

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.

**CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA POR RAPDs Y MORFOMÉTRICA DE
DIFERENTES ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) DE LA
ZONA CENTRO DEL ECUADOR.**

**DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO AGRÓNOMO**

AUTOR:

SANCHÉZ VASCO SANDRO SAULO

TUTORA:

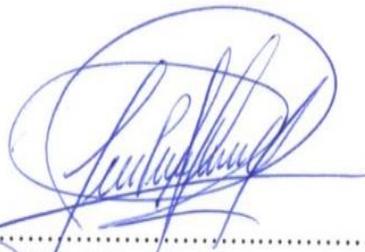
PhD. Liliana Lalaleo Córdova

CEVALLOS - ECUADOR

2020

**“CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA Y GENOTÍPICA POR RAPDs DE
ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) DE LA ZONA
CENTRO DEL ECUADOR.”**

REVISADO POR:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Liliana Lalaleo', is written over a horizontal dotted line.

PhD. Liliana Lalaleo
TUTORA

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación: “**CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA POR RAPDs Y MORFOMÉTRICA DE DIFERENTES ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) DE LA ZONA CENTRO DEL ECUADOR**”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



SANDRO SAULO SANCHÉZ VASCO

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

: "CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA POR RAPDs Y MORFOMÉTRICA DE
DIFERENTES ACCESIONES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) DE LA
ZONA CENTRO DEL ECUADOR"

APROBADO POR:

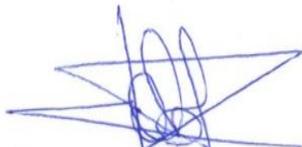


Ingeniero, Mg. Marco Pérez

FECHA:

11/03/2020

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Ingeniero, Mg. Jorge Dobronski

11/03/2020

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Dr. Carlos Vásquez

11/03/2020

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AGRADECIMIENTO

A mi tutora Dra. Liliana Lalaleo quien me brindó todos sus conocimientos durante la elaboración del proyecto y así lograr mi objetivo.

Mi sincero agradecimiento a mi hermano Santiago Sánchez y mi cuñada Verónica Manobanda que me acogieron en su hogar durante todos estos años de mi carrera.

A mis abuelos Abelino y Beatriz por sus consejos y apoyo moral durante los años de universidad.

Al ing. Miguel Valle por brindarme su amistad y apoyo en la elaboración del proyecto.

DEDICATORIA

A Dios por su bendición, por haberme permitido tener una gran familia, por cada momento bueno y malo, por la salud y la enfermedad y brindarme la fuerza necesaria para seguir adelante.

A mis padres Elicio Sánchez y Elva Vasco con su esfuerzo y apoyo incondicional pude culminar mis estudios, por su amor y consejos he podido superar todos los obstáculos de la vida y así lograr mis objetivos y ser un profesional de éxito.

A la mujer que me acompaño y me brindo todo su amor y apoyo Nataly Mesías y a mi hija Danna Emilia que llego a mi vida a llenar de alegría, con el apoyo de ellos pude salir adelante.

A mi hermano Ronald por acompañarme en los momentos de soledad y sacarme una sonrisa en los días difíciles.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO I..... | 1 |
| MARCO TEÓRICO..... | 1 |
| 1.1. Antecedentes Investigativos..... | 1 |
| 1.2. Objetivos..... | 5 |
| - Objetivo General..... | 5 |
| - Objetivos Específicos..... | 5 |
| CAPÍTULO II..... | 6 |
| METODOLOGÍA..... | 6 |
| 2.1. Materiales..... | 6 |
| Extracción de ADN..... | 6 |
| RAPDs por PCR..... | 6 |
| Equipos..... | 7 |
| Materiales de vidrio y otros..... | 7 |
| 2.2. Métodos..... | 8 |
| - Material Vegetal..... | 8 |
| - Caracterización Genotípica..... | 10 |
| - Caracterización Morfométrica..... | 13 |
| - Análisis Estadístico de Datos..... | 13 |
| CAPÍTULO III..... | 14 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 14 |
| 3.1. Análisis y discusión de los resultados..... | 14 |
| 3.2. Verificación de la hipótesis..... | 24 |
| CAPÍTULO IV..... | 25 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 25 |
| 4.1. Conclusiones..... | 25 |

| | |
|---------------------------------------|----|
| CAPÍTULO V | 27 |
| MATERIALES DE REFERENCIA | 27 |
| 5.1. Referencias bibliográficas | 27 |
| 5.2. Anexos | 30 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Recolección de Accesiones de <i>Chenopodium quinoa</i> | 9 |
| Tabla 2. Primers de secuencia arbitraria usadas para el análisis de datos..... | 11 |
| Tabla 3. Caracterización Morfométrica de la Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)..... | 19 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Condiciones del programa de PCR para cada RAPDS..... | 12 |
| Figura 2. Procesamiento de bandas de todas las accesiones para cada primer en el programa PhElph..... | 14 |
| Figura 3. Dendrograma genotípico de las Accesiones de <i>C. quinoa</i> Will | 16 |
| Figura 4. Dendrograma morfométrico de las Accesiones de <i>C. quinoa</i> Will | 21 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| Anexo 1. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPC05 | 30 |
| Anexo 2. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPC6 | 30 |
| Anexo 3. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPC7 | 31 |
| Anexo 4. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OLP01..... | 31 |
| Anexo 5. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OLP01..... | 32 |
| Anexo 6. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPM13 | 32 |
| Anexo 7. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPM14 | 33 |
| Anexo 8. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPE16..... | 33 |
| Anexo 9. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPQ17 | 34 |
| Anexo 10. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPA19 | 34 |
| Anexo 11. Altura de la planta (cm) | 35 |
| Anexo 12. Diámetro del tallo (cm) | 35 |
| Anexo 13. Número de ramas primarias..... | 35 |
| Anexo 14. Longitud del pecíolo (cm) | 36 |
| Anexo 15. Longitud de hoja (cm) | 36 |
| Anexo 16. Ancho hoja (cm)..... | 36 |
| Anexo 17. Número de dientes hoja..... | 37 |
| Anexo 18. Longitud de panoja (cm) | 37 |
| Anexo 19. Diámetro de panoja (cm)..... | 37 |
| Anexo 20. Diámetro del grano (mm) | 38 |
| Anexo 21. Espesor del grano (mm) | 38 |
| Anexo 22. Peso de 100 granos (g) | 38 |
| Anexo 23. Peso hectolitrico (g/l) | 39 |
| Anexo 24. Rendimiento semilla por planta (g)..... | 39 |
| Anexo 25. Relación genético y fenotípica | 40 |
| Anexo 26. Balanza analítica..... | 40 |
| Anexo 27. Centrífuga..... | 41 |
| Anexo 28. Solución madre en semilla triturada | 41 |

RESUMEN EJECTUTIVO

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) semicereal destacado por su gran contenido nutricional y económico, que se encuentra distribuido por una serie de países sudamericanos y adaptada a diversas zonas geográficas, posee una variabilidad morfológica y genética en nuestro país. Se estudió accesiones de quinua recolectadas en las provincias de Tungurahua y Chimborazo, con el fin de identificar sus características y observar la variabilidad entre ellas. El ensayo se lo realizó en la Granja Experimental Querochaca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato; estudiando ocho accesiones con la evaluación de caracteres morfológicos y genéticos. Mediante dendrogramas y un Anova se identificó las variaciones entre estas accesiones, donde agronómicamente se destacaron las acciones D y F, en la mayoría de los caracteres estudiados (altura de planta, diámetro de tallo, longitud de hoja, ancho de hoja, longitud de panoja, diámetro de panoja y diámetro de grano). Estas accesiones fueron recolectadas en las localidades de Colta (Chimborazo) y Ambatillo (Tungurahua), respectivamente. Además, los datos obtenidos permitieron formar dendrogramas de relación genética (4 grupos) y morfológica (3 grupos), donde esta clasificación se genera por el lugar donde se recolectaron las accesiones, influyendo la ubicación geográfica y condiciones agroclimáticas del lugar de recolección.

Palabras claves: Cereal, *Chenopodium quinoa*, Clústers, Relación genética, Relación morfológica.

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), a cereal highlighted by its great nutritional and economic content, is distributed by a series of South American countries and adapted to various geographical areas. It has a morphological and genetic variability in our country. Accessions of quinoa collected in the provinces of Tungurahua and Chimborazo were studied in order to identify their characteristics and observe their variability. The essay was carried out at Granja Experimental Querochaca of Facultad de Ciencias Agropecuarias in Universidad Técnica de Ambato, studying eight accessions with the evaluation of morphological and genetic characters. The variations between these accessions were identified through dendrograms and an Anova, where agronomically the D and F actions were highlighted in most of the characters studied (Plant height, stem diameter, leaf length, leaf width, panicle length, panicle diameter, grain diameter). These accessions were collected in Colta (Chimborazo) and Ambatillo (Tungurahua). Moreover, the data obtained allowed to form dendrograms of genetic (4 groups) and morphological (3 groups) relationship. Such classification is generated by the place where the accessions were collected, influencing the geographical location and agroclimatic condition of the harvest place.

Key words: cereal, *Chenopodium quinoa*, Cluster, Genetic relationship, Morphological relationship.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

Chenopodium quinoa Willd es un semicereal herbáceo anual con un 13% de proteínas, mayor a otros cereales dándole un valor nutritivo y económico. Es nativa de Sudamérica, cuyo centro de origen, se encuentra en los Andes de Bolivia y Perú, actualmente su distribución va desde Colombia hasta el Norte de Argentina y desde el nivel del mar hasta los 4 000 msnm (Fuentes, 2004).

La FAO (2011), afirma que la quinua (*C. quinoa* Willd), que posee todos los aminoácidos esenciales, oligoelementos y vitaminas y no contiene gluten. Los aminoácidos esenciales se encuentran en el núcleo del grano, a diferencia de otros cereales que los tienen en el exosperma o cáscara, como el arroz o trigo. Además, tiene una extraordinaria adaptabilidad a diferentes pisos agroecológicos, desarrollándose en humedades relativas desde 40% a 88%, y soportando temperaturas desde -4°C hasta 38°C. También cuenta con más de tres mil variedades o ecotipos tanto cultivadas como silvestres que se resumen en cinco categorías básicas según el gradiente altitudinal: ecotipos del nivel del mar, del altiplano, de valles interandinos, de los salares y de los Yungas. Entre los principales productores se encuentra Bolivia, Perú y Estados Unidos, el cultivo se está expandiendo a otros continentes y actualmente se está cultivando en varios países de Europa y de Asia con altos niveles de rendimiento.

Vía y Fernández (2015) y FAO (2011), indican que el cultivo de *C. quinoa* posee un alto potencial genético para contribuir con la seguridad alimentaria en países en vías de desarrollo, así la quinua se constituye en un cultivo estratégico para contribuir a la seguridad y soberanía alimentaria debido a: su calidad nutritiva, su amplia variabilidad genética, su adaptabilidad y su bajo costo de producción.

No obstante, la creciente demanda del cultivo ha centrado su interés en las variedades comerciales, descuidando las variedades nativas de la región andina, lo cual podría ocasionar la pérdida de diversidad (Vía y Fernández, 2015). Por tal motivo, es necesaria la investigación de los ecotipos nativos, así como su conservación en los bancos de germoplasma con la finalidad de describir la diversidad genética, esclarecer la estructura de la población de quinua en nuestro país y dar a conocer el valor del germoplasma.

Los marcadores moleculares en la actualidad se han convertido en una herramienta complementaria a los marcadores morfológicos, mostrando aspectos de variabilidad genética como de clasificación en poblaciones vegetales. Fuentes (2004), realizó un análisis en base a marcadores isoenzimáticos y de RAPD (Amplificación Polimórfica al azar del ADN) para caracterizar la variabilidad genética entre ocho accesiones de *C. quinoa* Willd. Para tal efecto se tomaron muestras del altiplano norte (Ancoraimes, Viacha, Tiahuanacu y Jalsuri) y centro (Palcoma bajo) del departamento de La Paz. El análisis isoenzimático para todos los sistemas utilizados mostró que el cultivo de quinua es una fuerte unidad monomórfica. El análisis de RAPD (Amplificación Polimórfica al Azar del ADN) por otro lado, mostró un nivel de variabilidad genética detectable, del cual se pudo obtener un ordenamiento jerárquico (UPGMA) destacándose la relación entre accesiones más heterogéneas morfológicamente como un grupo y la relación entre accesiones más homogéneas o domesticadas como otro grupo. Paralelamente obtuvo un 1.26% de variabilidad entre poblaciones geográficas y un 98,74% de variabilidad dentro las poblaciones geográficas sugiriendo que el cultivo es de reciente expansión. Los marcadores RAPD son eficientes para detectar la variabilidad genética en *C. quinoa*.

De la misma manera, Vía y Fernández (2015), evaluaron la diversidad genética de los ecotipos de quinua procedentes de valles interandinos y altiplano mediante la genotipificación con 23 marcadores microsatélites mediante un sistema de PCR-Multiplex, finalmente se identificaron 10 marcadores altamente polimórficos los cuales permitirán la evaluación de la diversidad genética del germoplasma de quinua.

Por otro lado, Morillo et al, (2017), caracterizaron la diversidad genética de una colección de 55 materiales de quinua con siete marcadores microsatélites RAMs. El valor de heterocigosidad promedio fue de 0,34 el cual se considera bajo en comparación con otros estudios de diversidad genética en *Chenopodium*, existiendo una variabilidad genética a nivel intraespecífico. Los parámetros de diversidad genética encontrados en este estudio muestran que los materiales de quinua de la colección de la gobernación de Boyacá son muy homogéneos, sin embargo, la variabilidad que existe debe ser aprovechada en los programas de mejoramiento genético de la especie que conduzcan hacia la obtención de nuevos y mejores materiales de quinua.

Estudios previos, evaluaron la variabilidad y la estructura genética de 180 accesiones de quinua (*C. 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. Los resultados moleculares revelaron la variabilidad genética de la muestra en un rango de heterocigosidad entre 0,64 a 0,94 para todos los loci y todas las accesiones fueron polimórficas. El germoplasma caracterizado presentó leve estructura genética. A pesar de ello las accesiones se ordenaron en dos grupos Altiplano y Valle Interandino. (Allende, 2014)

Las investigaciones anteriores han aportado de manera significativa en la caracterización de cultivos de interés como la quinua, ya que durante mucho tiempo las investigaciones solo se han basado en caracterizar a partir de los caracteres morfológicos así como lo describe Llano (2012), quien realizó una recolección de material genético procedente de la mezcla de colectas realizadas en la región central del país (Junín y Huancavelica), el estudio se basó en la caracterización morfológica de 36 caracteres entre los cuales se destacan: porcentaje de emergencia, altura de planta, número de días al 50% de floración, número de días al 50% de madurez fisiológica, peso de grano por panoja, diámetro de panoja, longitud de panoja, diámetro de grano, peso de 100 semillas, porcentaje de saponina y rendimiento en parcela. Se observó una similitud mayor del 68,5%

evidenciando de esta manera dos poblaciones de individuos Grupos A y B, con características fenotípicas definidas. En base a los resultados se puede evidenciar que el Grupo B presenta los mejores atributos, en función de los caracteres analizados. Por tanto, la variabilidad genética asegura una buena recombinación para tener genes favorables y homogéneos con alto valor comercial.

También, Mujica y Jacobsen (2006) investigaron la diversidad y variabilidad en usos de la quinua y los parientes silvestres (*Chenopodium carnosolum*, *C. petiolare*, *C. pallidicaule*, *C. hircinum*, *C. quinoa subsp. melanospermum*, *C. ambrosoides* y *C. incisum*), estas son conocidas y utilizadas por los campesinos andinos, puesto que cada especie y ecotipo es utilizado en forma diferenciada en la alimentación, medicina, ritual y en la transformación. El uso de las especies de *Chenopodium* es como planta entera o parte de la misma. Podemos encontrar la diversidad de formas (ramificada o sencilla), tamaño (hasta 2 m), color de la panoja (blanca, amarilla, morena, negra), diversidad en precocidad (3-8 meses), tamaño de grano (hasta 3.5 mm), formas de inflorescencia, características agronómicas diferenciales como son estrías en el tallo, parámetros genéticos, componentes de rendimiento y otras, de la especie cultivada, así como la diversidad de los parientes silvestres.

1.2.Objetivos

- Objetivo General

Caracterizar las diferentes accesiones de quinua (*C. quinoa* Willd) en base a sus características morfométricas y genóticas mediante técnica de RAPDs.

- Objetivos Específicos

Identificar las características morfológicas de las accesiones de (*C. quinoa* Willd) mediante 14 descriptores morfométricos.

Analizar la relación filogenética entre las accesiones de quinua (*C. quinoa* Willd) en base a la técnica de RAPDs.

Correlacionar la variabilidad genética con los caracteres morfométricos de las accesiones de quinua (*C. quinoa* Willd).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales

Extracción de ADN

- CTAB
- Cloruro de sodio 5 M
- EDTA 0,5 M
- TRIS 1 M
- Polyvinylpyrrolidone
- B - Mercaptoethanol
- Agua destilada
- Proteinasa K
- Cloroformo
- Isoamil - alcohol
- RNase
- Isopropanol
- Etanol 70%

RAPDs por PCR

- Buffer TBE
- Agarosa
- SYBER Safe 10%
- Ladder
- Dream taq Máster mix
- Agua Ultra Pure

Equipos

- Baño María
- Cámara de electroforesis
- Termociclador
- Vortex
- Transiluminador
- Centrífuga
- Balanza analítica
- Microondas
- Autoclave

Materiales de vidrio y otros

- Espátula
- Eppendorf de 2 ml
- Tubos para PCR de 0,2 ml
- Mortero
- Juego de micropipetas
- Guantes
- Matraces
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Botella autoclavable
- Puntas para pipetas
- Gradillas
- Muestras vegetales
- Azadón
- Rastrillo
- Cintas de goteo
- Abono de cuy

2.2. Métodos

1.2.1. Material Vegetal

Las diferentes accesiones de quinua (*C. quinoa*) se recolectaron en la zona centro del Ecuador comprendida entre la provincia de Tungurahua y Chimborazo entre los meses Abril-Agosto (Tabla N° 1).

Para la siembra de las accesiones de *C. quinoa* se realizaron surcos de 15 m de largo por 60 cm de ancho con caminos de 80 cm de ancho y riego por goteo. La distancia de siembra se realizó a 20 cm entre planta, colocando 4 semillas por punto, adicionalmente para la fertilización se aplicó abono de cuy.

El ensayo de la investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental Querochaca, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Técnica de Ambato, situada en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua, a la latitud de 1° 22'02" Sur y longitud de 78° 36' 22" Oeste, con altitud de 2 850 msnm, el suelo se caracteriza por la presencia de materiales amorfos y ceniza volcánica con una textura franco arenoso, presentó una reacción neutra a ligeramente alcalina, esta zona posee una temperatura promedio anual 13,6 °C; pluviosidad promedio anual 465 mm; humedad ambiental 75,1% y velocidad del viento 1,7 m/s. (INAMHI, 2017)

Tabla 1. Recolección de Accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd

| Código | Sector | Epoca de Siembra | Epoca de Cosecha | Sistema de Riego | Cultivo Anterior | Latitud | Longitud | Altura msnm | Usos |
|---------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------|-----------------|--------------------|-------------|
| A | Palacio Real - Ch. | Nov | May | Estacional | Cebada | 1°37'36" S | 78°44'59" W | 3229 | Con. propio |
| B | Palacio Real - Ch. | Nov | May | Estacional | Cebada | 1°37'36" S | 78°44'59" W | 3229 | Con. propio |
| C | Colta - Ch. | Oct | Abr | Estacional | Cebada/Avena | 1°43'32" S | 78°45'21" W | 3313 | Venta |
| D | Colta - Ch. | Oct | Abr | Estacional | Cebada/Avena | 1°43'32" S | 78°45'21" W | 3314 | Venta |
| E | Colta - Ch. | Oct | Abr | Estacional | Cebada/Avena | 1°43'32" S | 78°45'21" W | 3315 | Venta |
| F | Ambatillo - Tun. | Oct | Abr | Estacional | Cebada | 1°13'20" S | 78°39'34" W | 3235 | Venta |
| G | Colta - Ch. | Oct | Abr | Estacional | Cebada | 1°42'56" S | 78°39'34" W | 3226 | Venta |
| H | Colta - Ch. | Oct | Abr | Estacional | Cebada | 1°42'55" S | 78°45'59" W | 3224 | Venta |

Elaborado por: Sánchez, S. (2019)

- **Caracterización Genotípica**

Extracción de ADN

En la caracterización genotípica se realizó extracciones de ADN genómico en base al protocolo reportado por Winnepenninckx B. *et al.* (1993), para lo cual se pesaron 100 mg de semillas de quinua posteriormente se trituraron las muestras en un mortero y se agregó 500 μ L de buffer de extracción de CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio). La muestra fue recolectada y aforada a 1 ml en un tubo de 2 ml.

Las muestras fueron incubadas en baño María a 65 °C durante 1 hora y después se centrifugó a 10000 rpm por 10 minutos para eliminar proteínas y remanentes. Posteriormente se transfirió la fase acuosa a un nuevo tubo y se adicionó 600 μ L de cloroformo + isomil alcohol en una relación (24:1). La solución se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos y la fase acuosa es transferida a un nuevo tubo, donde se adicionaron 20 μ L de RNasa, más tarde se llevó a agitación durante 15 segundos. Las muestras nuevamente fueron incubadas en baño María por 30 minutos a 37 °C, luego se adicionó 600 μ L de Isopropanol y se colocaron a -20 °C durante 1 hora con el fin de precipitar el ADN. Una vez transcurrido el tiempo de incubación en frío se centrifugó a 10 000 rpm por 10 min y a continuación, se retiró el sobrenadante, dejando solo el precipitado de ADN. Para la purificación de ADN se añadió 1 ml de etanol al 70% y se centrifugó a 5 000 rpm por 3 min para retirar el solvente y precipitar el ADN. Se dejó evaporar completamente el solvente y se disolvió en 200 μ L de buffer TBE a baño María a 37 °C por 3 minutos. Las muestras fueron almacenadas -20 °C hasta ser analizadas.

PCR mediante RAPDs

La técnica por RAPDs se realizó mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) usando Dream Tag Polimerase (Thermo Fisher). El volumen para cada muestra fue de 12,5 μ L donde se colocó la Dream tag Master Mix 10 μ L, Primers 0,1 μ L (los primers se detallan en la siguiente Tabla N° 2, agua estéril libre de ADNasas y 10 ng/ μ L aproximadamente de ADN de cada accesión.

Tabla 2. Primers de secuencia arbitraria usadas para el análisis de datos

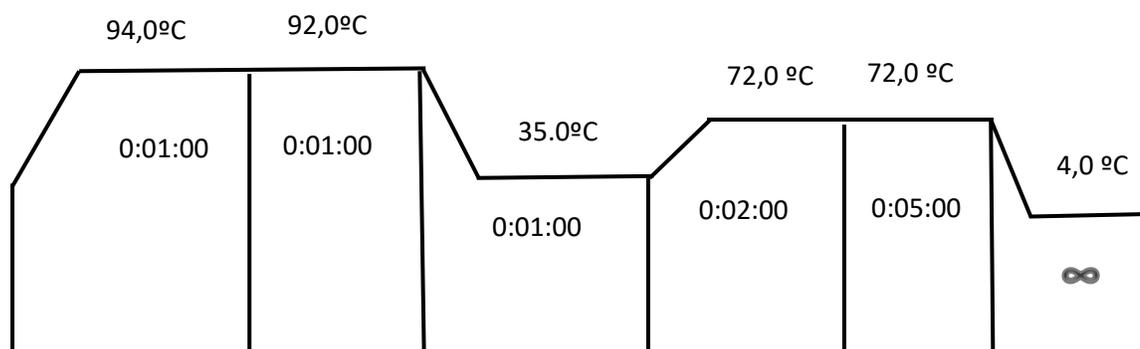
| GEN | PRIMERS | T _m |
|--------|---------------------|----------------|
| OPA 2 | 5' TGC CGA GCT G 3' | 34 |
| OPH 3 | 5' AGA CGT CCA C 3' | 32 |
| OPH 5 | 5' AGT CGT CCC C 3' | 34 |
| OPO 5 | 5' CCC AGT CAC T 3' | 32 |
| OPO 15 | 5' TGG CGT CCT T 3' | 32 |
| OPR 10 | 5' CCA TTC CCC A 3' | 32 |
| OPR 13 | 5' GGA CGA CAA G 3' | 32 |
| OPS 3 | 5' CAG AGG TCC C 3' | 34 |
| OPS 20 | 5' TCT GGA CGG A 3' | 32 |
| OPT 7 | 5' GGC AGG CTG T 3' | 34 |

Elaborado por: Sánchez, S. (2019)

Fuente: Castillo et.al, (2006)

Las muestras se amplificaron siguiendo las condiciones de amplificación para RAPDs reportadas por Oliveira *et al.*, (2007). La reacción de PCR se realizó en un termociclador (Applied Biosystems) con el programa que se describe a continuación: 3 minutos a 94 °C para la desnaturalización inicial del ADN, seguido de 40 ciclos de 94 °C con un tiempo de rampa de 1 min, seguido de 35 °C durante 1 min para la temperatura de hibridación del ADN y después 2 min y 5 min seguidos a 72 °C temperatura de reacción del ADN polimerasa donde se polimerizó el fragmento de ADN deseado (Figura N°1).

Figura 1. Condiciones del programa de PCR para cada RAPDs



Elaborado por: Sánchez, S. (2019).

Fuente: Oliveira et, al. (2007).

La reacción de amplificación se repitió con varios cebadores para verificar la consistencia de los resultados. Para la visualización de los productos amplificados de ADN se realizó una electroforesis, mediante geles de agarosa al 1,4% y syber safe (Thermo Fisher) como agente visualizador. Los geles fueron revelados bajo luz ultravioleta con ayuda de un transluminador (Labnet) y se documentó mediante imagen escaneada en formato TIFF.

Procesamiento de datos para Análisis Genómico

Para establecer la relación filogenética en base a los resultados proporcionados por los marcadores moleculares se utilizó el programa PyEIp versión 1.3. El programa estimó de manera automática la presencia de bandas correspondientes a cada fragmento amplificado con todo el primers en estudio. A partir de algoritmos propios del programa se asignó una codificación binaria, donde el valor numérico de 1 corresponde a presencia y 0 a ausencia de las bandas en cada accesión por primer. El resultado del análisis generó un dendograma empleando un secuencial, aglomerado, jerárquico y agrupamiento anidado de todas las accesiones, mediante el programa estadístico R.

- **Caracterización Morfométrica**

La caracterización de las diferentes accesiones de quinua recolectadas se realizó en base a lo reportado por Bioersivity Internacional y FAO (2013), al final de la etapa de floración mediante los descriptores detallados a continuación:

1. Atura de la planta (cm)
2. Diametro del tallo (cm)
3. Número de ramas primarias
4. Longitud del peciolo (cm)
5. Longitud de hoja (cm)
6. Ancho hoja (cm)
7. Número de dientes hoja
8. Longitud de panoja (cm)
9. Diámetro de panoja (cm)
10. Diámetro del grano (mm)
11. Espesor del grano (mm)
12. Peso de 100 granos (g)
13. Peso hectolítro (g/l)
14. Rendimiento semilla por planta (g)

- **Análisis Estadístico de Datos**

El experimento fue conducido en un diseño completamente al azar, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y aquellos que mostraron diferencias significativas fueron comparados mediante prueba de Tukey al 0.05% de probabilidad, usando el paquete estadístico InfoStat.

Adicionalmente, se generó un dendograma empleando un secuencial, aglomerado, jerárquico y agrupamiento anidado de todas las accesiones, mediante el programa estadístico R.

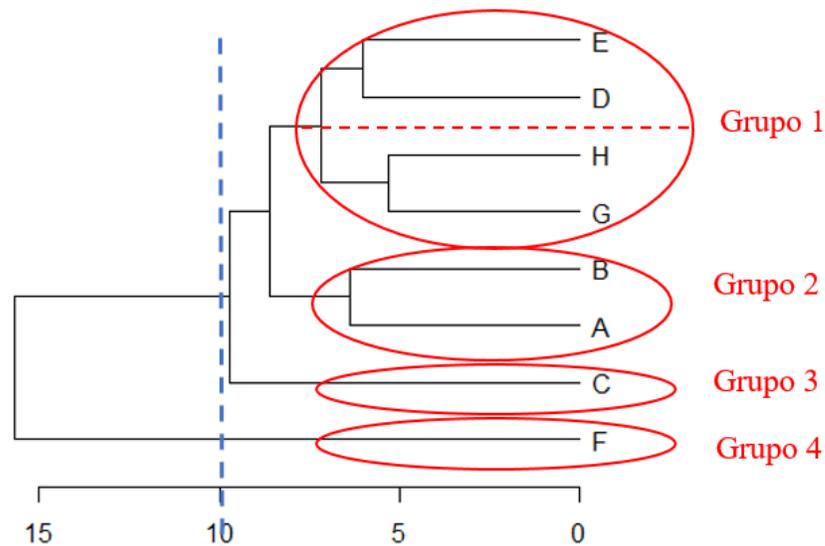
En la caracterización genotípica se tomó como referencia un coeficiente de 10 como punto de corte o línea base para diferenciar “clusters” o agrupamientos de las accesiones. En la Figura N°3 se pueden observar cuatro grupos bien diferenciados, el **Grupo 1** que está formado por las accesiones E, D, H, G, con una distinción de dos subgrupos, el uno consiste en las accesiones E, D que provienen de la localidad de Colta a un piso altitudinal de 3 315 msnm; mientras que el otro subgrupo lo integran las accesiones H, G que provienen de la misma localidad a un piso altitudinal menor (2 226 msnm). En el **Grupo 2** se ubican las accesiones B y A se encuentran relativamente más alejadas del primer grupo, sin embargo, entre estas se puede decir que existe una relación filogenética, debido a que estas se encuentran a una misma elevación o en un mismo piso climático, localidad Palacio Real – Chimborazo ubicada a 3 229 msnm. Por otro lado, en el **Grupo 3** se ubica la accesión C, la cual proviene de la localidad de Colta, pero en este debe provenir de la combinación genética debido a los cruces entre plantas de la misma especie. Finalmente, en el **Grupo 4** se encuentra la accesión F, la cual es la accesión que tiene una menor relación filogenética con las otras accesiones de estudio y podrá categorizarse como una variedad, además se puede recalcar que dicha variación puede deberse a la localidad de origen (Ambatillo- Tungurahua) y su piso climático se encuentra ubicado a 3 235 msnm.

El estudio filogenético hace evidente que el lugar de origen, la distribución geográfica y condiciones agroclimáticas están directamente relacionadas como la variación genética, como lo reportan en estudios de Castillo *et al.* (2007), al estudiar la variación genética de 8 accesiones de quinua representativas del altiplano y los valles interandinos de Bolivia. Mediante la técnica por marcadores RAPDS se observó una alta variación intrapoblaciones, destacando que dichas variaciones pueden deberse probablemente a las barreras climáticas y orográficas presentes en las zonas de recolección. De la misma manera, Ruas *et al.* (1999), evidenciaron que los patrones morfológicos generados por los perfiles de RAPDS muestran diferentes grados de relación filogenética entre 19 accesiones de *Chenopodium*, sin embargo, se encontró poca variabilidad intraespecífica. Cabe recalcar en esta investigación que los marcadores RAPs fueron una herramienta útil para la detección de variaciones génicas dentro del género *Chenopodium*. También, Morillo *et al.* (2017), manifestaron que en términos generales los agrupamientos

existentes entre las diferentes accesiones correspondieron con el sitio geográfico donde fueron colectados los materiales de quinua, al caracterizar la diversidad genética de 55 materiales de quinua con siete marcadores microsatélites RAMs, el análisis mediante el coeficiente de Nei-Li a un nivel de similitud de 0,65 dividió a la población en cuatro grupos de acuerdo al sitio de procedencia de los materiales.

En base a nuestros resultados y las investigaciones previas desarrolladas se puede decir que los marcadores moleculares RAPDs son útiles para el análisis de variaciones genéticas permitiendo establecer relaciones filogenéticas en intrapoblaciones. La presente investigación hace evidente que la variación genética es esencial para comprender la organización de la diversidad biológica del cultivo en función de su distribución eco geográfica como se ha mostrado con las accesiones y su agrupamiento a distintos pisos altitudinales. De hecho, la identificación de grupos genéticamente distintos es un requisito previo para la elaboración de estrategias de conservación, así como para el manejo de los recursos genéticos en los programas de mejoramiento genético.

Figura 3. Dendrograma genotípico de las Accesiones de *C. quinoa* Willd



Elaborado por: Sánchez, S. (2019)

- **Caracterización Morfométrica**

Al efectuar el análisis de varianza de la caracterización de las distintas accesiones de quinua recolectadas (Tabla N° 3) se observó que existen diferencias estadísticas entre las características morfométricas estudiadas.

En la **altura de la planta** se presentaron cuatro rangos de significancia, la accesión D es la que presenta la mayor altura con una media de 209,3 cm, mientras que la accesión H con una media de 145,3 cm presenta la menor altura; al estudiar el **diámetro del tallo** existieron dos rangos de significancia, la accesión F con 2 cm presentó mayor diámetro a comparación de la accesión G con 1,52 cm; en el desarrollo de **ramas primarias** existieron cuatro rangos de significancia, mostrando a la accesión D con una media de 28,2 unidades como la más ramificada en comparación con la accesión A con 14,6 unidades; en la **longitud del peciolo** se presentaron tres rangos de significancia y la accesión E con 4,56 cm obtuvo una mayor longitud, superando a la accesión G con una media de 3,05 cm; en la **longitud de hoja** existen dos rangos de significancia, con una media de 7,25 cm la accesión F es mejor que la C al presentar 6,22 cm de longitud; al revisar el **ancho de hoja** el análisis nos muestra tres rangos de significancia donde la accesión G con 6,21 cm es mejor que la C que posee 4,41 cm de ancho; en la **variable número de dientes de la hoja** la accesión G supera a la H con medias de 18,1 y 10,0 unidades, respectivamente.

La **longitud de la panoja** presentó tres rangos de significancia, siendo la accesión C con una media de 49,0 cm mayor en comparación con la H donde se presentó una media de 34,5 cm; dos rangos de significancia presentó el **diámetro de panoja** siendo mayor en la accesión D con 21,5 cm y menor las accesiones B y G con una media de 14,4 cm; en el diámetro del grano la accesión G obtuvo 2,17 mm siendo la de mayor diámetro en comparación con la accesión H que obtuvo una media de 1,90 mm, además se presentaron dos rangos de significancia; en el **espesor del grano** existieron tres rangos de significancia siendo el mejor la accesión G con 1,24 y con 0,98 mm la accesión H fue la inferior; al **pesar 100 granos** de quinua se obtuvo tres rangos de significancia teniendo en mayor

peso la accesión G con 0,36 g y las de menor peso la B y C con 0,24 g; en el **peso hectolitro** existieron 5 rangos de significancia siendo la accesión C con 654,0 gr/L la mayor en comparación con la accesión B con 545,0 gr/L; y en el **rendimiento por planta** se observaron 4 rangos de significancia teniendo una elevada cantidad la accesión H con 131,29 g y de menor cantidad la accesión G con una media de 8,64 g.

Tabla 3. Caracterización Morfométrica de la Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

| Accesiones | Atura de la planta (cm) | Diámetro del tallo (cm) | Numero de ramas primarias | Longitud del peciolo (cm) | Longitud de hoja (cm) | Ancho hoja (cm) | Número de dientes hoja | Longitud de panoja (cm) | Diámetro de panoja (cm) | Diámetro del grano (mm) | Espesor del grano (mm) | Peso de 100 granos (g) | Peso hectolítro (g/L) | Rendimiento semilla por planta (g) |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| A | 154,3 cd | 1,59 b | 14,6 d | 3,69 abc | 6,62 ab | 4,95 bc | 12,9 cd | 37,1 bc | 17,1 ab | 2,00 ab | 1,03 bc | 0,28 bc | 637,0 abc | 70,71 b |
| B | 153,6 cd | 1,61 b | 22,1 abc | 3,86 abc | 7,10 ab | 6,15 a | 15,5 abc | 33,0 c | 14,4 b | 2,06 ab | 1,02 bc | 0,24 c | 545,0 e | 20,24 cd |
| C | 169,9 bc | 1,54 b | 21,0 bc | 3,37 bc | 6,22 b | 4,41 c | 13,9 bcd | 36,9 bc | 16,0 b | 2,03 ab | 1,00 bc | 0,24 c | 583,0 cde | 44,14 bcd |
| D | 209,3 a | 1,76 ab | 28,2 a | 3,12 c | 6,79 ab | 5,63 ab | 16,4 abc | 49,0 a | 21,5 a | 2,03 ab | 1,07 bc | 0,31 b | 654,0 a | 58,75 bc |
| E | 162,4 bcd | 1,54 b | 21,4 bc | 4,56 a | 7,04 ab | 5,95 a | 17,1 ab | 37,7 bc | 16,0 b | 2,10 a | 1,08 b | 0,29 b | 644,0 ab | 39,63 bcd |
| F | 186,5 ab | 2,00 a | 20,2 bcd | 3,23 c | 7,25 a | 6,07 a | 13,3 bcd | 45,1 ab | 18,6 ab | 2,13 a | 1,07 bc | 0,27 bc | 592,0 bcde | 32,70 bcd |
| G | 155,4 cd | 1,52 b | 15,9 cd | 3,05 c | 6,80 ab | 6,21 a | 18,1 a | 37,2 bc | 14,4 b | 2,17 a | 1,24 a | 0,36 a | 576,0 de | 8,64 d |
| H | 143,5 d | 1,68 ab | 23,6 ab | 4,2 ab | 6,28 b | 4,95 bc | 10,0 d | 34,5 c | 15,3 b | 1,90 b | 0,98 c | 0,25 c | 620,0 abcd | 131,29 a |
| C.V.¹ | 11,16 | 14,93 | 21,56 | 18,98 | 9,81 | 10,12 | 20,23 | 17,92 | 23,57 | 6,85 | 6,8 | 11,21 | 6,72 | 28,43 |
| E.E.² | 5,98 | 0,08 | 1,42 | 0,22 | 0,21 | 0,18 | 0,94 | 2,2 | 1,24 | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 12,89 | 10,77 |
| P-valor³ | <0.001 | 0.0006 | <0.0001 | <0.0001 | 0.0053 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.0017 | 0.0023 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |

a-b*Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey P < 0,05). 1 C.V.: Coeficiente de Variación (%). 2E.E.: Error estándar. 3P.: Probabilidad.

- Caracterización Morfométrica

En la Figura N° 4, de la caracterización morfométrica se tomó como línea base o punto de corte un coeficiente de seis, consiguiendo observar tres grupos bien definidos, el **Grupo 1** está formado por cinco accesiones E, A, B, C, H; en este grupo se encuentran subgrupos, el uno formado por las accesiones E, A y B, que poseen un parentesco en la altura de planta (162-153 cm), longitud de la hoja (7,10-6,62 cm), espesor del grano (1,8 mm-1.02 mm) y diámetro de tallo (1,61-1,64 cm); por otro lado el segundo subgrupo está formado por la accesión C donde se resalta una mayor altura de la planta (169,9 cm), pero poseen un menor ancho de hoja (4,41 cm) en comparación con las otras accesiones dentro del grupo; el tercer subgrupo formado por la accesión H, la cual muestra un mayor rendimiento (131,29 g) y un menor número de dientes por hoja (10) y diámetro de grano (1,90 mm) al comparar con las otras accesiones.

En el **Grupo 2** las accesiones F y D, se agrupan mostrándonos un alto parentesco entre el diámetro de la panoja (18,6-21,5 cm), altura de planta (185,5-209,3 cm), longitud de la panoja (45,1-49 cm), diámetro del tallo (1,76-2 cm), espesor del grano (1,07 mm) y longitud de la hoja (6,79-7,25 cm), a pesar de ser accesiones localizadas en distintas provincias, pero convergen en que son cultivadas en pisos altitudinales muy cercanos lo cual puede influir directamente en la morfología de la planta y se han agrupado dentro del mismo clúster.

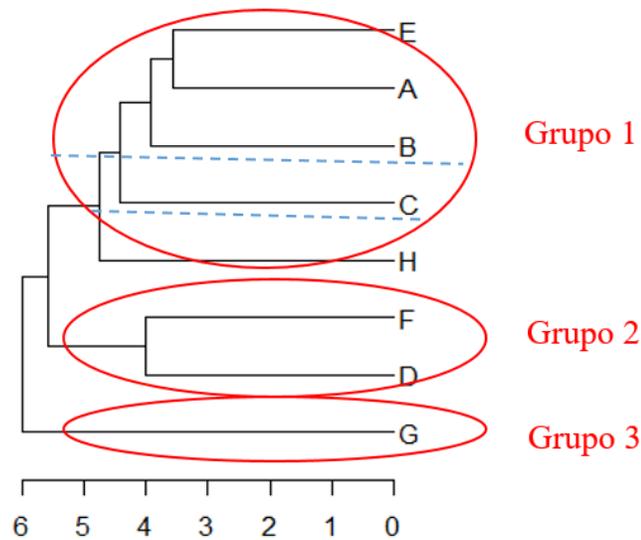
El **Grupo 3** está formado por la accesión G, donde las variables con mayores diferencias sobre el resto de las accesiones son el peso de 100 granos (0,36 g), espesor del grano (1,24 mm), ancho de la hoja (6,21 cm), número de dientes de la hoja (18,1) y diámetro del grano (2,17 mm), que han presentado resultados sobre la media en comparación con otras accesiones;

La caracterización morfológica permite diferenciar variedades de quinua en base la observación y medición de descriptores establecidos (Bioversity Internacional y FAO 2013), además establecer relaciones filogenéticas entre accesiones mediante

agrupamientos en dendogramas y así hipotetizar alta variedad genética entre ellas pudiendo deberse a cruces con otras variedades o variedades silvestres, adaptación al entorno, etc.

Ormeño (2015) a través de sus estudios realizados en *C. quinoa* evidenció que ciertas variedades silvestres pueden ser catalogadas como variedades comerciales de quinua aun presentando características fenotípicas completamente similares. Estas variedades muestran una gran variedad fenotípica mostrando semillas de color oscuro hasta el blanco y/o diferentes niveles de saponina, que son elevados a comparación de las variedades cultivadas. Además, las condiciones agroclimáticas de la zona pueden haber influido en dicha morfología.

Figura 4. Dendrograma morfométrico de las Accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd



Elaborado por: Sánchez, S., 2019

Los resultados presentados permiten establecer gran variabilidad mediante las diferencias morfométricas entre las accesiones de *C. quinoa* recolectadas en distintas localidades de las provincias de Chimborazo y Tungurahua, como se observa en la tabla N^o 3 y en el dendrograma, estas diferencias permiten inferir que la variabilidad está directamente afectada por su genotipo, el cruce intra o interespecie o también pueda deberse a las

condiciones agroclimáticas, gracias a su amplia distribución en la zona interandina de Ecuador.

Estudios previos realizados en zonas específicas de Bolivia por Del Castillo y Winkel (2017), muestran que la quinua (*C. quinoa* Willd.) presenta una gran variación genética, tanto molecular como morfológica. A partir de análisis estadísticos y un secuencial, aglomerado, jerárquico y agrupamiento anidado de todas las accesiones de estudio presentado a manera de dendrograma, evaluaron los caracteres morfo-fenológicos (altura de planta, diámetro de la panoja, número de ramificaciones, peso de 100 granos, índice de cosecha y fertilidad) registrados desde la emergencia hasta la madurez fisiológica en siete poblaciones de quinuas cultivadas, concluyendo que los resultados tienen relación con el origen geográfico de las poblaciones recolectadas.

Así mismo, Torres, Vargas, Corredor y Reyes (2000), ratificaron en su investigación que los cultivares provenientes de zonas distintas presentan diferencias entre sí, ellos estudiaron la variabilidad genética y la adaptación en la Sabana de Bogotá de la colección de quinua correspondiente a la Prueba Americana y Europea, comparando 49 características morfológicas y agronómicas, donde las variables evaluadas como color del grano, altura de planta, color de tallo, color de estrías, presencia de axilas pigmentadas entre otras existió el 88,12% de la variación total entre las colecciones de las zonas seleccionadas.

Muchos autores confirman que la morfología de la quinua está determinada por la zona de origen o la ubicación geográfica de las accesiones estudiadas, tal como lo menciona Allende (2014), en sus estudios a partir de caracteres morfológicos (altura de planta, diámetro de la panoja, diámetro de tallo y longitud de panoja) los cuales mostraron variación morfo-fenológica entre las accesiones provenientes del Altiplano y Valle Interandino del Perú.

- **Relación genética y fenotípica**

En base al análisis genético encontramos 4 Grupos diferenciados entre las accesiones: grupo 1 (E, D, H, G), grupo 2 (B, A), grupo 3 (C) y grupo 4 (F) mientras que en el análisis morfométrico solo encontramos tres agrupaciones grupo 1 (E, A, B, C, H) grupo 2 (F, D) y grupo 3 (G), como se puede observar las características morfológicas no son suficientes para relacionar a todas las accesiones con su clasificación mediante RAPDs, sin embargo, al menos dos de ellas fueron posibles de correlacionar. Estudios integrativos son requeridos entre la morfología y la genética utilizando diversas técnicas moleculares para robustecer la caracterización de una especie.

Además, se debe recordar que la técnica de RAPDs cuyo fundamento se basa en evaluar polimorfismos de secuencias de ADN al azar dentro del genoma, en este caso de la quinua, no siempre está relacionado con genes que determinen caracteres en la planta, sino que pueden estar relacionados con genes a nivel metabólico y funcional, entre otros. El genoma de la quinua posee 44 776 genes (phytozome.net), de los cuales solo el 10% están relacionados con caracteres fenotípicos y aun se siguen investigando para la elaboración de mapas genéticos, lo cual hace evidente que técnicas como RAPDs no siempre se asocien a dichos caracteres.

Sin embargo, el estudio añade un gran valor agregado, ya que a nivel morfológico se puede llegar a una aproximación bastante cercana de la variabilidad genética intra-especies, pero no establece una certeza absoluta. Actualmente, estudios realizados por Rodríguez, L. y Thomet, Max. (2009). de caracterización se ven complementados con análisis genéticos para evaluar variabilidad en base a su ADN, lo cual puede derivar en estudios posteriores de mejorar genética de manera precisa, resistencia a plagas y/o enfermedades y resistencia a condiciones ambientales agresivas.

Rodríguez y Thomet, (2009) estudiaron el nivel de polimorfismo y la relación genética mediante marcadores moleculares utilizando el fragmento amplificado RFLPs. Con estas herramientas, fue posible identificar diferencias moleculares y similitudes que podrían ser asociados con importantes rasgos morfológicos como el color del grano, color de la

panícula, fenología y sobre todo distribución geográfica, como se evidencia también en el presente estudio

Como se ha mencionado con anterioridad, la quinua muestra una diversidad genética, que la ha catalogado como una especie con enormes capacidades de adaptación (Morillo *et al.*, 2017 y Núñez, 2011), principalmente representada en una amplia gama de caracteres como la coloración de las plantas, flores, semillas pero también por otros caracteres no tan visibles que requieren análisis complementarios como el contenido de saponina, contenido de proteínas, etc.

Actualmente, los estudios de diversidad genética en quinua solo se enfocan en la comparación morfológica y bioquímica entre variedades de los países andinos y variedades locales. Sin embargo, los marcadores moleculares ofrecen una mayor y más profunda precisión, en comparación con otros marcadores para identificar y caracterizar individuos altamente relacionados. Los marcadores moleculares son considerados como excelentes y precisas técnicas de estudio para establecer diversidad genética y mejora basada en el ADN (Allende, 2014).

3.2. Verificación de la hipótesis

Ha= Existe variabilidad genética y morfométrica en las accesiones de quinua (*C. quinoa* Willd) recolectadas en la zona centro del país.

Se acepta la hipótesis alternativa (Ha):

Mediante el análisis secuencial, aglomerado, jerárquico y agrupamiento anidado de todas las accesiones de estudio presentado a manera de dendrograma tanto para la caracterización genotípica y morfológica se establecen diferentes agrupamientos entre todas las accesiones de quinua (*C. quinoa* Willd) recolectadas en la zona centro del país; estas variaciones pueden adjudicarse a presencia de variedades silvestres.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

Se caracterizó morfológicamente a las diferentes accesiones de quinua recolectadas en las provincias de Chimborazo y Tungurahua, donde existieron variaciones notorias entre las mismas, estos descriptores de caracterización han permitido una discriminación fácil y rápida entre fenotipos. Se evidencian tres grupos **Grupo 1** el cual está formado por las accesiones E, A, B, C, H, con una distinción de dos subgrupos, el primer subgrupo con las accesiones E, D y el segundo subgrupo por las accesiones H, G: la formación de estos subgrupos se puede adjudicar a que provienen de diferentes localidades. En el **Grupo 2** se ubican las accesiones F y D entre estas se puede decir que existe una relación filogenética, debido a que estas se encuentran a una misma elevación o en un mismo piso climático. En el **Grupo 3** se ubica la accesión G la cual es la accesión que tiene una menor relación filogenética con las otras accesiones.

Por otro lado, se analizó la relación filogenética entre las accesiones de quinua (*C. quinoa* Willd) empleando la técnica de RAPDs, obteniendo en el dendrograma similitud en algunas accesiones de quinua como E, D, H, G, B y A que formaron el Grupo 1; mientras que las accesiones B y A generaron un segundo agrupamiento al que se denominó Grupo 2, en el grupo 3 se encuentran agrupadas la accesión C y finalmente en el Grupo 4 se encuentra la accesión F. Se aprecia en general, la existencia de gran variabilidad genética, lo cual hace evidente que es una especie resiliente que se ve reflejado en beneficios como resistencia a estrés abióticos (sequia, heladas, salinidad) o resistencia a factores bióticos como plagas.

Finalmente, se ha correlacionado la variabilidad genética con los caracteres morfométricos de las accesiones de quinua (*C. quinoa* willd), de la cual podemos decir que los caracteres morfológicos no son suficientes para relacionar a todas las accesiones con su clasificación mediante RAPDs, sin embargo, al menos dos de ellas fueron posibles de correlacionar (B y F). Estudios integrativos son requeridos entre la morfología y la genética utilizando diversas técnicas moleculares para robustecer la caracterización de una especie.

CAPÍTULO V

MATERIALES DE REFERENCIA

5.1. Referencias bibliográficas

Allende, M. J. (2014). Caracterización morfológica y molecular de accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) para estimar variabilidad genética. Universidad Nacional de Villa María. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1860/L01.L555-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Bioersity Internacional, FAO, PROINPA, INIAF, FIDA. (2013). Descriptores para quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y sus parientes silvestres. Roma, Italia.

Del Castillo, C., y Winkel, T. (2017). Variación fenotípica intra- e inter-poblaciones en siete poblaciones de quinua del Altiplano boliviano. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 1(1), 58–64. Recuperado de: <http://ojs.agro.umsa.bo/index.php/RIIARn/article/view/33/34>

Del Castillo, C., Winkel, T., Mahy, G., y Bizoux, J. (2007). Genetic structure of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from the Bolivian altiplano as revealed by RAPD markers. *Genet Resour Crop Evol*, 54. 897-905. doi 10.1007/s10722-006-9151-z

FAO. (2011). La Quinoa: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. F. Oficina Regional para America Latina y el Caribe, Ed. Bolivia. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2009.03.010>

Fuentes, S. (2004). Caracterización de la variabilidad genética de *Chenopodium quinoa* Willd. Por Análisis Isoenzimático y de RAPD (Tesis de Pregrado). Universidad Mayor de San Andrés.

- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, INAMHI. (2017). Anuario Meteorológico N° 53-2013. Quito-Ecuador. Recuperado de: http://www.serviciometeorologico.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/Am_2013.pdf
- Llano, W. (2012). Caracterización morfológica y componentes de rendimiento de compuestos avanzados de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en dos localidades del Valle de Mantaro (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Morillo, A., Castro, M., y Morillo, Y. (2017). Caracterización de la diversidad genética de una colección de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). Biotecnología En el sector Agropecuario y Agroindustrial, 15(2), 49. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(15\)49-56](https://doi.org/10.18684/bsaa(15)49-56)
- Mujica, A., y Jacobsen, S. (2006). Botánica económica de los andes centrales editado por. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, (1), 449–457.
- Núñez, E. (2011). Análisis molecular de la diversidad intra accesional de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) Y Cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) Mediante Marcadores Aflp'S. Lima - Perú. 25.
- Oliveira, M., Regitano, L., Roese, A., Anthonisen, D., Patocínio, E., Parma, M., Mansur, S., Belem, W. y Neto, S. (2007). Fundamentos teórico-prácticos e protocolos de extração e de amplificação de dna por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. Sao Carlos, Brazil: Embrapa Pecuária Sudeste. 43.
- Ormeño, J. (2015). Agrupamiento de 16 accesiones peruanas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) En relación al origen utilizando marcadores SSR (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima - Perú.

Paulo M. (1999). Department of Botany and Range Science, Brigham Young University, Provo, Utah, U.S.A Parana, Brasil – 86051-990

Phytozome V 12.1. The Plant Comparative Genomics portal of the Department of Energy's Joint Genome Institute. Recuperado de <http://www.phytozome.net>

Rodríguez, L. y Thomet, Max. (2009). Comparative analysis of genetic and morphologic diversity among quinoa accessions (*Chenopodium quinoa* Willd.) of the South of Chile and highland accessions. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(5).210-216.

Ruas, P., Bonifacio, A., Ruas, C., Fairbanks, D. y Andersen, W. (1999). Genetic relationship among 19 accesions of six species of *Chenopodium L.*, by Random Amplified Polymorphic DNA fragments (RAPD). *Euphytica*, 105. 25-32.

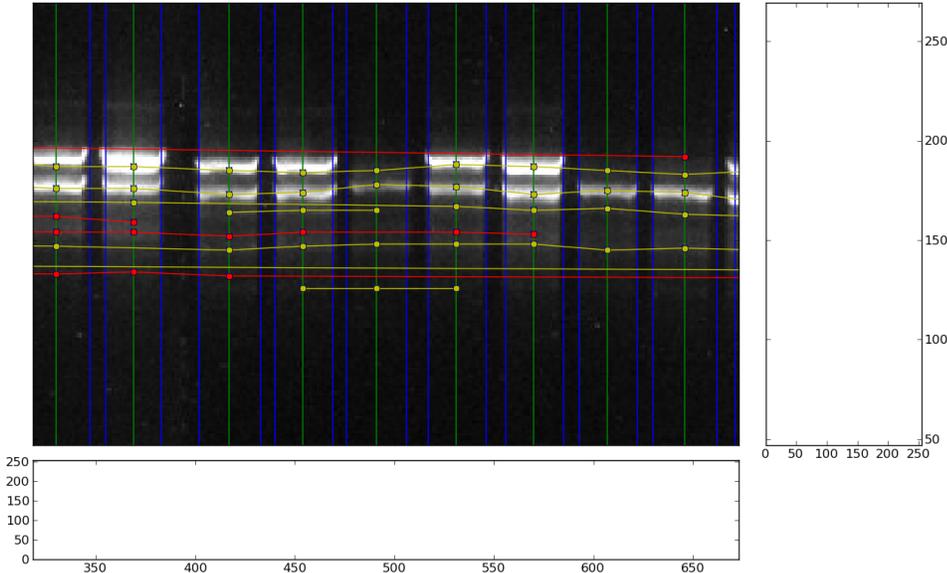
Torres, J., Vargas, H., Corredor, G., y Reyes, L. (2000). Caracterización Morfoagronómica de diecinueve cultivares de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en la Sabana de Bogota. *Agronomía Colombiana*, 17, 60–68.

Vía, R., y Fernández, R. (2015). Determinacion de la Diversidad Genética de 172 Accesiones de la Colección Nacional de *Chenopodium quinoa* Willd. “Quinoa” mediante Marcadores Microsatélites (Tesis de pregrado). Universidad Ricardo Palma.

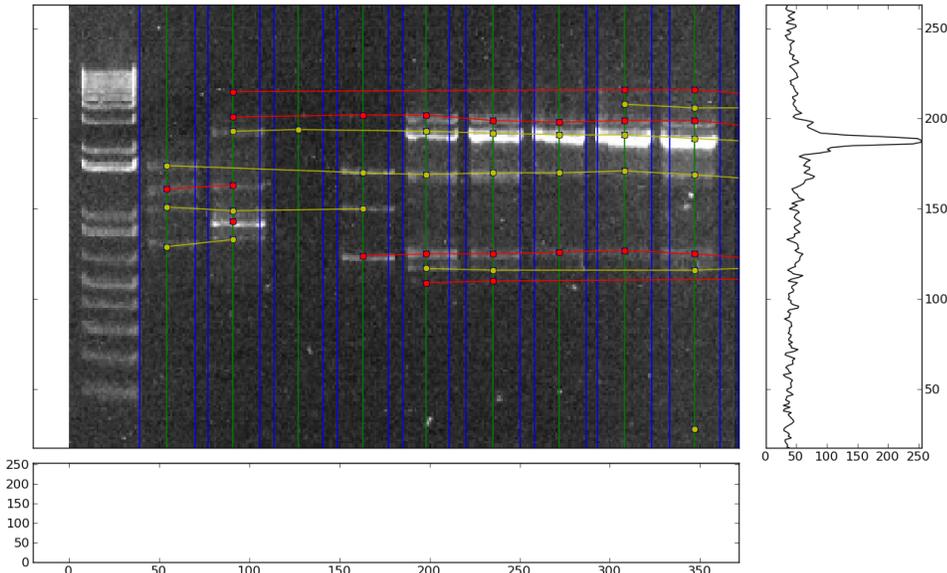
Winnepenninckx, B., Backeljau T. y De Wachter R. (1993) Extraction of high molecular weight DNA from mollusca, *Trends Genetics*, Vol. 9, No. 12, 407, ISSN: 0168-952

5.2. Anexos

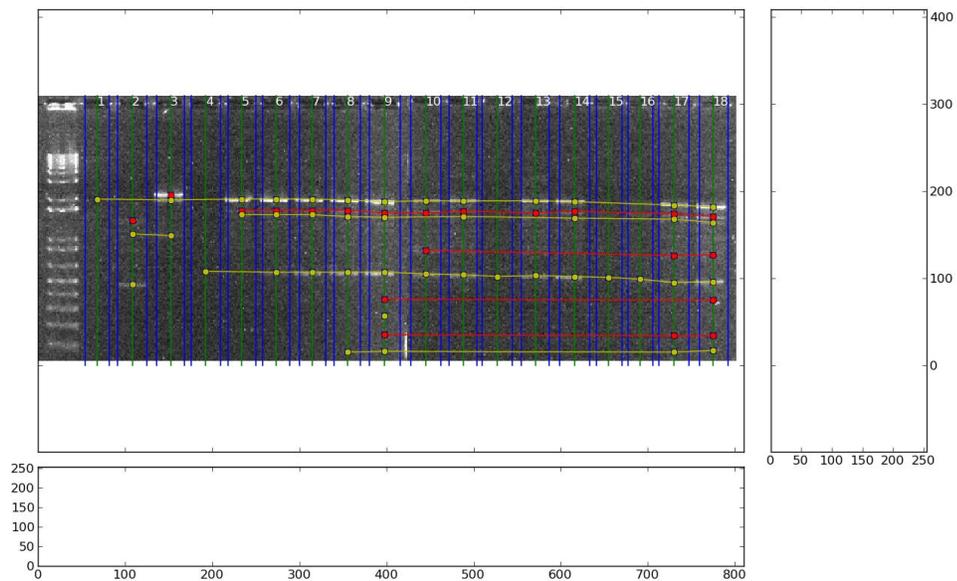
Anexo 1. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPC05



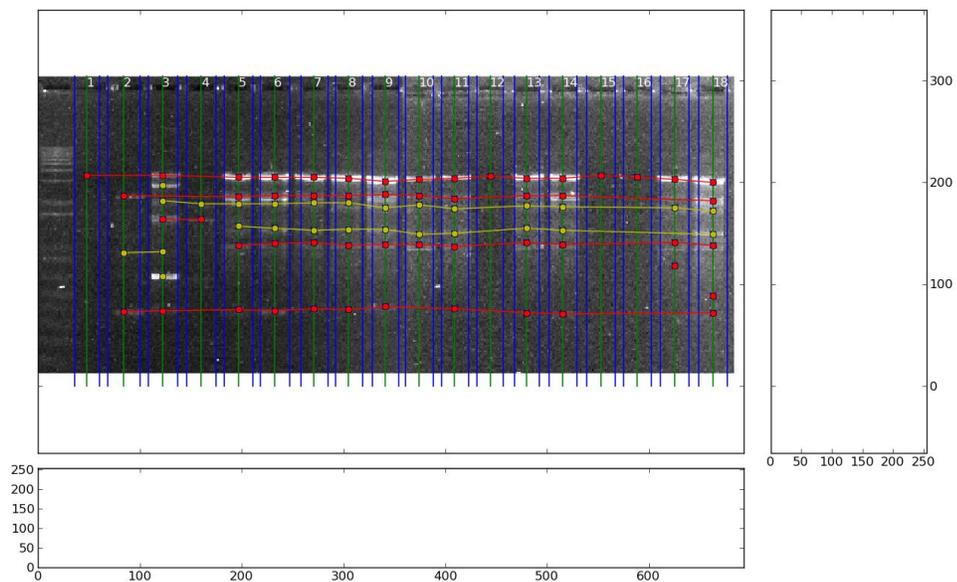
Anexo 2. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPC6



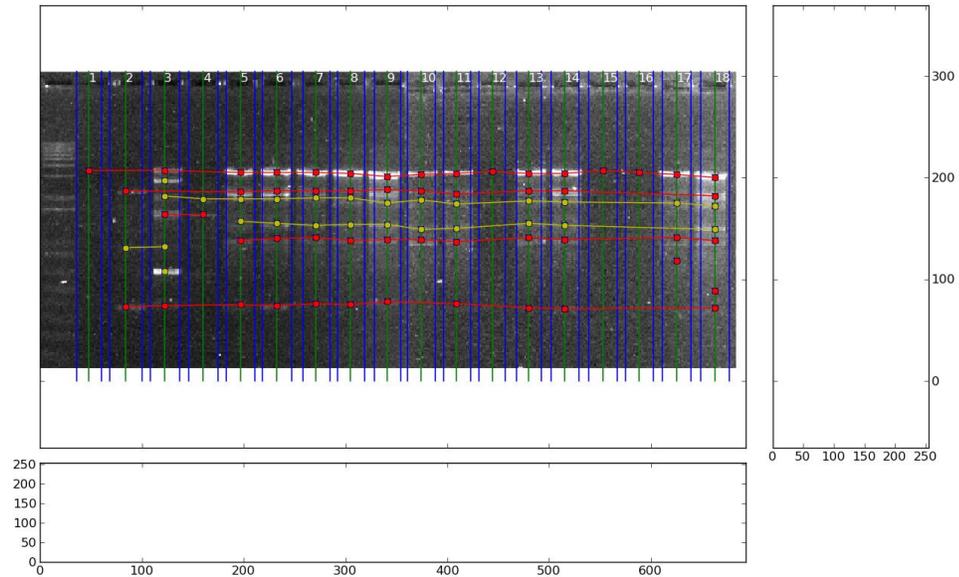
Anexo 3. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPC7



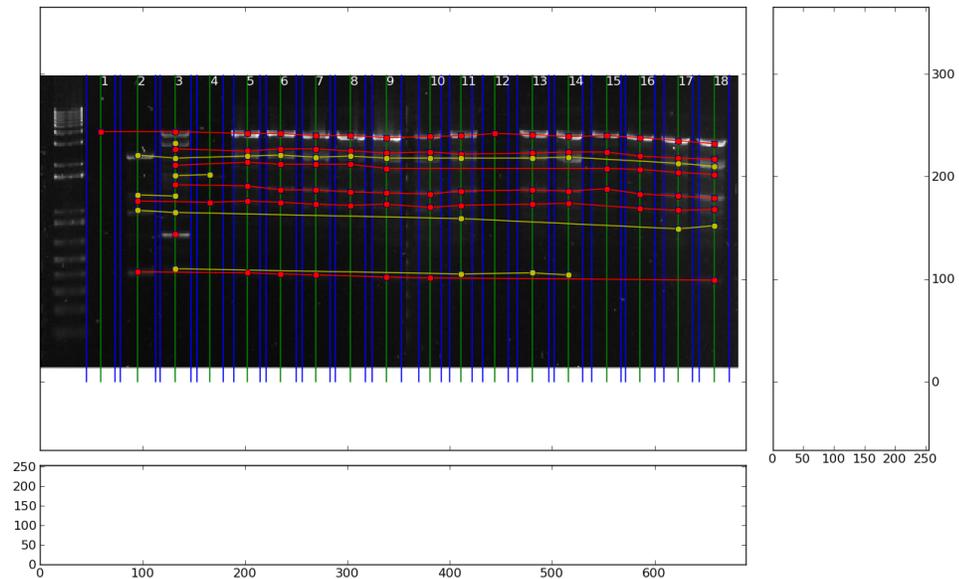
Anexo 4. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OLP01



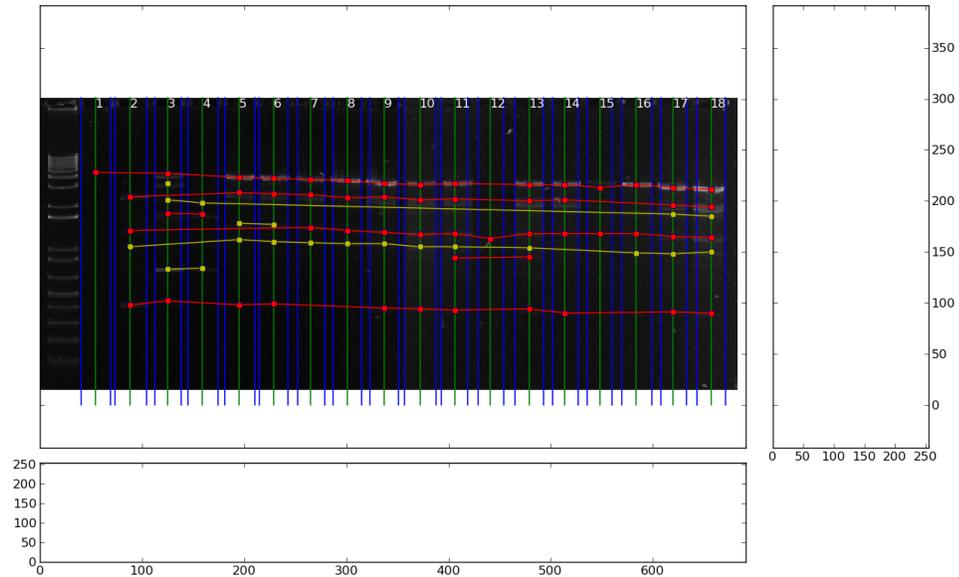
Anexo 5. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OLP01



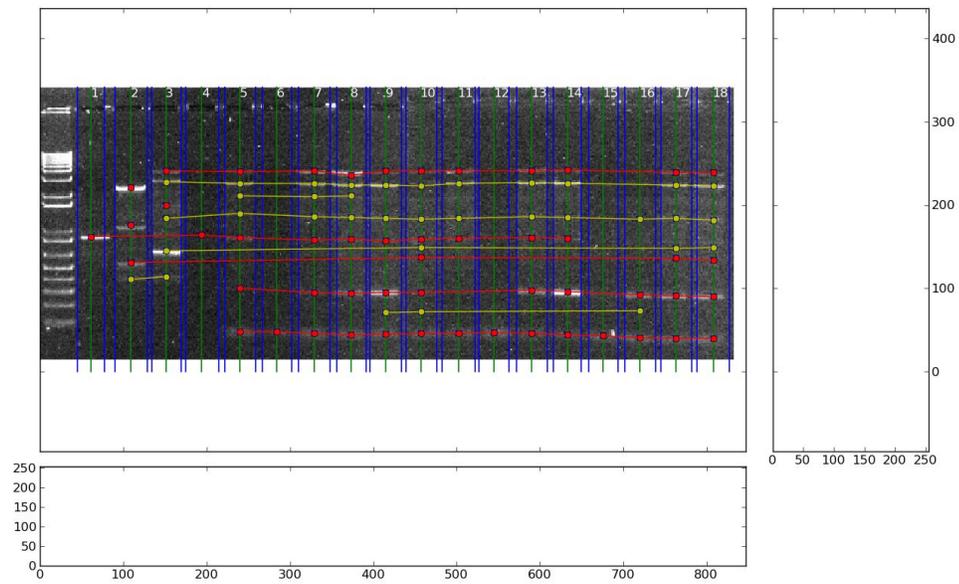
Anexo 6. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPM13



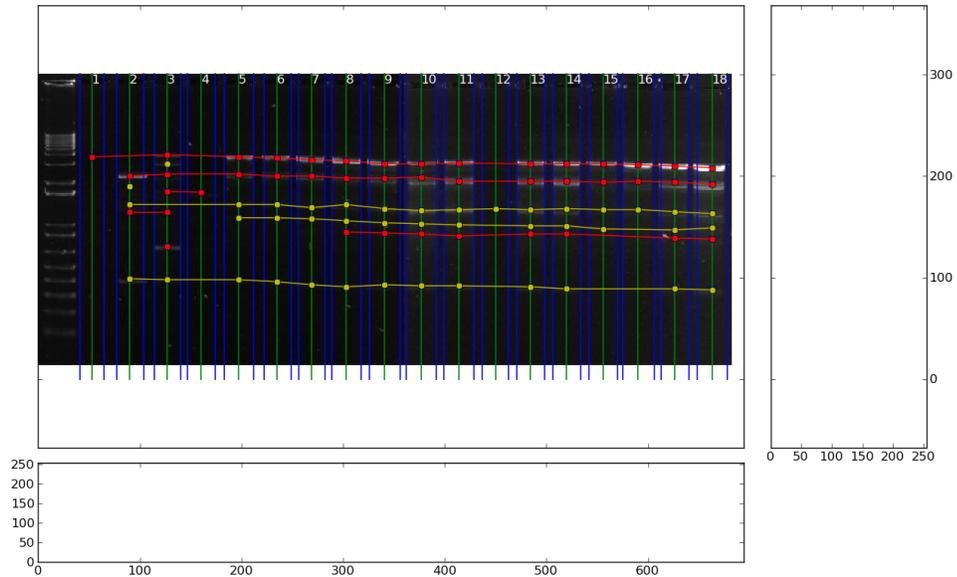
Anexo 7. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPM14



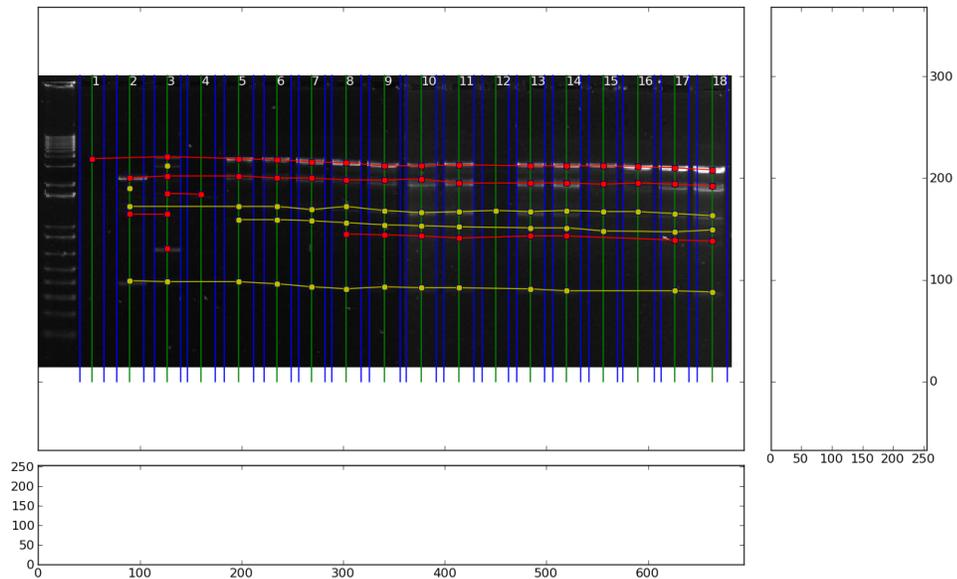
Anexo 8. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPE16



Anexo 9. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPQ17



Anexo 10. Verificación de la calidad de ADN en gel de agarosa 1% - OPA19



Anexo 11. Altura de la planta (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 154 | 141 | 133 | 158 | 154 | 140 | 160 | 189 | 152 | 162 | 154.3 |
| B | 170 | 144 | 136 | 142 | 139 | 156 | 165 | 138 | 146 | 200 | 153.6 |
| C | 178 | 172 | 191 | 162 | 151 | 183 | 178 | 169 | 150 | 165 | 169.9 |
| D | 186 | 228 | 205 | 227 | 239 | 180 | 193 | 223 | 214 | 198 | 209.3 |
| E | 167 | 146 | 160 | 180 | 178 | 183 | 158 | 130 | 167 | 155 | 162.4 |
| F | 124 | 174 | 215 | 195 | 177 | 224 | 184 | 163 | 200 | 209 | 186.5 |
| G | 139 | 145 | 150 | 173 | 177 | 192 | 136 | 144 | 156 | 142 | 155.4 |
| H | 134 | 134 | 149 | 140 | 130 | 145 | 143 | 154 | 158 | 148 | 143.5 |

Anexo 12. Diámetro del tallo (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 1.53 | 1.45 | 1.31 | 1.45 | 1.84 | 1.71 | 1.46 | 1.67 | 1.69 | 1.79 | 1.59 |
| B | 1.62 | 1.62 | 1.45 | 1.47 | 1.57 | 1.63 | 1.82 | 1.33 | 1.39 | 2.24 | 1.61 |
| C | 1.93 | 1.62 | 1.52 | 1.98 | 1.25 | 1.45 | 1.50 | 1.26 | 1.20 | 1.67 | 1.54 |
| D | 1.85 | 1.95 | 1.40 | 1.81 | 2.02 | 1.52 | 1.56 | 1.81 | 2.10 | 1.54 | 1.76 |
| E | 2.01 | 1.44 | 1.61 | 1.67 | 1.58 | 1.28 | 1.29 | 1.26 | 1.69 | 1.58 | 1.54 |
| F | 1.45 | 1.97 | 2.22 | 2.01 | 1.99 | 2.14 | 2.19 | 1.56 | 2.21 | 2.23 | 2.00 |
| G | 1.76 | 1.41 | 1.37 | 1.28 | 2.14 | 1.79 | 1.46 | 1.21 | 1.21 | 1.55 | 1.52 |
| H | 1.53 | 1.49 | 1.61 | 1.52 | 1.45 | 1.67 | 1.78 | 1.84 | 2.02 | 1.92 | 1.68 |

Anexo 13. Numero de ramas primarias

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 18 | 14 | 13 | 14 | 12 | 11 | 12 | 14 | 16 | 22 | 14.6 |
| B | 23 | 21 | 22 | 20 | 22 | 18 | 25 | 16 | 24 | 30 | 22.1 |
| C | 31 | 22 | 19 | 27 | 18 | 19 | 16 | 22 | 18 | 18 | 21 |
| D | 30 | 40 | 25 | 32 | 34 | 17 | 24 | 25 | 30 | 25 | 28.2 |
| E | 26 | 20 | 22 | 24 | 20 | 24 | 19 | 21 | 13 | 25 | 21.4 |
| F | 13 | 20 | 22 | 20 | 20 | 20 | 23 | 19 | 22 | 23 | 20.2 |
| G | 20 | 18 | 13 | 12 | 19 | 24 | 19 | 15 | 11 | 8 | 15.9 |
| H | 13 | 20 | 22 | 28 | 22 | 21 | 24 | 29 | 30 | 27 | 23.6 |

Anexo 14. Longitud del pecíolo (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 3.19 | 2.96 | 3.86 | 3.51 | 3.94 | 3.40 | 3.39 | 3.42 | 4.64 | 4.59 | 3.69 |
| B | 3.87 | 4.18 | 3.01 | 4.93 | 4.58 | 4.82 | 3.31 | 3.02 | 3.02 | 3.90 | 3.86 |
| C | 2.91 | 3.62 | 2.33 | 2.92 | 4.12 | 3.45 | 4.22 | 4.20 | 3.62 | 2.35 | 3.37 |
| D | 3.95 | 3.37 | 2.93 | 3.27 | 2.95 | 2.27 | 3.49 | 2.90 | 3.53 | 2.56 | 3.12 |
| E | 2.28 | 3.85 | 5.39 | 5.26 | 5.38 | 5.75 | 3.75 | 4.62 | 4.07 | 5.23 | 4.56 |
| F | 3.28 | 2.70 | 3.38 | 3.34 | 2.79 | 2.98 | 3.18 | 3.67 | 3.79 | 3.18 | 3.23 |
| G | 3.02 | 3.65 | 2.62 | 2.70 | 2.49 | 2.67 | 4.30 | 3.34 | 2.16 | 3.56 | 3.05 |
| H | 3.57 | 4.08 | 4.60 | 3.73 | 3.49 | 4.37 | 5.70 | 4.43 | 3.51 | 4.47 | 4.20 |

Anexo 15. Longitud de hoja (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 5.90 | 5.85 | 7.47 | 6.40 | 6.88 | 6.37 | 5.89 | 6.27 | 7.31 | 7.83 | 6.62 |
| B | 6.86 | 7.41 | 6.04 | 7.82 | 7.69 | 8.16 | 6.31 | 6.47 | 6.79 | 7.46 | 7.10 |
| C | 5.99 | 5.92 | 5.48 | 5.51 | 6.53 | 6.79 | 6.85 | 7.74 | 6.50 | 4.85 | 6.22 |
| D | 7.90 | 6.57 | 6.73 | 6.37 | 6.45 | 5.11 | 7.23 | 6.23 | 7.54 | 7.78 | 6.79 |
| E | 6.22 | 6.57 | 6.76 | 7.22 | 7.48 | 8.07 | 6.98 | 6.99 | 7.04 | 7.11 | 7.04 |
| F | 6.61 | 7.04 | 7.32 | 7.46 | 6.85 | 7.11 | 7.21 | 7.44 | 8.15 | 7.29 | 7.25 |
| G | 6.49 | 7.41 | 6.47 | 6.45 | 6.67 | 6.21 | 7.04 | 7.72 | 5.92 | 7.62 | 6.80 |
| H | 6.77 | 5.55 | 6.33 | 5.91 | 5.42 | 6.18 | 6.99 | 6.86 | 6.23 | 6.58 | 6.28 |

Anexo 16. Ancho hoja (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 4.15 | 5.34 | 5.16 | 4.75 | 5.51 | 5.31 | 4.24 | 5.03 | 5.24 | 4.80 | 4.95 |
| B | 6.43 | 6.09 | 6.65 | 6.11 | 6.03 | 6.12 | 5.66 | 5.32 | 6.14 | 6.92 | 6.15 |
| C | 4.20 | 5.18 | 3.67 | 4.41 | 3.85 | 4.43 | 5.24 | 5.11 | 4.08 | 3.90 | 4.41 |
| D | 5.69 | 5.38 | 6.63 | 5.41 | 5.25 | 5.04 | 5.62 | 5.19 | 5.43 | 6.66 | 5.63 |
| E | 6.03 | 5.36 | 4.91 | 4.98 | 6.45 | 6.63 | 6.29 | 6.04 | 6.79 | 6.01 | 5.95 |
| F | 6.01 | 6.68 | 6.41 | 6.25 | 5.99 | 5.86 | 6.18 | 5.24 | 5.61 | 6.48 | 6.07 |
| G | 6.68 | 6.02 | 6.91 | 5.03 | 6.85 | 7.17 | 5.60 | 5.56 | 5.69 | 6.54 | 6.21 |
| H | 4.21 | 4.73 | 4.73 | 5.14 | 4.41 | 4.73 | 5.49 | 4.59 | 5.54 | 5.88 | 4.95 |

Anexo 17. Numero de dientes hoja

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 10 | 14 | 16 | 10 | 12 | 19 | 6 | 16 | 12 | 14 | 12.9 |
| B | 15 | 15 | 15 | 16 | 15 | 15 | 14 | 17 | 16 | 17 | 15.5 |
| C | 12 | 14 | 15 | 14 | 15 | 7 | 16 | 14 | 19 | 13 | 13.9 |
| D | 15 | 22 | 16 | 15 | 13 | 14 | 19 | 13 | 14 | 23 | 16.4 |
| E | 12 | 19 | 12 | 15 | 21 | 19 | 19 | 17 | 19 | 18 | 17.1 |
| F | 10 | 17 | 14 | 10 | 14 | 17 | 14 | 12 | 9 | 16 | 13.3 |
| G | 20 | 17 | 19 | 21 | 15 | 20 | 17 | 16 | 16 | 20 | 18.1 |
| H | 5 | 8 | 11 | 6 | 12 | 11 | 16 | 10 | 11 | 10 | 10 |

Anexo 18. Longitud de panoja (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 42 | 43 | 24 | 30 | 34 | 41 | 47 | 42 | 33 | 35 | 37.1 |
| B | 46 | 32 | 28 | 32 | 34 | 31 | 30 | 25 | 40 | 32 | 33 |
| C | 42 | 36 | 43 | 30 | 32 | 42 | 35 | 23 | 36 | 50 | 36.9 |
| D | 47 | 42 | 42 | 44 | 62 | 46 | 48 | 68 | 46 | 45 | 49 |
| E | 43 | 32 | 52 | 44 | 43 | 32 | 26 | 35 | 28 | 42 | 37.7 |
| F | 38 | 48 | 52 | 46 | 38 | 48 | 42 | 54 | 43 | 42 | 45.1 |
| G | 37 | 39 | 40 | 36 | 43 | 40 | 45 | 30 | 20 | 42 | 37.2 |
| H | 42 | 38 | 33 | 30 | 33 | 37 | 33 | 34 | 32 | 33 | 34.5 |

Anexo 19. Diámetro de panoja (cm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 22 | 14 | 14 | 16 | 17 | 15 | 16 | 20 | 14 | 23 | 17.1 |
| B | 17 | 14 | 10 | 14 | 15 | 16 | 14 | 12 | 14 | 18 | 14.4 |
| C | 15 | 16 | 14 | 20 | 19 | 21 | 16 | 11 | 14 | 14 | 16 |
| D | 20 | 18 | 15 | 19 | 30 | 18 | 24 | 30 | 18 | 23 | 21.5 |
| E | 23 | 13 | 23 | 23 | 19 | 13 | 12 | 10 | 12 | 12 | 16 |
| F | 12 | 16 | 25 | 22 | 18 | 19 | 18 | 22 | 16 | 18 | 18.6 |
| G | 17 | 10 | 10 | 14 | 22 | 18 | 19 | 10 | 10 | 14 | 14.4 |
| H | 17 | 13 | 14 | 15 | 13 | 12 | 17 | 21 | 18 | 13 | 15.3 |

Anexo 20. Diámetro del grano (mm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 1.79 | 2.19 | 2.11 | 1.88 | 1.99 | 2.07 | 2.20 | 1.79 | 2.07 | 1.93 | 2.00 |
| B | 2.08 | 2.10 | 1.96 | 1.96 | 2.08 | 2.12 | 1.99 | 1.98 | 2.03 | 2.31 | 2.06 |
| C | 1.97 | 2.10 | 2.24 | 1.88 | 2.05 | 2.20 | 1.81 | 2.04 | 1.93 | 2.07 | 2.03 |
| D | 1.90 | 2.00 | 1.93 | 2.13 | 2.16 | 2.05 | 1.96 | 2.29 | 1.84 | 2.06 | 2.03 |
| E | 2.07 | 1.89 | 2.19 | 2.24 | 1.91 | 2.08 | 1.85 | 2.49 | 2.08 | 2.16 | 2.10 |
| F | 1.89 | 1.84 | 1.96 | 2.10 | 2.36 | 2.29 | 2.07 | 2.47 | 2.20 | 2.15 | 2.13 |
| G | 2.18 | 2.18 | 2.30 | 2.11 | 2.18 | 2.21 | 2.19 | 2.14 | 2.11 | 2.11 | 2.17 |
| H | 1.88 | 1.91 | 1.98 | 1.81 | 1.84 | 1.82 | 1.87 | 1.92 | 2.07 | 1.89 | 1.90 |

Anexo 21. Espesor del grano (mm)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 1.02 | 1.06 | 0.99 | 1.05 | 1.01 | 1.02 | 1.18 | 0.99 | 1.04 | 0.95 | 1.03 |
| B | 1.06 | 0.98 | 0.96 | 0.93 | 0.99 | 1.05 | 1.03 | 1.00 | 0.94 | 1.22 | 1.02 |
| C | 1.01 | 0.97 | 1.00 | 1.11 | 0.97 | 1.08 | 0.96 | 0.96 | 0.97 | 1.00 | 1.00 |
| D | 1.03 | 1.11 | 1.10 | 1.06 | 1.09 | 1.18 | 1.03 | 1.00 | 1.02 | 1.03 | 1.07 |
| E | 1.02 | 0.98 | 1.06 | 1.08 | 1.05 | 1.09 | 1.05 | 1.21 | 1.25 | 1.05 | 1.08 |
| F | 0.97 | 1.10 | 1.05 | 1.08 | 1.07 | 1.09 | 1.08 | 1.06 | 1.14 | 1.01 | 1.07 |
| G | 1.15 | 1.15 | 1.31 | 1.32 | 1.15 | 1.22 | 1.15 | 1.41 | 1.27 | 1.22 | 1.24 |
| H | 1.08 | 0.94 | 1.02 | 0.80 | 0.96 | 0.90 | 1.00 | 1.00 | 1.05 | 1.08 | 0.98 |

Anexo 22. Peso de 100 granos (g)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 0.34 | 0.35 | 0.25 | 0.30 | 0.26 | 0.26 | 0.27 | 0.26 | 0.27 | 0.23 | 0.28 |
| B | 0.20 | 0.22 | 0.26 | 0.21 | 0.24 | 0.25 | 0.23 | 0.30 | 0.26 | 0.26 | 0.24 |
| C | 0.25 | 0.27 | 0.28 | 0.24 | 0.23 | 0.26 | 0.25 | 0.21 | 0.21 | 0.24 | 0.24 |
| D | 0.30 | 0.33 | 0.32 | 0.27 | 0.31 | 0.30 | 0.33 | 0.32 | 0.27 | 0.31 | 0.31 |
| E | 0.26 | 0.29 | 0.31 | 0.31 | 0.27 | 0.27 | 0.21 | 0.34 | 0.34 | 0.31 | 0.29 |
| F | 0.22 | 0.27 | 0.24 | 0.24 | 0.25 | 0.31 | 0.30 | 0.33 | 0.30 | 0.27 | 0.27 |
| G | 0.34 | 0.35 | 0.39 | 0.35 | 0.34 | 0.37 | 0.30 | 0.39 | 0.37 | 0.39 | 0.36 |
| H | 0.25 | 0.22 | 0.27 | 0.22 | 0.22 | 0.23 | 0.23 | 0.30 | 0.27 | 0.24 | 0.25 |

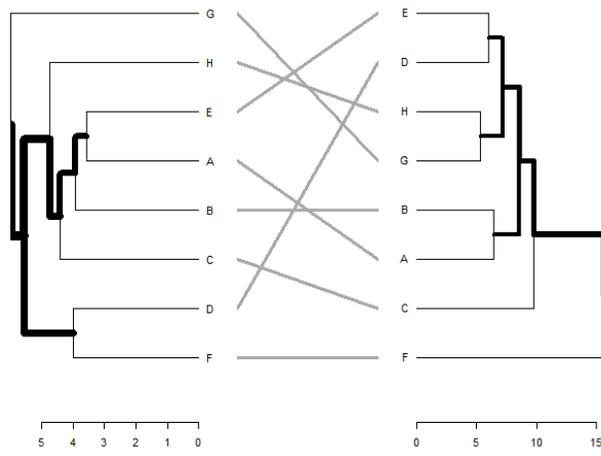
Anexo 23. Peso hectolitrico (g/Lt)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 610 | 620 | 630 | 650 | 670 | 620 | 610 | 620 | 650 | 690 | 637 |
| B | 450 | 610 | 550 | 550 | 520 | 510 | 620 | 610 | 490 | 540 | 545 |
| C | 630 | 600 | 600 | 560 | 510 | 560 | 600 | 550 | 610 | 610 | 583 |
| D | 670 | 650 | 640 | 670 | 640 | 670 | 650 | 640 | 670 | 640 | 654 |
| E | 650 | 570 | 690 | 660 | 650 | 600 | 570 | 680 | 700 | 670 | 644 |
| F | 570 | 610 | 590 | 560 | 570 | 640 | 590 | 620 | 580 | 590 | 592 |
| G | 590 | 570 | 600 | 500 | 590 | 650 | 590 | 580 | 500 | 590 | 576 |
| H | 670 | 620 | 640 | 600 | 500 | 650 | 620 | 620 | 700 | 580 | 620 |

Anexo 24. Rendimiento semilla por planta (g)

| Trat. | Repeticiones | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|--------------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | |
| A | 90.1 | 38.3 | 22.9 | 62.3 | 74.5 | 15.6 | 37.6 | 43.5 | 114.7 | 207.6 | 70.7 |
| B | 11.8 | 35.0 | 19.4 | 20.6 | 17.1 | 9.8 | 28.9 | 18.0 | 7.9 | 33.8 | 20.2 |
| C | 110.7 | 47.4 | 22.5 | 48.7 | 26.7 | 52.6 | 51.3 | 19.4 | 28.9 | 33.2 | 44.1 |
| D | 101.4 | 45.8 | 50.3 | 55.5 | 40.7 | 101.4 | 45.8 | 50.3 | 55.5 | 40.7 | 58.8 |
| E | 61.8 | 14.3 | 29.5 | 123.3 | 13.6 | 33.1 | 16.4 | 34.7 | 46.3 | 23.3 | 39.6 |
| F | 15.8 | 21.2 | 36.8 | 28.7 | 26.1 | 90.7 | 24.7 | 29.7 | 29.0 | 24.4 | 32.7 |
| G | 8.0 | 13.1 | 15.5 | 6.6 | 8.0 | 8.4 | 15.3 | 4.8 | 4.7 | 2.1 | 8.6 |
| H | 108.1 | 47.9 | 157.0 | 112.2 | 78.4 | 114.2 | 116.1 | 190.2 | 244.0 | 144.7 | 131.3 |

Anexo 25. Relación genético y fenotípica



Anexo 26. Balanza analítica



Anexo 27. Centrifuga



Anexo 28. Solución madre en semilla triturada

