



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

**ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y ESTRUCTURA
GENÉTICA DE OCA CULTIVADAS (*OXALIS TUBEROSA* MOL.) EN
NUEVE DEPARTAMENTOS DEL PERÚ**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

AUTOR

Cruz Hilacondo, Wilbert Eddy

ASESOR

Mg. Scotto Espinoza, Carlos

JURADO

Mg. Casaverde Rio, Milvio
Mg. La Torre Acuy, Maria I.
Dr. Iannacone Oliver, Jose A.

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A mis padres, Ysaías y Alejandrina, por su gran deseo y esfuerzo por lograr por el bienestar de todos sus hijos.

A mis hermanos Sergio y Lucy.

A todas esas personas que de una u otra manera apoyaron al desarrollo del presente trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTOS

Mediante esta, deseo agradecer a mis padres, por tener la paciencia y comprensión, sin el aporte de ellos no hubiese concluido esta tesis.

Durante el desarrollo de la presente investigación conocí personas que aportaron con un grano de arena a la presente, a todos ellos mis agradecimientos.

Así mismo, agradecer al personal del Instituto Nacional de Investigación agraria (INIA) y del Centro Internacional de la Papa (CIP) que me permitieron a desarrollar los primeros trabajos en biología molecular. A la vez agradecer los consejos de los técnicos de laboratorio del CIP (Joel Reyes, Luciano Fernández, Max Fernández, Luis Gutiérrez, José Rodríguez y Alberto Ramos).

Un agradecimiento especial a la Eve Emshwiller, PhD por la posibilidad de participar en el proyecto en la cual permitió caracterizar morfológica y genéticamente al cultivo de oca, donde me permitió aprender de manera exigente en la investigación científica.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE	iv
I. RESUMEN.....	v
I. ABSTRACT	vi
II. INTRODUCCION.....	1
III. MARCO TEÓRICO.....	3
3.1 Antecedentes	3
3.2 Generalidades	10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
4.1 Materiales.	24
4.2 Metodología.....	26
V. RESULTADOS.....	38
5.1 Caracterización morfológica de los tubérculos	38
5.2 Caracterización morfológica de los tubérculos por departamentos y regiones.....	38
5.3 Análisis de componentes principales de la caracterización morfológica de las accesiones de oca.....	42
5.4 Análisis de los caracteres morfológicos de las accesiones evaluadas	43
VI. DISCUSIÓN	73
6.1 Caracterización morfológica de las accesiones de oca	73
6.2 PCA de las accesiones.....	75
6.3 Distribución de la estructura de los morfotipos de oca.....	75
6.4 Análisis de AFLP.	76
6.5 Análisis de la similitud.....	77
6.6 Identificación de genética de las accesiones de Oca	78
6.7 Análisis de la estructura genética	79
6.8 Congruencia entre los marcadores morfológico- molecular y geográfico- molecular.....	80
VII. CONCLUSIONES	82
VIII. RECOMENDACIONES	85
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	86
X. ANEXOS	101

I. RESUMEN

La oca (*Oxalis tuberosa*) es un cultivo sub utilizado, su tubérculo presenta una excelente fuente alimenticia y nutricional. A la fecha sirve como dieta alimenticia del agricultor peruano. Es una especie octaploide cuyo origen se data en la zona altoandina, con una alta diversidad morfológica, genética y una estructura genética que a la fecha no ha sido cuantificado, por lo que el presente trabajo intenta explicar estas variables a través de la caracterización morfológica en los tubérculos, genética con la caracterización de cuatro combinaciones de AFLPs, así también relacionar los caracteres morfológicos, genéticos y geográficos.

Se recolecto 187 accesiones provenientes de Amazonas (7), Ancash (42), Arequipa (10) Cajamarca (29), Lima (7), La Libertad (24), Moquegua (13), Puno (44) y Tacna (11). A nivel morfológico se identificó 68 morfotipos a partir de los 7 descriptores de tubérculos propuestos por el IPGRI, Ancash presenta una mayor morfotipos (24), Puno (18), Cajamarca (14), La Libertad (12), Arequipa y Lima (7), Moquegua y Tacna (6) y Amazonas (4).

Los análisis a través de AFLP con cuatro combinaciones de iniciadores generó 112 bandas polimórficas, los cuales permitieron identificar 106 genotipos. Existe un mayor agrupamiento por sectores (norte centro y sur) que por su localidad. La variabilidad genética observada se debe principalmente a la variación que existe dentro de las accesiones por departamento que entre departamentos. El análisis de correlación de matrices (Mantel) presenta una mayor correlación genética- geográfica en comparación a la genética- morfológico (0.431 y 0.02 respectivamente).

El índice de estructura genética (Fst) permitió identificar las accesiones cuyos departamentos se encuentran bajo un proceso de aislamiento genético como son Amazonas, Tacna, Cajamarca, Moquegua y Puno, mientras que La Libertad, Lima y Ancash presentan una baja estructuración genética.

Palabras claves: *Oxalis tuberosa*, caracterización morfológica, caracterización genética, estructura genética, AFLP.

I. ABSTRACT

Oca (*Oxalis tuberosa*) is an orphan crop, its tuber has an excellent nutritional source that to date serves as a dietary diet for the Peruvian smallholder. It is an octaploid species whose origin dates from the highland, with a high morphological diversity, genetics and a genetic structure. Currently, it has not been quantified, for which reason the present work tries to explain these variables through the morphological characterization of the tubers, genetic traits with the characterization of four combinations of AFLPs, as well as relating the morphological, genetic and geographical characters.

187 accessions were collected from Amazonas (7), Ancash (42), Arequipa (10) Cajamarca (29), Lima (7), La Libertad (24), Moquegua (13), Puno (44) and Tacna (11). The morphological trait has 68 morphotypes were identified with 7 tuber descriptors proposed by IPGRI, Ancash show us a great numbers of morphotypes (24), Puno (18), Cajamarca (14), La Libertad (12), Arequipa and Lima (7), Moquegua and Tacna (6) and Amazonas (4).

The AFLP analysis with four combinations of primers produced 112 polymorphic bands, which allowed to identify 106 genotypes. The grouping is higher by sectors (north, center and south) than by its location. The genetic variability observed is mainly due to the variation that exists within the accessions by department than between departments. The matrix correlation analysis (Mantel) is higher in the genetic-geographic correlation compared to the genetic-morphological correlation (0.431 and 0.02 respectively).

The genetic fixed index (F_{st}) allowed identifying the accessions whose departments are under a process of genetic isolation such as Amazonas, Tacna, Cajamarca, Moquegua and Puno, while La Libertad, Lima and Ancash have a low genetic structure.

Key words: *Oxalis tuberosa*, morphological characterization, genetic diversity, genetic structure, AFLP.

II. INTRODUCCION

En la actualidad, los cultivos menores vienen tomando mucha importancia para su revaloración de materiales o genotipos promisorios con elevada fuente energética, con alto contenido de antioxidantes y con un uso medicinal para el poblador del Perú y de la región. En este sentido, Campos et al. (2006) señala al tubérculo de oca como una excelente fuente alimenticia y nutricional en la dieta alimenticia del poblador peruano.

El cultivo de Oca (*Oxalis tuberosa*), es una especie octaploide ($2n=8x=64$), de crecimiento erguido con una altura máxima de 1m de longitud, de raíz fasciculada, con hojas alternas trifoliadas y una inflorescencia cimosa. Es una especie alógama, lo que genera una amplia variabilidad genética este tipo de especie. Sus tubérculos desde el punto de vista agronómico se clasifican en ocas amargas (Phoscco) y dulces (Ok`haya), esta última tiene mejor calidad para el uso alimenticio (Arbizu y Tapia, 1992), la diferencia entre estas se debe principalmente al contenido de oxalatos (Ramírez, 2002). Así mismo, se ha identificado restos en las culturas del antiguo peruano 4250- 4050 AC (Emshwiller, 2006).

Los estudios de Pissard (2008) reportó diferencias genéticas entre especies, variedades, poblaciones o individuos de oca, esta variación puede ser evaluada mediante los índices diversidad genética a través de los coeficientes de similaridad (Sevilla y Holle, 2004), por lo que la variación de los materiales pueden ser influenciada por una distribución geográfica (Hamrick y Godt, 1990). También, los patrones de distribución geográfica reflejan el efecto de la selección humana en ambientes particulares así como la historia del desarrollo de un cultivo en diferentes localidades (Hodgkin, 1995).

Las estrategias de conservación no solo radica en la distribución absoluta de un alelo en particular o de un grupo de alelos (Marshall y Brown, 1975), sino también de las frecuencias de alelos: comunes, ampliamente distribuidos; comunes, localmente distribuidos; raros y localmente

distribuidos, por lo que la inclusión de alelos raros localmente distribuidos dependen del tamaño de la muestra evaluada, sin embargo la identificación para la conservación de alelos en localidades específicas que no se encuentran ampliamente distribuidas son de interés, porque incluirían alelos de significancia adaptativa para las poblaciones que los poseen. Además disponen de algunas medidas de diversidad como riqueza alélica (el número de alelos distintos en una muestra) y la distribución alélica (distribución de frecuencias alélicas) (Brown y Weir, 1983).

En la actualidad, el IPGRI/CIP (2001) ha implementado un catálogo que permite identificar los diferentes morfotipos de oca, el cual permite la identificación a partir de tubérculos como de planta. Sin embargo, estos caracteres no han logrado asociar con los métodos modernos como la caracterización genética de las especies, a través de marcadores moleculares como son los AFLP (Amplificación de los fragmentos largos polimórficos), esta técnica genera marcadores dominantes, los cuales han permitido realizar estudios de diversidad genética de las diferentes especies cultivadas.

A la fecha, se tiene un limitado conocimiento de la genética de oca, a nivel de morfotipo, genotipo, ni la forma de su distribución, por lo que el presente trabajo intenta responder a estas preguntas.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes

3.1.1. Taxonomía de la oca

Cronquist (1981), ubica a *Oxalis tuberosa* “Oca”, dentro de la familia Oxalidaceae, su clasificación taxonómica se describe en la siguiente información:

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Geraniales
Familia	Oxalidaceae
Genero	Oxalis
Especie	<i>Oxalis tuberosa</i> , Molina.

3.1.2 Biología de oca

La oca es un cultivo del tipo perenne, con crecimiento compacto, alcanza una altura hasta 1 m.; este cultivo se desarrolla en comunidades campesinas de la región altoandina de Sudamérica.

3.1.2.1 Tallo

Dentro de la familia Oxalidaceae, el tallo es erguido, cilíndrico y succulento; de forma cónica o semiesférica. León (1964) y Cárdenas (1969), reportan la presencia de tallos planos, con estrías longitudinales; con entrenudos cortos y delgados en la parte inferior. En estado adulto es frecuente encontrar a los tallos con una disposición hacia fuera (León, 1964). A nivel de tallo, existe una variación a nivel de longitud de tallo en las ocas, las poblaciones de Colombia sus tallos son de bajo porte mientras que las ocas del centro del Perú y del sur de Bolivia son vigorosos y altas. Asimismo, existe una variación en la pigmentación del tallo (de verde a vino oscuro), debido a la presencia de antocianinas (Cárdenas, 1969). Desde el punto de vista morfológico, el tallo, se encuentra formado por tejidos corticales, con

un parénquima lleno de agua y un cilindro central poco desarrollado; los haces vasculares se encuentran aislados y la médula se encuentra formada por parénquima. Esta especie desarrolla estolones, los cuales brotan a nivel de los nudos subterráneos del tallo y alcanzan varios centímetros de longitud (León, 1964). En la región terminal del estolón, ocurre un engrosamiento formando tubérculos que presentan yemas u ojos. Orbegoso (1960) señala una alta variación de los tubérculos a nivel de su forma, longitud y coloración.

3.1.2.2 Raíz

El sistema radicular a nivel de brote del tubérculo es adventicio, fasciculado y muy ramificado, lo que le permite resistir a sequías (Orbegoso, 1960).

3.1.2.3 Hojas

Las hojas son carnosas, alternas, trifoliadas y se ubican en filotaxia 2/5, los pecíolos son largos y acanalados, en estos se distinguen claramente dos partes separados por una superficie de abscisión y cuando las hojas caen las bases de los pecíolos permanecen adheridas al tallo (León, 1964; Cárdenas, 1969, Montaldo, 1972). Los folíolos son obcordiformes de 1-4 cm de largo, verde oscuro y lisos en la cara superior, púrpura o verde y densamente pubescente en la inferior (León, 1964).

3.1.2.4 Estructura floral

La flor presenta una inflorescencia cimosa, sobre pedúnculos largos de 10 a 15 cm, aparecen en las axilas de las hojas superiores y sobresalen de la planta (León, 1964). El cáliz es pentámero y gamosépalo (unido en la base), son agudos, verdes y de 1 cm de longitud (Cárdenas, 1969). La corola es pentámera y gamopétala (unida en la base), festoneados en la parte superior, de color amarillo con líneas longitudinales púrpuras. Miden entre 1 a 1.2 cm de largo (Cárdenas, 1969; León 1964).

White (1975) estudio la Biología floral de oca, clasificando las flores de acuerdo a la longitud de sus estambres como cortos, medianos y largos, a lo que posteriormente se denominó Heterostilia (de acuerdo a la posición de los estambres con respecto al estilo), la cual son de tres tipos: *(i)*

brevistilia, los estambres se ubican por debajo del nivel del estilo, **(ii) longistilia**, los estambres se ubican por encima del nivel del estilo y **(iii) mesostilia**, los estambres y los estilos se encuentran al mismo nivel. Este carácter ha sido utilizado como un descriptor de la especie (IPGRI/CIP, 2001) (Figura 1). Así mismo Carrión et al. (1995) señala que existe una variación morfológica de las ocas a nivel de estambres y está favorece a la alogámia. El patrón floral de oca es especial, en donde los verticilos (dos anteras y una de estigma) se encuentra intercalado indistintamente en las flores.

El ovario es sincárpico, supero, pentacarpelar, con 4 óvulos anátropos bitegumentados, con 5 estilos libres y estigmas bífidos, laminares y de color amarillo - verdoso, (Cárdenas, 1969; Carrión et al., 1995).

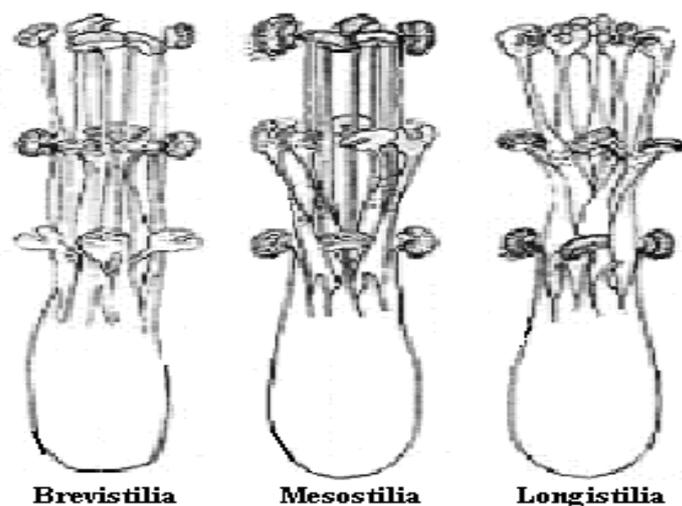


Figura 1. Niveles de heterostilia en oca (Fuente: IPGRI/CIP)

3.1.2.5 Fruto

El fruto es una cápsula pentalócular de pared membranosa y encerrados en el cáliz persistente, sus lóculo son elipsoidales y presentan de 1 a 3 semillas (León, 1964). La dehiscencia de la cápsula del género *Oxalis*, por lo general es de tipo explosiva, lo que dificulta encontrar semillas en frutos maduros (Cárdenas 1969), sin embargo Carrión et al. (1995) reportó que las semillas colectadas presentan un 50% de germinación.

3.1.3 Ploidía del cultivo de Oca

La ploidía es un diseño en muchas especies cultivadas, no obstante la mayoría de plantas presentan un diseño diploide (dos juegos de cromosomas), por lo que la poliploidía es la presencia de tres a más juegos de cromosomas.

Una de las formas de clasificar la ploidía en las plantas, se encuentra en función al número de juego de cromosomas en la célula; siendo estas triploides (3x), tetraploides (4x), pentaploides (5x), heptaploides (7x), octaploides (8x); por lo general, los poliploides impares (3x y 5x) son estériles y persisten en el tiempo; solo sí son capaces de formar una reproducción asexual, como sucede en el caso de las papas andinas (3x y 5x) que se propagan asexualmente y también en otros niveles de ploidia (2x y 4x) donde el cultivo se propaga por semillas como es el caso del algodón tetraploide y el trigo (Emshwiller, 2006b). Los estudios citológicos en oca realizado por De Azkue y Martínez (1990), han corroborado el número cromosómico de base ocho ($x=8$), la cual han denominado a este grupo "*Oxalis tuberosa* Alianza". Así mismo los estudios en oca cultivadas fueron reportadas como octaploide con 64 cromosomas (Valladolid et al., 1994; Medina, 1994; Talledo y Escobar, 1995; Valladolid, 1996 y Vinueza, 1997) y posteriormente confirmados mediante citometría de flujo (Emshwiller, 2002).

Grant (1971) clasificó a las especies poliploides en autopoliploides como papa y camote (derivados de una misma especie) y alopoliploides como algodón, tabaco y de híbridos artificiales en Triticale (derivados de la hibridación de distintas especies. Las diferencias taxonómicas dentro de los cultivos poliploides se ven reflejada en el contenido de sus cromosomas Emshwiller (2006b). El apareamiento de los cromosomas dentro de estos grupos varían, en el caso de los alopoliploides, estos se aparean en pares como suceden en los diploides, uniéndose exclusivamente con los cromosomas homólogos de su genoma ancestral; de otro lado en los autopoliploides, los múltiples cromosomas homólogos pueden aparearse al azar o unirse juntos de manera anormal en la meiosis formando algunos

grupos de más de dos cromosomas, dejando a otros cromosomas desapareados, por lo que la alopoliploidia y la autopoliploidia denota un continuo nivel de divergencia de sus genomas ancestrales.

El genoma de las especies poliploides, se puede representar indicando el número y los niveles de divergencia (AAAA= autotetraploide) y (AABB= alotetraploide). Emshwiller y Doyle (1998) evaluarón el origen de la ploidía en oca; para ello, se analizó las secuencias del espaciador transcrito interno del DNA ribosomal nuclear (nrDNA ITS). Los estudios de ITS no fueron concluyentes por lo que podían identificar con precisión los genomas progenitores octaploides de oca; posteriormente Emshwiller y Doyle (2002) evaluaron las secuencias del gen cloroplastidial de la glutamina sintetasa (npcGS), que presenta una sola copia en *Oxalis*. Las secuencias permitieron visualizar señales claras de múltiples secuencias dentro de los individuos de oca, contribuyendo a elucidar el origen del cultivo de tipo alopoliploide. Estos estudios sostienen el origen de oca es la conjunción de diferentes especies.

3.1.4 Composición bioquímica de oca

La oca es un cultivo de importancia en el poblador de los andes peruanos, principalmente su alto contenido calórico y a su sabor agradable, por lo que su consumo del tubérculo se realiza de manera fresca y/o deshidratada (Nacional Research Council, 1989; King y Gershoff, 1987).

Desde el punto de vista nutricional, la oca presenta diferencias nutricional con concentraciones mejores o similares a la papa. (King y Gershoff, 1987; Pissard, 2008). Presenta un elevado contenido de humedad (70-80%), carbohidratos (11- 22%) y de fibra, grasa y cenizas (1%). Los carbohidratos que presenta son ricos de azúcar y son fácilmente digestible. A nivel proteico, existe una gran variación (9% en base a su peso seco) de alta calidad y poseen un buen balance de aminoácidos esenciales como valina y triptófano que son limitantes en algunas especies (Pissard, 2008; King y Gershoff, 1987); a la vez este cultivo tiene una fuente de hierro (Kays et al., 1979; Flores et al., 2003), ácido ascórbico, carotenos, calcio, fibras, fósforo, proteínas, riboflavininas, tiamina y niacina (Flores et al., 2003). Surco (2004)

evaluó la composición de bioquímica de otros tubérculos como oca, mashua y olluco, donde corroboró a la oca con mayor porcentaje de proteínas, seguida de grasas y fibras. Estos estudios fueron similares a los presentados por Sperling y King (1990) quienes compararon el nivel nutricional con otros cultivos, como papa, maca y olluco. Los niveles de vitamina C en oca fresca es superior a la papa (Collazos, 1993). Así mismo Campos et al. (2006) señala al tubérculo de oca como una excelente fuente fotoquímica en la dieta alimenticia del poblador peruano por su fuente antioxidantes para la alimentación.

Los granos de almidón en oca son elípticos, con una solubilidad de 6.97%, su porcentaje de hinchamiento de 11.85 y su viscosidad 504 centipoise, estos resultados permitieron proponer a Surco (2004) a través de los estudios organolépticos en oca, tener excelentes resultados en los productos de alimentación instantánea como mazamorra.

3.1.5 Forma de Consumo del tubérculo

Los agricultores identifican a los tubérculos en dos grupos (dulces y amargas); las dulces deben exponerse al sol antes de su consumo, mientras las ocas amargas (**Phoscco**) deben someterse a procesos de secados y lavados para reducir los niveles de oxalatos para su posterior su consumo (Ramírez, 2002). Las ocas dulces se consume de manera cocida, asada, **K'haya** (los tuberculos después de ser deshidratados son congelados y secados en una forma similar al chuño) y **Ok'haya** (después de la congelación pasa por un proceso de lavado con el cual se obtiene un producto más blanco y de mayor calidad. Arbizu y Tapia (1992) señala que las ocas **Ok'haya** son excelentes en la preparación de mazamorras y dulces.

3.1.6 Origen y distribución geográfica de oca

El género *Oxalis* es cosmopolita, Azkue (2000) señala que este género ha sido reportado en tres centros de origen, siendo la región de los andes la que presenta mayor variabilidad morfológica y el número más grande de taxa. La oca se encuentra distribuido en Sudamérica desde Venezuela hasta Argentina, en un rango de 3000- 4000 msnm y se encuentra adaptada al

clima templado-frío. (National Research Council, 1989). La región andina ha generado una presión evolutiva sobre los tubérculos, siendo los ambientes de clima seco, los que favorece en el desarrollo de órganos de almacenamiento (Vavilov, 1992; Hawkes, 1983). Asimismo, el origen de la oca se encuentra en los valles andinos, principalmente en la región sur del Perú; donde se postula a la región de Cuyo- Cuyo (norte del lago Titicaca) la posible área de domesticación de la oca, donde se cultiva en andenerías incaicas (Hodge, 1949), asimismo los altos niveles de variabilidad morfológica en ocas cultivadas, se encuentra en Bolivia y en el sur del Perú, lo que permitió a Cook (1925) y León (1967) postular que la oca fue domesticada en zonas cercanas al lago Titicaca.

Vavilov (1992) señala que el origen y domesticación de la oca se realizó en épocas muy antiguas, posiblemente simultánea a la papa. Debido a esta antigüedad ha generado (i) un gran número de morfotipos conocidos, (ii) una amplia distribución geográfica y (iii) una ausencia de tipos silvestres León (1964).

3.1.7 El cultivo de oca en las culturas andinas

La región andina es uno de los centro de diversidad genética de las plantas (Vavilov, 1951), es considerada como uno de los centros de evolución de los cultivos, donde la agricultura se desarrolló independientemente, donde los agricultores andinos domesticaron numerosas raíces, tuberosas, granos, vegetales y frutas.

Las raíces y tuberosas, tuvieron un importante rol en la alimentación del imperio Inca. Asimismo, la oca ha cumplido un papel importante en la alimentación del antiguo poblador peruano, tal como demuestra las representaciones de oca en los cerámicos pre-colombinos, así también se demuestra en crónicas españolas (Trognitz et al., 1998); en vasos ceremoniales (Sperling y King, 1990), urnas de ceramios y esculturas Ugent y Ochoa (2006), a la vez se ha registrado en restos arqueológicos en pobladores en el desierto costero del Perú (4250- 4050 AC). (Tabla 1) (Emshwiller, 2006b).

Emshwiller (2006a) señala que la oca ha sido considerada dentro de los tubérculos menores como el segundo cultivo de importancia después de la papa en los sistemas agrícolas, siendo la dieta de millones de pobladores quechuas y aymaras en Ecuador, Perú y Bolivia; este cultivo no solo ha sido consumido por los antiguos pobladores peruanos, también en Colombia y Argentina. En la actualidad, el cultivo de oca ha empezado a tener importancia comercial ya que no solo se conoce en Sudamérica sino que se está comercializando en otros países como sucede en Nueva Zelanda (Nacional Research Council, 1989) donde se ha desarrollado nuevas líneas (Martín et al., 2005), Finlandia y México (Sperling y King, 1990).

3.2 Generalidades

3.2.1 Diversidad biológica.

El término de diversidad biológica o biodiversidad, se refiere a toda forma de vida (plantas, animales y micro-organismos) y sus ecosistemas en las cuales interactúan. La biodiversidad agrícola o agrobiodiversidad es un amplio término que incluye todos los componentes de diversidad biológica relevantes para la alimentación y la agricultura; este término se refiere particularmente a la búsqueda de diversidad en cultivos utilizados para la alimentación y agricultura, este término incluye al conocimiento de los agricultores, por lo que se engloba a los recursos genéticos vegetales para la alimentación y la agricultura” (Long et al., 2002). En los sistemas agrícolas, la diversidad biológica se da en tres niveles: a nivel del ecosistema, de las especies y a nivel de variedad.

La diversidad biológica de los cultivos es esenciales para la humanidad, ya que proporciona la materia prima a la población y soporta el equilibrio ecológico. Estos recursos contribuyen al fortalecimiento de la alimentación humana, por lo que la diversidad debe ser manejada y conservada adecuadamente para sostenimiento del poblador y proveer una vía de desarrollo positivo para las personas más pobres del planeta; debido a esto es de importancia el determinar la diversidad genética y su estructura genética de las especies cultivadas.

Tabla 1: Registro arqueológico del cultivo de oca a nivel de Sudamérica

País	Sitio	Lugar	Evidencia	Región	Antigüedad	Referencia
	Cueva de Guitarrero	Callejo de Huaylas	Tubérculo	Andes centrales	9 000-10 000 AC	Smith 1980, Linch 1980
	Punta Grande	Región Ancón-Chillón	Tubérculo	Costa Central	3 800-4 000 AC	Moseley 1975; Martins 1976
	Putaca	Tarma	Tubérculo	Andes centrales	1 400-1 000 AC (H. Medio)	Hastof 1983
Perú	Pacheco		Arte	Costa	1 400-1 000 AC (H Medio)	Yacovleff y Herrera 1934
	Jauja	Valle del Mantaro	Tubérculo	Andes centrales	530-470 AC (H Tardío - Per. Inca)	Hastorf 1983, D'Altroy y Hastorf 1984
	Pachacamac	Valle de Pachacamac	Tubérculo	Costa	530-470 AC (Per. Inca)	Towle 1961
	Cusco		Arte	Andes del sur	Post conquista	Vargas 1981, Flores Ochoa et al., 1998
Colombia	Sabana de Bogota	Bogota	Tubérculo	Colombia central	3 860-2 725 AC	Correal Urrego 1990
Argentina	Huachichocana	Región Valliserrana	Tubérculo	Noreste Argentina	1270 AC	Pearsall 1992

Referencia: Emshwiller 2006b

3.2.2 Diversidad Genética.

La diversidad genética es un término muy amplio, está referida a las diferencias genéticas entre especies, subespecies, variedades, poblaciones o individuos (Pissard, 2008). Desde el punto de vista genético, Jarvis et al. (2000) señala que la diversidad genética se refiere a la variación de genes dentro de unas poblaciones o especies y la evaluación de estas se realiza por diferentes métodos que determinan y analizan la diversidad genética de una especie, la cual generalmente se realiza a través de los coeficientes de disimilaridad.

Sevilla y Holle (2004) señalan que la diversidad genética de una especie presenta variaciones dentro de una población y entre las poblaciones de la misma especie, sin embargo la diversidad genética dentro de una especie no se encuentra distribuida uniformemente en los ambientes donde se desarrolla la especie. Evidencias actuales sugieren que la distribución geográfica influye en la variación observada en especies silvestres (Hamrick y Godt, 1990), especialmente en los cultivos, ya que los patrones de distribución geográfica reflejan el efecto de la selección humana en ambientes particulares así como la historia del desarrollo del cultivo en diferentes localidades (Hodgkin, 1995).

Las estrategias de conservación no radica en la distribución absoluta de un alelo en particular o de un grupo de alelos, sino también de las frecuencias de alelos: comunes, ampliamente distribuidos; comunes, localmente distribuidos; raros, ampliamente distribuidos y raros, localmente distribuidos, por lo que la inclusión de alelos raros localmente distribuidos depende del tamaño de la muestra evaluada (Marshall y Brown; 1975), sin embargo la identificación para efectos de conservación de alelos en localidades específicas que no se encuentran ampliamente distribuidas son de interés, porque incluirían alelos de significancia adaptativa para las poblaciones que los poseen. Además disponen de algunas medidas de diversidad como riqueza alélica (el número de alelos distintos en una muestra) y la distribución alélica (distribución de frecuencias alélicas) (Brown y Weir, 1983).

3.2.3 Estructura genética

La estructura genética de una especie se encuentra relacionada a la variación genética de las unidades taxonómicas; estas unidades pueden ser las variedades o morfotipos identificados en un banco de germoplasma. La estructura genética también se refiere a la variación de la especie en el espacio, por lo que la diversidad genética no se encuentra distribuida uniformemente en el espacio, el cual puede diferir entre regiones y entre localidades (Jarvis et al., 2000). Estos tipos de estudios permite determinar la variación genética de una especie dentro de un ambiente geográfico, permitiendo conocer sus patrones geográficos (Loiselle et al., 1995; Stehlik y Holderegger, 2000; Del Rio et al., 2001; del Rio y Bamberg, 2002; Gichuki et al., 2003; Rivera-Ocasio et al., 2006; Kizito et al., 2007), su gradiente altitudinal y la asociación de la estructura genética (Wen y Hsiao, 2001; Li et al., 2007; Ohsawa y Ide, 2008). Los factores socioeconómicos influyen en la estructura de la variación genética de una especie en un sistema del cultivo tradicional como son las variedades comerciales y no comerciales, como es el caso de la estructuración artificial como un efecto humano en la identificación de variedades dulces y amargas (Mkumbira et al., 2003).

Asimismo, fuera de los factores en la cual interviene el hombre, existe una influencia de otros factores que afectan a la diversidad genética y a la estructura de una especie, como son las características y los factores evolucionarios como la selección, mutación, recombinación, flujo de genes y deriva genética.

3.2.4 Marcador Molecular

3.2.4.1 Marcador morfológico- definición

Son caracteres fenotípicos que permite una identificación visual, como forma, color, tamaño o altura de un carácter; estos marcadores se convierten en descriptores de importancia en la caracterización de variedades o morfotipos. Las características morfológicas controladas por un solo locus pueden ser utilizadas como un marcador genético si su expresión es reproducible en un amplio rango de ambientes. Los marcadores morfológicos son codominantes

y son útiles para predecir la respuesta genética del carácter a seleccionar, ellos pueden ser influenciados por el medio ambiente y por factores genéticos, como la epístasis. Por tal motivo, la descripción de tal característica sólo tiene sentido cuando está acompañada de una información de pedigree apropiadamente documentada y condiciones ambientales controladas.

3.2.4.2 Marcador genético - definición

Nuez et al. (2000) define a un marcador genético como cualquier “diferencia fenotípica controlada genéticamente y utilizada en el análisis genético” por lo que un marcador genético es un marcador de un locus con característica polimórfica. Este marcador, pueden utilizarse con una doble finalidad, para identificar un locus que controla la diferencia genotípica e identificar otro locus que se encuentre próximo a la región de que controle al carácter de interés.

Un marcador genético debe presentar una serie de características para que se considerado un buen marcador utilizable en la mejora: (i) Polimórfico o multialélico, (ii) Co- dominante y (iii) no epistático.

3.2.4.3 Clasificación de los marcadores genéticos

En La actualidad, las técnicas para evaluar la diversidad genética, se dividen en tres categorías: (i) No basados en PCR (Isoenzimas y RFLP); (ii) basados con iniciadores arbitrarios o semiarbitrarios (RAPD y AFLP) y (iii) PCR de sitios blancos, donde se diseñan primers en regiones del genoma que son polimórficos (Microsatélites). (Karp et al., 1997; Williams et al., 1990; Vos et al., 1995).

3.2.5 Amplificación de los fragmentos largos polimórficos (AFLP)

3.2.5.1 Principio

La técnica de AFLP fue descrito por Vos et al. (1995), el análisis consta de cuatro etapas; (i) Digestión donde el DNA genómico total del individuo es cortado con enzimas de restricción, (ii) Incorporación adaptadores específicos a los extremos de los fragmentos genómicos generados por la digestión

enzimática; (iii) Amplificación selectiva de una fracción de los fragmentos generados vía PCR utilizando iniciadores o primers diseñados específicamente para reconocer las secuencias en los adaptadores; dicha especificidad está determinada por el número de nucleótidos selectivos que posea el iniciador del AFLP, en el extremo 3', pueden tener desde 0 a 3 nucleótidos selectivos y (iv) la Separación de los fragmentos amplificados a través de geles de alta resolución (geles de acrilamida).

La técnica de AFLP permite determinar la variabilidad genética de la especie a través del polimorfismo que presentan los sitios de restricción, indicando la presencia o ausencia de los fragmentos amplificados y por ende la variabilidad de la especie. (Grattapaglia, 1995 y, Furini y Wunder, 2004).

3.2.5.2 Aplicaciones de la técnica de AFLP

Mediante la técnica de AFLP, se han dirigido preguntas de evolución y distancias genéticas entre especies relacionadas, así también para realizar análisis de diversidad genética de germoplasma (cebada, yuca, lechuga, coco, maíz, arroz, caña de azúcar, soya y té).

Los marcadores AFLPs tienen una aplicación muy amplia de la variación genética bajo el nivel de especie, particularmente en investigaciones de estructura de poblaciones y diferenciación, incluyendo la estimación de análogos F_{st} y la variación genética dentro de poblaciones. Estos análisis son cruciales para los estudios de genética de la conservación y la rápidos con la cual los marcadores AFLP pueden ser generados, permiten tener una información crucial en corto tiempo para decisiones de conservación. La alta resolución de los marcadores AFLPs permite examinar la identidad clonal de individuos, permitiendo evaluar la inferencia acerca de los modos de reproducción sexual y asexual (Mueller y Wolfenbarger, 1999).

Los AFLP tiene el potencial para resolver las diferencias genéticas para la identificación de individuos y análisis de parentesco. En el caso ideal unas cuantas combinaciones de primers serán suficiente para generar un adecuado número de marcadores polimórficos; en el peor de los casos muchos marcadores AFLP son generados con una serie combinaciones de primers para revelar las diferencias entre individuos estrechamente cerrados o

mejorados, o para confirmar una falta de diferencia en los clones. (Mueller y Wolfenbarger, 1999), también pueden generar marcadores polimórficos dentro del genoma sin la necesidad de conocer secuencias específicas, por lo que esta técnica es una herramienta importante en la generación de mapas de ligamiento (Mueller y Wolfenbarger, 1999).

3.2.6 Taxonomía Numérica

La taxonomía numérica es una herramienta que ayuda en la clasificación de individuos y ha sido definida como la evaluación numérica de la afinidad o similitud entre unidades taxonómicas y el agrupamiento de estas unidades en taxones, basándose en el estado de sus caracteres (Sosal y Sneal 1963). Este método permite lograr interpretaciones de semejanza entre dos o más organismos, al ser evaluados con un mismo conjunto de caracteres.

3.2.6.1 Técnicas numéricas para la evaluación de la diversidad.

Las técnicas numéricas son parte de la taxonomía numérica que calcula la afinidad entre unidades taxonómicas en base al estado de sus caracteres. Crisci y López (1983) señalan los pasos a seguir para la evaluación en la evaluación genética:

- A. Elección de las unidades: se eligen los organismos a estudiar y se definen las unidades a clasificar denominadas Unidades Taxonómicas Operativas (OTU).
- B. Elección de los caracteres: se eligen a los caracteres que describan a las OTU's y se registran el estado de los caracteres presentes.
- C. Con la información obtenida en los pasos anteriores se construye una matriz básica de datos (MBD) de OTU's por estado de los caracteres.
- D. Obtención de un coeficiente de similitud para cada par posible de OTU's, teniendo en cuenta la MBD y utilizando un coeficiente adecuado.
- E. Construcción de una matriz de similitud. Con los valores de similitud calculados en paso anterior se construye una matriz de similitud OTU por OTU.

F. Conformación de grupos. A base de la matriz de similitud del paso anterior y mediante la aplicación de distintas técnicas se obtiene la estructura taxonómica del grupo en estudio.

G. Generalizaciones, se formulan las generalizaciones acerca de los taxones, tales como elección de los caracteres discriminatorios, relación entre los organismos, inferencias acerca de los taxones.

Estos pasos son representados en la figura 2

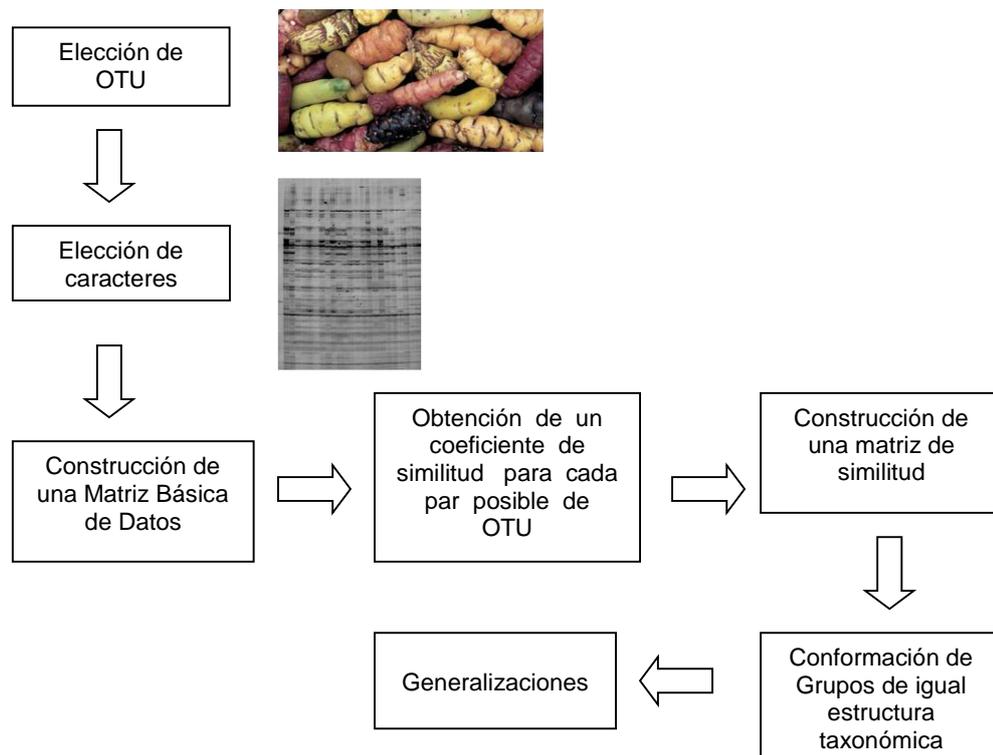


Figura 2. Esquema de la evaluación de la diversidad a partir de métodos numéricos

La selección de las OTU's, depende de la estrategia y los objetivos del investigador, pudiendo ser individuos, poblaciones, géneros o especies; por lo que la entidad unitaria, estará compuesta por individuos lo más homogéneos posibles (Crisci y López, 1983). Los caracteres evaluados, son cualquier carácter que varíe dentro de las OTU's de estudio (Sneath y Sokal, 1973). Los diferentes estados evaluados de los OTU's se consignará en la MBD; los caracteres evaluados puede ser: morfológicos, fisiológico, químicos, etológicos, ecológicos, geográficos o genéticos. Sokal y Sneath (1963) señala

que no debe introducir en la MBD sesgos en la elección de los caracteres y no se debe seleccionar caracteres que no cuente con una expresión adecuada de la especie.

Con respecto al número de caracteres que se deberá utilizar no existe un número o fórmula para calcularlo, aunque existen algunas consideraciones que podrían ser útiles, por lo que mientras mayor sea la cantidad de caracteres evaluados, mayor será la información recolectada ya que estos caracteres tomados al azar y sin sesgo estarán representando una muestra al azar del genoma.

La taxonomía numérica exige que todos los datos sean expresados en forma cuantitativa, de modo que sean evaluados, como no todos los caracteres se pueden expresar en datos cuantitativos, algunos deben ser sometidos a una transformación para poder analizarlos, como es en el caso de los datos morfológicos; donde no sería necesaria una transformación siempre y cuando se trabajen con datos de doble estado (**presencia o ausencia**).

Los marcadores moleculares, como son los AFLP, son un tipo ejemplo de datos de doble estado; en este caso se evalúa a nivel de presencia o ausencia de un determinado marcador molecular como 1 ó 0, respectivamente (Crisci y Lopez, 1983).

La matriz de similitud es insuficiente para expresar relaciones entre la totalidad de las OTU's, pues solo expone similitudes entre pares de dichas unidades. A fin de visualizar la información de similitud entre pares de OTU's e identificar las relaciones entre la totalidad de ellas, se usan frecuentemente las técnicas de agrupamiento y de ordenación. Con estas dos técnicas se pueden obtener una representación gráfica de la estructura taxonómica para su posterior análisis. La identificación de OTU's parecidos o similares es necesario cuantificarlos a través de coeficientes de similitud, mediante este método se pueden calcular las similitudes respecto a cada par de OTU's de una matriz básica de datos. Estos coeficientes se pueden clasificar en 3 tipos: (i) de distancia, (ii) de correlación y (iii) de asociación. Estos coeficientes se basan en análisis multivariados, la representación gráfica de estos índices se encuentra en más de dos dimensiones (espacio euclidiano). Dentro de los marcadores moleculares utilizan coeficientes de asociación.

3.2.6.2 Coeficiente de asociación

El coeficiente de asociación mide la coincidencias y diferencias en los estados de carácter entre dos OTU's, para ello utilizan datos de doble estado (presencia=1 y ausencia= 0). Si se comparan dos OTU's, "j" y "k", para un carácter doble estado (presencia– ausencia) se tienen cuatro posibilidades:

Si se traslada esas posibilidades a una matriz de 2 x 2, se obtendrá la siguiente representación:

		OTU "J"	
		1	0
OTU "K"	1	1,1 A	1,0 B
	0	0,1 C	0,0 D

Donde A: Ambas OTU's tengan presente el carácter comparado.

B: Ambas OTU's tengan ausente del carácter comparado.

C: La OTU J presenta un carácter que la OTU K carece.

D: La OTU K presenta un carácter que la OTU J carece.

El resultado en la suma de a, b, c, d es el número total de caracteres utilizados (n).

A partir de los valores obtenidos, se presentan distintos coeficientes de asociación como: (i) Simple matching coefficient (SMC), (ii) Jaccard (J) y (iii) Dice o Sorensen (D).

3.2.6.2.1 Simple Matching (Sokal y Michener, 1958)

Este coeficiente (**SMC**) maximiza la cantidad de información obtenida de un perfil de AFLP teniendo en cuenta todos los loci analizados. Este coeficiente proporciona el mismo peso a la presencia y ausencia de las bandas. Este coeficiente cuenta con interesantes propiedades métricas euclidiana que

permiten su utilización en un análisis de varianza molecular (AMOVA). (Excoffier et al., 1992).

3.2.6.2.2 Jaccard (Jaccard, 1908)

Este coeficiente sólo toma en cuenta la banda presente en al menos uno de los individuos, por tanto, no se ven afectada por bandas de homoplásicas ausente (cuando la ausencia de la misma banda se debe a diferentes mutaciones).

3.2.6.2.3 Dice (Dice, 1945)

Este coeficiente es equivalente a los coeficientes de Nei y Li (Nei y Li, 1979) y al de coeficiente de Sorensen (Sorensen, 1948). Este coeficiente confiere mayor peso a las coincidencias. Los valores varían entre 0-1, que equivalen a los valores de mínimo y máxima similitud, respectivamente Crisci y López (1983). Este coeficiente es comparable con el Coeficiente de Jaccard (Bonin et al., 2007).

$$\text{SMC} = \frac{a+d}{a+b+c+d} = \frac{a+d}{n} \quad \text{J} = \frac{a}{a+b+c} \quad \text{D} = \frac{2a}{2a+b+c}$$

Figura 3. Coeficientes de asociación para análisis de similaridad (SMC= Simple Matching, J= Jaccard, D = Dice).

3.2.6.3 Análisis de agrupamiento.

En la construcción de los árboles filogenéticos existen métodos para realizar la matriz de distancias, los más empleados son el Neighbour Joining y la Media aritmética no ponderada o UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), cuya diferencia radica en el uso de modelos en la tasa de evolución como lo es Neighbour joining (Eding y Laval, 1999, Takezaki y Nei, 1996).

Weir (1996) define al método UPGMA como una distancia entre grupos, producto del promedio de todas las distancias entre pares de cada una de las combinaciones, con el cual se construye árboles o dendogramas mediante

sucesivos agrupamientos bajo el criterio de promedio de las distancias en cada par, por lo que su tasa de cambios evolutivos es constante. El algoritmo del UPGMA es jerárquico, aglomerativo, secuencial y exclusivo. Parte de las “n” OTU’s y va agrupando las OTU’s en grupos; las OTU’s más similares son agrupadas primero y estos grupos iniciales son luego agrupados de acuerdo a su similitud. Los grupos que se originan presentan rangos además, las OTU’s miembros de un grupo no puede pertenecer a otro grupo que se halle en un mismo nivel.

3.2.6.4 Análisis de remuestreo

La estimación de las distancias genéticas entre poblaciones es un método estadístico, por lo que su remuestreo es importante. Existen técnicas estadísticas de remuestreos como “Bootstrapping” y Jackknife, que permite graficar múltiples árboles y estimar la fiabilidad para los diferentes nodos en el árbol y evaluar el nivel de confianza del árbol (Weir, 1990), por lo general el proceso se repite un gran número de veces (1000).

3.2.7 Análisis Molecular de varianza (AMOVA)

El AMOVA, es un procedimiento estadístico importante que permite el particionamiento de la variación genética entre poblaciones y regiones; también permite la estimación del estadístico F o sus análogos. Antes de realizar cualquier tipo de análisis mediante el AMOVA, es necesario entender las hipótesis nulas y alternativas (H_0 y H_a), típicamente en biología la hipótesis nula, concierne a la condición de “No existe diferencias significativa entre las medias de los diferentes tratamientos”. En el caso del AMOVA:

H_0 = No existe diferencias genéticas entre las poblaciones ($F_{st}=0$ o $R_{st}=0$).

H_a = Existen diferencias genéticas entre las poblaciones ($F_{st}>0$ o $R_{st}>0$).

Para el AMOVA, la hipótesis nula define a las subpoblaciones de análisis pueden ser consideradas parte de un gran número aleatorio de una población genética problema. (Peakall y Smouse, 2006). Los análisis de variancia evaluados dentro de los programas como Arlequín (Excoffier et al., 1992) y Genalex (Peakall y Smouse, 2006) están basados en el análisis de variancia en la frecuencia de genes, por lo que la definición de grupos de poblaciones

es de suma importancia, ya que se evaluará ambos grupos. La varianza total de la población en estudio puede ser particionada entre los componentes de la covarianza unidas a las diferencias intra-individual e inter-individual y/o diferencias inter-poblacionales. Los componentes de la covarianza (σ^2_i) son usados para determinar el índice de fijación, como originalmente fue definido por Wright (1951, 1965).

3.2.8 Análisis de coordenadas principales (PcoA).

El análisis de coordenadas principales (PCoA) es un miembro de la familia de los análisis factoriales que se analiza a partir de las distancias obtenidas por las matrices. Este análisis considera el espacio de altas dimensiones a ser leíbles a la búsqueda para un subespacio de baja dimensión donde las distancias entre unidades son tan cerrados como es posible las distancias de orígenes. El PCoA extrae un primer eje (una dimensión).

3.2.9 Análisis de Componentes principales

Es una técnica estadística de síntesis de información o reducción de la dimensión; el objetivo de esta técnica es la reducción de la información a un menor número sin perder ninguna información. Cada componente contiene una parte de la variabilidad total de los caracteres, donde el primer componente es el que contiene la mayor variabilidad, el segundo y tercer componente se va distribuyendo entre sus diferentes componentes. Cada componente principal es independiente a los otros; es decir, contiene una porción de la variación no expresada en ningún otro componente principal y puede ser representado en dos o tres dimensiones.

El cuadrado de la contribución de un carácter para un componente representa la varianza de ese carácter para dicho componente y la sumatoria de las varianzas de todos los caracteres para un determinado componente principal recibe el nombre de Eigen-valor o raíz latente. El valor Eigen, son diferentes para cada componente, en donde el componente con mayor valor de Eigen será el primer componente principal el que le sigue será el segundo y así sucesivamente.

La suma de los Eigen-valores, constituye la varianza total de las OTU's para los caracteres utilizados. Estos componentes se pueden representar gráficamente, generalmente se eligen los tres primeros componentes, ya que contienen la mayor parte de la variabilidad y la combinación de los gráficos bidimensionalmente.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en los laboratorio de Biología Molecular de del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) y en el Laboratorio Marcadores Moleculares de la División de Biodiversidad y Conservación de Recursos genéticos (División 2) del Centro Internacional de la Papa (CIP).

4.1 Materiales.

4.1.1 Enzimas y Kits:

- Taq DNA Pol. (Producida por el Centro Internacional de la Papa)
- RNAsa (SIGMA®)
- dNTPs mix 5mM (Promega®)
- Enzima de restricción Pst I (New England Biolabs®)
- Enzima de restricción EcoRI (New England Biolab®)
- Enzima de restricción MseI (New England Biolab®)
- Enzima T4 DNA ligasa (New England Biolab®)

4.1.2 Reactivos:

- Ácido Acético (Sigma®)
- Ácido Bórico (Sigma®)
- Alcohol isoamílico (Merck®)
- Acrilamida (Sigma®)
- Agarosa (Sigma®)
- Azul de Bromófenol
- Bisacrilamida (Sigma®)
- Bromuro de Etidio (Sigma®)
- Bromuro de Hexadeciltrimetil amonio (CTAB) (Aldrich®)
- Carbonate de Sodio (Merck®)
- Cloroformo (Merck®)
- Cloruro de Potasio (KCl) (Sigma®)
- Cloruro de Sodio (NaCl) (Merck®)
- Sigamacote (repelente) (Sigma®)

- Bind silano Adherente (Sigma®)
- EDTA (ácido etilen diamino tetra acético) (Sigma®)
- Etanol absoluto (Merck®)
- Formaldehído 37% (Merck®)
- Formamida (Sigma®)
- Hidróxido de sodio (Merck®)
- Isopropanol (Merck®)
- Mercaptoetanol (Sigma®)
- Naranja G (Sigma®)
- Nitrato de Plata
- Persulfato de Amonio (Sigma®)
- Sacarosa (Sigma®)
- TEMED (N.N.N'.N'-Tetra-metil etilen di-amina) (Applichem®)
- Tiosulfato de Sodio (Fisher®)
- Tris (Tris [hidroxi metil] amino etano) (Sigma®)
- Urea (Applichem®)
- Xilencianol (Sigma®)

4.1.3 Equipos:

- Savant fast prep (BIOONE®)
- Baño María (Precision Scientific®)
- Agitador magnético (Fisher Scientific®)
- Cámara de Electroforesis Horizontal (Gibco®)
- Cámaras de Electroforesis Vertical Modelo S2 (Gibco®)
- Captador de imágenes digital (Epichemi®)
- Fuentes de Poder de 200 y 3600 voltios (EC 250-90 Termo electrocorporation)
- Microcentrífuga (Eppendorf®)
- Orbital Shaker (VWR DS2 – 500 E2)
- Destilador de agua
- Sistema de Agua Ultrapura (Barnstead®)
- Termocicladores modelo PTC 100 (MJ. Research®)
- Transiluminador UV (Bio Rad®).

4.1.4 Programas bioinformáticos:

- NTsys 2.2 pc.
- DARwin 5.0.
- Genalex 6.3

4.1.5 Materiales de vidrio y otros:

- Espátulas, pinzas y tijeras
- Gradillas para tubos de microcentrífuga
- Guantes de vinil (libre de polvo)
- Matraces y vasos de precipitado
- Papel Watman N° 1
- Placas de policarbonato para PCR de 96 muestras con tapas (MJResearch®)
- Placas de vidrio de secuenciamiento para electroforesis vertical
- Probetas de 100, 250, 500 y 1000 ml
- Puntas plásticas cortadas 200 ml (Daigger®, Oxford® y Fisher®).
- Puntas sin cortar de 50, 200 y 1000 uL (Daigger®, Oxford® y Fisher®)
- Tubos para microcentrífuga de 1.5 ml
- Tubos para microcentrífuga de 2.0 ml.

4.2 Metodología.

4.2.1 Colecta del Material biológico

Se realizó una colecta de tubérculos de oca, durante los meses de Marzo-Mayo, procedentes (i) de las comunidades circunscrita al proyecto “Conservación *in situ* de los Cultivos Nativos y sus Parientes Silvestres” desarrollado por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA): Cajamarca (29), Lima (7) y Puno (44) y (ii) comunidades de Amazonas (7), La Libertad (24), Ancash (42), Arequipa (10), Moquegua (13), y Tacna (11). (Tabla 2).

Para el presente trabajo se seleccionó 187 accesiones; los cuales fueron evaluados a través de la caracterización morfológica y genética. La colecta

estuvo bajo la supervisión del PhD Eve Emshwiller, Universidad de Winsconsin (EEUU). Durante la colecta se evaluarón los tubérculos bajo tres criterios de selección: al azar, dirigido y seguridad; siendo codificadas alfanuméricamente con 6 dígitos (00.00.00), el cual indica el departamento, el agricultor y número de tubérculos colectados; también se registró sus datos georeferenciales (Tabla 2).

Tabla 2: Identificación de los tubérculos colectados en los diferentes departamentos, así mismo señalan los Identificadores (ID) y el código de Colecta

Departamento	ID	Código de colecta	Número de muestras
Amazonas	AMA000	05.00.00	7
Ancash	ANC000	10.00.00	42
Arequipa	ARE000	18.00.00	10
Cajamarca	CAJ000	03.00.00	29
Lima	LIM000	01.00.00	7
La Libertad	LLI000	07.00.00	24
Moquegua	MOQ000	15.00.00	13
Puno	PUN000	13.00.00	44
Tacna	TAC000	16.00.00	11
Total			187

4.2.2 Regeneración y Conservación de las accesiones de Oca.

Los materiales colectados durante los trabajos de colecta fueron regenerados en dos Estaciones Experimentales del INIA (EEA. Santa Ana-Junín y EEA. Andenes-Cusco). En la EEA. Santa Ana, se propagó los materiales para su posterior caracterización genética y en la EEA. Andenes para su conservación en el Banco de Germoplasma de oca de la Subdirección de Recursos Genéticos.

4.2.2.1 Regeneración de tubérculos

La regeneración permitió la propagación de las accesiones analizadas, esta se realizó en campo o en macetas, hasta que las accesiones desarrollen su ciclo fenológico, durante el desarrollo vegetativo se procedió a los estudios de genética a partir de las hojas y tubérculos para la evaluación morfológica. Las accesiones se sembró durante el período Mayo 2006- Junio 2007; en los campos de la Estación Experimental Santa Ana (INIA), ubicada en el distrito El Tambo (Huancayo-Junin), las coordenadas geográficas son 12°00'00"LS, 75°13'05"LW a 3260 msnm, una temperatura promedio de 6-18 ° C y precipitación anual de 800 mm.

4.2.2.2 Conservación de accesiones

Posteriormente a la regeneración, se cosecho los tubérculos de las accesiones evaluadas, manteniendo las codificaciones originarias, los tubérculos fueron separados en dos grupos: el **primero**, para su conservación en la Estación experimental Andenes en Cusco y el **segundo** para su caracterización morfológica en las instalaciones del Centro internacional de la Papa (La Molina).

4.2.2.3 Caracterización Morfológica de las accesiones de oca

Los tubérculos de las accesiones de oca fueron caracterizados siguiendo la metodología de los descriptores Oca (IPGRI/CIP 2001) (Anexo 2), los principales descriptores de tubérculos evaluados se observan en la Tabla 3, para la identificación de los colores primarios y secundarios se realizó a través de Tabla de Colores de la Real Sociedad de horticultura "RSH Colour Chart" (The Royal Horticultural Society, 1995).

4.2.2.4 Análisis de la caracterización de los tubérculos de oca.

Los caracteres cualitativos de los caracteres evaluados fueron registrados en una matriz básica de datos (MBD). Los datos obtenidos fueron estandarizados, esta consistió en expresar los valores de la matriz básica de datos en unidades de desviación estándar (Crisci y Lopez, 1983). El cálculo mencionado se expresa:

$$X_{ij \text{ est}} = (X_{ij} - Y_i) / S_i$$

Donde:

X_{ij} : El valor del carácter i para el OTU- j

Y_i : La media del carácter i .

S_i : Desviación estándar del carácter i .

Con el objeto de identificar los morfotipos, sus duplicados y determinar los caracteres que aportan la mayor variabilidad se realizó análisis de similaridad utilizando el coeficiente de distancia taxonómica y análisis de Componentes principales (ACP).

Tabla 3: Principales descriptores de oca a nivel tubérculos.

Carácter	Descripción
1	Color predominante de la superficie de los tubérculos
2	Color secundario de la superficie de los tubérculos
3	Distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos
4	Color predominante de la pulpa de los tubérculos
5	Color secundario de la pulpa de los tubérculos
6	Distribución del color secundario de la pulpa de los tubérculos
7	Forma de los tubérculos

4.2.3 Análisis de caracterización genética.

4.2.3.1 Extracción de los ácidos desoxirribonucleicos (DNA)

Los DNAs fueron aislados según la metodología de Cetyl trimethylammonium bromide- CTAB (Doyle y Doyle, 1990). La extracción se realizó por duplicado a partir de las hojas jóvenes y frescas; que a continuación se detalla:

En un tubo de microcentrifuga (2 mL) se colectó entre 3 a 5 hojas jóvenes y frescas, donde se adicionó 750 uL de Buffer de Extracción CTAB 2X y 2uL de β -Mercaptoetanol. Se utilizó un homogenizador de tejidos (Savant fast prep, BIOONE®) la cual utiliza perlas de cerámica para la trituración de los tejidos; el homogenizador tuvo un período de 40 segundos, posteriormente las muestras se llevó a baño María a 65 °C por 45 minutos; posteriormente, se adicionó 750 uL de la solución de Cloroformo: Alcohol Isoamílico (24:1), agitando suavemente para luego centrifugar 14000 RPM por 5 minutos. El sobrenadante fue colectado y transferido a un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL se adicionó 80 uL de Buffer CTAB 10X, luego se adicionó 650 uL de Cloroformo:alcohol isoamilico (24:1), posteriormente se centrifugó las muestras a 14 000 RPM por 5 minutos.

El sobrenadante fue colectado y transferido a un tubo de microcentrifuga y se agregó 500 uL de isopropanol frío, incubandolo a temperatura ambiente por espacio de 30 minutos. Se centrifugó las muestras (14000 RPM por 20 minutos), eliminandose el sobrenadante y posteriormente se realizó dos lavados sucesivos con etanol (70 y 90%).

El pellet fue liofilizado, para luego ser resuspendido en buffer T₁₀E₁ (TRIS, EDTA 10:1) a 4°C, para luego digerir el RNA extraído a través de RNAsa A (37 °C por 3 horas).

4.2.3.1.1 Evaluación de la calidad y concentración del DNA aislado

La calidad y cantidad del DNA extraído fue verificado mediante electroforesis en agarosa al 1% (Sambrook y Russel; 2001) diluido en buffer TBE 1X (Tris Borato- EDTA) y 1uL de bromuro de etidio (10 mg.mL⁻¹). Se tomó 1 uL de cada muestra de DNA y se mezcló con 9 uL de tampón de carga (SALB 1X), luego el gel fue colocado en una cámara de electroforesis horizontal con buffer TBE (1X) con las condiciones de 90 v durante 45 minutos.

Los DNAs de las muestras fueron cuantificadas mediante un marcador de peso conocido para ello se cargó en el gel 10 uL de marcador de peso molecular (Fago Lambda cortado con la enzima PstI). Las muestras fueron visualizadas en un transiluminador y las imágenes fueron almacenadas digitalmente.

La cantidad aproximada de DNAs de las muestras fueron estimadas comparando la intensidad y el espesor de cada una de las bandas con la primera banda del marcador Lambda, la cual es equivalente a 280 ng (Figura 4).

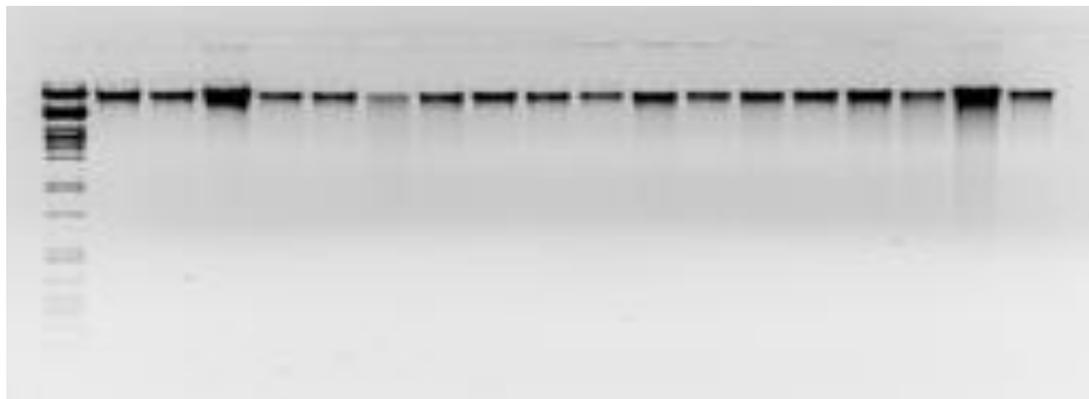


Figura 4. Evaluación de la integridad de los ácidos nucleicos extraídos a través de una electroforesis en agarosa (1%).

4.2.3.1.2 Dilución del DNA

Como condición para el inicio de los análisis en AFLP, se realizó una dilución de los DNAs de las muestras por analizar; para ello, se tomó 3000 ng como concentración inicial de trabajo; por lo que se diluyó los DNAs con Agua libre de Nucleasas (NWF) a una concentración de $100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ en un volumen de 30 μL . Las diluciones de los DNAs fueron almacenados en placas de 0.2 ml para 96 muestras.

4.2.3.2 Metodología de los AFLPs

4.2.3.2.1 Digestión de las muestras de DNA.

Las muestras de DNA fueron digeridas con las enzimas de restricción MseI y Eco RI, para un volumen final de 10 μL . La solución con las enzimas fueron adicionadas a los DNAs diluidos. La digestión fue realizada a 37°C por tres horas (Anexo 3.1).

4.2.3.2.2 Ligación de las muestras

Se adicionó adaptadores complementarios a las secuencias de digestión (Eco RI y MseI) a los DNAs digeridos; para ello se preparó la solución de ligación donde se incorporó los adaptadores Eco (A₁+A₂) y Mse (A₁+A₂); para la incorporación de los adaptadores a los DNAs digeridos, se adicionó la enzima T4 DNA ligasa (2.10⁶ U. mL⁻¹). El volumen final de la solución fue de 5 uL del master mix y se agregó a los 20 uL del volumen de la digestión. La reacción de ligación fue realizada a temperatura ambiente por espacio de 17 horas (Anexo 3.2).

4.2.3.2.2 Amplificación preselectiva

Las muestras ligadas fueron diluidas con el buffer T₁₀ E_{0.1} (1:2) para ser usada como molde de pre amplificación. Para esta, se utilizó iniciadores complementarios a la secuencia de los adaptadores sin un nucleótido adicional (Eco00 y Mse00) (50 ng. U.mL⁻¹). Las condiciones de amplificación fueron 20 ciclos de 94 °C a 30 sg, 56° C a 60 sg. y 72° C a 60 sg (Anexo 3.3).

4.2.3.2.3 Amplificación Selectiva

El producto de la pre-amplificación se diluyó con buffer T₁₀ E_{0.1} (1:3), para la amplificación selectiva; para la reacción se tomó 5 uL final de la pre-amplificación, 5 uL de la solución de la reacción selectiva, se adicionó 30 uL de aceite mineral. La reacción se llevó a cabo en un termociclador bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo de 2 min a 94°C; 20 ciclos de 20 sg a 94 °C, 30 sg a la correspondiente temperatura de alineamiento y 2 min a 72 °C; mas 1 ciclo final de 30 min a 60 °C. La temperatura de alineación disminuyó 1 grado cada ciclo, desde 66 °C a 56 °C (Anexo 3.4).

Para evaluar genéticamente las accesiones de oca, se usaron cuatro pares de combinaciones (E₄₂/M₆₀, E₃₅/M₅₉, E₄₀/M₃₅ y E₃₉/M₄₀). Biondi (2006) y Schibbi (2007) evaluaron que las combinaciones reportadas son las que presentan mayor polimorfismo en las poblaciones evaluadas (Tabla 4).

Tabla 4: Combinación de primers utilizados para la caracterización genética en oca a través de AFLP

Secuencia de los Iniciadores usados para las pruebas de AFLP en Oca						
Iniciador Eco	Secuencia (+3)			Iniciador Mse	Secuencia (+3)	
42	GAC TGC GTA CCA ATT C	AGT		60	GAT GAG TCC TGA GTA	CTC
35	GAC TGC GTA CCA ATT C	ACA		59	GAT GAG TCC TGA GTA	CTA
40	GAC TGC GTA CCA ATT C	AGC		35	GAT GAG TCC TGA GTA	ACA
39	GAC TGC GTA CCA ATT C	AGA		40	GAT GAG TCC TGA GTA	AGC

4.2.3.2.4 Electroforesis.

a. Electroforesis de los productos amplificado (PAGE 6%)

Los productos de amplificación fueron separados en geles denaturantes de poliacrilamida la cual contiene acrilamida (6%), bisacrilamida (0.3%), Urea (7M) y TBE (1X). Los vidrios de secuenciamiento fueron pre tratado con una solución adherente y repelente. En el vidrio con la solución adherente se revelará con una tinción de plata. La migración de las muestras se realizó a través de una electroforesis vertical en un sistema de secuenciamiento, para ello se utilizó a 1600 V (40W). El tiempo de exposición fue de aproximadamente a 3 horas con 45 minutos, se tomó como referencia de migración al xilencianol, el cual tiene un peso equivalente de 110pb.

A cada muestra se le agregó 5 uL de tampón de carga conteniendo formamida (96% v/v), EDTA (10mM EDTA, pH 8.0), azul de bromófenol (0.05 % w/v) y xilencianol (0.05%). Antes de cargar las muestras al secuenciador se procedió a denaturar las muestras a 95 °C durante 5 minutos, para luego cargar la mezcla (7 uL) en los geles de poliacrilamida.

b. Detección de los productos con Tinción de nitrato de plata

Para la detección de los fragmentos amplificados se utilizó el protocolo de tinción con nitrato de plata, propuesto por Bassam et al. (1991). El proceso de tinción consta de tres pasos básicos: **(i)** fijación, **(ii)** tinción y **(iii)** revelado:

(i) Fijación del gel (ácido acético glacial 10%), los vidrios de secuenciamiento fueron separados con la ayuda de una espátula, el

vidrio secuenciamiento con el gel de acrilamida adherido es colocado en una bandeja con la solución de ácido acético glacial, dejándola en agitación por espacio de 30 minutos, posteriormente se realizó dos enjuagues sucesivos con agua destilada y fría (4 minutos).

(ii) Impregnación con Plata (1 gr AgNO_3 y 1.5 mL de formaldehído en 1L de agua) el gel ya escurrido fue transferido a la solución de tinción y dejado en agitación por 30 minutos en condiciones de oscuridad para ayudar la reacción de impregnación.

(iii) Revelado del gel (15 gr NaCO_3 , 900 uL HCOH y 15 uL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 100 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ en 0.5 L de agua), la solución se preparó inmediatamente para el momento del revelado y a una temperatura de 10°C . El revelado se realizó en una bandeja de fondo claro para contrastar el proceso de revelado de las bandas de AFLP. La reacción fue detenida por adición de una solución de ácido acético. Luego de culminado el proceso de tinción, el gel fue lavado en agua ultra pura por 5 a 10 segundos para retirar los excedentes de plata y de ácido acético.

c. Registro de patrones de bandas.

El patrón de polimorfismo obtenido para cada combinación de iniciadores fueron registrados a partir de los vidrios revelados, para ello se utilizó un transiluminador de luz blanca, los datos fueron registrados en una matriz binaria con valores de 1 y 0 de presencia y ausencia de las bandas respectivamente; la carencia o duda de un dato se registró con 9 (como denominación arbitraria).

4.2.3.2.6 Análisis de datos

4.2.3.2.6.1 Análisis Morfológicos de los tubérculos

a. Análisis de similaridad de los tubérculos de oca

Para realizar los análisis de similaridad en las accesiones, se caracterizó morfológicamente los tubérculos de las accesiones de oca según los descriptores del IPGRI/CIP (2001). Se utilizó el programa Ntsys pc 2.2, para ello se estandarizó los datos (opción Standarization- Transformation),

posteriormente se evaluó la similitud de las accesiones a través del coeficiente de distancia (opción Simint –Dis/similarity) y agrupándolo mediante el método Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean-UPGMA (opción Clustering-SAHN).

b. Análisis de Componentes principales.

Los datos estandarizados fueron evaluados mediante el coeficiente de correlación (opción interval data- similarity) del Programa NTsys 2.2, posteriormente con la matriz de correlación obtenida fue evaluado a través de los valores eigen vector y value (opción Eigen- Ordination), para evaluar los valores de componentes principales, (opción projection- Ordination).

4.2.3.2.6.2 Análisis genético de las accesiones de oca.

Una vez realizado el revelado de las combinaciones selectivas de AFLP mediante las electroforesis verticales, se registró de la presencia de las bandas (1) y con la ausencia (0), registrándose en una matriz básica de datos (MBD) mediante la ayuda del programa Excel, para posteriormente seleccionar las bandas con mayor porcentaje de polimorfismo (20- 80%).

a. Análisis de similaridad y agrupamiento.

Para el análisis de similaridad, se evaluó mediante el programa NTsys 2.2 , la MBD fue almacenado en el programa NTsys-edit, con este nuevo archivo, se carga al programa NTsyspc 2.2 con la cual se realizó el análisis mediante los índices de Dice, Simple Matching y Jaccard, para posteriormente ser agrupada mediante UPGMA (Opción qualitative data -Dis/similarity y SAHN-Cluster, respectivamente). El dendrograma generado fue visualizado mediante la opción Treeplot-Cluster.

Así mismo, se utilizó el programa DARwin5.0, para ingresar los datos geográficos de las accesiones, diseñándose dos MBD, donde una de ella nos sirve para el almacenamiento de los datos moleculares y la segunda para almacenar el origen de las accesiones.

b. Análisis de remuestreo.

Para evaluar el porcentaje confiabilidad de cada clúster, se realizó un análisis de Bootstrap, mediante el programa DARwin5.0, con un valor de 1000 repeticiones.

c. Análisis molecular de varianza (AMOVA).

Para realizar los análisis de AMOVA, se utilizó al programa Análisis genético en Excel- Genalex 6.3 (Peakall y Smouse, 2006). Se realizó modificaciones a la MBD de acuerdo a las necesidades del programa, para la evaluación de las variaciones de las accesiones, esta se realizó mediante dos formas de análisis, la primera usando 3 regiones (norte, centro y sur) y la segunda utilizando las localidades de donde se colectaron las muestras (Cajamarca, Amazonas, La Libertad, Ancash, Lima, Arequipa, Moquegua, Tacna y Puno) desarrollándose una Matriz genética de datos (MGD) para cada uno de los casos. A partir de estas MGD, se desarrolló el análisis molecular de variancia usando la opción matriz cuadrática o triple, los cálculos de distancia de tipo binario- haploide y una permutación de 999.

d. Correlación morfológica- molecular y molecular- geográfico (Índice de Mantel).

Para evaluar una correlación entre los descriptores morfológicos y los marcadores molecular, se realizó un análisis mediante el índice de Mantel, el cual compara dos matrices de similaridad o disimilaridad y las contrasta elemento por elemento, midiendo el grado de relación entre las dos matrices. Para realizar dicho análisis se utilizó el programa Ntsyspc 2.2 y Genalex6.3, para las correlaciones morfológico- molecular- geográfico, a continuación se detalla:

d.1 Correlación Morfológico- molecular (NTsyspc 2.2)

Los análisis para la correlación, la MBD morfológico fue estandarizada y analizado mediante el índice de distancia (Camberra), la agrupación se realizó mediante UPGMA, para luego se realizó un análisis cofenético. De la misma manera se estandarizó la MBD genético, la cual se analizó con el índice de

Jaccard, para luego agruparlo mediante UPGMA y posteriormente analizarlo mediante el análisis cofenético. Los datos cofenético, tanto los marcadores morfológico como moleculares fueron evaluados mediante la opción Mxcomp-graphics.

d.2 Correlación Geográfico- Molecular (Genalex 6.3)

Para realizar los análisis de correlación mediante los datos geográfico y molecular, se abrió dos pestañas en un archivo en Excel. En la primera se registró las accesiones con su información geográfica (localidades o áreas geográficas), los datos de longitud y latitud fueron registrados en unidades UTM y en la segunda pestaña, se ingresó los datos moleculares. El análisis de distancia se realizó para ambas matrices para luego ser evaluado mediante el índice de Mantel.

e. Análisis de la estructura genética de las poblaciones de oca

Se realizó la evaluación de la frecuencia de los marcadores de AFLP que son únicos por localidad, para ello se evaluó la presencia de bandas polimórficas por localidades marcadores. El número de marcadores por localidad fueron analizados con el programa **ABC4F** (Approximate Bayesian Computation for F-statistics), desarrollado por Foll et al. (2008) el cual permitió evaluar el F_{st} de las poblaciones.

El índice de fijación (F_{st}) permite evaluar la reducción de la heterocigosidad en una sub población debido a los cruzamientos no al azar, con respecto a la población de estudio (total). El rango del F_{st} va desde 0 hasta 1, siendo 0 indica que no existe diferenciación genética en las subpoblaciones, mientras que el valor de 1 significa la fijación para los alelos alternos en diferentes sub poblaciones.

V. RESULTADOS

5.1 Caracterización morfológica de los tubérculos

La caracterización morfológica de las 187 accesiones a partir de los siete caracteres morfológicos de tubérculos del IPGRI para oca, indica una identificación de 68 morfotipos (36.4%) y 119 accesiones son identificadas como duplicados (63.6%) (Figura 5). El análisis de agrupamiento de los morfotipos mediante UPGMA, nos indica la presencia de 7 grupos o clúster definidos por los caracteres morfológicos evaluados (Figura 6). El carácter que comparten en común estos clúster es el color secundario de la pulpa y la forma del tubérculo y los caracteres que permiten diferenciar a los grupos son el color secundario del tubérculo, el color de la pulpa, la distribución del color secundario y el color predominante de la superficie del tubérculo (grupo uno, dos, cuatro y siete respectivamente).

5.2 Caracterización morfológica de los tubérculos por departamentos y regiones

De las 187 accesiones evaluadas, el análisis de agrupamiento señalan cuatro departamentos con una mayor presencia de morfotipos son Ancash, Puno, Cajamarca y La Libertad (24, 18, 14 y 11 respectivamente). El departamento de menor presencia de morfotipos es Amazonas (3), el departamento de Lima, Moquegua y Tacna con la misma cantidad de morfotipos (6) y el departamento de Arequipa presenta 8 morfotipos.

Del análisis de similaridad de los 187 tubérculos, se han obtenido 68 morfotipos de los cuales algunos de ellos se ven duplicados totalizando 98. De estos análisis el departamento de Amazonas presenta 4 (4.1%), Cajamarca 14 (14.3%), La Libertad 11 (12.2%), Ancash 24 (24.5%), Lima 7 (7.1%), Arequipa 7(7.1%), Puno 18 (18.4%), Moquegua 6 (6.1%) y Tacna 6 (6.1%). (Tabla 5 y Figura 7).

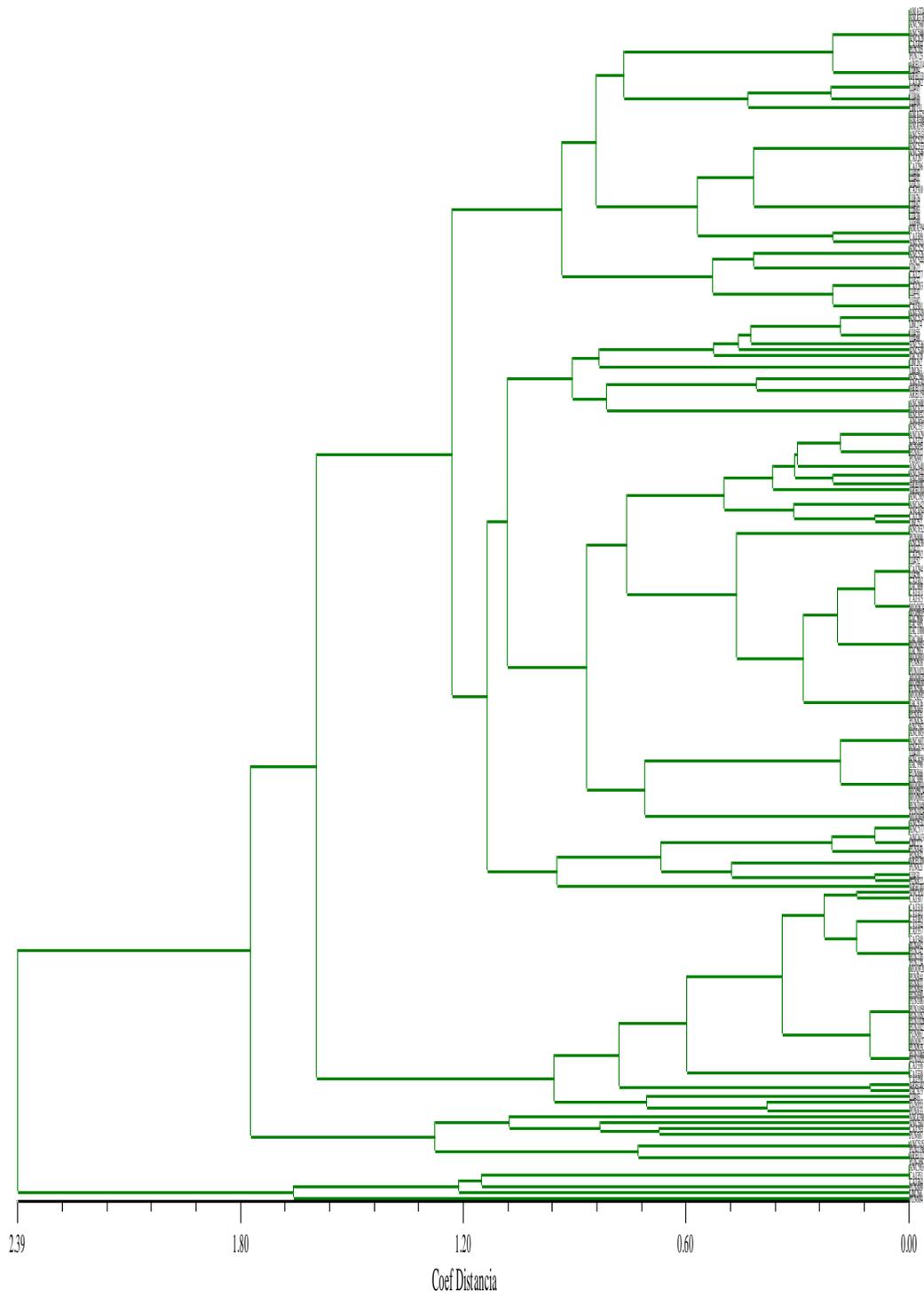


Figura 5. Análisis de agrupamiento a partir de la evaluación de los tubérculos de oca.

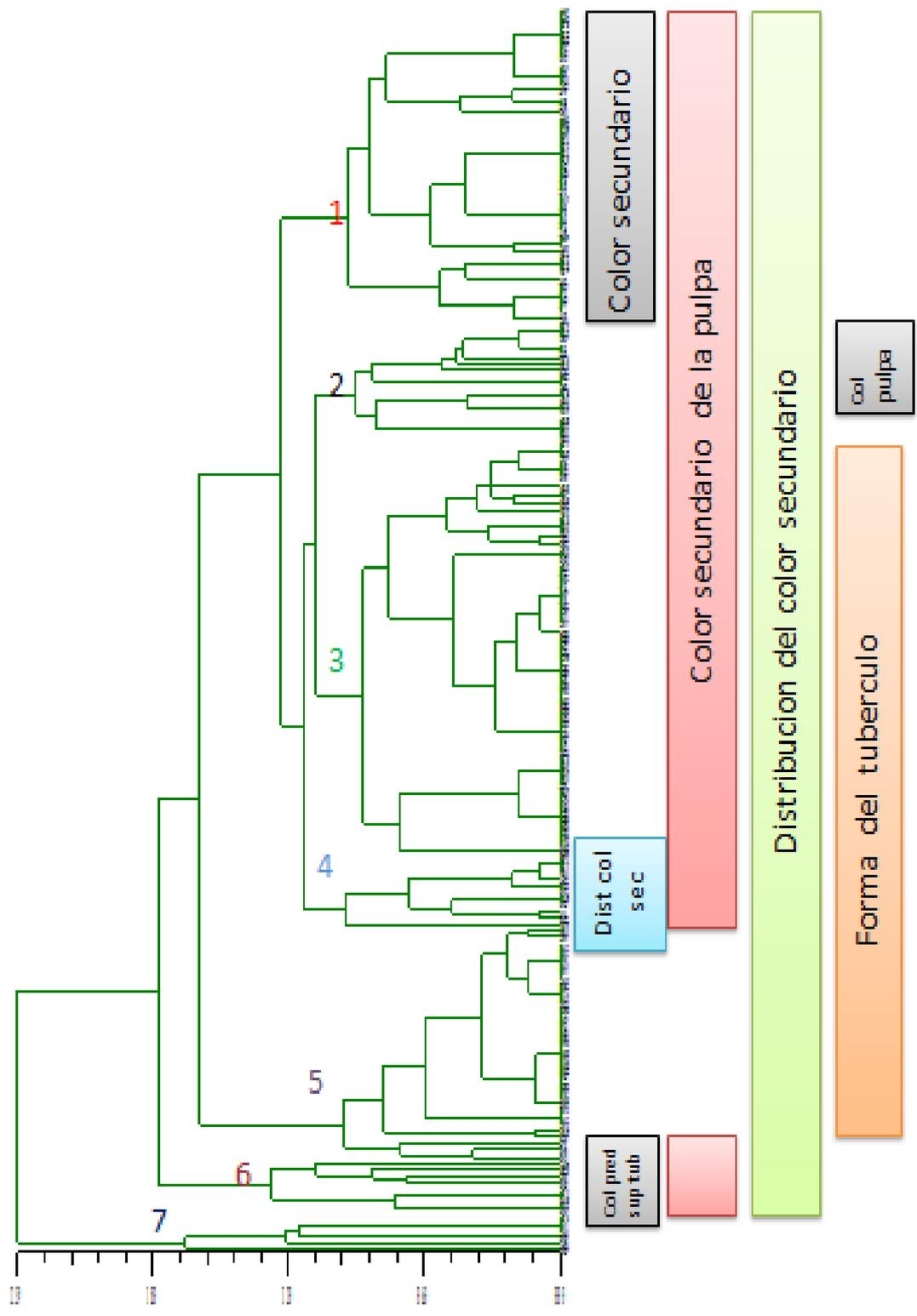


Figura 6. Agrupamiento de los caracteres morfológicos de tubérculos de oca.

Tabla 5. Morfotipos de oca identificados en las diferentes localidades del Perú

Departamentos	AMA	ANC	CAJ	PUN	MOQ	ARE	LLI	LIM	TAC	Total
cant morfotipo	4	24	14	18	6	7	12	7	6	98
%	4.1	24.5	14.3	18.4	6.1	7.1	12.2	7.1	6.1	100

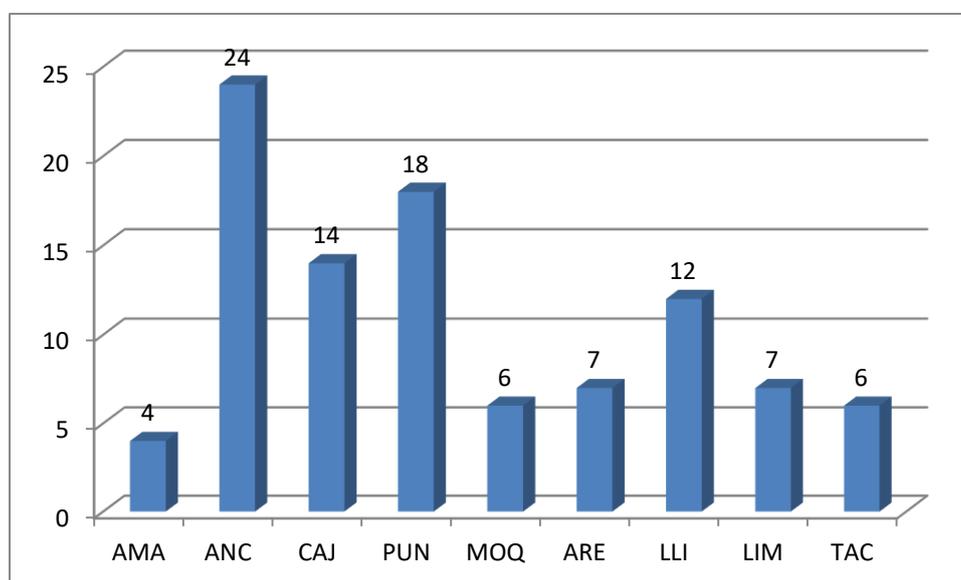


Figura 7. Distribución del número de morfotipos de oca ubicado en los departamentos evaluados

Al realizar el análisis de los morfotipos por sectores (Norte, Centro y Sur), se han registrado 31, 30 y 37 morfotipos por región representando el 31.6, 30.6 y 37.8% respectivamente. Del análisis de los 68 morfotipos, se han registrado 4 morfotipos que se encuentran en 4 departamentos (5.88%), 3 morfotipos que se ubican en 3 departamentos (4.41%), 12 morfotipos que se encuentran en 2 departamentos (17.65%) y 49 morfotipos que se ubican en un solo departamento (72.06%). (Figura 8).

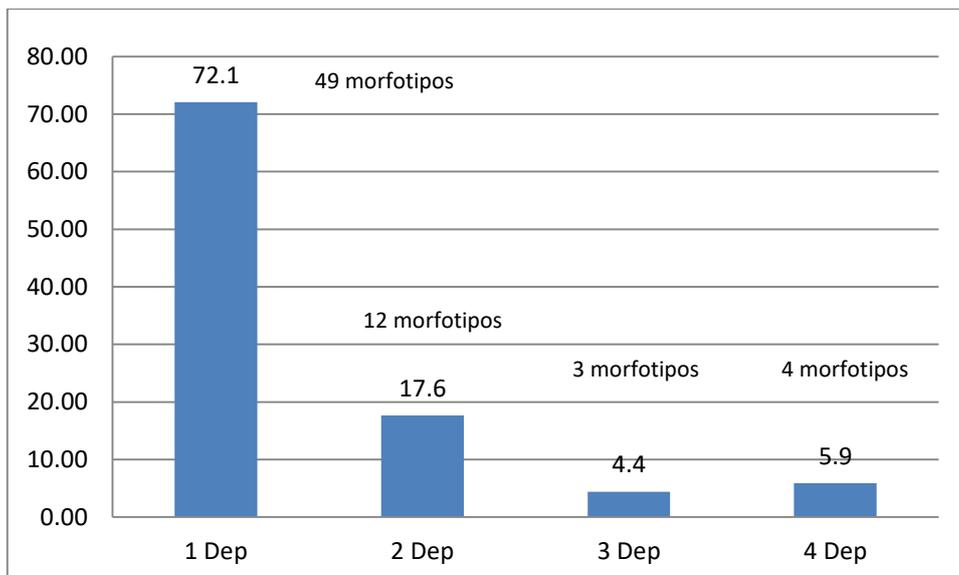


Figura 8. Distribución de los morfotipos de oca en función a la ubicación geográfica encontrada.

5.3 Análisis de componentes principales de la caracterización morfológica de las accesiones de oca

El Eigenvalue, señala que los primeros 3 componentes evaluados presentan la mayor variabilidad a nivel de tubérculos (74.72%) (Tabla 6). Así mismo, dentro del primer componente (37.29%) se encuentra determinada por la distribución de los colores secundarios, el color secundario de la pulpa y la distribución del color secundario son los que aportan la mayor variación en este componente. En el segundo componente (24.77%) los colores predominante superficial, el color secundario y la forma de tubérculo son los que aportan la mayor variación para este componente y el tercer componente (12.67%) el carácter de la pulpa es el que aporta la mayor variación. (Tabla 7).

Tabla 6. Acumulación del Eigenvalue sobre los componentes

Componente	Eigenvalue	Porcentaje	Porcentaje
1	2.610	37.291	37.29
2	1.734	24.768	62.06
3	0.886	12.668	74.72
4	0.681	9.823	84.45
5	0.612	8.739	93.18
6	0.432	6.171	99.35
7	0.045	0.645	100.00

Tabla 7. Aporte de los caracteres morfológicos evaluados en oca sobre los cuatro primeros componentes

Componente	Color predominante superior	Color secundario	Distribución color secundario	Pulpa	Color secundario de Pulpa	Distribución de color secundario	Forma
1	0.0576	-0.5446	0.7404	0.3699	-0.8808	-0.8504	-0.3553
2	0.7518	-0.6081	-0.1852	-0.2949	0.3068	0.4216	-0.6368
3	0.2656	-0.0498	0.0167	0.8557	0.1976	0.1409	0.1486
4	0.0431	-0.2225	-0.4621	-0.1647	0.0946	0.1261	0.6031

5.4 Análisis de los caracteres morfológicos de las accesiones evaluadas

5.4.1 Color predominante de la superficie de los tubérculos.

Los colores de mayor predominancia en la superficie del tubérculo son amarillo (36.8%), blanco amarillento (27.9%), naranja amarillento (17.6%), rojo (10.3%), púrpura grisáceo oscuro (2.9%), púrpura rojizo, rojo naranja y blanco (1.5% cada uno). (Figura 9).

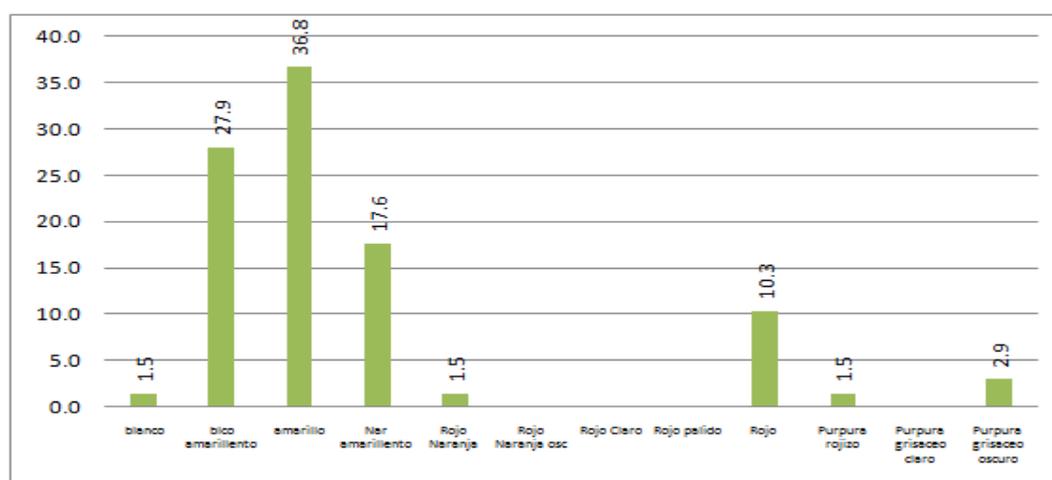


Figura 9. Predominancia del color de la superficie de los tubérculos

5.4.2 Color secundario de la superficie del tubérculo

El color predominante en las accesiones evaluadas es el rojo (26.5%), ausente (25%), rojo pálido (16.2%), púrpura rojizo (11.8%), púrpura grisáceo (8.8%), rojo naranja, blanco amarillento, amarillo (2.9%), blanco y naranja amarillento (1.5%) (Figura 10).

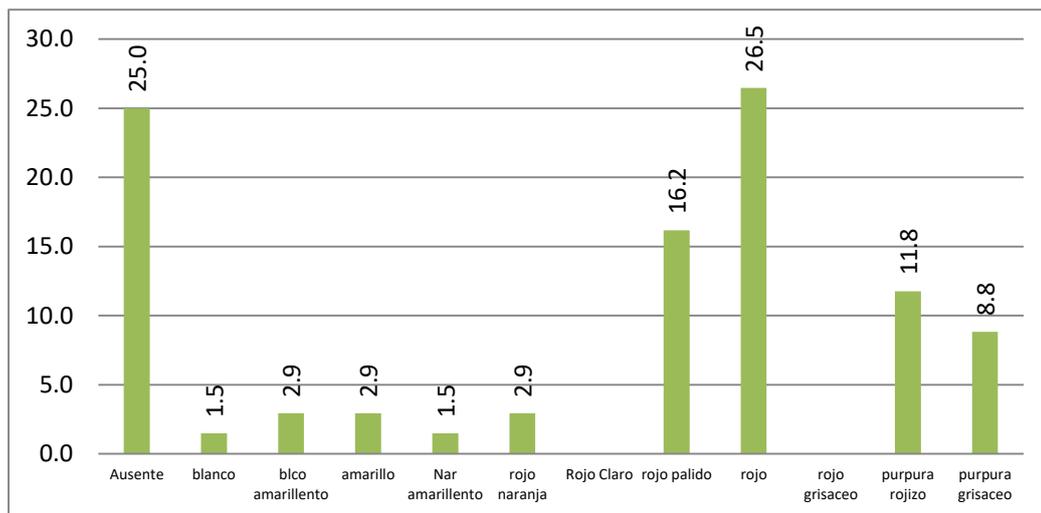


Figura 10. Color secundario de la superficie de los tubérculos de las accesiones evaluadas

5.4.3 Distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos

Se ha observado la presencia a nivel de los ojos (27.9%), en los ojos e irregularmente distribuido (22.1%), la ausencia del color (20.6%), sobre la tuberización (11.8%), alrededor de los ojos (8.8%), irregularmente distribuidos (5.9%), y sobre las veteaduras (2.9%) (Figura 11).

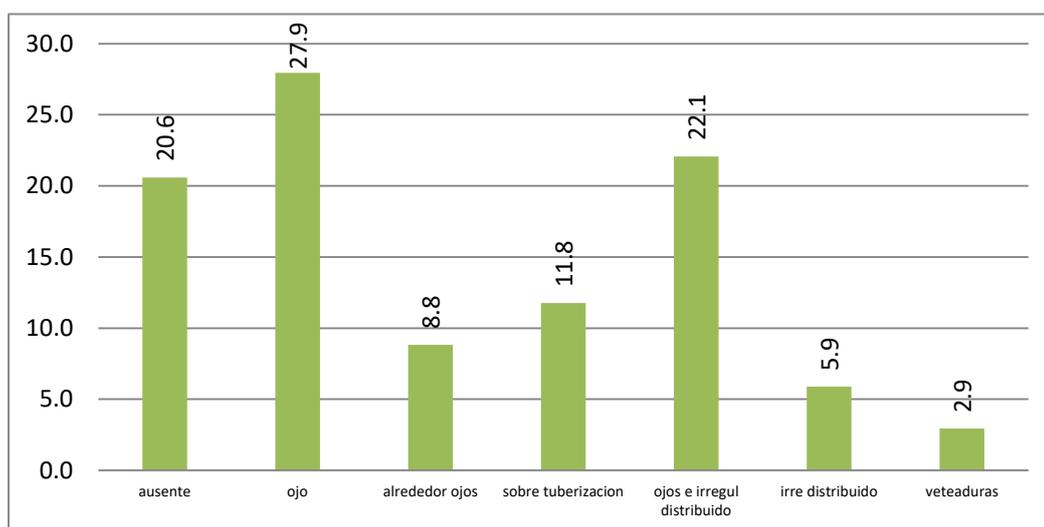


Figura 11. Distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos de las accesiones evaluadas

5.4.4 Color predominante de la pulpa de los tubérculos

El color amarillo (67.6%) es el más predominante, seguido del blanco amarillento (19.1%), naranja amarillento (11.8%) y blanco (1.5%) (Figura 12).

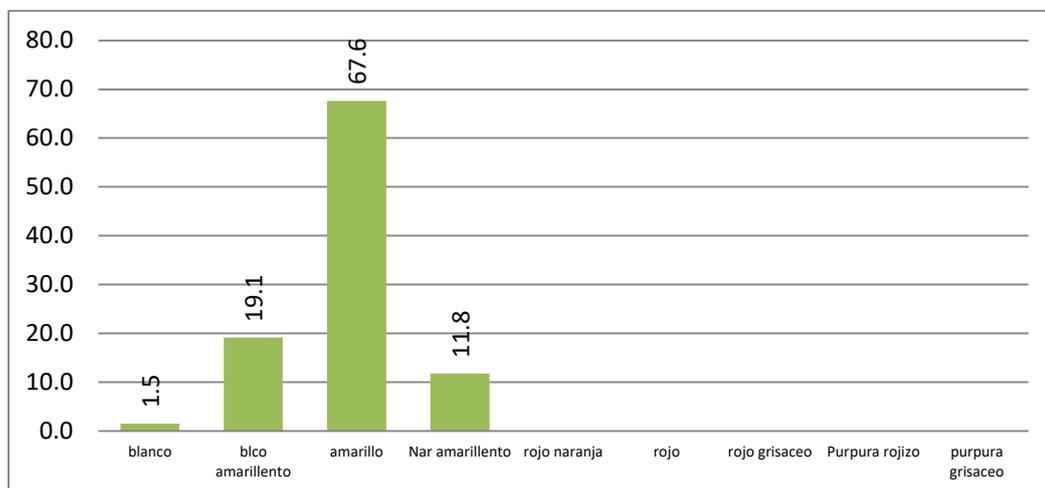


Figura 12. Distribución del color predominante a nivel de pulpa de los tubérculos evaluados

5.4.5 Color secundario de la pulpa de los tubérculos

Los tubérculos analizados existe una mayor porcentaje de ausencia de color (73.5%), rojo (10%), rojo pálido (7.4%), púrpura rojizo (2.9%), rojo claro, blanco amarillento, púrpura grisáceo (1.5%) (Figura 13).

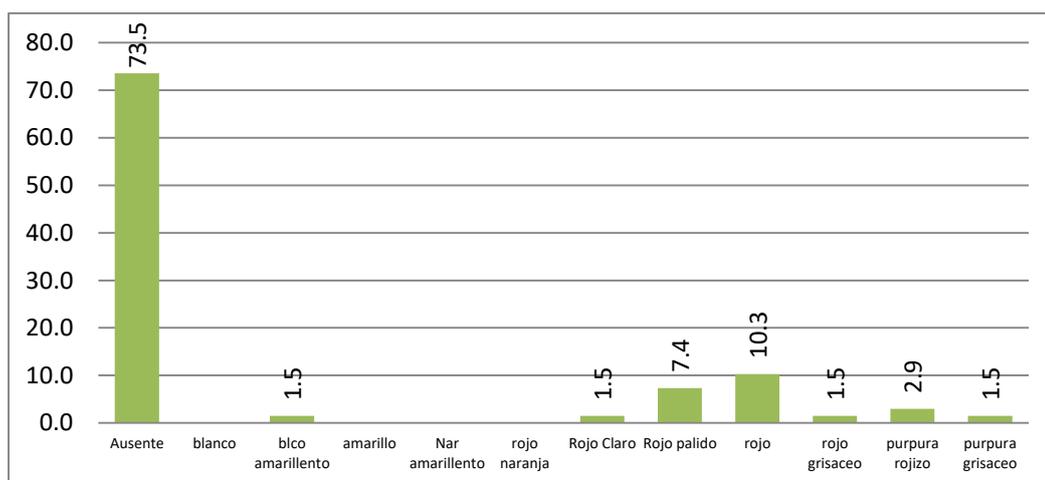


Figura 13. Composición del color secundario a nivel de los tubérculos evaluados

5.4.6 Distribución del color secundario de la pulpa de los tubérculos.

Mayor parte de los tubérculos carecen de la distribución (76.5%), sobre el anillo vascular (20.6%), medula, corteza y medula (1.5%) (Figura 14).

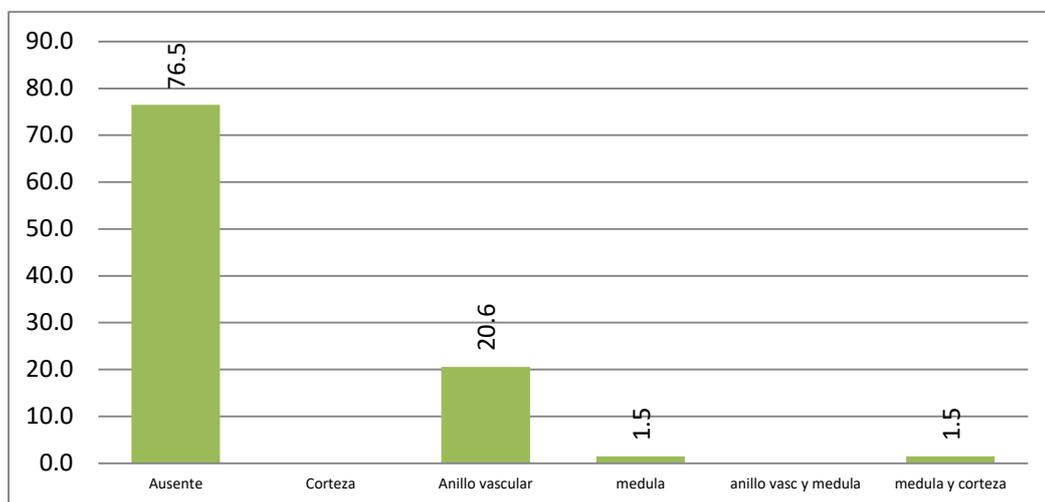


Figura 14. Distribución del color secundario a nivel de pulpa de los tubérculos evaluados.

5.4.7 Forma de los tubérculos

La forma cilíndrica (57.4%) es la de mayor frecuencia en las accesiones analizadas, seguida de la forma claviforme (22.1%), alargado (13.2%) y ovoide (7.4%) (Figura 15).

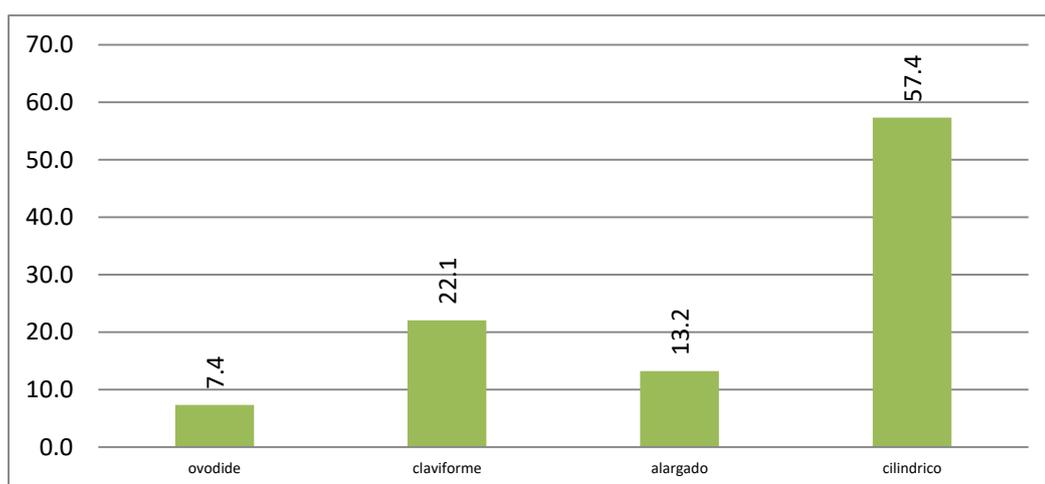


Figura 15. Forma de los tubérculos evaluados en las poblaciones en estudio.

5.4.8 Descripción de los morfotipos

Morfotipo 1: distribuido en los departamentos de Amazonas (AMA374, AMA378, Ancash (ANC560, ANC 588, ANC628), Cajamarca (CAJ304) y Puno (PUN705, PUN723). Se caracteriza por tener un color amarillo en la superficie del tubérculo, el color predominante en la pulpa es amarillo, y la forma de las accesiones son cilíndricas

Morfotipo 2: distribuido en los departamentos Cajamarca (CAJ282), Arequipa (ARE1114, ARE1131) y La Libertad (LLI664). Se caracteriza por tener un color naranja amarillento en la superficie del tubérculo, el color predominante en la pulpa es amarillo y la forma de las accesiones son cilíndricas.

Morfotipo 3: distribuido en el departamento de La Libertad (LLI405), se caracteriza por presentar un color blanco amarillento en la superficie del tubérculo, el color predominante de la pulpa es amarillo, con una coloración amarilla en la pulpa y la forma de la accesión es cilíndrico.

Morfotipo 4: distribuido en el departamento de La libertad (LLI406, LLI409) presenta una coloración blanco amarillento en la superficie del tubérculo, el color de la pulpa es amarillo y la forma es cilíndrica.

Morfotipo 5: distribuido en el departamento de Lima (LIM131) el color predominante en la superficie es el amarillo, la pulpa presenta una coloración amarilla y la forma del tubérculo es alargada.

Morfotipo 6: distribuido en los departamentos de Amazonas (AMA375, AMA386, AMA395), Ancash (ANC513, ANC532, ANC533, ANC546), Cajamarca (CAJ287, CAJ296) y La libertad (LLI402, LLI407, LLI423), siendo amarilla la superficie y la pulpa del tubérculo, careciendo de colores secundarios tanto y la forma del tubérculo es claviforme.

Morfotipo 7: distribuido en los departamentos de Cajamarca (CAJ310) y La Libertad (LLI676, LLI438, LLI467, LLI663, LLI399), se caracteriza por tener una coloración amarilla tanto la superficie como la pulpa, así mismo la forma de los tuberculos sin alargadas.

Morfotipo 8: distribuido en los departamentos de Amazonas (AMA394) y Cajamarca (CAJ309).

Morfotipo 9: distribuido en el departamento de Ancash (ANC511), siendo el color de la superficie naranja amarillento, el color de la pulpa amarillo y la forma del tubérculo ovoide.

Morfotipo 10: distribuido en el departamento de Ancash (ANC525, ANC526, ANC544), se caracteriza por presentar un color naranja amarillento sobre la superficie y en la pulpa; la forma de las accesiones son alargados.

Morfotipo 11: distribuido en el departamento de La libertad (LLI672), se caracteriza por presentar un color naranja amarillento sobre la superficie y en la pulpa; la forma de las accesiones son claviformes.

Morfotipo 12: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ277, CAJ283) y La libertad (LLI441, LLI437.LLI397) se caracteriza por presentar un color naranja amarillento sobre la superficie y en la pulpa; la forma de las accesiones son cilíndricas.

Morfotipo 13: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ301), de color amarillo en la superficie de los tuberculos, un color naranja amarillento sobre la pulpa y la forma de la accesión es cilíndrica.

Morfotipo 14: distribuido en los departamento de Ancash (ANC519, ANC524) y La libertad (LIM274) se caracteriza por tener un color amarillo en la superficie del tubérculo, su color secundario en su superficie es el rojo a nivel de los ojos, la pulpa presenta una coloración amarilla y la forma de las accesiones son claviformes.

Morfotipo 15: distribuido en el departamento de la Libertad (LLI455, LLI468), se caracteriza por la presencia de color amarillo en la superficie del tubérculo, presentando un color purpura rojizo en la superficie de los ojos, el color de la pulpa es amarillo y la forma de las accesiones son claviforme.

Morfotipo 16: distribuido en el departamento de Ancash (ANC536) de color rojo naranja en la superficie del tubérculo, presencia de color secundario rojo a nivel de los ojos, la pulpa es de color amarillo y la forma de las accesiones son claviformes.

Morfotipo 17: distribuido en el departamento de Ancash (ANC539) de color amarillo en la superficie de los tubérculos, presencia de color

secundario rojo a nivel de los ojos, la pulpa es de color amarillo y la forma de las accesiones son ovoides.

Morfotipo 18: distribuido en el departamento de Tacna (TAC978), de color amarillo en la superficie de los tubérculos, su color secundario es naranjado amarillento a nivel de los ojos, la pulpa es amarilla y su forma es de color claviforme.

Morfotipo 19: distribuido en el departamento de Ancash (ANC634), de color naranja amarillento en su superficie, presenta una coloración rojo naranja irregularmente distribuido en su superficie, la pulpa presenta una coloración amarilla y la forma del tubérculo es claviforme.

Morfotipo 20: distribuido en el departamento de Arequipa (ARE1110, ARE1159), se caracteriza por presentar un color amarillo en la superficie del tubérculo, presenta un color rojo a nivel de los ojos e irregularmente distribuidos, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es amarillo.

Morfotipo 21: distribuido en el departamento de Ancash (ANC566, ANC600, ANC627, ANC637, ANC653) de color naranja amarillento en la superficie del tubérculo, con una coloración rojo pálido sobre las tuberizaciones, la pulpa presenta un color naranja amarillento y los tubérculos tienen forma claviforme.

Morfotipo 22: distribuido en el departamento de Ancash (ANC531, ANC577, ANC613) de color blanco amarillento, con una coloración rojo purpura a nivel de los ojos, el color de la pulpa es de color blanco amarillento y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 23: distribuido en el departamento de Lima (LIM272), de color blanco amarillento, presenta una coloración purpura rojizo a nivel de los ojos, la pulpa es de color blanco amarillento y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 24: distribuido en el departamento de Puno (PUN840, PUN842), de color blanco amarillento, presenta una coloración roja a nivel de los ojos, la pulpa es de color blanco amarillento y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 25: distribuido en el departamento de Puno (ARE1100, PUN821), de coloración blanco amarillento a nivel de los tubérculos,

de color rojo pálido sobre las tuberizaciones, la pulpa es de color blanco amarillento y la forma de los tubérculos es de tipo cilíndrico.

Morfotipo 26: distribuido en el departamento de la Libertad (LLI431), de color blanco amarillento, de color rojo a nivel de los ojos e irregularmente distribuidos, el color de la pulpa es de tipo blanco amarillento y la forma de los tubérculos es de tipo alargado.

Morfotipo 27: distribuido en el departamento de Puno (PUN822), de color blanco amarillento a nivel de la superficie, presenta un color rojo pálido a nivel de los ojos e irregularmente distribuido, el color de la pulpa es de blanco amarillento y la forma del tubérculo es alargado.

Morfotipo 28: distribuido en el departamento de Arequipa (ARE1107), de color blanco en la superficie del tubérculo, el color purpura rojizo a nivel de los ojos e irregularmente distribuido y la forma del tubérculo es de tipo claviforme.

Morfotipo 29: distribuido en el departamento de Ancash (ANC537, ANC629) y Cajamarca (CAJ324), de color amarillo en la superficie del tubérculo, con una coloración roja a nivel de los ojos e irregularmente distribuido, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 30: distribuido en el departamento de Puno (PUN695, PUN817, PUN697), de color amarillo en la superficie del tubérculo con una coloración purpura rojizo a nivel de los ojos e irregularmente distribuidos, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrica.

Morfotipo 31: distribuido en el departamento de Ancash (ANC640), de color amarillo, con una coloración purpura grisácea sobre las tuberizaciones, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 32: distribuido en el departamento de Ancash (ANC644, ANC660), de color naranja amarillento, con una presencia de color roja sobre la tuberización, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es amarillo.

Morfotipo 33: distribuido en el departamento de Arequipa (ARE1087) de color amarillo la superficie del tubérculo, presenta una coloración

roja a nivel de las tuberizaciones, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es de tipo cilíndrico.

Morfotipo 34: distribuido en el departamento de Arequipa (ARE1101), de color blanco amarillento a nivel de la superficie del tubérculo, con una coloración rojo pálido sobre las tuberizaciones, la pulpa presenta un color amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 35: distribuido en el departamento de Ancash (ANC565, ANC642, ANC654), de color naranja amarillento sobre la superficie del tubérculo, con una coloración rojo pálido irregularmente distribuido, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 36: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ286), de color amarillo, con una coloración roja en forma de veteaduras sobre la tuberización, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 37: distribuido en el departamento de Lima (LIM252), el color de la superficie del tubérculo es amarillo, con una coloración rojo pálido en forma de veteaduras sobre la tuberización, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 38: distribuido en los departamentos de Ancash (ANC632) y Puno (PUN800), de color amarillo en la superficie del tubérculo, presenta un color grisáceo a nivel de los ojos, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es de tipo alargada.

Morfotipo 39: distribuido en los departamentos de Ancash (ANC638), Cajamarca (CAJ292, CAJ294, CAJ302, CAJ311, CAJ315), La libertad (LLI456, LLI452, LLI427) y Tacna (TAC969), de color amarillo en la superficie del tubérculo, presenta una coloración purpura rojiza a nivel de los ojos, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es de tipo cilíndrica.

Morfotipo 40: distribuido en el departamento de Moquegua (MOQ874) de coloración amarilla, con una coloración purpura grisáceo a nivel de los ojos, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 41: distribuido en los departamentos de Puno (PUN816, PUN10210, Moquegua (MOQ895, MOQ903, MOQ901, MOQ935) y

Tacna (TAC999, TAC985, TAC1000, TAC968, TAC983) de coloración amarilla a nivel de la superficie del tubérculo, presenta una coloración roja a nivel de los ojos, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 42: distribuido en los departamentos de Puno (PUN796, PUN826, PUN865, PIN831) Moquegua (MOQ 880, MOQ885) y Tacna (TAC976), de coloración blanco amarillo a nivel de la superficie del tubérculo, con una coloración purpura grisáceo a nivel de los ojos, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 43: distribuido en el departamento de La libertad (LLI470) y Ancash (ANC567, ANC603, ANC607, ANC614), de coloración naranja amarillento en la superficie del tubérculo, con una coloración purpura rojizo en los ojos, el color de la pulpa es naranja amarillento y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 44: distribuido en los departamentos de Ancash (ANC659), Puno (PUN866, PUN1048, PUN1024), Moquegua (MOQ944, MOQ883) y Tacna (TAC989, TAC996), presenta una coloración naranja amarillento en la superficie del tubérculo, con una coloración roja en los ojos, la pulpa es de color naranja amarillento y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 45: distribuido en el departamento de Moquegua (MOQ909), de coloración amarilla en la superficie del tubérculo, con una coloración roja a nivel de los ojos y se encuentra irregularmente distribuido, el color de la pulpa es naranja amarillento y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 46: distribuido en el departamento de Lima (LIM262, LIM263), de color naranja amarillento en la superficie del tubérculo, presenta una coloración roja a nivel de los ojos, el color de la pulpa es amarillo con una distribución secundaria rojiza y la forma del tubérculo es alargada.

Morfotipo 47: distribuido en el departamento de Ancash (ANC651), de color blanco amarillento a nivel de la superficie del tubérculo, con una coloración rojiza a nivel de los ojos e irregularmente distribuidos, la

pulpa es de color amarillo, con una distribución de color secundario rojizo a nivel del anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 48: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ307), el color de la superficie del tubérculo es blanco amarillento, con una coloración rojo pálido a nivel de los ojos e irregularmente distribuidos, el color de la pulpa es amarillo, con una coloración secundaria rojo pálido distribuido en los anillos vasculares y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 49: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ318, CAJ337, CAJ334, CAJ341, CAJ365, CAJ340) el color de la superficie del tubérculo es amarillo, con una coloración secundaria rojiza a nivel de los ojos e irregularmente, el color de la pulpa es amarillo con una coloración secundaria rojo a nivel del anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrica.

Morfotipo 50: distribuido en el departamento de Puno (PUN692, PUN742, PUN710, PUN724), el color de la superficie de los tubérculos es el amarillo, con una coloración secundaria rojo pálido a nivel de los ojos e irregularmente distribuido, el color de la pulpa es rojo pálido a nivel del anillo vascular y la forma de los tubérculos es cilíndrico.

Morfotipo 51: distribuido en los departamento de Puno (MOQ920, PUN844, PUN811, PUN804, PUN690, PUN1067, PUN1052, PUN1059, PUN1026, PUN1022, PUN867, PUN819, PUN1065) y Moquegua (MOQ927), presenta una coloración amarilla en la superficie del tubérculo, con una coloración secundaria purpura rojizo a nivel de los ojos e irregularmente distribuido, la pulpa es de color amarillo, con una coloración secundaria purpura rojizo a nivel de anillos vasculares y la forma de los tubérculos es cilíndrico.

Morfotipo 52: distribuido en el departamento de Puno (PUN1055), presenta una coloración amarilla, con una coloración purpura rojizo a nivel de los ojos e irregularmente, el color de la pulpa es amarillo con una coloración secundaria rojo grisáceo a nivel de anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 53: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ336, CAJ338, CAJ356), presenta una coloración blanco amarillento en la

superficie del tubérculo, con una coloración secundaria rojo pálido irregularmente distribuido, el color de la pulpa es amarillo, con una coloración secundaria rojo pálido a nivel de anillos vasculares y la forma del tubérculo es alargada.

Morfotipo 54: distribuido en el departamento de Arequipa (ARE1102), presenta una coloración blanco amarillento, con una coloración secundaria rojo pálido, a nivel de los ojos, la pulpa es amarilla con una coloración secundaria rojo pálido a nivel de anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrica.

Morfotipo 55: distribuido en el departamento de Tacna (TAC973), el color en la superficie del tubérculo es el blanco amarillento, con una coloración secundaria rojo pálido a nivel de los ojos, la pulpa es de color amarilla, con una coloración secundaria roja alrededor de los ojos y la forma del tubérculo es cilíndrica.

Morfotipo 56: distribuido en el departamento de La libertad (LLI403), el color de la superficie del tubérculo es blanco amarillento, con una coloración secundaria roja a nivel de los ojos e irregularmente distribuido, la pulpa es amarilla con una coloración secundaria purpura rojizo a nivel de anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 57: distribuido en el departamento de Puno (PUN693), el color predominante es el blanco amarillento, con una coloración secundaria rojo pálido a nivel de los ojos, la pulpa es de color blanco amarillento, con una coloración secundaria de rojo pálido a nivel de anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 58: distribuido en el departamento de Puno (PUN833) el color predominante es el blanco amarillento, con una coloración secundaria de purpura grisáceo a nivel de los ojos, la pulpa es de color blanco amarillento, con una coloración secundaria roja a nivel de los anillos vasculares y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 59: distribuido en el departamento de Amazonas (AMA390) el color predominante es el rojo, con una coloración secundaria purpura grisáceo a nivel de ojo, el color de la pulpa es blanco amarillento con una coloración secundaria rojo a nivel de anillo vascular y la forma del tubérculo es cilíndrico.

Morfotipo 60: distribuido en el departamento de Ancash (ANC651) el color predominante en la superficie del tubérculo es rojo, con una coloración blanco amarillento en la superficie de los tubérculos alrededor de los ojos, el color de la pulpa es amarillo y la forma del tubérculo es claviforme.

Morfotipo 61: distribuido en el departamento de Cajamarca (CAJ293) el color predominante en la superficie del tubérculo es rojo, el color de la pulpa es blanco amarillento y la forma del tubérculo es ovoide.

Morfotipo 62: distribuido en el departamento de Puno (PUN687), se caracteriza por una coloración roja en la superficie del tubérculo con una coloración amarilla en los ojos, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es claviforme.

Morfotipo 63: distribuido en los departamentos de Ancash (ANC515) y Puno (PUN1196) se caracteriza por una coloración roja en la superficie del tubérculo con una coloración amarilla en los ojos, la pulpa es de color amarillo y la forma del tubérculo es cilíndrica.

Morfotipo 64: distribuido en los departamentos de Puno (PUN769) y Arequipa (ARE1112) se caracteriza por una coloración roja en la superficie del tubérculo, con una coloración blanca alrededor de los ojos, el color de la pulpa es blanco amarillento y la forma de los tubérculos es cilíndrico.

Morfotipo 65: distribuido en los departamentos de Ancash (ANC563) y Cajamarca (CAJ351, CAJ364) se caracteriza por una coloración roja a nivel de la superficie del tubérculo, con una coloración blanco amarillento alrededor de los ojos, la pulpa es de color blanco amarillento, con una coloración roja a nivel de la medula y la forma del tubérculo es claviforme.

Morfotipo 66: distribuido en los departamentos de Puno (PUN809) y Lima (LIM266), de color purpura grisáceo oscuro en la superficie del tubérculo, la pulpa presenta una coloración amarilla, con una coloración purpura rojizo a nivel del anillo vascular y la forma del tubérculo es claviforme.

Morfotipo 67: distribuido en el departamento de Puno (PUN684), el color predominante es el purpura rojizo, con una coloración roja a nivel

de los ojos e irregularmente distribuido, el color de la pulpa es amarillo, con una coloración roja a nivel del anillo vascular y la forma del tubérculo es alargado.

Morfotipo 68: distribuido en el departamento de Puno (PUN684), el color predominante del tubérculo es purpura grisáceo oscuro, con una coloración blanquecina en la pulpa, así mismo la pulpa presenta una coloración purpura rojizo a nivel de la medula y de la corteza y la forma del tubérculo es alargada.

5.5 Caracterización genética de las accesiones

5.5.1 Análisis de AFLP

De las 187 accesiones que se evaluaron genéticamente (Figura 16), a través de AFLP se reporta 179 perfiles genéticos, se registró 236 marcadores en total, de los cuales 112 presentaron bandas polimórficas para las cuatro combinaciones de iniciadores, la identificación de los marcadores polimórficos fueron seleccionados por contar con las bandas nítidas y bien definidas. Las combinaciones E₄₀/M₃₅ presento 35 bandas polimórficas, E₄₂/M₆₀ presento 31 bandas polimórficas, E₃₅/M₅₉ presento 24 bandas y E₃₉/M₄₀ presento 22 bandas polimórficas, lo que corresponde a 59.3 y 52.5 38.7 y 37.3% respectivamente (Tabla 8).

Tabla 8. Porcentaje de bandas polimórficas identificadas con las cuatro combinaciones de AFLP.

Identificación de los iniciadores de AFLP		N bandas totales	N bandas polimórficas	% bandas polimórficas
E35/M59	E-ACA/M-CTA	62	24	38.7
E39/M40	E-AGA/M-AGC	59	22	37.3
E40/M35	E-AGC/M-ACA	59	35	59.3
E42/M60	E-AGT/M-CTC	56	31	52.5
Total		236	112	

5.5.2 Similitud genética

Se evaluó la similitud genética de 179 accesiones de oca empleando los coeficientes de similitud de Simple Matching, Dice y Jaccard (Figura 17-19)

para evaluar la congruencia de los agrupamientos con los tres diferentes coeficientes de similitud, para ello se analizó mediante el índice de Mantel (Tabla 9). Se observó una mayor correlación entre las matrices de similaridad de Jaccard y Dice ($r=0.99305$; $t=36.5035$; $p=1$); este valor fue mucho mayor que los comparados con los correlación de las matrices de Dice- Simple matching ($r= 0.7188$; $t= 64.7556$; $p= 1$) y Jaccard- Simple matching ($r= 0.73732$; $t= 67.6027$; $p= 1$).

Tabla 9. Análisis de correlación (Mantel) a partir de las matrices de distancia genética con los índices evaluados.

Correlación	Dice	Jaccard	Simple Matching
Dice	1		
Jaccard	0.99305	1	
Simple Matching	0.7188	0.73732	1

La similaridad promedio a través del Índice de Jaccard en los nueve departamentos indican que en los departamentos de Cajamarca, Amazonas, La Libertad y Ancash los que presentan un mayor índice de similaridad promedio (0.77, 0.73, 0.638 y 0.61 respectivamente) y los departamentos de Puno, Moquegua, Arequipa, Lima y Tacna con índices 0.598, 0.59, 0.585, 0.544 y 0.512 respectivamente. A nivel de región, la zona norte presentó un mayor en el índice de similitud (0.715), mientras que la región del centro presentó un valor intermedio (0.5926) y sur un menor valor (0.5609) (Tabla 10, Figura 20 y 21).

5.5.3 Análisis de remuestreo

El agrupamiento a partir del índice de Jaccard, se observa la presencia de 5 grupos definidos, de los cuales 3 de ellos presenta un valor de bootstrap igual o mayor a 60% (Figura 23 y 24). El análisis de agrupamiento a nivel de departamento (Figura 23) no se visualiza una diferenciación de agrupamiento por departamento, mucho de las accesiones evaluadas se traslapan con materiales con diferentes accesiones evaluadas. A nivel regional (costa sierra y selva) (Figura 24) se visualiza un óptimo agrupamiento de las accesiones a

nivel regional, donde el agrupamiento mediante la formación de nodos y el valor de Bootstrap de 62%, la cual agrupa a accesiones de oca de la zona sur del país. El segundo grupo, presenta un valor de 76% de bootstrap el cual agrupa accesiones del sur y algunas accesiones del centro. El tercer grupo, se encuentra agrupadas con accesiones del centro y norte del país, con un valor de bootstrap menor a 45%. El cuarto grupo presenta un valor de bootstrap de 72%, el cual agrupa a accesiones de norte centro y sur del país y el quinto grupo se aprecia a algunas accesiones del centro del país con un valor de bootstrap menor a 45% (figura 24).

Tabla 10. Índice de similitud (Jaccard) en los departamentos evaluados a partir de los análisis de AFLP en oca

Departamentos	Valor promedio similitud (J)		Regiones
Amazonas	0.73	0.715	Norte
La libertad	0.638		
Cajamarca	0.777		
Ancash	0.601	0.5926	Centro
Lima	0.585		
Arequipa	0.544	0.5609	Sur
Moquegua	0.59		
Puno	0.598		
Tacna	0.512		

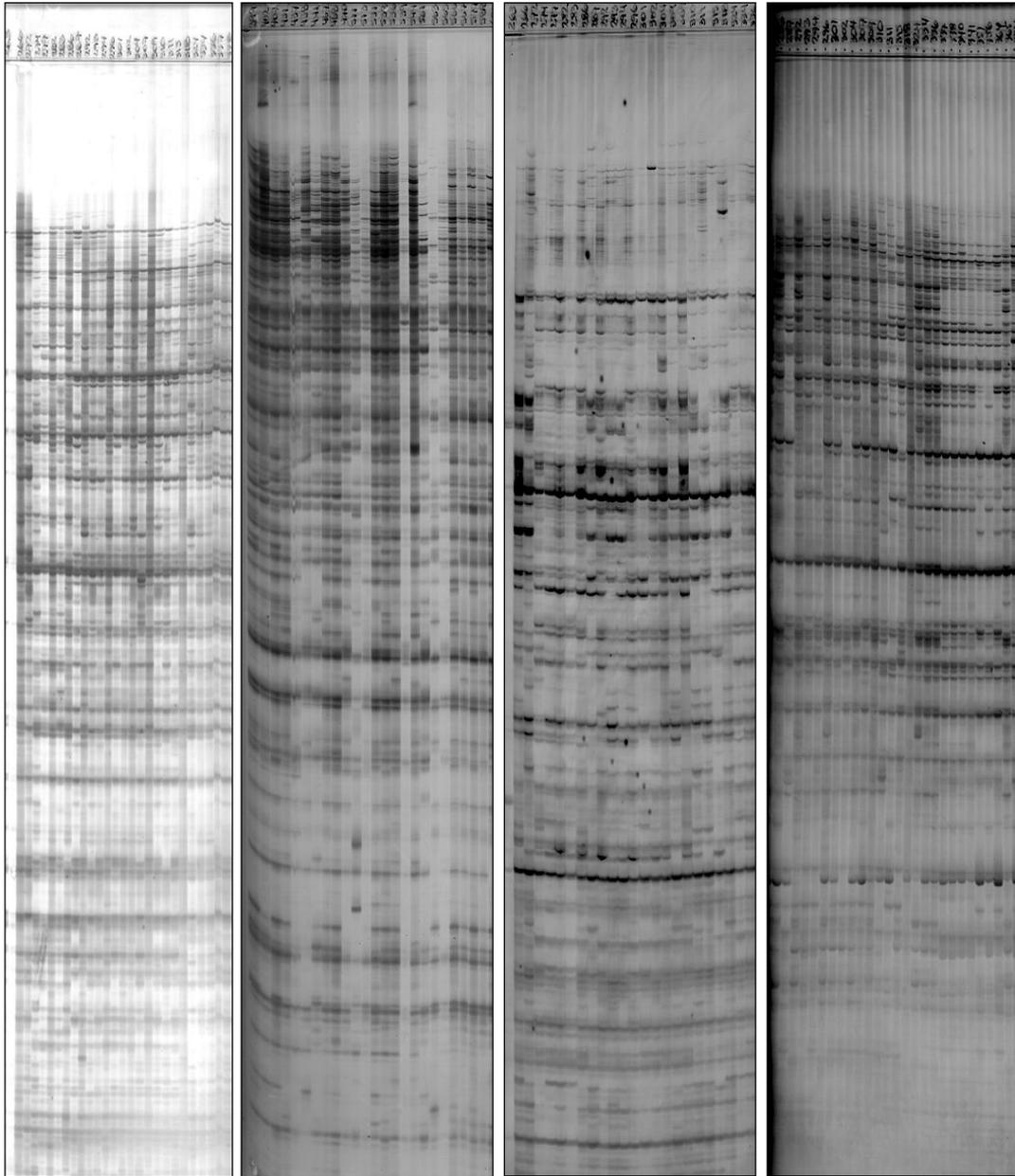


Figura 16 Perfiles genéticos de las accesiones de oca mediante AFLP. Izquierda a derecha: E35/M59, E39/M40, E40/M35, E42/M60

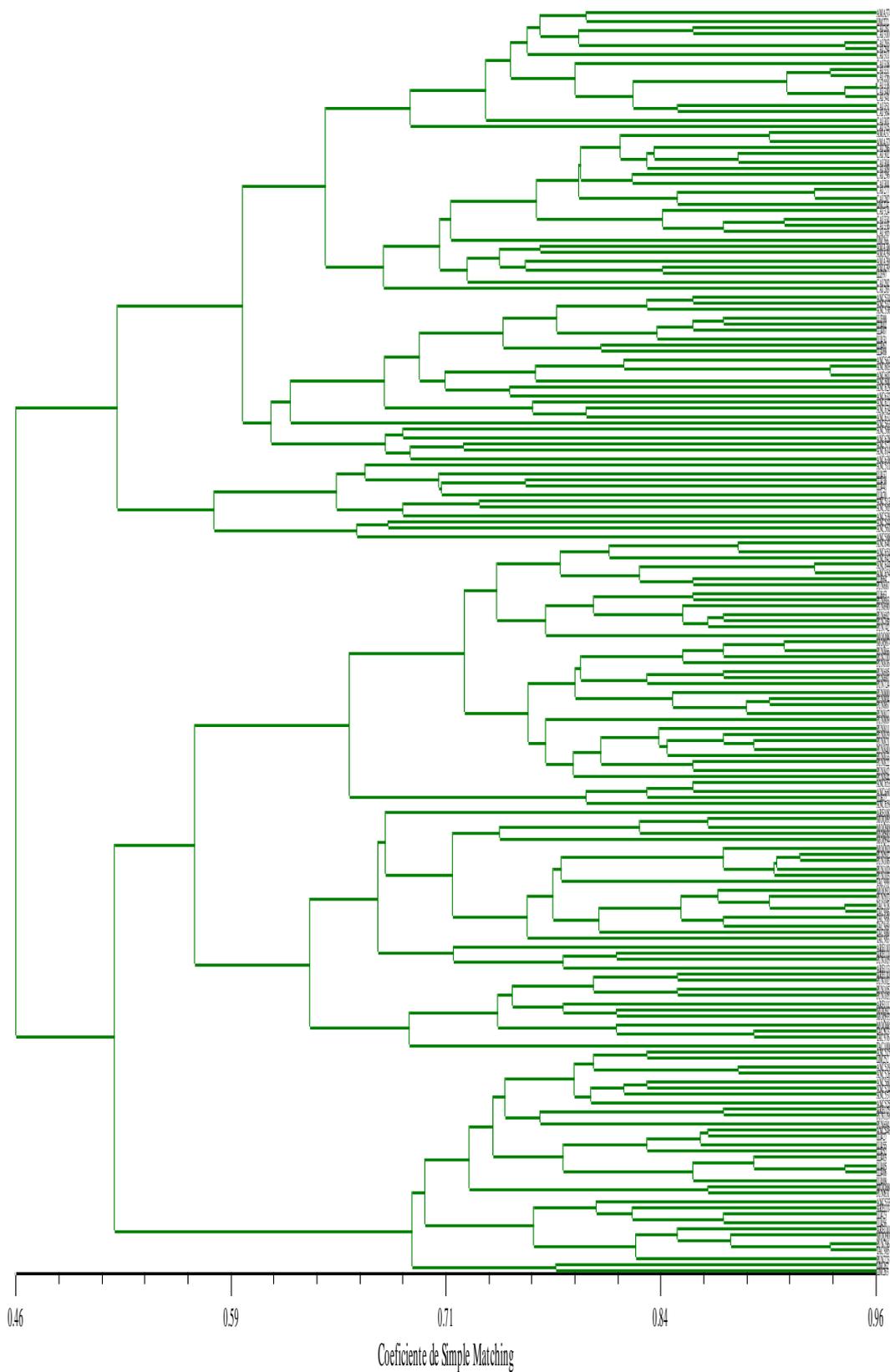


Figura 17. Análisis de agrupamiento mediante el coeficiente de Simple Matching (Método UPGMA).

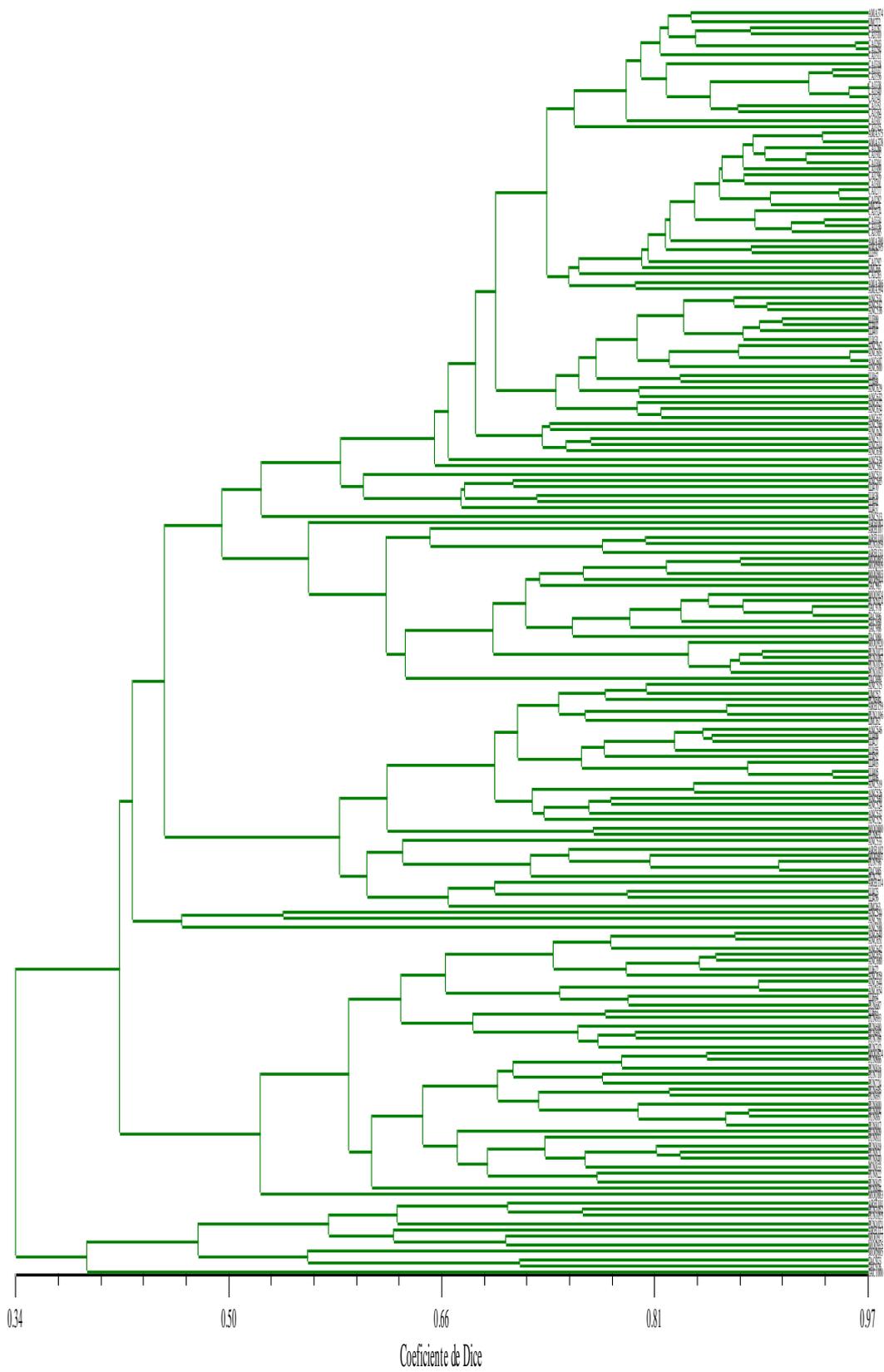


Figura 18. Análisis de agrupamiento mediante el coeficiente de Dice Método UPGMA).

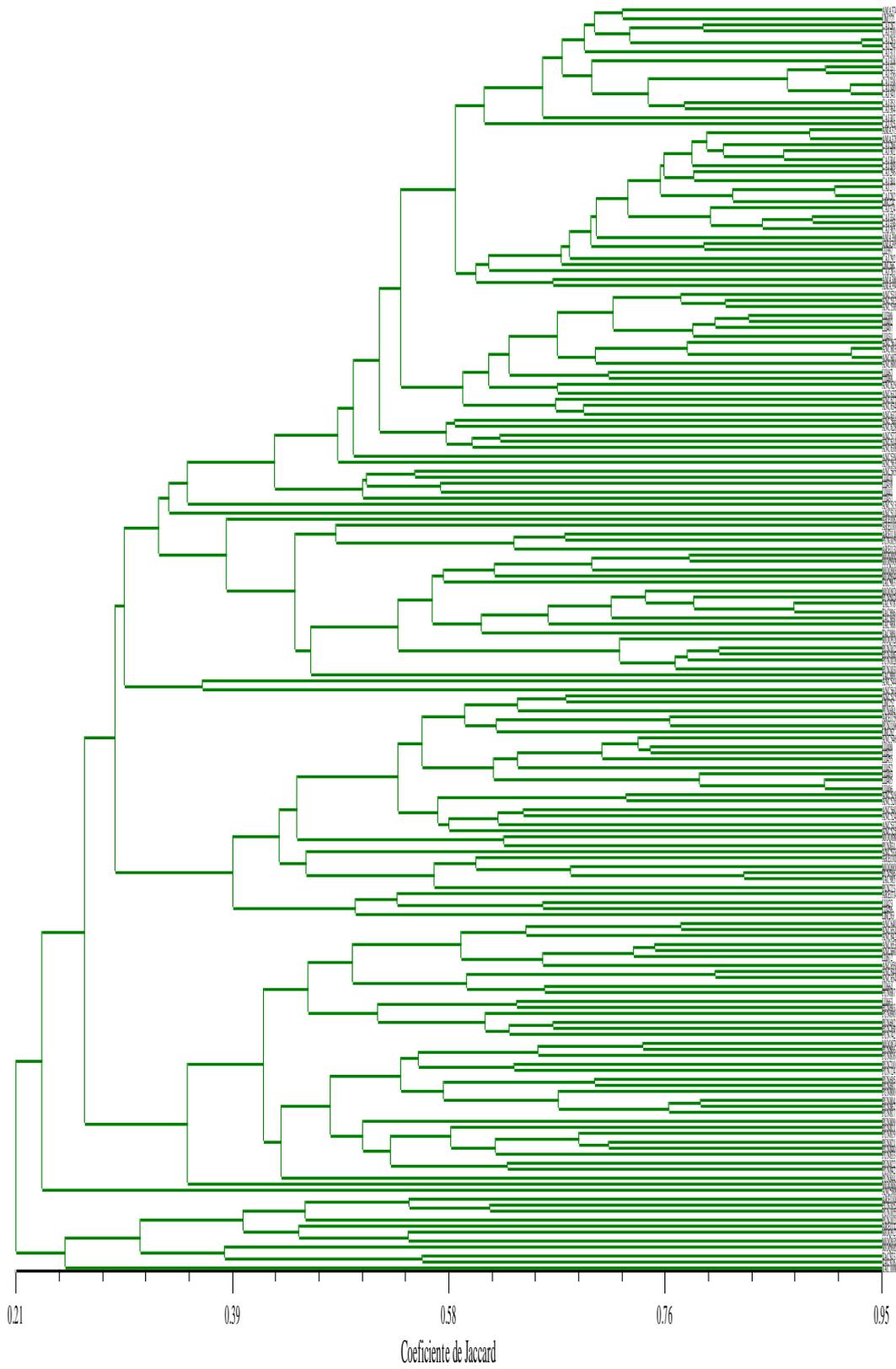


Figura 19. Análisis de agrupamiento mediante el coeficiente de Jaccard (Método UPGMA).

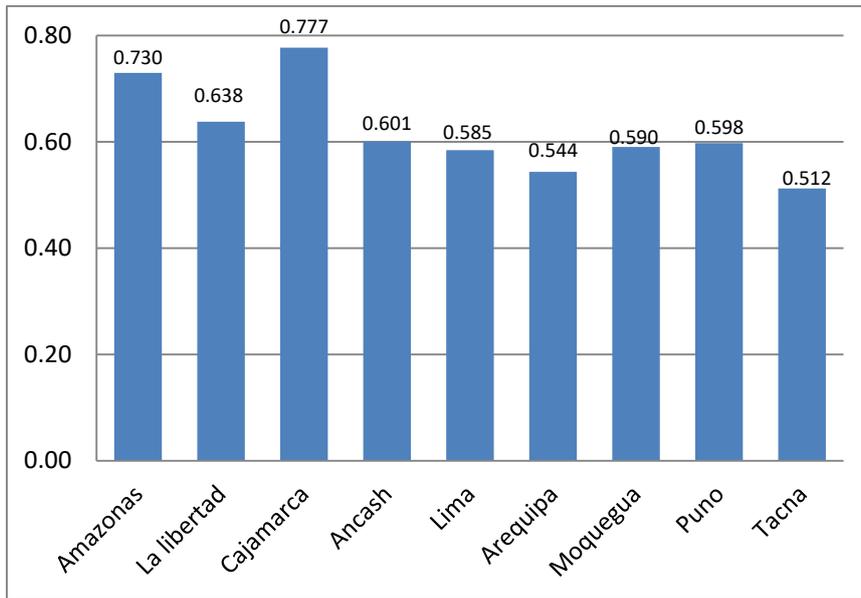


Figura 20. Análisis de similaridad (Jaccard) de la caracterización genética en oca, datos proveniente de las nueve departamentos.

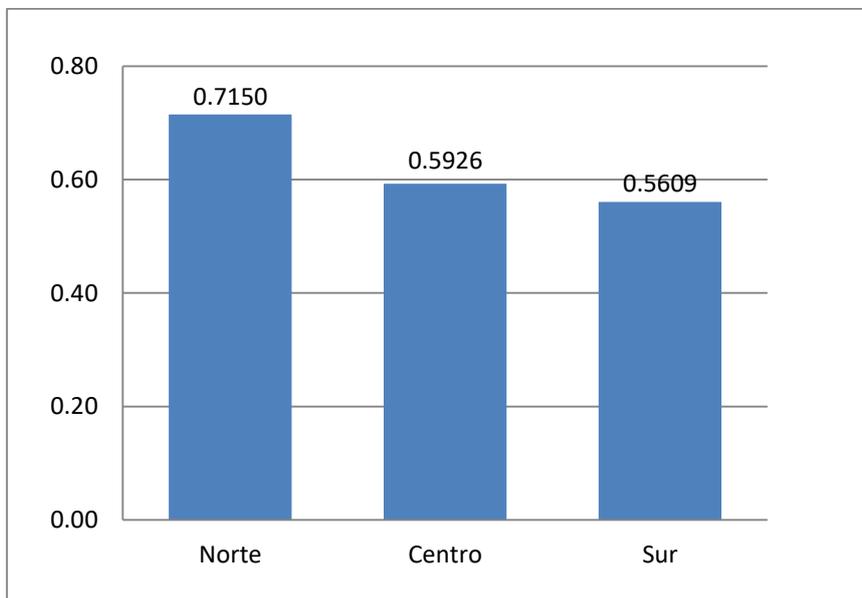


Figura 21. Analisis de similaridad (Jaccard) de la caracterización genética en oca, datos proveniente de tres regiones representativas.

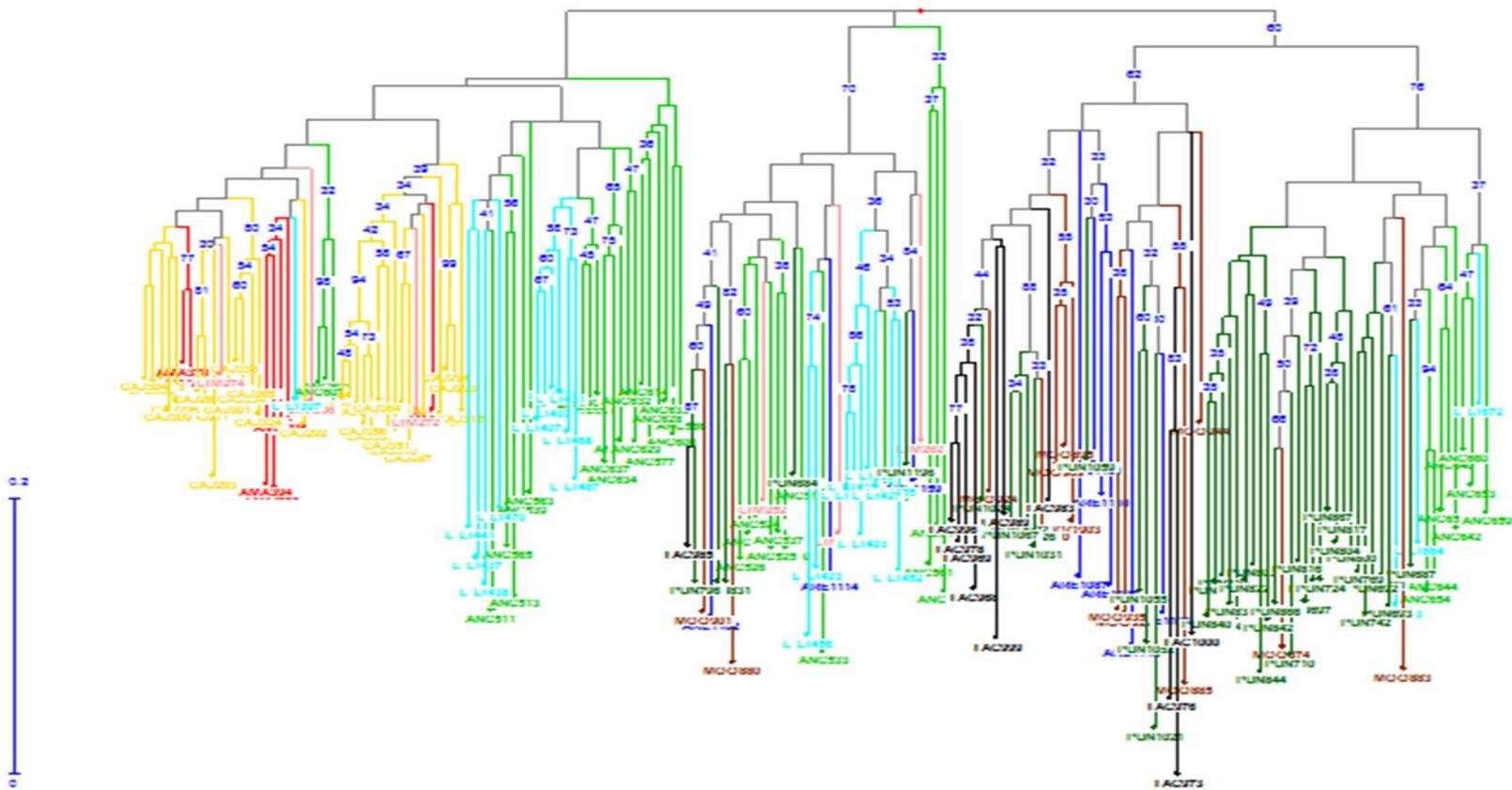


Figura 23. Análisis de agrupamiento de las poblaciones de oca evaluadas en departamentos. Valores en los nodos corresponden a los valores de Bootstrap.

5.5.4 Análisis molecular de variancia (AMOVA).

Mediante esta metodología se comparó la variabilidad molecular de las accesiones de oca evaluadas por los marcadores AFLP, esta correspondió a nivel de los departamentos de procedencia y por las zonas geográficas de la colecta. El agrupamiento por zonas geográficas se realizó en tres sectores (norte, centro y sur), la cual se puede visualizar en la Tabla 10.

Tabla 10. Fuentes de variación del Análisis Molecular de Varianza.

Departamento	Zona geográfica
Amazonas Cajamarca La Libertad	NORTE
Ancash Lima	CENTRO
Arequipa Moquegua Tacna Puno	SUR

5.5.4.1 AMOVA a nivel departamentos

variación genética es mayor a nivel dentro de los departamentos que entre departamentos (Tabla 11), un porcentaje de variación entre las accesiones entre departamento de 23% y 77% para la variación de accesiones dentro de los departamentos ($r= 0.229$; $p= 0.001$).

Tabla 11. Fuentes de variación del Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de las poblaciones de oca a nivel de departamento.

Fuente de variación	Grado libertad	Suma de Cuadrado	Cuadrado Medio	Variación estándar	%	Value	P (rand >= data)
Entre departamento	8	1101.985	137.748	6.213	23%	0.229	0.001
Dentro departamento	170	3553.847	20.905	20.905	77%		
Total	178	4655.832		27.118	100		

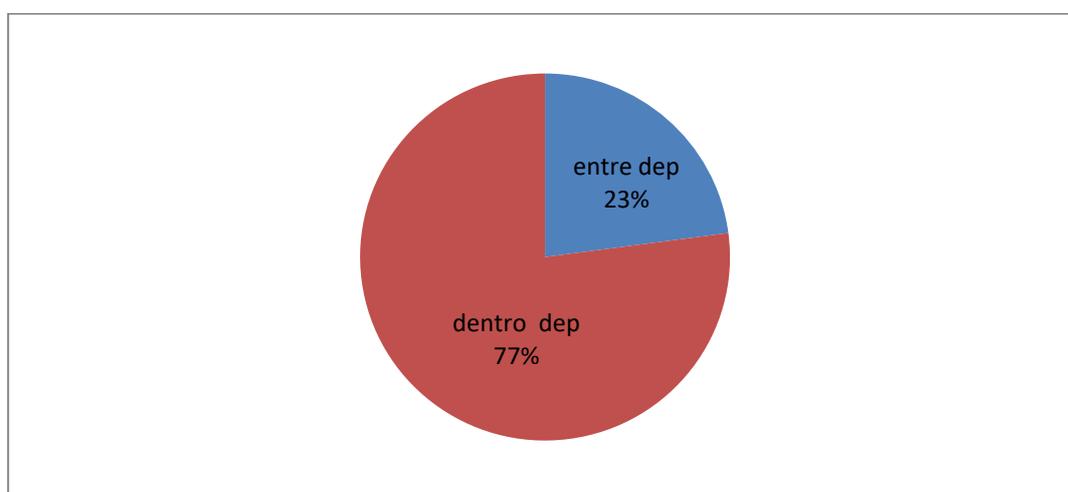


Figura 25. Varianza molecular de las poblaciones de oca evaluadas por departamento

5.5.4.2 AMOVA a nivel de regiones

Se evaluó el AMOVA entre regiones de colecta, obteniéndose un porcentaje de variación entre las accesiones entre regiones de 16% y 84% para la variación de accesiones dentro de los departamentos ($r= 0.162$; $p=0.001$).

Tabla 12. Fuentes de variación del Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de las poblaciones de oca a nivel de región.

Fuente de variación	Grado libertad	Suma de Cuadrado	Cuadrado Medio	Variación estándar	%	Value	P (rand >= data)
Entre departamento	2	573.836	286.918	4.481	16%	0.162	0.001
Dentro departamento	176	4081.996	23.193	23.193	84%		
Total	178	4655.832		27.674	100%		

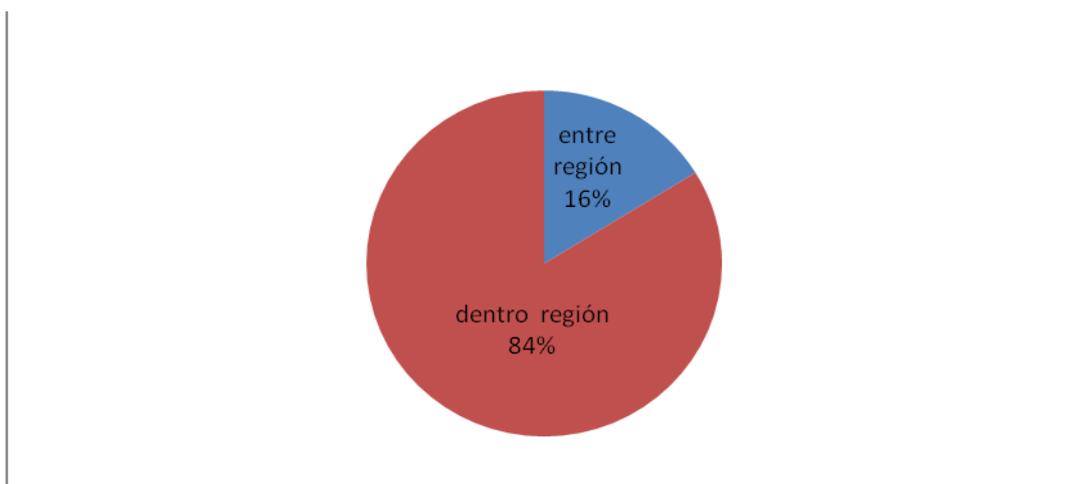


Figura 26. Varianza molecular de las poblaciones de oca evaluadas por regiones

5.5.5 Análisis de coordenadas principales (PCoA)

En el PCoA evaluado se observa que la mayor variabilidad observada se encuentra en los primeros tres ejes (73.76% acumulado) (Tabla 13), estos valores fueron idénticos tanto para los departamentos como para las regiones. El porcentaje de variación para los dos primeros ejes fueron 38.01, y 20.64 %, con un teniendo un porcentaje acumulativo de 38.01 y 58.65% respectivamente. Los dos primeros ejes indican una alta correlación que explica la mayor variabilidad. Estos resultados coinciden con los valores obtenidos con los eigenvalue (Tabla 14) donde se expresa la máxima variación en los dos primeros.

Tabla13. Valores de acumulación de los tres primeros ejes que refleja la máxima variabilidad genética.

Eje	Departamento y región	
	%	Cum %
1	38.01	38.01
2	20.64	58.65
3	15.11	73.76

Tabla 14. Valores de acumulación mediante Eigen value en los ejes que refleja la máxima variabilidad genética.

Eje No.	Departamento y regiones EigenValue
1	65.6
2	35.6
3	26.1
4	22.3
5	13.0
6	10.0

La grafica de PCoA por departamentos (Figura 27) se visualiza que las accesiones La Libertad se subdividen en tres clúster de Puno, Tacna, se subdividen en dos clúster, Moquegua, Lima y Arequipa se dividen en clúster independientes.

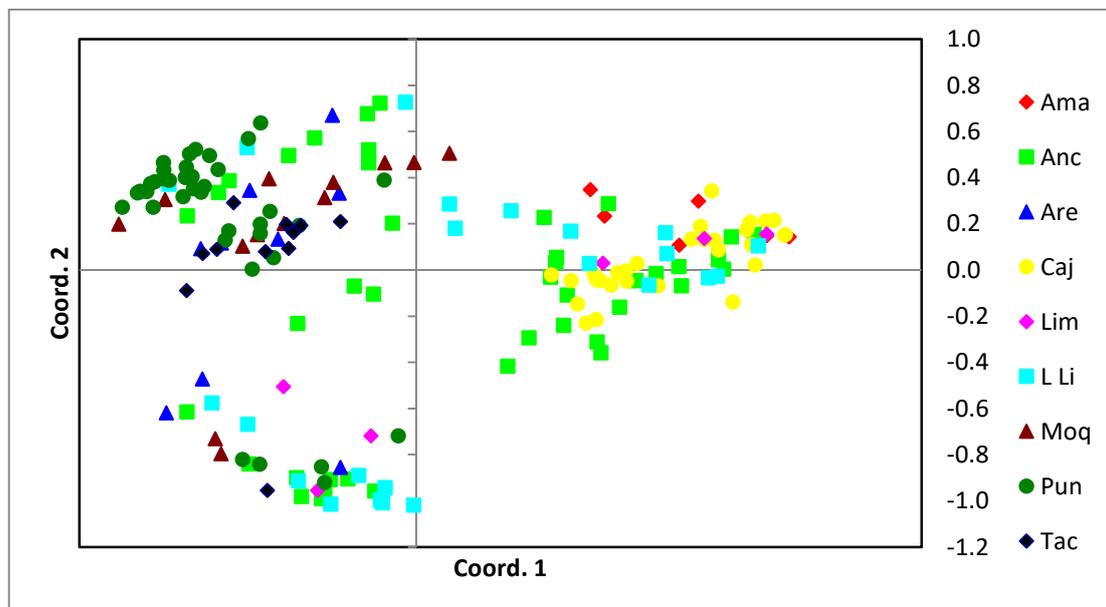


Figura 27. Análisis de coordenadas principales de las poblaciones de oca evaluadas por departamentos.

La grafica del PCoA a nivel de regiones (Figura 28) se visualiza un agrupamiento en tres clúster bien diferenciados, donde las poblaciones del sur y del centro se encuentran agrupadas independientemente, el tercer clúster se identifica un grupo de accesiones que se encuentran accesiones de la zona norte y sur. Las poblaciones de la zona norte se disgregan en los tres clúster (Figura 28).

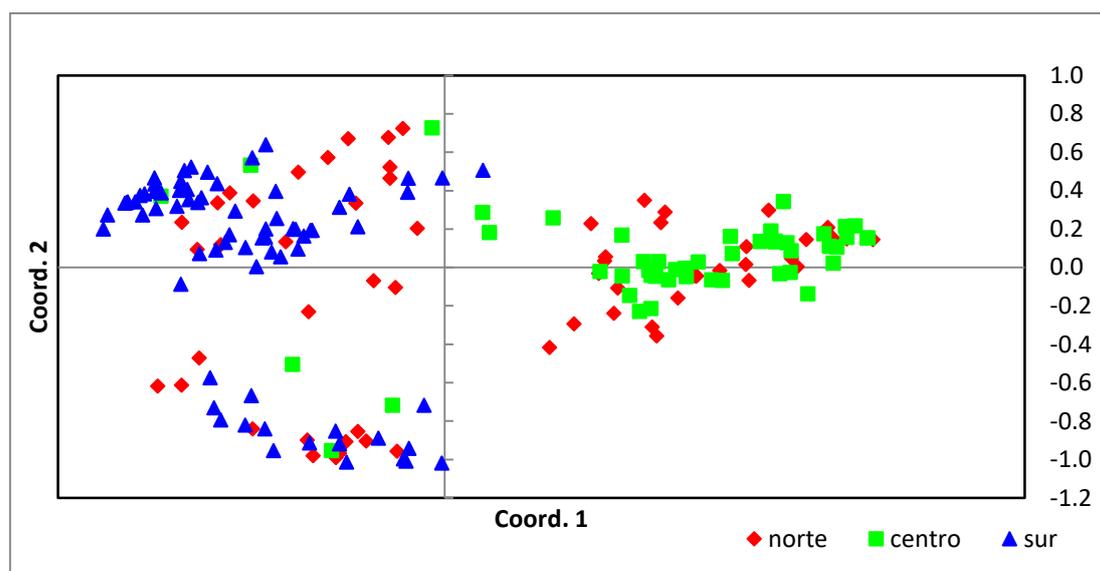


Figura 28. Análisis de coordenadas principales de las poblaciones de oca evaluadas por regiones.

5.5.6 Comparación de matrices (Índice de Mantel).

5.5.6.1 Comparación de matrices morfológico- molecular.

En el análisis de las matrices morfológico- molecular, realizado mediante el programa NTSys pc 2.2 nos señala una correlación muy baja entre las matrices morfológicas (r_z) y la matriz molecular (r_x), siendo su $r_{xz} = 0.02$ $p < 0.01$.

5.5.6.2 Comparación de matrices genético -geografico.

El análisis de Mantel realizado mediante el programa GENALEX 6.3. Nos indica la presencia de una correlación alta entre las matrices de las distancia geográfica (r_x) y la genética con la molecular (r_y) siendo su $r_{xy} = 0.431$ con un $p\text{-value} = 0.001$. (Figura 29).

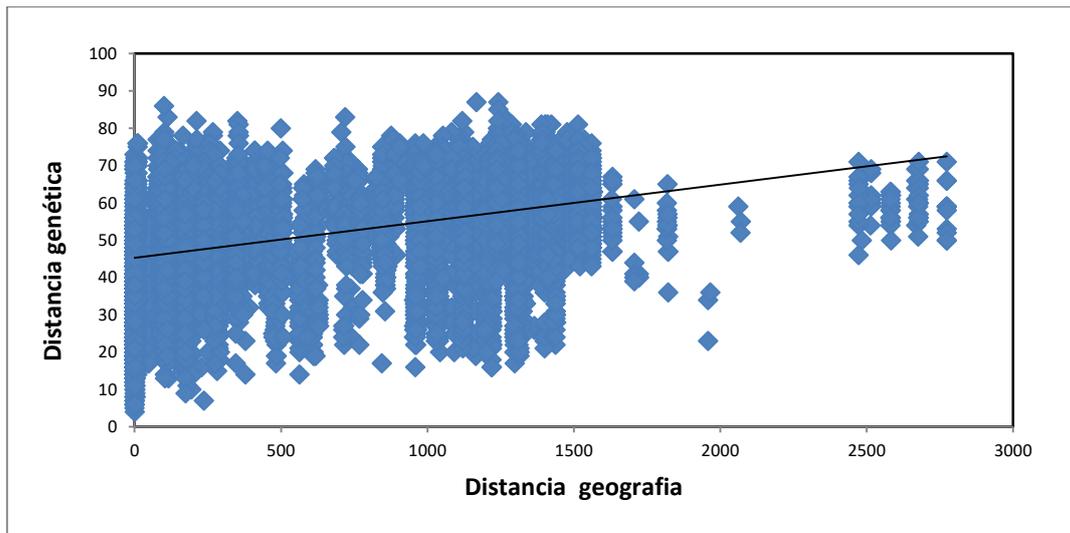


Figura 29. Análisis de correlación de matrices derivada de las distancias geográficas y genéticas a través del Índice de Mantel.

5.5.7 Estructura genética

Se evaluó la estructura genética de las poblaciones de oca, lográndose diferenciar las accesiones de oca por departamentos, Se realizó un análisis de estructura genética mediante el programa **ABC4F** (Approximate Bayesian Computation for F-statistics), (Foll et al., 2008) que permitió evaluar el F_{st} de las poblaciones analizadas (Tabla 15 y Figura 30) observándose que la poblaciones de Ancash y Lima presenta una variación moderada (0.05-0.15), La Libertad y Arequipa cuentan con una variación grande y los otros departamento presentan una variación muy grande (> 0.25).

Tabla 15. Análisis del Índice de Fijación de las accesiones de oca por departamento.

Población	Media	Moda	Varianza	95% HPDI
Amazonas	0.556	0.577	0.00497	[0.415;0.685]
Cajamarca	0.387	0.397	0.00585	[0.23;0.526]
La Libertad	0.16	0.16	0.00161	[0.0794;0.239]
Ancash	0.0569	0.0429	0.00084	[0.00134;0.111]
Lima	0.0895	0.0741	0.00235	[0.000341;0.179]
Arequipa	0.177	0.161	0.00237	[0.0847;0.272]
Moquegua	0.285	0.278	0.00278	[0.177;0.384]
Tacna	0.553	0.537	0.00794	[0.385;0.73]
Puno	0.259	0.254	0.00177	[0.186;0.352]

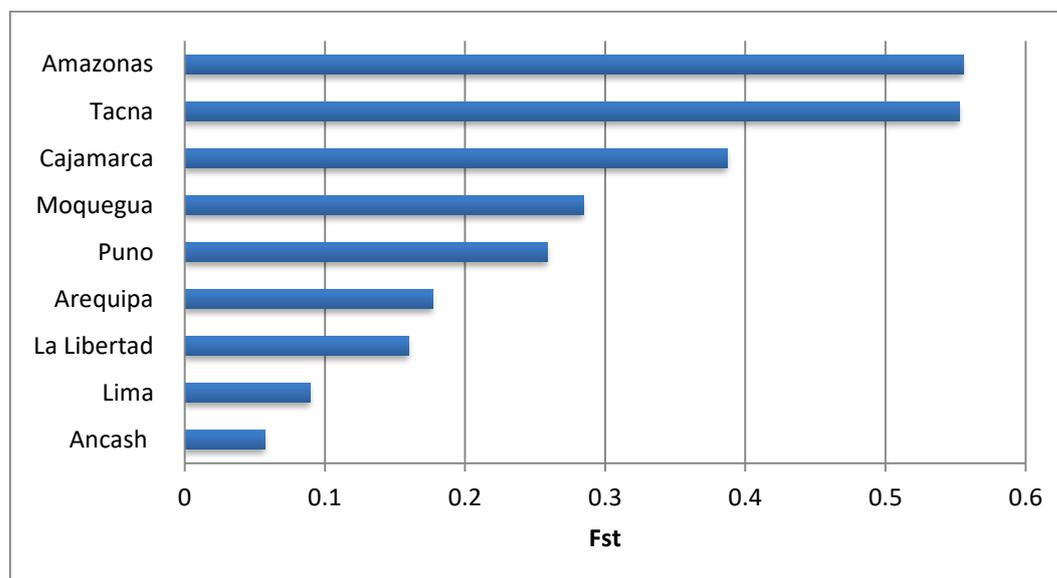


Figura 30. Evaluación del Índice de Fijación (Fst) de las poblaciones de oca en los 9 departamentos evaluados. Datos obtenidos a partir de los análisis genéticos por AFLP.

VI. DISCUSIÓN

6.1 Caracterización morfológica de las accesiones de oca

Los descriptores morfológicos cualitativos son usados como herramienta para la identificación de materiales dentro de los cultivos (Del Rio, 1990), considerando que los reportes acerca de la diversidad fenotípica de oca es alta (Pissard et al., 2006; Del Rio, 1990 y Donayre, 2000) no se cuenta con una cantidad exacta de morfotipos de oca, por lo que es de importancia la identificación de los materiales, para una caracterización regional a nivel de bancos de germoplasmas y una posterior homologación de accesiones a nivel de Institutos Nacionales de Investigación Agrarias de la región.

En Ecuador Vimos (1985) registro 10 morfotipos en 48 accesiones ocas, Piedra (2001) evaluó morfológicamente y molecularmente la accesión nacional de oca, en ambos trabajos no solo han logrado caracterizar a nivel tubérculo sino otras características de la planta como el nivel de heterostíla, hábito de crecimiento, porte de la planta, color y fascinación del tallo.

En Bolivia, Gaspar (1998) evaluó 500 accesiones de oca del banco de germoplasma reportando 80 morfotipos, Ugarte y Boudin (2004) registró 181 morfotipos, 145 morfotipos se sitúan en torno al Lago Titicaca, Cadima et al. (2004) ha clasificado 18 variedades de oca en la zona de Candelaria, microcentro de alta diversidad en Bolivia.

En Perú, Urrutia (1997) evaluó en la zona aymara del lago Titicaca 164 entradas provenientes en los almacenes de los campesinos. Vivanco y Arbizu (1997) evaluaron 227 entradas de oca de los departamentos de Puno, Cusco, Junín, Lima, Ancash, Cajamarca, Piura y Amazonas, identificando 146 morfotipos, siendo los caracteres más importante para discriminar las ocas: el color del tallo, envés, peciolo, color predominante de la piel, color principal y distribución de la pulpa, forma del brote, hábito de floración y color del pedicelo y Velasquez (2004) evaluó accesiones de oca del departamento de Huánuco, reportando 145 morfotipos de oca, siendo el departamento de

mayor diversidad, seguida de Huancavelica con 105 morfotipos (Paucar, 2007), Paucar (2007) registro 66 morfotipos de oca, Blas et al. (2008) reporto 65 morfotipos en el Cusco y 66 en Huánuco, Vivanco et al. (2008), registro 132 morfotipos de oca con 7 descriptores de tubérculos, de una expedición en 6 localidades (Huancavelica, Junín, Huánuco, Ayacucho, Apurímac y Cusco), aunque Pissard et al. (2008) señala la presencia de 240 morfotipos. Asimismo, Zorrilla (2006) y Paucar (2007) determinaron la variabilidad morfológica de los tubérculos de oca en Puno y Huánuco respectivamente, reportando variaciones en la composición en los caracteres de los tubérculos analizados.

En el presente trabajo se ha tomado una muestra de la amplia variabilidad morfológica de los tubérculos de manera representativa a la amplia diversidad. A nivel del color del tubérculo, los colores primarios fueron amarillo (36.8%), blanco amarillento (27.9%), naranja amarillento (17.6%), rojo (10.3%) y rojo naranja (1.5%) son los más representativos en la superficie en las accesiones analizadas, no se ha registrado otros colores (rojo naranja oscuro y rojo claro) como lo reportado por Zorrilla (2006).

Los colores secundarios más representativos en la superficie de las accesiones de los tubérculos son rojo (26.5%), ausente (25%), rojo pálido (16.2%) y purpura rojizo (11.8%); a la vez se ha reportado otros colores como blancos (1.5%) y rojo pálido (16.2%), también se ha reportado la presencia de veteaduras (2.9%) los cuales no se han registrado en otras localidades como Huánuco y Puno; estos colores y veteaduras no ha sido reportado en otras investigaciones como Zorrilla (2006) y Paucar (2007), lo cual señala una óptima selección de materiales y de localidades para obtener la máxima diversidad genética.

La coloración de pulpa son los colores amarillo (67.6%), blanco amarillento (19.1%) y naranja amarillento (11.8%) son los más predominantes son los más representativos, sin embargo Paucar (2007) reporta el color rojo purpura. A nivel de color secundario de pulpa en los tubérculos gran parte de los accesiones evaluadas no presentan coloración (73.5%), sin embargo se han

registrado los colores rojo (10.3%) y rojo pálido (7.4%) no registrando otros colores como amarillo y naranja amarillento como señala Paucar (2007).

De los tubérculos que presentan coloración secundaria, gran parte de ellos se concentran a nivel del anillo vascular (20.6%), medula (1.5%), medula y corteza (1.5%), otros investigadores han registrado a nivel de anillo vascular y la medula (Paucar, 2007).

Con respecto a la forma de los tubérculos, el más representativo es el cilíndrico (57.4%), claviforme (22.1%), alargado (13.2%).

El presente trabajo, ha identificado 68 morfotipos a partir de los descriptores de tubérculo para las 187 accesiones evaluadas, esta evaluación no ha considerado otros tipos descriptores como los vegetativos, inflorescencia y fruto (IPGRI/CIP, 2001) lo que permitiría identificar un mayor número de morfotipos, el cual refutaría acerca de la baja la diversidad en oca (Pissard et al., 2006; Donayre, 2000; Del Rio, 1990).

6.2 PCA de las accesiones

El análisis de componentes principales es un método de ordenación que nos permite evaluar caracteres con varias dimensiones, reduciendo la información en pocas dimensiones (Guillot et al., 2009) lo que permite un mejor análisis por todas las variables de análisis. Los resultados observados en oca a partir de las variables morfológicas en los 9 departamentos del Perú, puede ser explicada por los primeros dos componentes principales, como sostiene Borchsenius (1999). Los caracteres que aportan a la mayor variabilidad para el primer componente es la distribución del color secundario, el color secundario de la pulpa y la distribución del color secundario, y para el segundo componente el color predominante de la superficie del tubérculo, el color secundario de la superficie del tubérculo y la forma del tubérculo (Tabla 7).

6.3 Distribución de la estructura de los morfotipos de oca

Del análisis de agrupamiento de las accesiones de oca evaluada en 9 departamentos del Perú, se ha registrado 68 morfotipos de los cuales, los

departamentos con mayor cantidad de morfotipos son Ancash (24), Cajamarca (14), Puno (18) y La libertad (12), y los departamentos de Amazonas, Moquegua, Arequipa, Lima y Tacna (4, 6, 7, 7 y 6 respectivamente). Se ha registrado cuatro morfotipos que se distribuyen en 4 departamentos (morfotipos 1, 6, 39 y 44), tres morfotipos que se distribuyen en 3 departamentos (morfotipo2, 41 y 42), 12 morfotipos que se ubican en 2 departamentos (morfotipos 7, 8, 12,14, 29, 38, 43, 51, 63, 67, 65 y 66) y 49 morfotipos que se ubican en un solo departamento (morfotipos 3, 4, 5, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 40, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 67 y 68).

6.4 Análisis de AFLP.

En la actualidad las técnicas moleculares son de utilidad para los trabajos de selección, caracterización y evaluación de la diversidad genética, para ello es se considera el polimorfismo de la especie. Las técnicas más conocidas como RFLP (Restriction fragment length polymorphism DNA) (Botstein et al., 1980), RAPDs (Randomly amplified polymorphism DNA) (Williams et al., 1990) y en la actualidad AFLP (Vos et al., 1995) es el más utilizadas en la en la caracterización del germoplasma, por la naturaleza en la generación de polimorfismo de un marcador.

Hasta la fecha, los estudios señalan que la diversidad intraespecífica de oca en el Perú es baja, los cuales han sido evaluados por isoenzimas (Del Rio, 1990), RAPDs (Donayre, 2000), ISSR (Pissard et al., 2006, Pissard et al., 2007; Pissard, 2008 Nagatomi et al., 2008a, Nagatomi et al., 2008b); con AFLP (Adrianzen, 2006; Biondi , 2006; Schibli, 2007; Zorrilla, 2006; Nagatomi et al., 2008b; Emshwiller 2006a, 2006b; Emshwiller et al., 2009), los cuales han permitido realizar estudios en la especie. También se ha realizado estudios evolutivos del género oxalis (Tosto et al., 2008; Tosto y Hopp, 2000), también se ha relacionado la taxonomía folclórica de los cultivares tradicionales de oca con AFLP (Emshwiller 2006a).

Los análisis de AFLP ha permitido estudiar accesiones de diferentes localidades como Cuzco (Schibli, 2007; Adrianzen, 2006; Zorrilla, 2006), Puno (Zorrilla, 2006) y Huánuco (Nagatomi y Blas, 2008), también Bioindi

(2006) evaluó el banco de germoplasma de oca del Centro Internacional de la Papa a partir de los trabajos de estandarización de Schibli (2007) con 7 pares de iniciadores más polimórficos para oca, (E-ACA/M-CTA, E-ATG/M-CCA, E-AGT/M-CTC, E-AGC/M-ACA, E-ACA/M-CTC, E-AGT/M-CCT, E-AGA/M-AGC). Las combinaciones utilizadas han permitido encontrar diferencias entre las localidades evaluadas, estas diferencias se ven reflejado en el porcentaje de bandas polimórficos reportados (Schibi, 2007; Biondi, 2006; Nagatomi, 2008b; zorrilla, 2006). (Tabla 16), en el presente trabajo se ha obtenido una mayor cantidad de bandas polimórficas, a pesar de haber sido utilizada solo cuatro combinaciones de las reportadas por Schibli (2007). Así mismo la similitud promedio son similares a los reportados (Zorrilla, 2007; Adriansen, 2007) y ligeramente superior a Schibli (2007) y Biondi (2006).

Tabla 16. Frecuencia de fragmentos polimórficos evaluados con las combinaciones de AFLP evaluadas en oca

Pares de combinaciones	Referencias					
	Schibli (2007)	Adriansen (2007)	Biondi (2006)	Nagatomi (2008b)	Zorrilla (2006)	Cruz (2018)
E-ACA/M-CTA (%)	75.0	16.2	90.0		8.3	38.7
E-ATG/M-CCA (%)	60.7	12.0	75.0			
E-AGT/M-CTC (%)	82.3	17.0	82.0			
E-AGC/M-ACA (%)	72.4	17.0	100.0		18.2	59.3
E-ACA/M-CTC (%)	81.3	11.1	77.0			52.5
E-AGT/M-CCT (%)	87.5	12.0	82.0		13.2	
E-AGA/M-AGC (%)	71.1	14.5	66.0			37.3
Número de bandas polimórficas	152.0	117.0	175.0	49.0	121.0	112.0
Similitud promedio	0.5956	0.6487	0.59*		0.665**	0.619

* Datos obtenidos para las accesiones de ocas peruanas

** promedio de la similitud promedio de los departamentos de Cusco y Puno (0.68 y 0.65 respectivamente)

6.5 Análisis de la similitud

Para determinar el índice de mayor confiabilidad se realizó un test de Mantel para determinar una correlación entre las matrices con los índices de Dice, Jaccard y Simple Matching, obteniéndose una alta correlación entre las

matrices de Jaccard y Dice ($r= 0.99305$), Rholf (2001) señala que el valor obtenido es de muy buena confianza y la correlación entre los otros índices de similitud es pobre (0.7188 y 0.7373) (Tabla 9). El valor obtenido de la correlación entre las matrices de Jaccard y Dice nos indica que no existe diferencias entre las topología de los fenogramas generados por estos coeficientes, como lo sugiere Milbourne et al. (1997) y Zorrilla (2006).

De la presente tabla, se observa que el porcentaje de combinaciones de iniciadores, para cada uno de los investigadores, es muy variable, sin embargo el porcentaje de similaridad promedio están relativamente cercano, siendo los valores de Adriansen y Zorrilla próximos al presente trabajo. Biondi (2006) evaluó mediante AFLP obteniendo los valores de similaridad para las regiones del norte, centro y sur del país, estos valores son semejantes a los obtenidos en el presente estudio, a excepción de la región del norte cuyo valor de similaridad es mayor por lo reportado por Biondi (Tabla 17).

Tabla 17. Análisis de similaridad por regiones mediante AFLP en oca .

Regiones	Biondi (2006)	Cruz (2018)
Norte	0.600	0.720
Centro	0.600	0.590
Sur	0.596	0.561

6.6 Identificación de genética de las accesiones de Oca

Se ha identificado 106 genotipos de oca con 81 accesiones duplicadas, al respecto Schibli (2007) ha identificado 121 cultivares de 126 accesiones y 136 cultivares de 154 accesiones de oca en dos comunidades del Cusco y Zorrilla (2006) identifico 32 genotipos de 46 accesiones evaluadas, lo que sugiere la existencia de una alta variación intraespecifica, tal como explica Schibli (2007). Emshwiller (2006b) señala que esta alta variación se debe a mutaciones somáticas en el genoma de la especie, debido a elementos transponibles que realizan arreglos dentro de los cromosomas, como se han reportado en maíz, coníferas y Arabidopsis (McClintonck, 1946; Friesen et al.,

2001; Yu et al., 2000), siendo un componente universal en el genoma eucariótico (Voytas et al., 1992), con un potencial para la alteración en el genoma, teniendo un rol importante en la evolución de las plantas, generando mayor diversidad genética (Vershinin, 2003) y generando nuevas variantes alélicas (KloECKener y Freeling 1995).

6.7 Análisis de la estructura genética

Zorrilla (2006) no encontró correlación entre marcadores moleculares (AFLP) y morfológicos, a lo que Schibli (2007) sostiene que el agrupamiento molecular de las accesiones de oca guarda una relación con la comunidad de origen, esto se ve reflejado en el dendrograma obtenido, en donde se encuentra una diferenciación a nivel de departamentos y regional. Estos análisis han sido corroborados con el índice F_{st} ; el cual provee una importante visión en los procesos evolucionarios que influyen la variación de la estructura genética dentro y entre poblaciones, siendo usado en la estadística descriptiva de una población (Holsinger y Weir 2009; Gaggiotti y Foll 2010). Este índice tiene un rango de 0-1 y mide el grado de disminución de heterocigosis alcanzado en la metapoblación respecto al máximo posible (Fontdevila y Moya, 1999) donde los valores cercanos a cero indica frecuencia de alelos dentro de cada población es muy similar o que la población tiende a la homocigosis y valores superiores señala diferencias en la frecuencias de alelos, por lo que la población se encuentra en heterocigosis. Al respecto, se ha podido diferenciar cinco grupos con semejantes F_{st} , Amazonas (0.556), Tacna (0.553), Cajamarca (0.387), Moquegua (0.285 y Puno 0.259), La Libertad (0.16), Arequipa (0.177), Ancash (0.0569) y Arequipa (0.0895), siendo las poblaciones de Ancash y Lima presentan una tendencia a la homocigosis. (Tabla 15, Figura 30) los cuales se encuentran en un intervalo de 0.05, cuyo valor presenta una diferenciación muy pequeña por lo que tiende a la homocigosis. (Tabla 18).

6.8 Congruencia entre los marcadores morfológico- molecular y geográfico- molecular

El sistema de propagación de oca es vegetativo, lo que permite transmitir su genoma sin tener ningún tipo de recombinación genética, lo que permitiría transmitir su genoma sin ningún tipo de mezcla con otro tipo de genoma, por lo que debe de observarse una asociación entre los marcadores moleculares neutros y el loci envuelto en los caracteres morfológicos que son analizados, permitiendo observar una correspondencia entre la estructura de la variabilidad molecular y la morfológica. Sin embargo Spooner et al. (2005) señala que las técnicas de fingerprinting de ADN es un mejor discriminador que los datos morfológicos en los análisis de similaridad genética.

Tabla 18. Valores de evaluación de los Fst para la diferenciación de homocigosis y heterocigosis

Valor de Fst	Diferenciación
0-0.05	pequeña
0.05-0.15	moderada
0.15-0.25	grande
> 0.25	muy grande

La correlación entre las matrices de distancias genéticas, morfológicas y geográfica fue analizada mediante el análisis de Mantel; esta prueba permite realizar una correlación entre las matrices morfológicos y los moleculares, teniendo un valor muy bajo ($r= 0.02$, $p<0.001$) obtenido con el método Mxcomp (NTsys 2.2), Zorrilla (2006) sostiene que el agrupamiento de los marcadores de AFLP, no se encuentra asociado al color de la superficie del tubérculo ni con el sabor del tubérculo (dulce y amargo). Pissard et al. (2008) evaluó la congruencia de los marcadores dominantes como ISSR (9 primers) con 34 morfotipos, encontrando una correlación mayor al presente estudios ($r=0.137$, $pvalue<0.05$), sin embargo esta correlación es muy baja; Los AFLPs, permite la generación de mayor cantidad de fragmentos polimórficos en el genoma de la especie analizada, razón por la cual el índice de Mantel entre

las matrices genéticas y morfológica es muy baja el cual podría incrementar el índice al incrementar los descriptores de la planta, flor y habito de crecimiento. Pissard et al. (2008) señala que la correlación obtenida es confiable solo con accesiones genéticamente muy similares, pero el mismo patrón no debe ser concluyente para un gran número de accesiones. No obstante el valor es positivo, pero es bajo como se observan en otros estudios como quinua, uva, arroz, centeno, camote (Rodriguez e Isla, 2009; Xu et al., 2000; Federici et al., 2001; Roldan-Ruiz et al., 2001; Solano et al., 2007, Karuri et al., 2010), Szczepaniak et al. (2002), señala que los valores bajos en la correlación de marcadores AFLP y los morfológico se debe probablemente a la plasticidad de la especie.

La correlación de las distancia geográfica y moleculares se ha obtenido un valor débil pero altamente significativo ($r= 0.431$, $p<0.001$) obtenido por GENALEX 6.4. Pissard et al. (2008) encontró un valor mucho más bajo ($r=0.190$, $p<0.01$), sin embargo se han podido reportar correlaciones significativa entre las distancias genéticas y geográficas para otras especies (Kyndt et al., 2009; Andrade et al., 2007; Larson et al., 2004; Wolf et al., 2004).

VII. CONCLUSIONES

- Se ha identificado a través de marcadores morfológicos y genéticos a través de los marcadores AFLP la diversidad genética de las accesiones colectadas, así mismo se ha evaluado la correlación genética, molecular y geográfica, donde existe un alto valor de correlación entre la matriz genética y geográfica. Así también se ha identificado las localidades con mayor índice de fijación (F_{st}) en la cual permite evaluar su grado de aislamiento genético.
- La caracterización morfológica a través de los descriptores de oca propuesto por el IPGRI/ CIP (2001) en 187 accesiones ha permitido la identificación de 68 morfotipos y 119 accesiones duplicadas. Los 7 descriptores evaluados presentaron diferente comportamiento dentro de los dos primeros componentes principales que explican el 62% de la variabilidad morfológica. El primer componente, se encuentra asociado a la distribución del color secundario, color secundario de pulpa y distribución del color secundario, mientras que el color predominante superior, el color secundario y la forma los que aportaron la máxima variabilidad en el segundo componente.
- La morfotipos se distribuyen de manera diferente, se ha encontrado 49 morfotipos que pueden encontrarse en un departamento, 12 morfotipos en dos departamentos, 3 morfotipos en 3 departamentos y 4 morfotipos en 4 departamentos. Los departamentos con mayor cantidad de morfotipos son Ancash (24), Puno (18), Cajamarca (14), La Libertad (12) y los departamentos con menor cantidad de morfotipos son Arequipa, Lima (7 cada uno), Moquegua, Tacna (6 cada uno) y Amazonas (4 morfotipos).

- De los descriptores evaluados para el color predominante en la superficie de los tubérculos, son tres los que presentaron la mayor frecuencia encontrada siendo Amarillo (36.8%), blanco amarillento (27.6%), naranja amarillento (15.6%), rojo (10.3%), y otros colores en menor porcentaje como púrpura grisáceo oscuro (2.9%) y blanco, rojo naranja y rojo púrpura (1.5% cada uno). En el presente estudio no se ha reportado 4 colores que se reportan en los descriptores de oca.
- La distribución de los colores secundarios se ha registrado a nivel de los ojos principalmente (27.9%), ojos e irregularmente distribuidos (22.1%) y ausentes (20.6%), también se ha registrado en los otros estados del descriptor. Los colores predominante a nivel de pulpa son principalmente amarillo (67.6%), blanco amarillento (19.1%), naranja amarillento (11.8%) y blanco (1.5%). A nivel de pulpa se ha registrado principalmente la ausencia del color (73.5%), sin embargo, también se ha registrado otros colores como blanco amarillento, rojo claro, rojo pálido, rojo, rojo grisáceo, púrpura rojizo y púrpura grisáceo. La distribución de estos colores de da principalmente en el anillo vascular, medula, medula y corteza, asimismo se encuentra una gran proporción de una ausencia del color a nivel de pulpa. Gran parte de los tubérculos evaluados en las accesiones de estudio son principalmente cilíndricos (57.6%), claviformes (22.1%), alargados (13.2%) y ovoides (7.4%).
- Los marcadores AFLP con cuatro combinaciones generó 112 bandas polimórficas de 236 bandas registradas en total, lo que permitió la identificación de 106 genotipos en total. La combinación E₄₀/M₃₅ presentó 59.3% de bandas polimórficas, E₄₂/M₆₀ se registró 52.5% de bandas polimórficas, E₃₅/M₅₉ generó 38.7% de bandas polimórficas y E₃₉/M₄₀ generó 37.3% de bandas polimórficas. El análisis de similaridad evaluado permitió evaluar a través del índice de Jaccard con una mayor índice de similitud. A nivel regional, la región del norte presentó un mayor índice (0.715), seguido de la región del centro (0.593) y posteriormente la región del sur (0.56).

- Al análisis de agrupamiento de las accesiones, permitió agrupar algunas accesiones por su origen de colecta a nivel de departamento, sin embargo el agrupamiento de las accesiones son más visibles por las regiones evaluadas (norte centro y sur). La variación genética observada en los agrupamientos se ve representada en el AMOVA, donde la variación obtenida se observa dentro de las accesiones de los departamentos (77% de variación) y entre las accesiones de departamentos (23%). A nivel regional, la variación se visualiza dentro de las regiones (norte, centro y sur) con 84% de la variación y entre las regiones con 16%.
- La correlación de los marcadores morfológicos y genéticos a través de sus respectivas matrices es muy baja ($r= 0.02$), mientras que existe una mayor correlación entre las matrices geográficas y genética ($r= 0.431$).
- Existe una amplia respuesta de la estructura genética de oca con respecto a las diferentes localidades. El F_{st} de las accesiones de Amazonas, Tacna, Cajamarca, Moquegua y Puno, presentan valores superiores a 0.25, lo que indica un proceso de aislamiento genético en estas localidades, mientras que las poblaciones de Arequipa, La Libertad, Lima y Ancash presentan valores bajos que indican una baja estructuración genética.

VIII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar planes de colecta poblaciones de oca en diferentes departamentos para evaluar la amplia variabilidad, distribución y estructura genética del cultivo.
- Implementar en el Banco de Germoplasma del INIA trabajos de homologación de accesiones que permitan la optimizar los recursos para la conservación, así como la evaluación de sus cualidades de consumo.
- Incrementar el número de combinaciones de AFLP para obtener la máxima variabilidad genética de oca.
- Evaluar otras herramientas genéticas como microsatelites que permitan evaluar el carácter homocigoto o heterocigoto de las accesiones, AFLP es un marcador dominante por lo que no es posible evaluar los alelos homocigotos o heterocigotos.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adrianzen, P. (2006). Estudios de la diversidad genética de ocas cultivadas (*Oxalis tuberosa* Mol.) de cuatro comunidades campesinas del Cuzco usando marcadores moleculares AFLP. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Peru.
- Andrade, I., Mayo, S., Van Den Berg, C., Fay, M., Chester, m., Lexer, C., y Kirkup, D. (2007). A preliminary study of genetic variation in populations of *Monstera adansonii* var. *Klotzschiana* (Areaceae) from North-east Brazil, estimated with AFLP molecular markers. *Annals of Botany*, 100, 1143-1154
- Arbizu, C. y Robles, E. (1986). *Catálogo de los recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos*. Universidad San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- Arbizu, C. y Tapia, M. (1992). Tubérculos Andinos En: Hernández Bermejo J.E. y León, J. (eds) Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. Colección FAO: Producción y protección vegetal # 26. Roma, Italia. Pp: 147-161.
- Azkue D. (2000). Chromosome diversity of South American *Oxalis* (Oxalidaceae) *Botanical Journal of the Linnean Society* 132, 143–152.
- Bassam, B., Caetano-Anolles, G. y Gresshoff, P. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 196, 80-83.
- Biondi, J. (2006). *Análisis de la diversidad genética de la Colección de Oxalis tuberosa* Molina “Oca” mantenidas en el Centro Internacional de la Papa, usando marcadores AFLP. (Tesis de pregrado). Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.

- Blas, R., Alagón, R., Rosas, A., Nagatomi, A., Pérez, I., Quispe, C., Quiñones, E., Chacon, A., Reynoso, J., Paucar, M., Rojas, R. y Baudoin, J-P. (2008). Variabilidad genética de los tubérculos andinos en las comunidades campesinas del Cusco y Huánuco. En 13 congreso latinoamericano de genética y 6 congreso peruano de genética. Lima, Peru.
- Bonin A., Ehrich D. y Manel S. (2007). Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Molecular Ecology* 16, 3737–3758.
- Borchsenius F. (1999). Morphological variation in *Geonoma cuneata* in Western Ecuador. En Henderson, A. y Borchsenius. (Ed). Evolution, variation and classification of palms (pp.131-139). New York, Estados Unidos. The New York Botanical Garden Press.
- Botstein, D., White, L., Skolnick, N. y Davis, R. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *The American journal of Human genetics* 32, 314-331.
- Cadima, X., Gonzales, R., Almanza, J., Garcia, W y Terrazas, F. (2004). Catálogo de variedades locales de papa y oca de la zona de la candelaria. Serie: conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Centro internacional de la papa, Agencia suiza para el desarrollo y la Cooperación. Cochabamba, Bolivia.
- Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., Arbizu, C. y Roca, W. (2006). Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp), mashua (*Tropaelum tuberosum* Ruiz & Pavon), Oca (*Oxalis tuberosa* M.) and Olluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Journal of Science Food and Agriculture* 86, 1481-1488.

- Cárdenas, M. (1969). Manual de Plantas Económicas de Bolivia. Imprenta Ichtus. Cochabamba, Bolivia.
- Carrión, S., Herman M. y Trognitz, B. (1995). Biología Reproductiva de la Oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) *Boletín de Lima* 98, 8-68.
- Collazos, C., (1993). *La composición de alimentos de mayor consumo en el Perú*. Instituto Nacional de Nutrición. Perú: Fondo Editorial del Banco Central de Reserva del Perú.
- Crisci, J y Lopez, M. (1983). Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica, Editorial Secretaria General de la Organización de Estados Americano, 26, pp. 132.
- Doyle, J.J y Doyle J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-5.
- Cronquist, A. (1981). An integrad system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- De Azkue, D., Martinez, A. (1990). Chromosome number of the *Oxalis tuberosa* alliance (Oxalidaceae). *Plant Systematic and Evolution*, 169, 25-29
- Del Rio, A. (1990). *Análisis de la variación isoenzimática de Oxalis tuberosa Molina "Oca" y su distribución geográfica* (Tesis de pregrado). Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.
- Dice LR. (1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26, 297–302.

- Donayre, A.J. (2000). *Estudio de la Diversidad genética de Oxalis tuberosa Mol. Oca, de la comunidad de Pícol, Distrito de Taray, provincia de Calca, Cuzco, mediante la técnica RAPDs*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Eding, H. y Laval G. (1999). Measuring genetic uniqueness in livestock. En Oldenbroek, L (Ed.), *Genebank and the management of farm animal genetic resource* (pp 33-58). Netherlands, IDODL press.
- Emshwiller, E., Doyle F. (1998). Origins of Domestication and polyploidy in Oca (*Oxalis tuberosa*: Oxalidaceae): nrDNA ITS data. *American Journal of Botany*, 85(7), 975–985.
- Emshwiller, E. (2002). Ploidy levels among species in the “Oxalis tuberosa Alliance” inferred by Flow cytometry. *Annals of Botany*, 89,741-753
- Emshwiller, E., Doyle, J., 2002. Origins of domestication and polyploidy in Oca (*Oxalis tuberosa*: Oxalidaceae). 2 Chloroplast-expressed Glutamine synthetase data. *American Journal of Botany* 89 (7): 1042-1056.
- Emshwiller, E. (2006a). Evolution and conservation of clonally propagated crops — Insights from AFLP data and folk taxonomy of the Andean tuber “oca” *Oxalis tuberosa*. En T. Motley, N. Zerega, and H. Cross (Ed.), *Darwin’s harvest: New approaches to the origins, evolution, and conservation of crops* (pp 308 – 332). Columbia University Press, New York, New York, USA.
- Emshwiller, E. (2006b). Origins of polyploid crops: The example of the octoploid tuber crop *Oxalis tuberosa*. In M. A. Zeder, D. Bradley, E. Emshwiller, and B. D. Smith (Ed.), *Documenting domestication: New genetic and archeological paradigms*, 153 – 168. University of California Press, Berkeley, California.

- Emshwiller, E., Theim, T., Grau, A., Nina, V y Terrazas, F. (2009) Origins of domestication and polyploidy in Oca (*Oxalis tuberosa*, Oxalidaceae). 3. AFLP data of oca and four wild, tuber-bearing taxa. *American Journal of Botany*, 96(10), 1836-1848.
- Excoffier L., Smouse P. y Quattro J. (1992). Analysis of molecular variance inferred for metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479–49.
- Federici, M., Vaughan, D., Tomooka, N., Kaga, A., Wang, X., Doi K., Francis, M., Zorrilla, G. y Saldain, N. (2001). Analysis of Uruguayan weedy rice genetic diversity using AFLP molecular markers. *Electronic J. Biotechnol*, 4(3), 130-145.
- Flores H., Walker T., Guimaraes R., Palbais, H. y Vivanco J. (2003). Andean roots and tuber crops: Underground rainbows. *Hortscience*, 38(2), 161-167.
- Friesen, N., Brandes, A. y Seymour, J. (2001). Diversity, origin, and distribution of retrotransposons (*gypsy* and *copia*) in conifers. *Molecular Biology and Evolution*, 18(7), 1176-1188.
- Foll, M., Baumont, M. y Gaggiotti, O. (2008). An Approximate Bayesian Computation approach to overcome biases that arise when using AFLP markers to study population structure. *Genetics*, 179, 927-939.
- Fontdevila, A. y Moya, A. (1999). *Introducción a la genética de poblaciones*. España: Editorial síntesis SA.
- Gaggiotti, O, Foll, M. (2010). Quantifying population structure using the F-model. *Molecular Ecology Resources*, 10, 821-830.

- Guillot, G., Leblois, R., Coulon, A. y Frantz, A. (2009). Statistical methods in spatial genetics. *Molecular Ecology*, 18, 4734-4756.
- Grattapaglia, D. y Ferreira, M. (1995). *Introducción al Uso de Marcadores Moleculares en el Análisis Genético*. Brasil: EMBRAPA
- Grant, V. (1971). *Plant speciation*. New York: Columbia University Press.
- Holsinger, k. y Weir, B. (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating, and interpreting *F_{st}*. *Nature Reviews Genetics*, 10, 639-650
- Hogde, W. (1949). Three native tuber foods of the high Andes. *Economic Botany*, 5 (2), 185-201.
- IPGRI/CIP. (2001). *Descriptores de Oca (Oxalis tuberosa Mol.)*. Instituto Internacional de Recursos Filogenéticos, Roma, Italia, Centro Internacional de la Papa, Lima-Perú.
- Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Société Vaudoise Des Sciences Naturelles*, 44, 223–270.
- Jarvis D., Myer, L., Klemick, H., Guarino. L, Smale, M., Brown, AHD., Sadiki, M., Sthapit, B y Hodgkin, T. (2000). *A training guide for in- situ conservation on farm*. International Plant Genetic Resource Institute (IPGRI), Rome.
- Karp, A., Krsovich, S., Baht, KV, Ayand, WG y Hodgkin, T. (1997) *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*. IPGRI technical bulletin N° 2, International plant Genetic Resources Institute, Rome Italy.

- Karuri, H., Ateka, E., Amata, R., Nyende, A., Muigai, A. y Gichuki, S. (2010). Evaluating diversity among Kenyan Sweet potato genotypes using morphological and ssr markers. *Int.J. Agric.Biol*, 12, 33-38
- Kays, S., Gaines, T. y Kays, W. (1979). Changes in the composition of the tuber crop *Oxalis tuberosa* Molina during storage. *Scientia Horticulturae*, 11, 45-50.
- King, S., Gershoff, S. (1987). Nutritional evaluation of three underexploited Andean tubers: *Oxalis tuberosa* (Oxalidaceae), *Ullucus tuberosus* (Basellaceae) and *Tropaelum tuberosum* (Tropaeolaceae). *Economic Botany*, 41(4), 503-511.
- Kloeckerner-Gruiseem, B. y Freeling, M. (1995). Transposon- induces promoter scrambling: A mechanism for the evolution of new alleles. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92, 1836-1840.
- Kyndt, T., Assogbadjo, A., Hardy, O., Glele Kakai, R., Sinsin, B., Van Damme, P. y Gheysen, G. (2009). Spatial genetic structuring of Baobab (*Adansonia digitata*, Malvaceae) in the traditional agroforestry systems of West Africa. *American Journal of botany*, 95(5), 950-957.
- Larson, S., Jones. T. y Jensen, K. (2004). Population structure in *Pseudoroegneria spicata* (poaceae: triticeae) modeled by Bayesian clustering of AFLP genotypes. *American Journal of botany*, 91(11):1789-1801.
- León, J. (1964) *Plantas Alimenticias Andinas*. Instituto interamericano de ciencias Agrícolas IICA. Lima, Perú.
- Long, J., Cromwell, E. y Gold, K. (2002). *On farm management of crop diversity: an introduction bibliography*, Overseas Development Group London: ITDG.

- McClintock, B. (1946). Maize genetics. Carnegie Inst. Washington Year Book 45:176–186.
- Medina, T., 1994 Contaje cromosómico de la oca (*Oxalis tuberosa* Molina) conservada *in vitro*. Tesis para obtener el título de ing. Agrónomo. Universidad Nacional del centro del Perú, Huancayo, Perú.
- Milbourne, D., Meyer, R., Collins, A., Ramsay, I., Gebhardt, C. y Waugh, R. (1998). Isolation, characterization and mapping of simple sequences repeat loci in potato. *Molecular genetics*, 259, 233-245.
- Montaldo, A. (1972). Cultivo de Raíces y tubérculos Tropicales. IICA. Lima. Perú.
- Mueller, U. y Wolfenbarger, L. (1999). AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology and Evolution*, 14 (10), 389-394.
- National Research Council. (1989). *The lost crop of the Incas: Little-Known plants of the Andes with promise of worldwide Cultivation*. United State of America: National Academy press.
- Nagatomi A. y Blas, R. (2008a). Análisis de la variabilidad molecular de la oca en dos comunidades campesinas de Huánuco. En 13 congreso latinoamericano de genética y 6 congreso peruano de genética. Lima, Perú.
- Nagatomi, A, Blas, R, Castro, E. e Yglesias, E. (2008b). Análisis molecular de la variabilidad genética de accesiones peruanas de *Oxalis tuberosa* Molina “Oca” de Kitchi- Huánuco mediante marcadores ISSR. En I simposio internacional de Investigación hacia un desarrollo sustentable. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

- Nei M. y Li WH. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76, 5269–5273.
- Nuez, F. y Carrillo, J.M. (2000). *Marcadores genéticos en la mejora vegetal*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Obando, L. (2000). *Caracterización de los sistemas de producción de Oxalis tuberosa Mol. en la zona andina del departamento de Nariño*. Bolivia.
- Peakall, R. y Smouse P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Perrier, X., Flori, A. y Bonnot, F. (2003). Data analysis methods. In: Hamon, P., Seguin, M., Perrier, X., Glaszmann, J. C. (Ed). *Genetic diversity of cultivated tropical plants*. (pp 43-76). Montpellier, France Enfield, Science Publishers.
- Perrier, X., Jacquemoud-Collet J.P. (2006). DARwin software. Disponible en: <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Paucar, M. (2007). *Caracterización morfológica y etnobotánica de Ocas (Oxalis tuberosa Mol) cultivadas in situ en las comunidades del distrito de Kichki- Huánuco*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Hermilio Valdizan, Huánuco, Perú.
- Piedra, A. (2002). *Caracterización morfoagronómica y molecular de la colección nacional de Oca (Oxalis tuberosa Mol) del Banco de Germoplasma del INIAP*. (Tesis de pregrado). Universidad Católica del Ecuador. Ecuador.

- Pissard, A., Ghislain, M. y Bertin, P. (2006). Genetic diversity of the Andean tuber –bearing species, oca (*Oxalis tuberosa* Mol.), investigated by inter- simple sequence repeat. *Genome*, 49, 8-16.
- Pissard, A., Rojas- Beltran, J., Faux, A., Paulet, S. y Bertin, P. (2007). Evidence of intravarietal genetic variability in the vegetatively propagates crop oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) In the Andean traditional farming system. *Plant Syst. Evol*, 270, 59-74.
- Pissard, A. (2008). *Structure and genetic diversity of two andean tuber crops, oca (Oxalis tuberosa Mol) and mashua (Tropaelum tuberosum R&P)* (Tesis de doctorado). Universidad Catolica de Louvain, Bélgica.
- Pissard, A., Arbizu, C., Ghislain, M., Faux, A-M., Paulet, S. y Bertin, P. (2008). Congruence between morphological and molecular markers inferred from the analysis of the infra-morphotype genetic diversity and the spatial structure of *Oxalis tuberosa* Mol. *Genetica*, 132:71-85
- Roldan-Ruiz, I., Van Eeuwijk, F., Dubreuil, P., Dillman, C., Lallemand, J., De Loose, M. y Baril, C. (2001). A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. *Theor. Appl. Genet.*, 130 (8), 1138-1150.
- Rodriguez, L. y Thomet, M. (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.
- Royal Horticultural Society. (1995). R.H.S.Colour Chart (edn 1, 2, 3). Londres: The Royal horticultural Society.

- Sambrook, J. y Russell, D. (2001) *Molecular cloning, A laboratory Manual 3°*
New York : Cold Spring Harbour press.
- Schibli, R. (2007). Análisis de la diversidad genética de *Oxalis tuberosa* Molina “Oca” de 2 comunidades del Cusco usando marcadores AFLP. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Sevilla, R. y Holle, M. (2004). *Recursos genéticos Vegetales*. Perú: Luis León asociados. SRL.
- Sneath, P. y Sokal, R. (1973). *Numerical taxonomy: The principle and practice of numerical classification*. USA: Freeman.
- Sperling, C.R. y King S.R. (1990). Andean tuber crops: Worldwide potential. p. 428-435. In: J. Janick and J.E. Simon (Ed.) *Advances in new crops*. Portland, United State of America: Timber Press.
- Szczepaniak, M., Cieslak, E., Bednarek, P. (2002). Morphological and AFLP variation of *Elymus repens* (L.) Gould (Poaceae). *Cell. Mol. Boil. Lett.*, 7(2A), 547-558.
- Ramirez, M., (2002). On farm conservation of minor tubers in Peru: The dynamics of oca “*Oxalis tuberosa*” landrace management in a peas
- Sokal, RR. y Michener, CD. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38, 1409–1438.
- Sokal, R, Sneath, P. (1963). *Principles of numerical taxonomy*. USA: Freeman.
- Solano, J., Morales, R. y Anabalón, L. (2007). Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum*

- tuberosum* ssp. *Tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers. *Electronic J. Biotechnol.*, 10(3), 436-443.
- Spooner, D., Mclean, K., Ramsay, G. y Waugh, B. (2005). Single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 102(41), 14694-14699.
- Surco, F. (2004). *Caracterización de almidones aislados de tubérculos andinos: Mashua (Tropaeolum tuberosum), oca (Oxalis tuberosa), Olluco (Ullucus tuberosus) para la aplicación tecnológica.* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Sorensen T. (1948). A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Biologiske Skrifter*, 5, 1–34.
- Peakall, R. y Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Orbegoso, G. (1960). Estudio sobre la Oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) con especial referencia a su estructura y variabilidad. *Agronomía*, 27 (1), 28-38.
- Takezaki, N. y Nei, M. (1996). Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellites DNA. *Genetics*, 144, 389-399.
- Tivang, J., Nienhuis, J. y Smith, O. (1994). Estimation of sampling variance of molecular data using the bootstrap procedure. *Theoretical and applied genetics*, 89, 259-264

- Tosto, D., Vignale, D., Hilgert, N., Zamudio, F., Schimpf, J. y Hoop, E. (2008). *Estudios preliminares de la diversidad genética en distintos cultivares de Oca (Oxalis tuberosa) mediante la utilización de AFLPs*. En 13 congreso latinoamericano de genética y 6 congreso peruano de genética. Lima, Peru
- Trognitz, B., Hermann M. y Carrión S. (1998). Germplasm conservation of oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) through botanical seed. Seed formation under a system of polymorphic incompatibility. *Euphytica* 101, 133–141.
- Ugent, D. y Ochoa, M. (2006). *La Etnobotánica del Perú, desde la prehistoria al presente*. Perú: Editorial UNMSM.
- Ugarte, M. y Boudin, J. (2004). *Conservación ex situ de tubérculos andinos y análisis de datos de la diversidad genética de la oca (Oxalis tuberosa Mol)*. Fundación PROINPA. Bolivia.
- Urrutia, M. (1997). Caracterización y evaluación agronómica de cultivares nativos de oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) en la zona aymara del Lago Titicaca. (Tesis de pregrado), Universidad de San Antonio Abad del Cusco. Cusco, Perú.
- Valladolid, A., Arbizu, C. y Talledo, D. (1994). Niveles de ploidía de la oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) y sus parientes silvestres. *Agro Sur*, 22, 11-12.
- Vavilov, A. (1992). *Origin and geography of cultivated plants*. England: Cambridge University Press.
- Velasquez, D. (2004). *Variabilidad genética y saberes locales en la agricultura de ecosistemas semi áridos de los andes*. Cultivos y saberes 40. Lima- Peru.
- Vershinin, A., Allnutt, T., Knox, M. Ambrose, M., Ellis, N. (2003). Transposable elements reveal the impact of introgression, rather than transposition,

in *Pisum* diversity, evolution and domestication. *Molecular Biology and Evolution*, 20(12), 2067-2075.

Vimos, C. (1985). *Caracterización y evaluación agronómica de 48 entradas de oca (Oxalis tuberosa Mol) del banco de germoplasma del INIAP, del programa de Cultivos andinos*. Quito-Ecuador.

Vinueza, J. (1997). *Evaluación y Caracterización citogenética de 20 Entradas de Oca (Oxalis tuberosa Molina) recolectadas en Ecuador*. (Tesis de prgrado). Universidad Central del Ecuador. Pichincha, Ecuador.

Vivanco, F., Arbizu, C. (1997). *Caracterización morfológica de ocas (Oxalis tuberosa) peruanas*, Universidad Nacional de San Antonio de Abad del Cusco (UNSAAC). 35p

Vivanco, K, Salas, A, Emshwiller, E, Arbizu, C, Roca, W y Tay, D. (2008). *Estudio de la diversidad genética en Oxalis tuberosa (Oca) colectados en los andes del Perú*. En I simposio internacional de Investigación hacia un desarrollo sustentable. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Vos, P., Hogers, R., Bleecker, M., Reijans, M., Van de Lee. T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J. Kuiper, M. y Zabeau, M. (1995). AFLP. A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21), 4407-4414

Voytas, D., Cummings, M., Konieczny, A., Ausubel, F. y Rodermel, S. (1992). Copy-like retrotransposons are ubiquitous among plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89, 7124-7128.

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

- Weir, B. (1996a). Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. Massachusetts, USA: Sinauer associates INC. Publishers.
- Weir, B. (1996b). Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data. Massachusetts, USA: Sinauer associates INC. Publishers.
- White J.W. (1975). Notes on the biology of *Oxalis tuberosa* and *Tropaeolum tuberosum* (Thesis). Harvard College. United State of America.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann.Eugen.* 15, 323-354.
- Wright, S. (1965).The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evol.* , 19, 395-420.
- Wolf, P., Doche, B., Gielly y Taberlet L. (2004). Genetic structure of *Rhododendron ferrugineum* at a wide range of spatial scales. *Journal of Heredity*, 35(3), 301-308.
- Xu, Z., Tomooka, N. y Vaughan DA. (2000). AFLP markers for the characterizing the azuki vean complex. *Crop sci*, 40(3), 808-815.
- Yu, Z., Wright, S. y Bureau, T. (2000). Mutator-like elements in *Arabidopsis thaliana*: structure diversity and evolution. *Genetics* 156, 2019-2031.
- Zorrilla, C. (2006). *Diversidad genética de cultivares nativos de papas amargas y ocas provenientes de Puno*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

X. ANEXOS

Anexo 2. Tabla de los caracteres empleados en la caracterización morfológica de *Oxalis tuberosa* Mol según los Descriptores del IPGRI

Carácter	Descripción	Naturaleza	Característica
1	Color predominante de la superficie de los tubérculos	1	Blanco
		2	Blanco amarillo
		3	Amarillo
		4	Naranja amarillento
		5	Rojo naranja
		6	Rojo naranja oscuro
		7	Rojo Claro
		8	rojo pálido
		9	Rojo
		10	Púrpura rojizo
		11	Púrpura grisáceo claro
		12	Púrpura grisáceo oscuro
2	Color secundario de la superficie de los tubérculos	0	Ausente
		1	Blanco
		2	Blanco amarillento
		3	Amarillo
		4	Naranja amarillento
		5	Rojo naranja
		6	Rojo Claro
		7	rojo pálido
		8	Rojo
		9	Rojo grisáceo
		10	Púrpura rojizo
11	Púrpura grisáceo		
3	Distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos	0	Ausente
		1	Ojos
		2	Alrededor de los ojos
		3	Sobre tuberizaciones
		4	Ojos e irregularmente distribuidos
		5	Irregularmente distribuido
6	Veteaduras sobre tuberizaciones principalmente		

Carácter	Descripción	Naturaleza	Característica
4	Color predominante de la pulpa de los tubérculos	1	Blanco
		2	Blanco amarillento
		3	Amarillo
		4	Naranja amarillento
		5	Rojo naranja
		6	Rojo
		7	Rojo grisáceo
		8	Púrpura rojizo
		9	Púrpura grisáceo
5	Color secundario de la pulpa de los tubérculos	0	Ausente
		1	Blanco
		2	Blanco amarillento
		3	Amarillo
		4	Naranja amarillento
		5	Rojo naranja
		6	Rojo Claro
		7	Rojo pálido
		8	Rojo
		9	Rojo grisáceo
		10	Púrpura rojizo
11	Púrpura grisáceo		
6	Distribución del color secundario de la pulpa de los tubérculos	0	Ausente
		1	Corteza
		2	Anillo vascular
		3	Medula
		4	Anillo vascular y corteza
5	Medula y corteza		
7	Forma de los tubérculos	1	Ovoide
		2	Claviforme
		3	Alargado
		4	Cilíndrico

Anexo 3. Relación de reactivos para los 4 pasos de AFLP.

3.1 Relación y formulación de reactivos para la digestión enzimática.

REACCION DE DIGESTIÓN			
Reactivos	Conc	1 Rx (uL)	100 Rx(uL)
Buffer 5X-RL		4,000	400,00
NaCl	0,5M	2,000	200,00
BSA	10 mg.ml ⁻¹	0,200	20,00
Mse I	10 U.ml ⁻¹	0,250	25,00
Eco RI	20 U.ml ⁻¹	0,125	12,50
NFW		3,425	342,50
Vol. Total	(uL)	10,000	1000,00

3.2 Relación y formulación de reactivos para la ligación enzimática.

REACCION DE LIGACIÓN			
Reactivos	Conc	1 Rx (uL)	100 Rx(uL)
Buffer T4 ligasa 10X		1,000	100,00
NaCl	0,5 M	0,500	50,00
BSA	10 mg.ml ⁻¹	0,050	5,00
Mse Adaptador		0,500	50,00
Eco Adaptador		0,500	50,00
DNA T4 ligasa		0,017	1,70
ATP		0,500	50,00
NFW		1,933	193,30
Vol. Total	(uL)	5,000	500,00

3.3 Relación y formulación de reactivos para la amplificación preselección.

REACCION PRESELECCIÓN			
Reactivos	Conc	1 Rx (uL)	100 Rx(uL)
NFW		14,15	1415
Buffer PCR	10X	2,50	250
dNTPs	5 mM	1,25	125
Eco (E00)		1,00	100
Mse (M00)		1,00	100
Taq Polimerasa	(1:4)	0,10	10
Vol. Total	(uL)	20,00	2000

3.4 Relación y formulación de reactivos para la amplificación selectiva.

REACCION SELECTIVA			
Reactivos	Conc	1 Rx (uL)	100 Rx(uL)
NFW		0,84	84,00
Buffer PCR	10X	1,1	110,00
dNTPs	5 mM	0,60	60,00
Eco (+3)		2,00	200,00
Mse (+3)		0,30	30,00
Taq Polimerasa	(1:4)	0,16	16,00
Vol. Total	(uL)	5,00	500,00

Anexo 4. Evaluación de los morfotipos de oca por localidad.

MORFOTIPO	AMA	ANC	CAJ	PUN	MOQ	ARE	LLI	LIM	TAC	Suma
1	2	3	1	2						8
2			1			2	1			4
3							1			1
4							2			2
5								1		1
6	3	4	2				3			12
7		1					5			6
8	1		1							2
9		1								1
10		3								3
11							1			1
12			2				3			5
13			1							1
14		2						1		3
15							2			2
16		1								1
17		1								1
18									1	1
19		1								1
20						2				2
21		5								5
22		3								3
23								1		1
24				2						2
25				2						2
26							1			1
27				1						1
28						1				1
29		2	1							3
30				3						3
31		1								1
32		2								2
33						1				1
34						1				1
35		3								3
36			1							1
37								1		1
38		1		1						2
39		1	5				3		1	10

40					1				1
41				2	4			5	11
42				4	2			1	7
43		4					1		5
44		1		3	3			2	9
45					1				1
46							2		2
47		1							1
48			1						1
49			6						6
50				4					4
51				12	2				14
52				1					1
53			3						3
54						1			1
55								1	1
56							1		1
57				1					1
58				1					1
59	1								1
60		1							1
61			1						1
62		1							1
63		1		1					2
64				1		1			2
65		1	1						2
66				1			1		2
67							1		1
68				1					1
									187

Anexo 5. Identificación de morfotipos de oca por localidades.

localid	MORF	AMA	ANC	CAJ	PUN	MOQ	ARE	LLI	LIM	TAC	Total
4	1	1	1	1	1						8
4	6	1	1	1				1			12
4	39		1	1				1		1	10
4	44		1		1	1				1	9
3	2			1			1	1			4
3	41				1	1				1	11
3	42				1	1				1	7
2	7		1					1			6
2	8	1		1							2
2	12			1				1			5
2	14		1						1		3
2	29		1	1							3
2	38		1		1						2
2	43		1					1			5
2	51				1	1					14
2	63		1		1						2
2	64				1		1				2
2	65		1	1							2
2	66				1				1		2
1	3							1			1
1	4							1			2
1	5								1		1
1	9		1								1
1	10		1								3
1	11							1			1
1	13			1							1
1	15							1			2
1	16		1								1
1	17		1								1
1	18									1	1
1	19		1								1
1	20						1				2
1	21		1								5
1	22		1								3
1	23								1		1
1	24				1						2
1	25				1						2
1	26							1			1
1	27				1						1
1	28						1				1
1	30				1						3
1	31		1								1

1	32	1										2
1	33						1					1
1	34						1					1
1	35	1										3
1	36		1									1
1	37								1			1
1	40						1					1
1	45						1					1
1	46								1			2
1	47	1										1
1	48		1									1
1	49		1									6
1	50				1							4
1	52				1							1
1	53		1									1
1	54						1					1
1	55									1		1
1	56							1				1
1	57				1							1
1	58				1							1
1	59	1										1
1	60		1									1
1	61			1								1
1	62		1									1
1	67								1			1
1	68				1							1
		4	24	14	18	6	7	12	7	6		98

Anexo 6. Identificación de marcadores AFLP comunes en oca para las 9 localidades evaluadas.

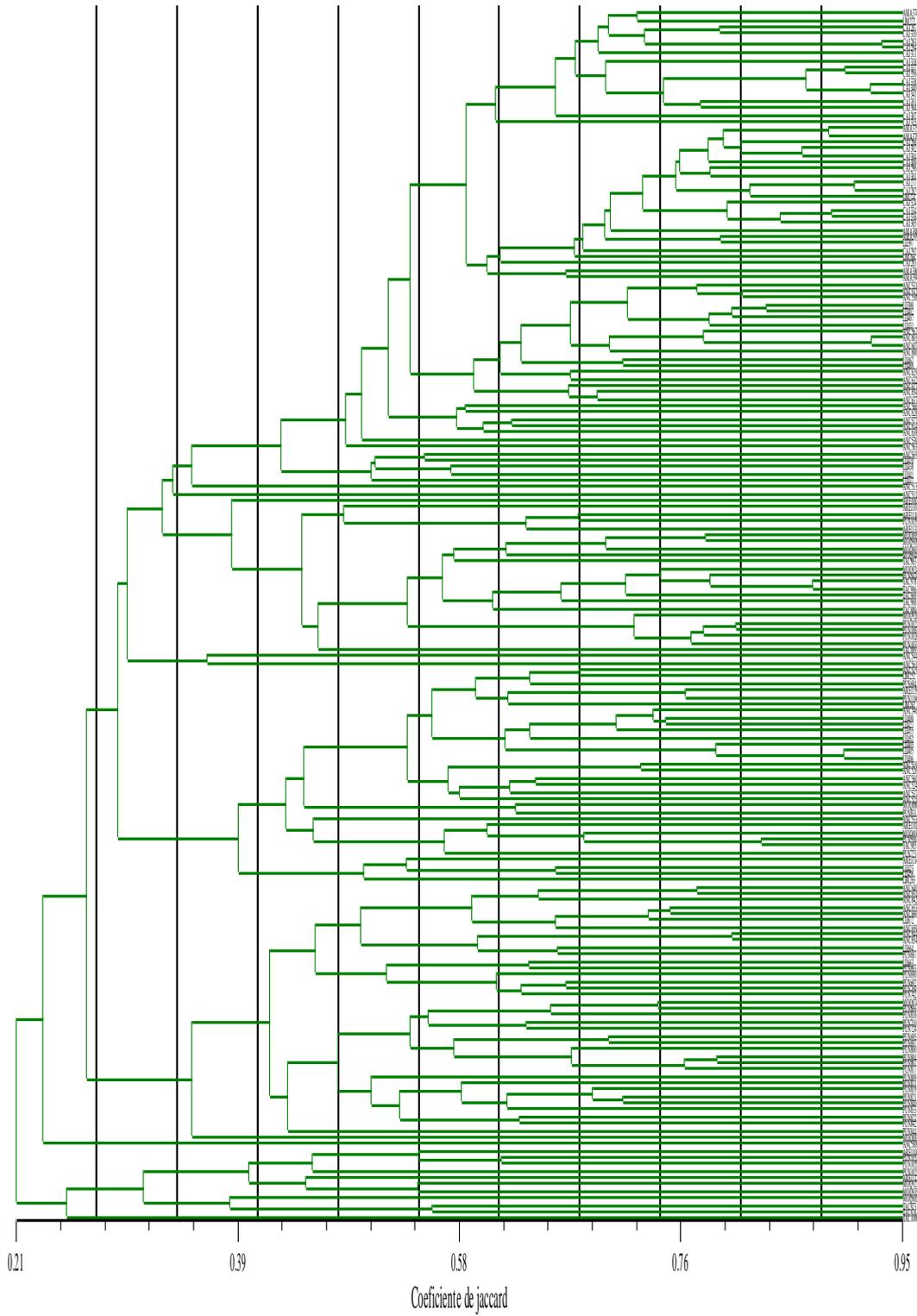
Marcador	ama	anc	are	caja	l li	lim	moq	pun	tac
E35M59-1g	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-3e	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-4b	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-4c	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-4i	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-8n	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-9b	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-9c	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-9j	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-9k	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E35M59-10e	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E39M40-2e	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E39M40-3b	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E39M40-4a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E39M40-6i	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E39M40-12a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-1a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-1k	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-1l	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-1n	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-1o	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-2d	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-3c	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-4c	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-4g	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-8d	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-9a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E40M35-9b	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-1a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-1e	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-1g	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-4f	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-4i	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-5a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-7a	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-7d	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-8b	1	1	1	1	1	1	1	1	1
E42-M60-8d	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Anexo 7. Frecuencia de marcadores AFLP no comunes en las 9 localidades evaluadas

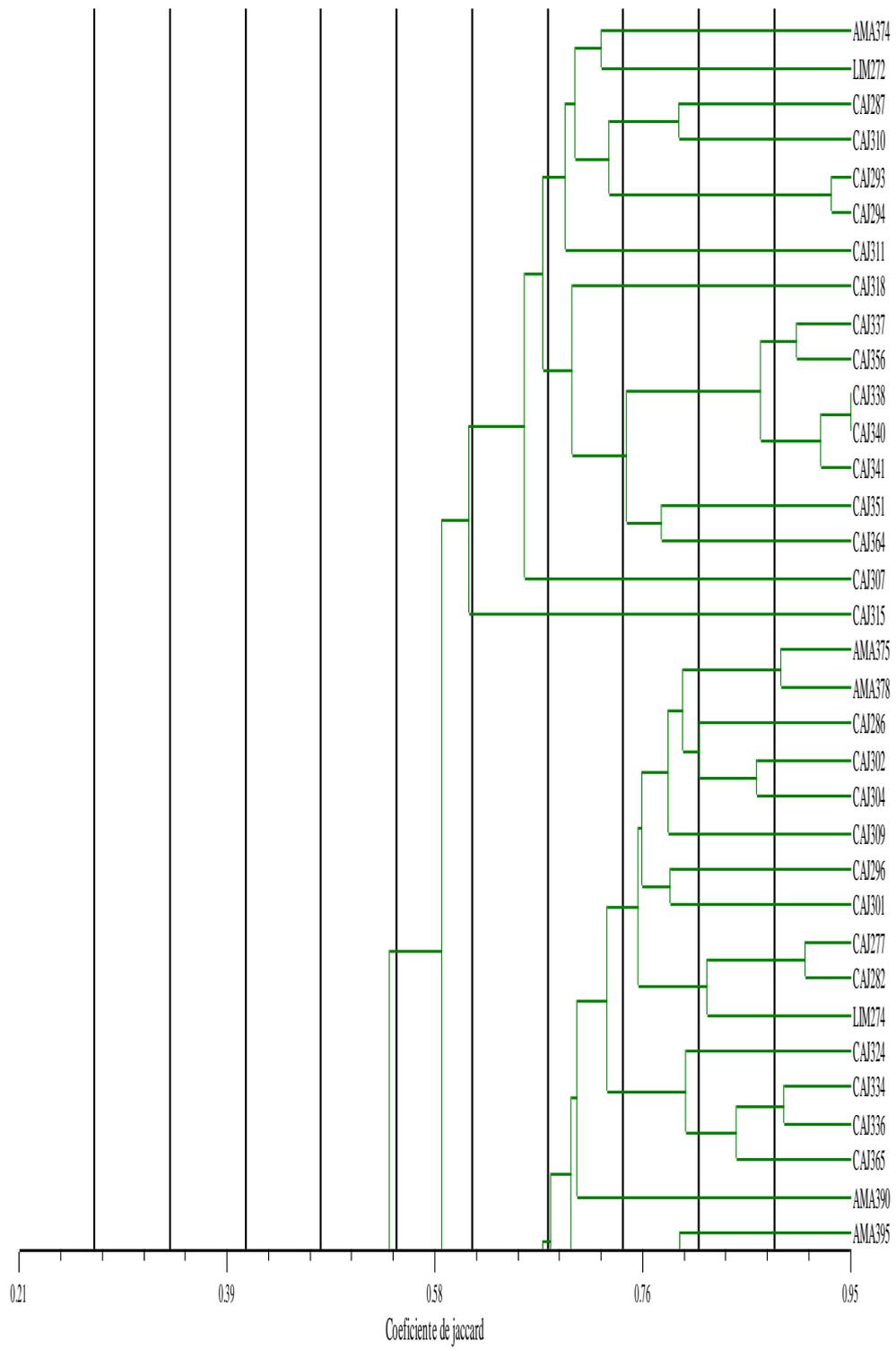
Marcador	Ama	Anc	Are	Caja	Lli	Lim	Moq	Pun	Tac	frecuencia
E35M59-1c	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-1d	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-2a	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-2b	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0.78
E35M59-2g	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-3g	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-4h	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0.89
E35M59-4j	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.78
E35M59-4o	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-8g	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.89
E35M59-8h	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0.78
E35M59-9f	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0.89
E35M59-10d	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-2d	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-2g	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-3g	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.78
E39M40-4b	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.78
E39M40-5a	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-5b	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0.78
E39M40-6a	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0.78
E39M40-6c	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-6d	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0.67
E39M40-6h	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0.89
E39M40-7a	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-7b	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0.78
E39M40-8a	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0.67
E39M40-8b	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E39M40-10a	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0.56
E39M40-11d	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0.56
E39M40-11e	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0.89
E40M35-1b	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-1c	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0.78
E40M35-1d	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0.78
E40M35-1e	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0.89
E40M35-1h	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-1i	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-1j	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-1m	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89

E40M35-2a	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-2c	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0.89
E40M35-2h	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0.89
E40M35-3a	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-4a	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-5b	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-5c	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0.78
E40M35-5e	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0.89
E40M35-6a	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0.78
E40M35-7a	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E40M35-8c	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0.78
E40M35-8h	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0.44
E40M35-8i	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0.67
E40M35-8k	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0.78
E42-M60-1b	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0.67
E42-M60-1c	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0.78
E42-M60-1d	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.78
E42-M60-1f	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0.78
E42-M60-1h	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-1i	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0.78
E42-M60-1j	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-1k	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-1m	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0.89
E42-M60-2a	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0.78
E42-M60-3a	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0.67
E42-M60-3c	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0.56
E42-M60-3g	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0.78
E42-M60-4g	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-4h	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0.78
E42-M60-4j	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-5b	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-5c	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0.89
E42-M60-7b	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-8a	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0.89
E42-M60-8c	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.89
E42-M60-8f	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0.78

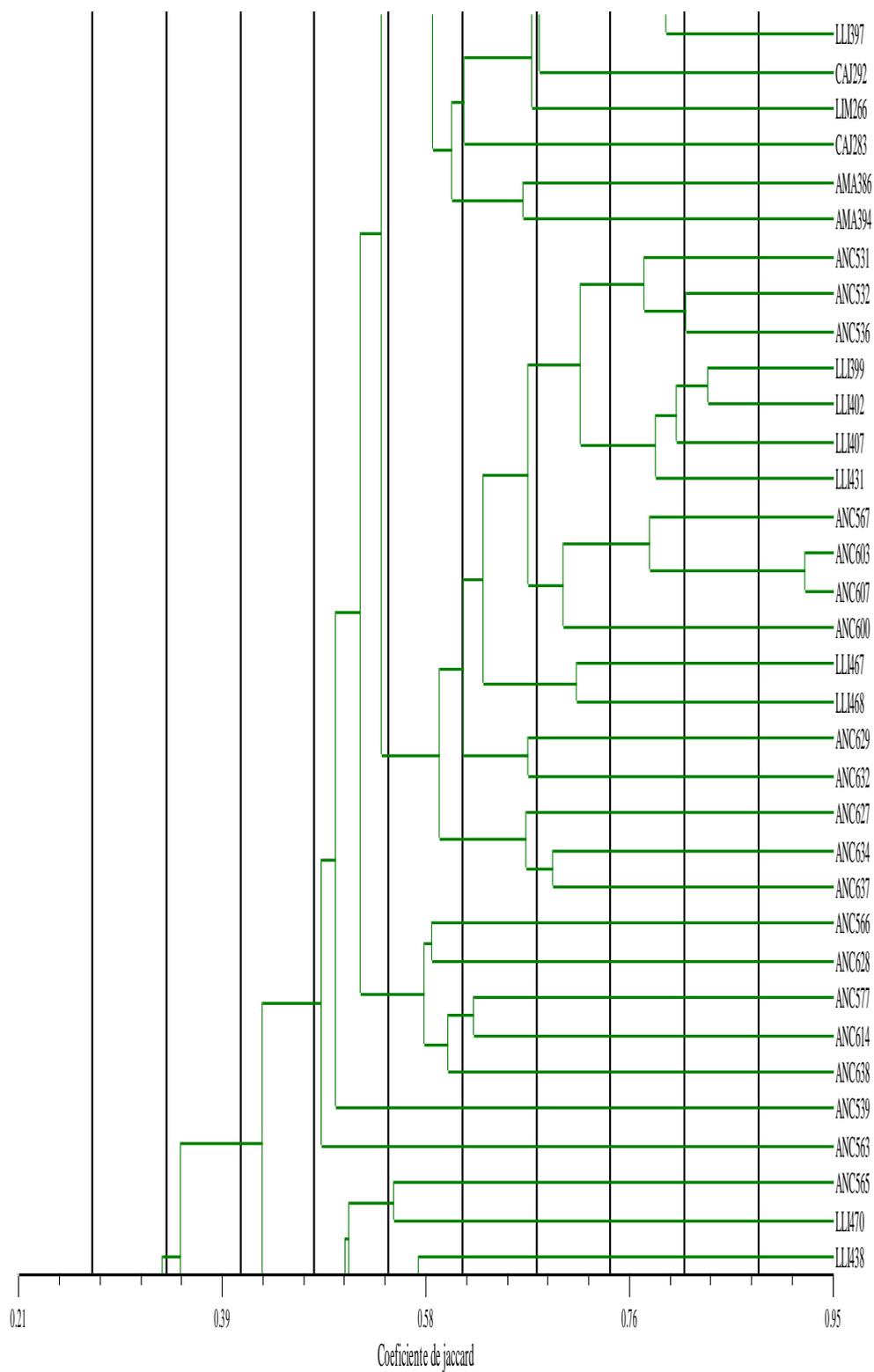
Anexo 8. Analisis de agrupamiento para la identificación de los genotipos de oca a través del índice de Jaccard y el agrupamiento UPGMA.



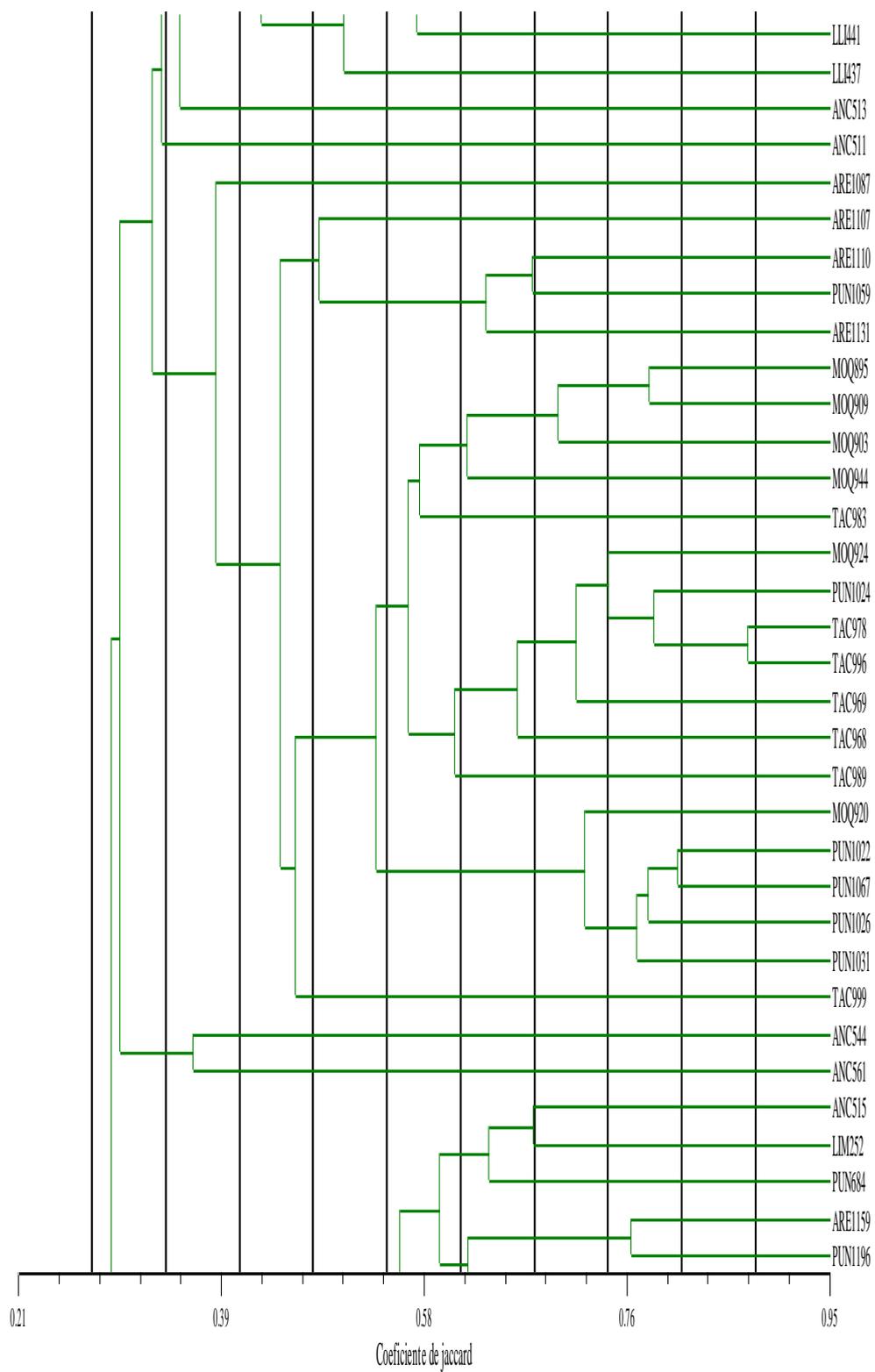
Anexo 9a. Ampliación del agrupamiento para la identificación de los genotipos.



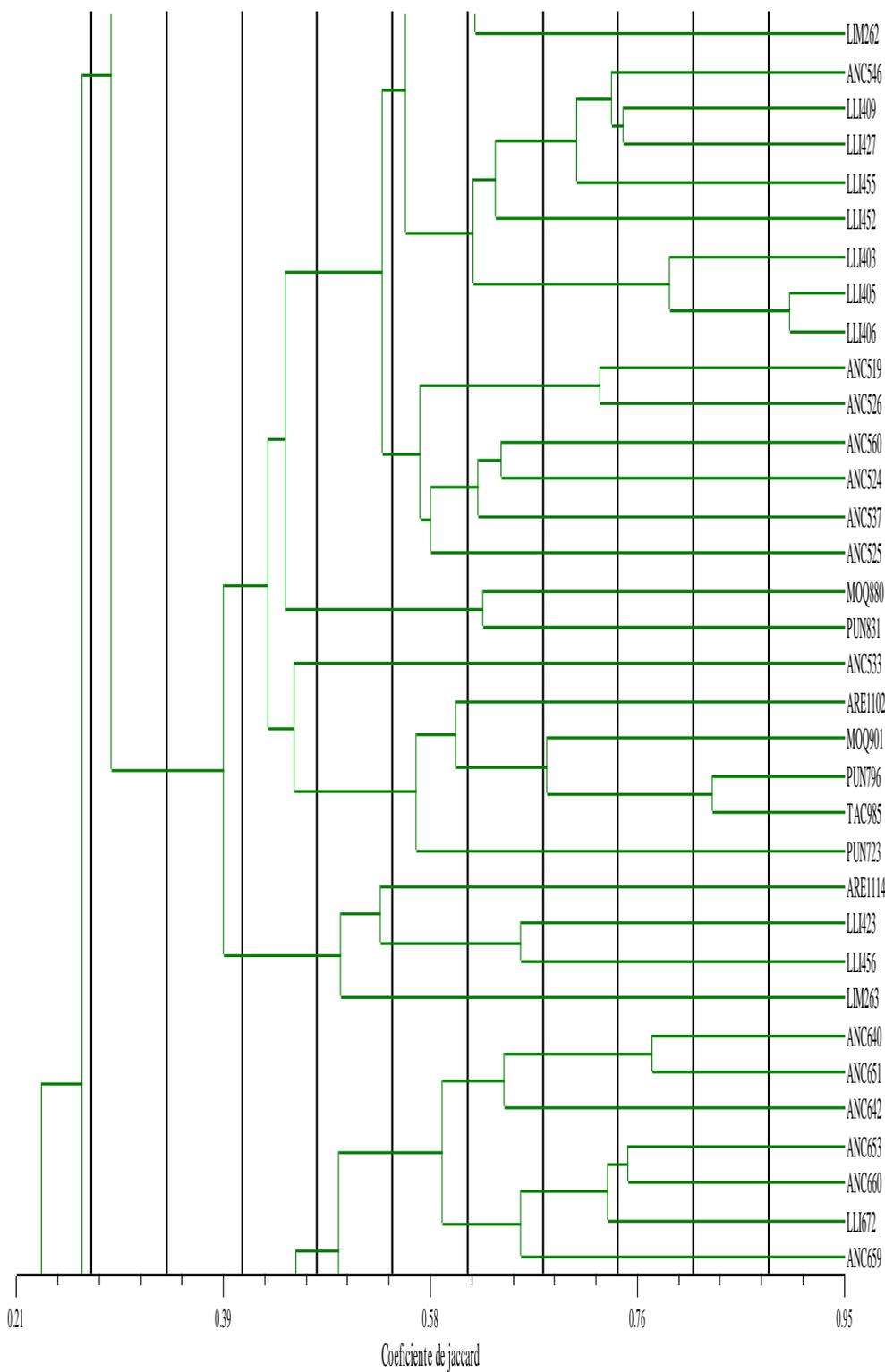
Anexo 9b. Ampliación del agrupamiento para la identificación de los genotipos.



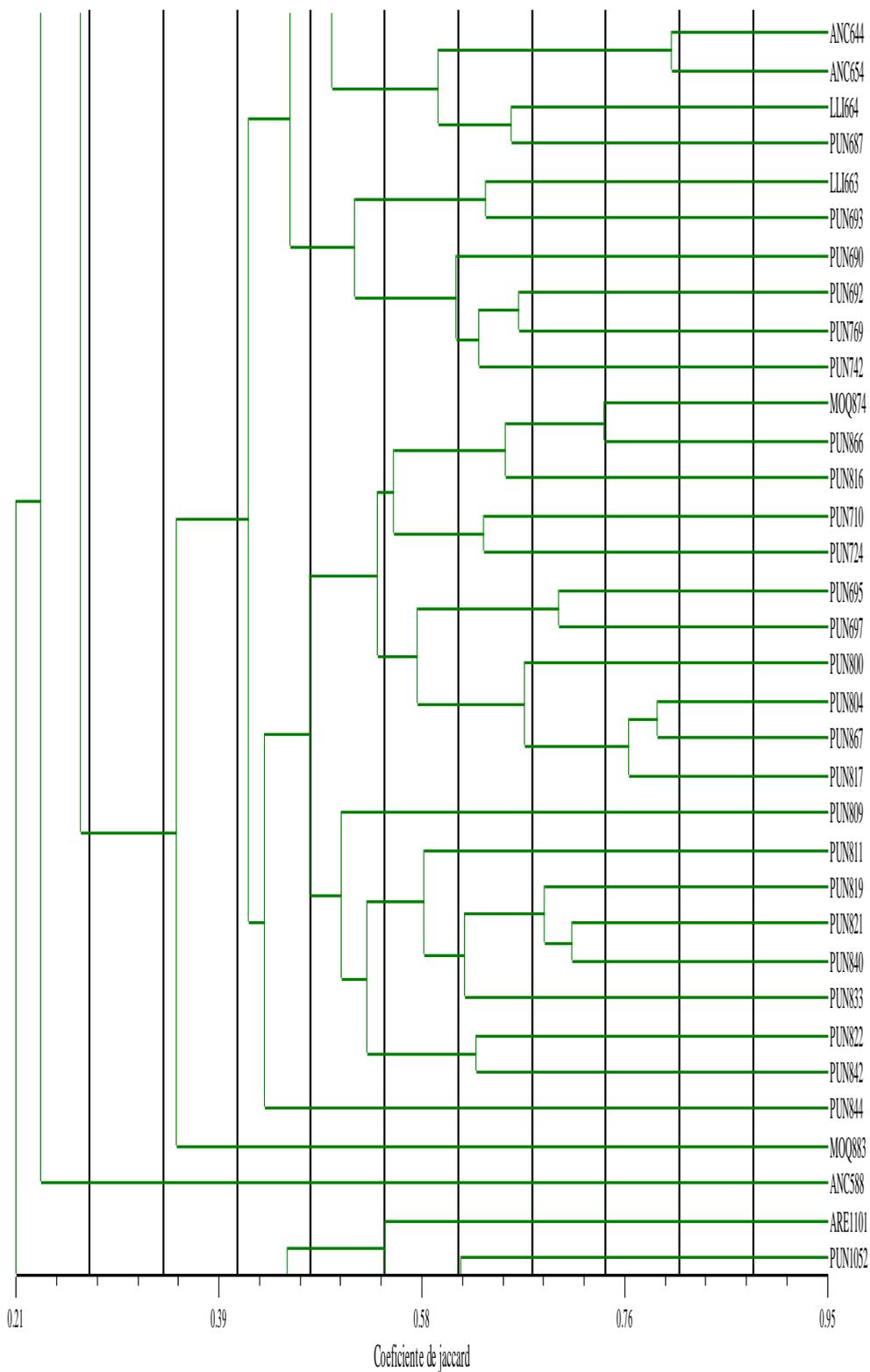
Anexo 9c. Ampliación del agrupamiento para la identificación de los genotipos.



Anexo 9d. Ampliación del agrupamiento para la identificación de los genotipos.



Anexo 9e. Ampliación del agrupamiento para la identificación de los genotipos.



Anexo 9f. Ampliación del agrupamiento para la identificación de los genotipos.

