171 |

Anexo 1. Datos de pasaporte de las accesiones evaluadas
Continuación

| Código INIA | Ecotipos | Provincia | Distrito | Localidad | Altitud | Código costa 2015 |
|-------------|-------------------|-----------|--------------|--------------|---------|-------------------|
| C-411 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 174 |
| C-413 | Altiplano | Puno | Acora | Sin datos | 3827 | 176 |
| C-291 | Altiplano | Puno | Puno | Puno | 3827 | 162 |
| C-448 | Altiplano | Puno | Pichacani | Laraqueri | 3948 | 170 |
| Q-101 | Valle Interandino | Anta | Anta | Anta | 3345 | 150 |
| Q-082 | Valle Interandino | Calca | San salvador | San salvador | 2900 | 145 |
| Q-080 | Valle Interandino | Calca | San salvador | San salvador | 2900 | 144 |
| C-275 | Altiplano | Puno | Chucuito | Chucuito | 3871 | 141 |
| Q-128 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Ampay | 2900 | 157 |
| Q-095 | Valle Interandino | Anta | Anta | Anta | 3345 | 147 |
| Q-125 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Ampay | 2900 | 156 |
| Q-062 | Valle Interandino | Anta | Zurite | Zurite | 3400 | 142 |
| Q-133 | Valle Interandino | Canchis | San pablo | San pablo | 3550 | 159 |
| C-281 | Altiplano | Chucuito | Juli | Juli | 3869 | 149 |
| C-282 | Altiplano | Chucuito | Juli | Juli | 3869 | 152 |
| Q-112 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Ampay | 2900 | 151 |
| Q-131 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Ampay | 2900 | 158 |
| Q-087 | Valle Interandino | Calca | San salvador | San salvador | 2900 | 146 |
| C-277 | Altiplano | Puno | Chucuito | Chucuito | 3871 | 143 |
| C-285 | Altiplano | Chucuito | Pomata | Pomata | 3915 | 153 |
| Q-118 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Ampay | 2900 | 154 |
| Q-124 | Valle Interandino | Calca | Pisac | Ampay | 2900 | 155 |
| C-288 | Altiplano | El collao | Ilave | Ilave | 3847 | 160 |
| Q-097 | Valle Interandino | Anta | Anta | Anta | 3345 | 148 |
| C-238 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 48 |
| C-241 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 49 |
| C-254 | Altiplano | Puno | Acora | Culta | 3841 | 56 |
| C-255 | Altiplano | Puno | Acora | Culta | 3841 | 57 |
| C-224 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 43 |
| C-246 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 53 |

Anexo 1. Datos de pasaporte de las accesiones evaluadas
Continuación

| Código INIA | Ecotipos | Provincia | Distrito | Localidad | Altitud | Código costa 2015 |
|-------------|-----------|-----------|----------|-------------|---------|-------------------|
| C-244 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 52 |
| C-227 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 45 |
| C-243 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 51 |
| C-225 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 44 |
| C-215 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 42 |
| C-256 | Altiplano | Puno | Acora | Culta | 3841 | 58 |
| C-258 | Altiplano | Puno | Acora | Culta | 3841 | 59 |
| C-252 | Altiplano | Puno | Acora | Culta | 3841 | 55 |
| C-197 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 41 |
| C-237 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 47 |
| C-251 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 54 |
| C-242 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 50 |
| C-262 | Altiplano | Puno | Acora | Checcachata | 3850 | 60 |
| C-234 | Altiplano | Puno | Puno | Unta - puno | 3856 | 46 |

Anexo 2. Descriptiva para datos de marcadores

Población en conjunto

| Resumen | Cantidad de casos |
|--------------------------|-------------------|
| Muestras | 133 |
| Muestras duplicadas | 7 |
| Bandas (número) | 20 |
| Patrón bandas duplicadas | 0 |
| Bandas monomórficas | 0 |
| Bandas polimórficas (%) | 100 |
| Primers | 5 |

Resumen por primer

| Primer | BP | BM | BT | PMF(95) | PIC | E.E. | AMP | PDICMA |
|--------|----|----|----|---------|------|------|-------|---------|
| P001 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,32 | 0,02 | 32,52 | 4,5E-15 |
| P022 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,30 | 0,03 | 28,01 | 8,1E-16 |
| P071 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,29 | 0,04 | 27,63 | 3,1E-14 |
| P088 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,26 | 0,05 | 26,88 | 8,4E-12 |
| P106 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,29 | 0,04 | 25,94 | 1,4E-14 |
| Total | 20 | 0 | 20 | | | | 28,20 | 1,3E-68 |

Anexo 3. Descriptiva para datos de marcadores particionado por origen

Valle Interandino (CUSCO)

| Resumen | Cantidad de casos |
|--------------------------|-------------------|
| Muestras | 22 |
| Muestras duplicadas | 0 |
| Bandas (número) | 20 |
| Patrón bandas duplicadas | 0 |
| Bandas monomórficas | 1 |
| Bandas polimórficas (%) | 95 |
| Primers | 5 |

Resumen por primer

| Primer | BP | BM | BT | PMF(95) | PIC | E.E. | AMP | PDICMA |
|--------|----|----|----|---------|------|------|-------|---------|
| P001 | 4 | 0 | 4 | 0,75 | 0,27 | 0,05 | 32,95 | 1,3E-11 |
| P022 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,32 | 0,02 | 35,23 | 5,6E-15 |
| P071 | 4 | 0 | 4 | 0,75 | 0,21 | 0,05 | 27,27 | 1,6E-08 |
| P088 | 3 | 1 | 4 | 0,75 | 0,34 | 0,02 | 29,55 | 2,5E-11 |
| P106 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,30 | 0,04 | 29,55 | 5,4E-15 |
| Total | 19 | 1 | 20 | | | | 30,91 | 1,6E-58 |

Bandas monomórficas

| Primer | Banda | Patrón |
|--------|-------|----------|
| P088 | _A4 | 00000... |

Altiplano (PUNO)

| Resumen | Cantidad de casos |
|--------------------------|-------------------|
| Muestras | 106 |
| Muestras duplicadas | 6 |
| Bandas (número) | 20 |
| Patrón bandas duplicadas | 0 |
| Bandas monomórficas | 0 |
| Bandas polimórficas (%) | 100 |
| Primers | 5 |

Resumen por primer

| Primer | BP | BM | BT | PMF(95) | PIC | E.E. | AMP | PDICMA |
|--------|----|----|----|---------|------|------|-------|---------|
| P001 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,30 | 0,02 | 32,08 | 2,0E-13 |
| P022 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,27 | 0,06 | 26,42 | 4,5E-14 |
| P071 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,27 | 0,05 | 27,83 | 2,4E-12 |
| P088 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,26 | 0,05 | 26,42 | 9,0E-12 |
| P106 | 4 | 0 | 4 | 1,00 | 0,28 | 0,05 | 25,24 | 5,6E-14 |
| Total | 20 | 0 | 20 | | | | 27,59 | 1,1E-62 |

Anexo 4. Frecuencias alélicas relativas y frecuencia genotípicas relativas para cada primer y para cada población.

Frecuencias alélicas relativas

alelos en baja frecuencia dentro de cada población

| Locus | Alelos | Valle Interandino | Altiplano | Total |
|---------|----------------|-------------------|-----------|-------|
| QAAT001 | a ₁ | 0,318 | 0,155 | 0,184 |
| | a ₂ | 0,545 | 0,175 | 0,240 |
| | a ₃ | 0,114 | 0,165 | 0,156 |
| | a ₄ | # 0,023 | 0,505 | 0,420 |
| QAAT022 | a ₁ | 0,477 | # 0,048 | 0,129 |
| | a ₂ | 0,250 | 0,383 | 0,358 |
| | a ₃ | 0,136 | 0,404 | 0,353 |
| | a ₄ | 0,136 | 0,165 | 0,159 |
| QAAT071 | a ₁ | # 0,045 | 0,102 | 0,092 |
| | a ₂ | # 0,068 | 0,500 | 0,424 |
| | a ₃ | 0,205 | 0,320 | 0,300 |
| | a ₄ | 0,682 | # 0,078 | 0,184 |
| QAAT088 | a ₁ | 0,136 | 0,083 | 0,092 |
| | a ₂ | 0,295 | 0,461 | 0,432 |
| | a ₃ | 0,568 | 0,383 | 0,416 |
| | a ₄ | # 0 | # 0,073 | 0,060 |
| QAAT106 | a ₁ | 0,136 | 0,340 | 0,304 |
| | a ₂ | 0,409 | 0,388 | 0,392 |
| | a ₃ | 0,364 | 0,194 | 0,224 |
| | a ₄ | 0,091 | 0,078 | 0,080 |

Frecuencias genotípicas relativas

| Locus | Alelos | Valle Interandino | Altiplano | Total |
|---------|-------------------------------|-------------------|-----------|-------|
| QAAT001 | a ₁ a ₁ | 0,273 | 0,107 | 0,136 |
| | a ₁ a ₂ | 0,045 | - | 0,008 |
| | a ₁ a ₃ | 0,045 | 0,010 | 0,016 |
| | a ₁ a ₄ | - | 0,087 | 0,072 |
| | a ₂ a ₂ | 0,409 | 0,107 | 0,160 |
| | a ₂ a ₃ | 0,182 | 0,029 | 0,056 |
| | a ₂ a ₄ | 0,045 | 0,107 | 0,096 |
| | a ₃ a ₃ | - | 0,136 | 0,112 |
| | a ₃ a ₄ | - | 0,019 | 0,016 |
| | a ₄ a ₄ | - | 0,398 | 0,328 |

Frecuencias genotípicas relativas

Continuación

| Locus | Alelos | Valle Interandino | Altiplano | Total |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|-----------|-------|
| QAAT022 | a ₁ a ₁ | 0,318 | 0,032 | 0,086 |
| | a ₁ a ₂ | 0,045 | 0,011 | 0,017 |
| | a ₁ a ₃ | 0,136 | 0,021 | 0,043 |
| | a ₁ a ₄ | 0,136 | - | 0,026 |
| | a ₂ a ₂ | 0,182 | 0,330 | 0,302 |
| | a ₂ a ₃ | 0,045 | 0,074 | 0,069 |
| | a ₂ a ₄ | 0,045 | 0,021 | 0,026 |
| | a ₃ a ₃ | 0,045 | 0,340 | 0,284 |
| | a ₃ a ₄ | - | 0,032 | 0,026 |
| | a ₄ a ₄ | 0,045 | 0,138 | 0,121 |
| QAAT071 | a ₁ a ₁ | 0,045 | 0,078 | 0,072 |
| | a ₁ a ₂ | - | 0,010 | 0,008 |
| | a ₁ a ₃ | - | 0,039 | 0,032 |
| | a ₁ a ₄ | - | - | - |
| | a ₂ a ₂ | 0,045 | 0,466 | 0,392 |
| | a ₂ a ₃ | - | 0,029 | 0,024 |
| | a ₂ a ₄ | 0,045 | 0,029 | 0,032 |
| | a ₃ a ₃ | 0,182 | 0,282 | 0,264 |
| | a ₃ a ₄ | 0,045 | 0,010 | 0,016 |
| | a ₄ a ₄ | 0,636 | 0,058 | 0,160 |
| QAAT088 | a ₁ a ₁ | 0,045 | 0,078 | 0,072 |
| | a ₁ a ₂ | 0,136 | 0,010 | 0,032 |
| | a ₁ a ₃ | 0,045 | - | 0,008 |
| | a ₁ a ₄ | - | - | - |
| | a ₂ a ₂ | 0,227 | 0,437 | 0,400 |
| | a ₂ a ₃ | - | - | - |
| | a ₂ a ₄ | - | 0,039 | 0,032 |
| | a ₃ a ₃ | 0,545 | 0,379 | 0,408 |
| | a ₃ a ₄ | - | 0,010 | 0,008 |
| | a ₄ a ₄ | - | 0,049 | 0,040 |
| QAAT106 | a ₁ a ₁ | 0,136 | 0,340 | 0,304 |
| | a ₁ a ₂ | - | - | - |
| | a ₁ a ₃ | - | - | - |
| | a ₁ a ₄ | - | - | - |
| | a ₂ a ₂ | 0,409 | 0,379 | 0,384 |
| | a ₂ a ₃ | - | 0,019 | 0,016 |
| | a ₂ a ₄ | - | - | - |
| | a ₃ a ₃ | 0,273 | 0,184 | 0,200 |
| | a ₃ a ₄ | 0,182 | - | 0,032 |
| a ₄ a ₄ | - | 0,078 | 0,064 | |

Anexo 5. Índice de Información (I) y Heterocigosis insesgada de Nei (He) por accesión en cada locus y para todos los *loci* Heterocigosis total (Ht) e Índice de Información total (It).

| Accesión | QAAT001 | | QAAT022 | | QAAT071 | | QAAT088 | | QAAT106 | | Total | |
|----------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|-------|------|
| | I | He | Ht | It |
| 1 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,36 |
| 2 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,35 |
| 3 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,53 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,83 | 0,40 |
| 4 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,91 | 0,91 | 0,33 |
| 5 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,87 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,40 |
| 6 | 0,36 | 0,82 | 0,26 | 0,98 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,90 | 0,31 |
| 7 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,36 |
| 8 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,34 |
| 9 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,33 |
| 10 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,34 |
| 11 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,36 |
| 13 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,33 |
| 14 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,37 |
| 15 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,36 |
| 16 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,36 |
| 17 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,89 | 0,35 |
| 19 | 0,36 | 0,82 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,90 | 0,34 |
| 20 | 0,36 | 0,82 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,88 | 0,35 |
| 22 | 0,63 | 0,92 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,85 | 0,42 |
| 23 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,35 |
| 24 | 0,63 | 0,92 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,88 | 0,39 |
| 25 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,88 | 0,35 |
| 26 | 0,34 | 0,94 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,89 | 0,34 |
| 28 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,88 | 0,35 |
| 31 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,53 | 0,82 | 0,34 | 0,95 | 0,89 | 0,38 |
| 32 | 0,34 | 0,94 | 0,26 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,90 | 0,33 |
| 33 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,90 | 0,35 |
| 35 | 0,29 | 0,98 | 0,29 | 0,98 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,94 | 0,32 |

Anexo 5. Índice de Información (I) y Heterocigosis insesgada de Nei (He) por accesión en cada locus y para todos los *loci* Heterocigosis total (Ht) e Índice de Información total (It).

Continuación

| Accesión | QAAT001 | | QAAT022 | | QAAT071 | | QAAT088 | | QAAT106 | | Total | |
|----------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|-------|------|
| | I | He | Ht | It |
| 36 | 0,29 | 0,98 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,91 | 0,33 |
| 41 | 0,60 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,90 | 0,41 |
| 42 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,88 | 0,35 |
| 43 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,58 | 0,90 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,85 | 0,41 |
| 44 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,20 | 0,99 | 0,89 | 0,33 |
| 46 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,89 | 0,34 |
| 47 | 0,29 | 0,98 | 0,74 | 0,75 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,86 | 0,42 |
| 48 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,91 | 0,32 |
| 49 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,86 | 0,36 |
| 50 | 0,36 | 0,82 | 0,63 | 0,86 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,86 | 0,38 |
| 51 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,58 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,83 | 0,48 |
| 52 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,36 |
| 53 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,58 | 0,99 | 0,36 | 0,91 | 0,90 | 0,41 |
| 54 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,58 | 0,90 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,86 | 0,41 |
| 55 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,84 | 0,43 |
| 56 | 0,65 | 0,80 | 0,37 | 0,87 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,87 | 0,41 |
| 58 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,91 | 0,93 | 0,32 |
| 59 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,87 | 0,36 |
| 61 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,85 | 0,43 |
| 62 | 0,31 | 0,97 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,70 | 0,80 | 0,89 | 0,41 |
| 63 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,87 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,42 |
| 64 | 0,36 | 0,82 | 0,63 | 0,86 | 0,36 | 0,82 | 0,22 | 0,99 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,39 |
| 65 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,43 |
| 66 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,83 | 0,43 |
| 68 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,87 | 0,43 |
| 69 | 0,36 | 0,82 | 0,74 | 0,75 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,85 | 0,43 |
| 71 | 0,34 | 0,94 | 0,63 | 0,86 | 0,36 | 0,82 | 0,22 | 0,99 | 0,37 | 0,85 | 0,89 | 0,38 |
| 73 | 0,36 | 0,82 | 0,74 | 0,75 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,83 | 0,44 |
| 76 | 0,31 | 0,97 | 0,26 | 0,98 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,92 | 0,30 |
| 77 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,35 |
| 78 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,35 |
| 82 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,35 |
| 83 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,35 |

Anexo 5. Índice de Información (I) y Heterocigosis insesgada de Nei (He) por accesión en cada locus y para todos los *loci* Heterocigosis total (Ht) e Índice de Información total (It).

Continuación

| Accesión | QAAT001 | | QAAT022 | | QAAT071 | | QAAT088 | | QAAT106 | | Total | |
|----------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|-------|------|
| | I | He | Ht | It |
| 84 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,83 | 0,43 |
| 85 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,88 | 0,35 |
| 86 | 0,36 | 0,82 | 0,63 | 0,86 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,88 | 0,41 |
| 87 | 0,68 | 0,79 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,87 | 0,41 |
| 88 | 0,36 | 0,82 | 0,66 | 0,85 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,41 |
| 89 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,20 | 0,99 | 0,90 | 0,32 |
| 90 | 0,31 | 0,97 | 0,66 | 0,85 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,88 | 0,41 |
| 91 | 0,36 | 0,82 | 0,66 | 0,85 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,70 | 0,80 | 0,84 | 0,49 |
| 93 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,22 | 0,99 | 0,34 | 0,95 | 0,94 | 0,31 |
| 95 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,88 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,89 | 0,35 |
| 96 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,87 | 0,42 |
| 98 | 0,68 | 0,79 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,88 | 0,38 |
| 100 | 0,36 | 0,82 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,89 | 0,35 |
| 103 | 0,36 | 0,82 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,87 | 0,35 |
| 104 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,91 | 0,87 | 0,40 |
| 105 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,87 | 0,42 |
| 107 | 0,68 | 0,79 | 0,74 | 0,75 | 0,72 | 0,73 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,79 | 0,57 |
| 109 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,84 | 0,43 |
| 113 | 0,71 | 0,77 | 0,74 | 0,75 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,81 | 0,51 |
| 114 | 0,65 | 0,80 | 0,37 | 0,88 | 0,58 | 0,90 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,86 | 0,47 |
| 116 | 0,36 | 0,82 | 0,74 | 0,75 | 0,36 | 0,91 | 0,53 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,83 | 0,47 |
| 118 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,87 | 0,67 | 0,88 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,86 | 0,43 |
| 119 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,85 | 0,43 |
| 121 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,43 |
| 122 | 0,71 | 0,77 | 0,37 | 0,87 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,43 |
| 123 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,86 | 0,39 |
| 125 | 0,68 | 0,79 | 0,37 | 0,88 | 0,22 | 0,99 | 0,53 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,89 | 0,40 |
| 127 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,84 | 0,36 |
| 129 | 0,71 | 0,77 | 0,66 | 0,85 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,20 | 0,99 | 0,85 | 0,46 |
| 130 | 0,36 | 0,82 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,20 | 0,99 | 0,89 | 0,32 |
| 131 | 0,34 | 0,94 | 0,29 | 0,98 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,92 | 0,33 |
| 132 | 0,63 | 0,92 | 0,26 | 0,98 | 0,31 | 0,97 | 0,58 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,90 | 0,43 |

Anexo 5. Índice de Información (I) y Heterocigosis insesgada de Nei (He) por accesión en cada locus y para todos los *loci* Heterocigosis total (Ht) e Índice de Información total (It).

Continuación

| Accesión | QAAT001 | | QAAT022 | | QAAT071 | | QAAT088 | | QAAT106 | | Total | |
|----------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|-------|------|
| | I | He | Ht | It |
| 133 | 0,71 | 0,77 | 0,26 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,88 | 0,41 |
| 134 | 0,34 | 0,94 | 0,63 | 0,86 | 0,31 | 0,97 | 0,58 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,90 | 0,44 |
| 135 | 0,63 | 0,92 | 0,56 | 0,96 | 0,68 | 0,79 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,89 | 0,51 |
| 136 | 0,34 | 0,94 | 0,63 | 0,86 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,34 | 0,95 | 0,91 | 0,40 |
| 137 | 0,34 | 0,94 | 0,63 | 0,86 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,81 | 0,54 | 0,94 | 0,89 | 0,45 |
| 138 | 0,29 | 0,98 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,91 | 0,93 | 0,30 |
| 139 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,87 | 0,31 | 0,97 | 0,58 | 0,81 | 0,54 | 0,94 | 0,91 | 0,42 |
| 140 | 0,65 | 0,91 | 0,37 | 0,87 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,89 | 0,41 |
| 142 | 0,34 | 0,94 | 0,26 | 0,98 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,54 | 0,94 | 0,93 | 0,36 |
| 143 | 0,36 | 0,82 | 0,66 | 0,85 | 0,72 | 0,73 | 0,17 | 1,00 | 0,34 | 0,95 | 0,87 | 0,45 |
| 144 | 0,34 | 0,94 | 0,56 | 0,96 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,93 | 0,38 |
| 145 | 0,34 | 0,94 | 0,37 | 0,87 | 0,22 | 0,99 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,92 | 0,33 |
| 146 | 0,31 | 0,97 | 0,26 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,54 | 0,94 | 0,93 | 0,37 |
| 147 | 0,31 | 0,97 | 0,26 | 0,98 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,91 | 0,33 |
| 148 | 0,31 | 0,97 | 0,37 | 0,87 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,91 | 0,34 |
| 149 | 0,29 | 0,98 | 0,37 | 0,88 | 0,68 | 0,79 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,87 | 0,41 |
| 151 | 0,31 | 0,97 | 0,26 | 0,98 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,92 | 0,32 |
| 152 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,68 | 0,79 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,84 | 0,43 |
| 153 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,68 | 0,79 | 0,36 | 0,81 | 0,36 | 0,91 | 0,84 | 0,43 |
| 154 | 0,71 | 0,77 | 0,63 | 0,86 | 0,31 | 0,97 | 0,22 | 0,99 | 0,37 | 0,85 | 0,89 | 0,45 |
| 155 | 0,31 | 0,97 | 0,26 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,89 | 0,33 |
| 156 | 0,63 | 0,92 | 0,26 | 0,98 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,91 | 0,39 |
| 157 | 0,34 | 0,94 | 0,66 | 0,85 | 0,67 | 0,88 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,48 |
| 158 | 0,63 | 0,92 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,58 | 0,82 | 0,37 | 0,85 | 0,87 | 0,46 |
| 159 | 0,60 | 0,94 | 0,56 | 0,96 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,91 | 0,44 |
| 160 | 0,63 | 0,92 | 0,74 | 0,75 | 0,58 | 0,90 | 0,17 | 1,00 | 0,37 | 0,85 | 0,88 | 0,50 |
| 161 | 0,34 | 0,94 | 0,74 | 0,75 | 0,31 | 0,97 | 0,36 | 0,83 | 0,34 | 0,95 | 0,89 | 0,42 |
| 162 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,17 | 1,00 | 0,37 | 0,85 | 0,89 | 0,33 |
| 163 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,36 |
| 166 | 0,36 | 0,82 | 0,37 | 0,88 | 0,36 | 0,91 | 0,17 | 1,00 | 0,37 | 0,85 | 0,89 | 0,33 |
| 167 | 0,36 | 0,82 | 0,29 | 0,98 | 0,36 | 0,82 | 0,53 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,86 | 0,38 |
| 168 | 0,31 | 0,97 | sd | sd | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,71 | 0,28 |

Anexo 5. Índice de Información (I) y Heterocigosis insesgada de Nei (He) por accesión en cada locus y para todos los *loci* Heterocigosis total (Ht) e Índice de Información total (It).

Continuación

| Accesión | QAAT001 | | QAAT022 | | QAAT071 | | QAAT088 | | QAAT106 | | Total | |
|----------|---------|------|---------|----|---------|------|---------|------|---------|------|-------|------|
| | I | He | I | He | I | He | I | He | I | He | Ht | It |
| 170 | 0,68 | 0,79 | sd | sd | 0,72 | 0,73 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,64 | 0,43 |
| 171 | 0,68 | 0,79 | sd | sd | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,67 | 0,35 |
| 172 | 0,68 | 0,79 | sd | sd | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,37 | 0,85 | 0,67 | 0,35 |
| 175 | 0,36 | 0,82 | sd | sd | 0,36 | 0,82 | 0,36 | 0,81 | 0,37 | 0,85 | 0,66 | 0,29 |
| 176 | 0,29 | 0,98 | sd | sd | 0,36 | 0,82 | 0,17 | 1,00 | 0,36 | 0,91 | 0,74 | 0,24 |
| 177 | 0,29 | 0,98 | sd | sd | 0,58 | 0,81 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,70 | 0,32 |
| 179 | 0,36 | 0,82 | sd | sd | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,69 | 0,29 |
| 180 | 0,36 | 0,82 | sd | sd | 0,36 | 0,91 | 0,36 | 0,83 | 0,36 | 0,91 | 0,69 | 0,29 |

Anexo 6. Medidas de diversidad genética

| Estadístico | puno | cusco | Total |
|-------------------------|-------|-------|-------|
| Loci polimorficos(95) | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| Diversidad genética | 0,655 | 0,598 | 0,688 |
| Heterocigosis promedio | 0,121 | 0,236 | 0,138 |
| Heter. insesgada de Nei | 0,658 | 0,612 | 0,691 |
| # promedio de alelos | 4,000 | 3,800 | 4,000 |

.- Prueba de Wilcoxon para la comparación de pares de medias

(Diversidad genética)

Nivel alfa para las pruebas individuales = 0,0500

| Grupos | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| puno | 0,655 | 5 | A |
| cusco | 0,598 | 5 | A |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

(Heterocigosis)(Ho)

Nivel alfa para las pruebas individuales = 0,0500

| Grupos | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| cusco | 0,236 | 5 | A |
| puno | 0,121 | 5 | A |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

(Heterocigosis insesgada de Nei)(He)

Nivel alfa para las pruebas individuales = 0,0500)

| Grupos | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| puno | 0,658 | 5 | A |
| cusco | 0,612 | 5 | A |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

(PIC)

Nivel alfa para las pruebas individuales = 0,0500)

| Grupos | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| puno | 0,593 | 5 | A |
| cusco | 0,538 | 5 | A |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 7. Análisis de la varianza molecular (AMOVA)

Cuadro de Análisis de la Varianza

| <u>F.V .</u> | <u>SC</u> | <u>gl</u> | <u>CM</u> | <u>p-valor</u> | <u>Iter.#</u> | <u>Comp.Var.</u> | <u>Porcentaje</u> |
|--------------|--------------|------------|-------------|----------------|---------------|------------------|-------------------|
| Origen | 1,30 | 1 | 1,30 | <0,0001 | 4000 | 0,03 | 7,62 |
| Dentro | 39,79 | 105 | 0,38 | <0,0001 | 4000 | 0,38 | 92,38 |
| Total | 41,09 | 106 | 0,39 | | | 0,41 | 100,00 |

Distancias: Jaccard (sqrt(1-S))

Coefficientes de correlación

| <u>Coefficientes</u> | <u>Estimación</u> | <u>valor p</u> |
|----------------------|-------------------|----------------|
| Phi_ST | 0,08 | <0.0001 |
| Phi Origen | 0,08 | <0.0001 |

Anexo 8. Prueba de Mantel

Coefficientes de correlación lineal entre matrices

| | <u>1</u> | <u>2</u> |
|---|-------------|----------|
| 1 | 1,00 | |
| 2 | 0,18 | 1,00 |

p-valores para los coeficientes de correlación lineal entre matrices

| | <u>1</u> | <u>2</u> |
|---|-------------------|----------|
| 1 | ***** | |
| 2 | <0,0001 | ***** |