

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN MEJORAMIENTO GENÉTICO DE
PLANTAS**



**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE
MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) DE LOS
DEPARTAMENTOS DE CUSCO Y CAJAMARCA”**

Presentada por:

ERIKA SAMAMTHA PACHECO ARENAS

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN
MEJORAMIENTO GENETICO DE PLANTAS**

Lima - Perú

2015

INDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE GENERALi

RESUMEN vii

ABSTRACT viii

I. INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS2

II. REVISIÓN DE LITERATURA 4

2.1 Mashua4

2.2 Etimología4

2.3 Origen y distribución5

2.4 Taxonomía5

2.5 Nombres comunes6

2.6 Biología del cultivo7

2.6.1 Morfología de la planta8

2.6.2 Biología reproductiva9

2.6.3 Producción agrícola de mashua 10

2.6.4 Plagas y enfermedades 10

2.7 Composición y usos tradicionales 11

2.7.1 Composición 11

2.7.2 Usos tradicionales11

2.8 Antecedentes 12

2.8.1 Caracterización citológica 12

2.8.2 Caracterización morfológica 13

2.8.3 Caracterización molecular 15

2.9	Recursos genéticos.....	16
2.9.1	Colectas de germoplasma	17
2.9.2	Accesión o entrada.....	17
2.9.3	Morfotipo.....	17
2.10	Caracterización morfológica.....	18
2.10.1	Caracterización de germoplasma.....	18
2.10.2	Descriptores	18
2.11	Caracterización molecular.....	18
2.11.1	Extracción de ADN.....	19
2.11.2	Marcadores moleculares	20
2.11.3	Marcadores moleculares de diversidad genética en evaluación	22
2.11.4	AFLP (Amplified fragment length polymorphism polymerase chain reaction).....	22
2.12	Análisis de información.....	28
2.12.1	Elección de las unidades	29
2.12.2	Elección de los caracteres	29
2.12.3	Construcción de la matriz básica de datos.....	30
2.12.4	Obtención del coeficiente similitud para cada par de OTU.....	30
2.12.5	Matriz de similitud.....	34
2.12.6	Análisis de agrupamientos	35
2.12.7	Análisis de correspondencia múltiple	37
2.12.8	Análisis de la variabilidad genética	37
2.12.9	Análisis de la estructura de la población	39
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1	Ubicación.....	41
3.2	Materiales.....	41
3.2.1	Material Vegetal.....	41
3.2.2	Materiales para la extracción de ADN.....	42

3.2.3	Materiales para la electroforesis.....	43
3.2.4	Materiales para la PCR.....	44
3.3	Métodos.....	45
3.3.1	Caracterización morfológica.....	45
3.3.2	Caracterización molecular.....	48
5.4.3	Análisis de datos.....	53
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
4.1	Caracterización de la variabilidad morfológica.....	59
4.1.1	Selección de descriptores.....	59
4.1.2	Análisis porcentual de descriptores morfológicos cualitativos	59
4.1.3	Estadísticas de descriptores morfológicos cuantitativos.....	77
4.1.4	Índice de diversidad de Shannon-Weaver para caracteres cualitativos	78
4.1.5	Análisis de agrupamiento mediante 45 descriptores evaluados	80
4.1.6	Análisis de correspondencia múltiple (ACM) y selección de descriptores	83
4.1.7	Análisis de agrupamiento mediante 19 descriptores seleccionados	88
4.1.8	Relación de los análisis de agrupamiento con los datos de colecta.....	95
4.2	Caracterización de la variabilidad molecular.....	97
4.2.1	Selección de combinaciones de iniciadores de AFLP	97
4.2.2	Marcadores AFLP detectados.....	98
4.2.3	Análisis de polimorfismo.....	100
4.2.4	Análisis de agrupamiento	102
4.2.5	Relación de los análisis de agrupamiento con los datos pasaporte.....	107
4.2.6	Análisis factorial de coordenadas principales (ACoP)	110
4.2.7	Selección del coeficiente de similitud	111
4.2.8	Análisis de la estructura genética	112
4.3	Congruencia entre los resultados morfológicos con los moleculares.....	117
V.	DISCUSIONES	118

VI. CONCLUSIONES	122
VII. RECOMENDACIONES	123
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	124
IX. ANEXOS.....	132

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la mashua según Cronquist	6
Tabla 2: Clasificación taxonómica de la mashua según ITIS.....	6
Tabla 3: Nombres comunes de <i>Tropaeolum tuberosum</i>	6
Tabla 4: Producción de mashua a nivel nacional 2000-2013	10
Tabla 5: Comparación de las diferentes características de los marcadores más frecuentemente usados	27
Tabla 6: Principales coeficientes de asociación según el tipo de datos.....	31
Tabla 7: Matriz de combinaciones posibles al compararse dos OTUs para un carácter doble- estado.....	32
Tabla 8: Coeficientes de similitud más utilizados en caracterización de germoplasma.....	33
Tabla 9: Lista de los descriptores cualitativos para mashua.....	46
Tabla 10: Requerimiento para la digestión de ADN genómico.....	49
Tabla 11: Requerimiento para la ligación de ADN digerido a los adaptadores	50
Tabla 12: Requerimiento para la pre-amplificación del ADN digerido-ligado.....	50
Tabla 13: Requerimiento para la amplificación selectiva del ADN pre-amplificado	51
Tabla 14: Estadísticas de los caracteres cuantitativos en Cusco y Cajamarca	77
Tabla 15: Índices de Diversidad de Shannon-Weaver de caracteres cualitativos	79
Tabla 16: Descriptores seleccionados según los ACM a partir de 45 descriptores.....	84
Tabla 17: Descriptores seleccionados y propuestos según los ACM y valoración en orden descendente a partir de 30 descriptores.....	87
Tabla 18: Duplicados de los morfotipos de tubérculo y procedencia de las accesiones	94
Tabla 19: Iniciadores para la obtención de marcadores AFLP.....	97
Tabla 20: Número y porcentajes de bandas polimórficas y monomórficas detectadas en los patrones AFLP de la localidad de Cusco.....	98
Tabla 21: Número y porcentajes de bandas polimórficas y monomórficas detectadas en los patrones AFLP de la localidad de Cajamarca	99
Tabla 22: Número de marcadores exclusivos detectados en los patrones AFLP para cada departamento.	99
Tabla 23: Índice y promedio de contenido polimórfico para Cusco y Cajamarca	100

Tabla 24: Índice y promedio de contenido polimórfico para Cusco	100
Tabla 25: Índice y promedio de contenido polimórfico para Cajamarca	101
Tabla 26: Contenido de polimorfismo calculado para Cusco y Cajamarca	102
Tabla 27: Índice de Shannon Weaver molecular.....	102
Tabla 28: Acciones agrupadas según las cuencas hidrográficas	113
Tabla 29: AMOVA de comparación entre cuencas hidrográficas.....	113
Tabla 30: AMOVA según las cuencas hidrográficas dentro de los departamentos	114
Tabla 31: Comparación entre las cuencas hidrográficas dentro de los departamentos	116
Tabla 32: Tabla de asociación de caracterización morfológica-molecularSM.....	117

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Desarrollo de mashua: 1, Emergencia; 2, Formación del estolón; 3, Tuberización; 4–5, Floración; 6, Fructificación; 7, Maduración del tubérculo.....	8
Figura 2: Pasos a seguir para la obtención de AFLP	24
Figura 3: Procedencia de las acciones de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca Materiales y equipos de laboratorio	41
Figura 4: Follaje de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	60
Figura 5: Características de los tallos de los departamentos de Cusco y Cajamarca	61
Figura 6: Características de las hojas de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	62
Figura 7: Características de las pétalos de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	64
Figura 8: Características de los espolones de los departamentos de Cusco y Cajamarca ...	66
Figura 9: Características de los órganos florales de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	67
Figura 10: Características del fruto de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	69
Figura 11: Características generales de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	70
Figura 12: Características del color de la piel de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	74
Figura 13: Características de la distribución y forma del color secundario de la piel de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	75

Figura 14: Características del color y distribución de la pulpa de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca.....	76
Figura 15: Gráfica horizontal del agrupamiento de 251 accesiones de Cusco mediante el coeficiente de distancia con 45 descriptores, según los grupos del color secundario de la piel del tubérculo	81
Figura 16: Gráfica horizontal del agrupamiento de 20 accesiones de Cajamarca mediante el coeficiente de distancia con 45 descriptores, según los grupos de la distribución del color secundario de la pulpa del tubérculo.	82
Figura 17: Agrupamiento de 271 accesiones de Cusco y Cajamarca mediante el coeficiente de distancia con 45 descriptores según los grupos del color secundario de la piel del tubérculo.	83
Figura 18: Dendograma del análisis de agrupamiento morfológico mediante 19 descriptores de 271 accesiones de Cusco y Cajamarca	92
Figura 19: Agrupamiento de 271 accesiones de Cusco y Cajamarca según el coeficiente de distancia 0 de 8 descriptores de tubérculo.	94
Figura 20: Ploteo de análisis morfológico basado en los nombres comunes	96
Figura 21: Ploteo de análisis morfológico basado en los lugares de origen de las accesiones.	97
Figura 22: Grupos formados mediante el coeficiente Simple Matching en 221 accesiones	104
Figura 23: Agrupamiento de las accesiones de Cusco y Cajamarca según el índice de similitud Simple Matching. a.Izquierda: Gráfica Radial, b.Derecha: Dendograma Vertical.....	105
Figura 24: Grupos formados mediante el coeficiente Jaccard en 221 accesiones.....	106
Figura 25: Agrupamiento de las accesiones de Cusco y Cajamarca según el índice de similitud Jaccard. a.Izquierda: Gráfica Radial, b.Derecha: Dendograma Vertical	107
Figura 26: Ploteo del análisis molecular basado en los nombres comunes (CuscoA y Cajamarca B).....	109
Figura27: Ploteo de ACoP por departamentos a) SM y b) Jaccard.....	111

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: DATOS PASAPORTE.....	132
CUSCO.....	132
CAJAMARCA.....	136
ANEXO 2: DESCRIPTORES UTILIZADOS	137

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE MASHUA
(*TROPAEOLUM TUBEROSUM* RUIZ & PAVÓN) DE LOS DEPARTAMENTOS DE
CUSCO Y CAJAMARCA**

RESUMEN

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) es un tubérculo andino de propagación vegetativa, que posee gran potencialidad a nivel agronómico, nutricional y fitoquímico. Sin embargo, existen muy pocos estudios de diversidad en este cultivo, debido a la falta de interés del mercado y falta de conservación adecuada. Por ello, este trabajo tiene como objetivo contribuir a la generación de conocimientos sobre la variabilidad morfológica y molecular de los cultivares de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca.

La caracterización morfológica se realizó en 271 accesiones de mashua, mediante 45 descriptores previamente establecidos. La identificación de descriptores más discriminantes e informativos se realizó mediante el análisis de correspondencia múltiple secuencial (ACMs) y los análisis de agrupamiento e identificación de los morfotipos se realizaron con la nueva lista de descriptores. En la caracterización molecular se emplearon seis combinaciones de iniciadores AFLP (Polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados) y a partir de los polimorfismos encontrados se realizaron agrupamientos mediante el coeficiente de concordancia simple y análisis de coordenadas principales. Además se realizó el análisis molecular de varianza (AMOVA) y índice de fijación alélica (F_{st}) con la finalidad de conocer la variación dentro y entre poblaciones.

Se seleccionaron 19 descriptores morfológicos para mashua, con los que se identificaron 257 morfotipos (237 de Cusco y 20 de Cajamarca) a un coeficiente de distancia de 0. En la caracterización molecular, no se encontró ningún duplicado a un coeficiente de similitud de 1, pero mostró la separación en dos grupos según el origen geográfico de las accesiones. Así mismo, tanto el AMOVA como el índice de fijación ($F_{st} = 0,1980$) mostraron la existencia de diferenciación genética entre las dos sub-poblaciones. Además no se encontró congruencia entre los descriptores morfológicos y los marcadores moleculares (baja correlación baja $r = -0,32093$); es por ello que para una adecuada caracterización de la variabilidad serán necesarias ambas técnicas.

Estos resultados muestran la gran variabilidad existente en el cultivo, la que ayudará en el planteamiento de futuras estrategias de manejo y mejora del cultivo de mashua en el Perú.

Palabras clave: *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón, ACMs, AFLP, caracterización morfológica, caracterización molecular.

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MASHUA
(*TROPAEOLUM TUBEROSUM* RUIZ & PAVON) IN THE DEPARTMENTS OF
CUSCO AND CAJAMARCA**

ABSTRACT

Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) is a vegetatively propagated Andean tuber, with great agronomic, nutritional and phytochemical potential. However, there are very few studies of diversity on this crop, due to the lack of market demand and bad post-harvest management. Therefore, this work aims to contribute to the morphological and molecular variability knowledge of mashua landraces from Cusco and Cajamarca o Regions.

Morphological characterizations were performed on 271 mashua accessions using 45 descriptors previously established. The identification of more discriminating and informative descriptors was performed by sequential multiple correspondence analysis (ACMs). Then, cluster analysis and identification of morphotypes were made with the new list of descriptors. The molecular characterization was made using six AFLP (Amplified fragment length polymorphism) primer combinations and, with the recorded polymorphisms were performed clusters analysis using the simple matching (SM) coefficient and principal coordinate analysis. In addition, population differentiation analysis was made using Analysis of molecular variance (AMOVA) and allelic fixation techniques (F_{st}).

Nineteen morphological descriptors were selected for mashua, which allowed to identify 257 morphotypes (237 from Cusco and 20 from Cajamarca) according to 0 Euclidean coefficients. Moreover, molecular characterization did not show any duplicates at 1 SM coefficient; however, allowed the separation on two groups according to their geographical origin of the accessions. Likewise, both the AMOVA and allelic fixation ($F_{ST} = 0.1980$) showed genetic differentiation between both subpopulations. Further, there is not congruence between morphological descriptors and molecular markers (low correlation $r = -0.32093$); which suggest that for an accurate characterization of diversity both techniques are necessary.

These results show a high variability in this crop, which will help to plan future strategies on germoplasm management and improvement of mashua in Peru.

Key Word: *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón, ACMs, AFLP, morphological characterization, molecular characterization, morphotypes

I. INTRODUCCIÓN

La planta originaria de los andes centrales *Tropaeolum tuberosum* Ruiz et Pavón es un miembro de la familia de las Tropaeolaceae, la cual incluye 86 especies ampliamente distribuidas (Arbizú y Tapia, 1992; Grau *et al.*, 2003). Las *Tropaeolum tuberosum* a su vez, se dividen en dos subespecies, las cuales se diferencian por la presencia y ausencia de tubérculos. La ssp. *tuberosum* es domesticada y cultivada por sus tubérculos comestibles y, por lo tanto, la mejor conocida; mientras que de la ssp. *silvestre*. Sparre sólo cuenta con escasos apuntes sobre algunas de sus características de campo (Sparre & Andersson, 1991; Ortega, 2000; Hind, 2010).

La mashua (*Tropaeolum tuberosum*) es el cuarto tubérculo más importante después de la papa, oca y olluco. Esta es una especie propia de la región andina y se distribuye desde Colombia hasta el norte de Argentina (Grau *et al.*, 2003). Sin embargo, existe una mayor concentración de diversidad en su centro de origen, la cual se encuentra entre Perú y Bolivia a una altitud entre 3500 y 3800 m.s.n.m.

La mashua presenta atributos positivos de interés agronómico como rusticidad, tolerancia a plagas y alta productividad, con bajos niveles de insumos. Además, posee una amplia gama de fitoquímicos que no solo protegen al mismo cultivo, sino también contra las plagas de otros cultivos (Grau *et al.*, 2003).

La mashua posee un alto valor nutritivo debido a su alto contenido de hidratos de carbono y ácido ascórbico o vitamina C., al igual que otras Tropaeolaceae, contiene isocianatos, presentes como glucosinolatos que son conocidos por sus propiedades antibióticas, insecticidas, nematecidas y diuréticas que justifican su amplio uso en la medicina andina (Grau *et al.*, 2003). Además se ha demostrado que la mashua posee una alta capacidad antioxidante, debido a sus compuestos fenólicos, antocianicos y carotenoides (Campos *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de sus propiedades nutricionales y medicinales, la baja demanda del mercado, baja rentabilidad, poca disponibilidad de tierra cultivable y la

preferencia por otras especies; la mashua ha sufrido una reducción en consumo (Tapia y Estrella, 2001; Grau *et al.*, 2003; Pissard *et al.*, 2008).

La variación genética de la mashua ha sido estimada principalmente en términos de características morfológicas y agronómicas (Arbizú *et al.*, 1999, Ortega *et al.*, 2007) las estimaciones no requieren del uso de tecnología de alto costo. Los descriptores presentan la desventaja de su subjetividad, debido a la influencia del medio ambiente (Mondini *et al.*, 2009).

En los últimos años la variación genética de los diversos clones ha sido estudiada mediante el uso de marcadores moleculares los cuales, a diferencia de los marcadores morfológicos, no son afectados por el medio ambiente (Mondini *et al.*, 2009). Entre los marcadores empleados en mashua se tiene RAPD (Ortega, 2000), SRP (Ortega *et al.*, 2007), AFLP (Alagón y Rosas, 2008), ISSR (Pissard *et al.*, 2008 y Malice *et al.*, 2010) y los micro satélites (Huamaní, 2008). Sin embargo, no todos los trabajos anteriormente mencionados asocian la diversidad morfológica con la diversidad molecular.

Para la conservación de recursos genéticos, las colecciones deberán ser adecuadamente evaluadas para lo cual se propone el uso de marcadores moleculares y morfológicos en el análisis de diversidad. Ambos proporcionan información complementaria, lo que permitirá un análisis más completo de la diversidad genética.

La hipótesis a comprobar en el presente trabajo es: “Existen diferencias genéticas entre las accesiones de mashua colectadas”; para comprobar esta hipótesis se determinaron los siguientes:

OBJETIVOS

Objetivo general

Contribuir en la generación de conocimientos sobre la variabilidad genética de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca.

Objetivos específicos

- Analizar y usar los descriptores morfológicos para la caracterización de las accesiones de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca.
- Identificar los morfotipos de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca
- Estimar la variabilidad genética de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca
- Relacionar las accesiones según las descripciones morfológica y molecular de las accesiones de mashua.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Mashua

Tropaeolum tuberosum, junto con muchas especies de papa *Solanum spp.*, olluco *Ullucus tuberosus* Caldas y oca *Oxalis tuberosa* Molina, forma parte de un grupo de tubérculos andinos comestibles, que constituyen un sistema de alimentación local importante a pesar que generalmente se cultiva en pequeña escala, y con frecuencia, en localidades aisladas con una rápida penetración de cultivos comerciales (Hermann y Heller, 1997).

La mashua contribuye a la diversidad de tubérculos debido a su mayor estabilidad de la producción en ambientes andinos heterogéneos, además de poseer una gama de cualidades tales como rusticidad, tolerancia a parásitos y alta productividad.

Sin embargo, el futuro de la mashua como cultivo es incierto. Aparentemente, el amplio rango de atributos tales como rusticidad, tolerancia a plagas y alta productividad, con bajos niveles de insumos, no puede compensar la falta de interés del mercado y negligente abandono en el campo. (Grau *et al.*, 2003).

2.2 Etimología

Las denominaciones de la familia y el género tienen connotaciones marciales, asignadas por algunos al latín *tropaeum* (trofeo) y por otros al antiguo griego *tropaion*, por la semejanza encontrada, por una parte, entre las hojas en forma de escudo de algunas especies del género (*Tropaeolum majus*), y por otra entre las flores y los antiguos yelmos usados en las batallas y exhibidos en los triunfos de los romanos. El *tropaion* era, en la antigua Grecia y más tarde entre los romanos, es un monumento creado para conmemorar una victoria sobre el enemigo. Normalmente tenía la forma de un árbol, y en algunos casos con un par de ramas como brazos, en la que se colgaba la armadura del enemigo derrotado y muerto. Más adelante fue dedicado a un Dios en acción de gracias por la victoria (Chaco, 2011).

Tropaeolum del griego tropaion (Zela *et al.*, 1997) indica que *Tropaeolum* deriva del griego “*troparon*”, debido a que las flores de algunas especies son semejantes a un casco Griego y por las hojas, escutiformes, de muchas de ellas.

2.3 Origen y distribución

La primera evidencia arqueológica de la mashua data del 650-1350 AD en los sedimentos de la cueva Huachumachay, localizada en el valle de Jauja-Perú. Asimismo, en cerámicas de la cultura Nazca se encontró representaciones de mashua (1000 AD) entre otras tuberosas andinas (papa, oca y olluco) (Grau *et al.*, 2003).

Las comunidades andinas son conservadoras de la diversidad genética a través de generaciones; y son una fuente de valor, gracias al conocimiento asociado al cultivo: diversos usos medicinales y alimenticios.

El centro de origen del cultivo se encuentra en algún lugar de los Andes. Asimismo, el lugar de domesticación ha debido darse en la región que comprende entre el Ecuador y Bolivia. Ello se confirma por la amplia diversidad presente en esta área. Sin embargo, debido a la ausencia de un estudio sobre la diversidad de las formas silvestres y de las cultivadas es difícil identificar un centro de origen más específico (Grau *et al.*, 2003).

Los tubérculos comestibles de mashua se cultivan en áreas pequeñas en sistemas agrícolas tradicionales y en condiciones marginales, en todos los países Andinos, principalmente en Perú, Ecuador y Bolivia (Malice y Baudoin, 2009).

El rango latitudinal del cultivo de mashua en los Andes es de 8 ° N y 24 ° S, y la altitud varía desde 2400 hasta 4300 m, con la más frecuente ocurrencia entre 3000 y 3700 m, donde las temperaturas medias anuales están en el rango de 8-11 ° C (Grau *et al.*, 2003).

2.4 Taxonomía

En la **Tabla 1**, Artur Cronquist (1981) realiza un sistema de clasificación para plantas con flor, donde *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón presenta la siguiente clasificación:

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la mashua según Cronquist

Clasificación	Descripción
Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta (angiospermas)
Clase	Magnoliopsida (dicotiledoneas)
Subclase	Rosidae
Orden	Geraniales
Familia	Tropaeolaceae
Género	Tropaeolum L.
Especie	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón

Fuentes: Cronquist, 1981

Según el catálogo de asociación de vida (CoLP) desarrollado por el Sistema de Información Taxonómica Integrado-ITIS (2013), la posición taxonómica de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Clasificación taxonómica de la mashua según ITIS

Clasificación	Descripción
Reino	Plantae (Plantas, vegetales)
Subreino	Viridaeplantae (plantas verdes)
Infrareino	Streptophyta (plantas terrestres)
División	Tracheophyta (plantas vasculares)
Subdivisión	Spermatophytina (fanerógama)
Infradivisión	Angiospermae (plantas con flores)
Clase	Magnoliopsida (dicotyledonea)
Superorden	Rosanae
Orden	Brassicales
Familia	Tropaeolaceae - capuchinas
Género	Tropaeolum L. - capuchina
Especie	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón

Fuente Sistema de Información Taxonomica Integrado-ITIS (2013).

2.5 Nombres comunes

La mashua es conocida con varios nombres, probablemente por variaciones post-colombinas, bajo la influencia de la lengua española, tal como se muestra en la **Tabla 3**:

Tabla 3: Nombres comunes de *Tropaeolum tuberosum*

Nombre	Idioma	País	Autor
Allausu		Perú	Mejía 1931
Añu	Quechua	Perú	Cárdenas 1989
Apilla	Quechua	Bolivia	Cárdenas 1989
Apiñamama	Quechua	Perú	Herrera 1941
Capuchinha tuberosa	Portugués	Portugal	Sánchez-Monge 1981
Capucine tubereuse	Francés	Francia	Sánchez-Monge 1981

Continuación			
Cubios	Español	Colombia	Pérez Arbeláez 1947
Gallu gallu			Sparre
Isaño	Aymara	Bolivia/Titicaca	Cárdenas 1989
Majua	Español	Ecuador	Lescano 1994, Espinosa <i>et al.</i> , 1997, Patiño 1964
Mashua	Quechua	Ecuador	Tapia <i>et al.</i> , 1996, Espinosa <i>et al.</i> , Estrella 1986
Mashua	Quechua	Perú	Herrera 1941
Maxua	Español	Ecuador	Lescano 1994, Patiño 1964
Mishua		Perú	Mejía 1931
Navios	Español	Colombia	Pérez Arbeláez 1947
Navos	Español	Colombia	Pérez Arbeláez 1947
Ocaquisañ	Quechua	Bolivia	Cárdenas 1989
Pane	Guambiano	Colombia	Patiño 1964
Perunische knollenkresse	Alemán	Alemania	Sánchez-Monge 1981
Puel	Paez	Sur de Colombia	NRC 1989, Patiño 1964
Sisaño	Aymara	Argentina, Jujuy	Hermann 1992
Tropeolo del Peru	Italiano	Italia	Sánchez-Monge 1981
Tuber nasturtium	Ingles	Reino Unido	Sánchez-Monge 1981

(Grau, *et al.*, 2003)

2.6 Biología del cultivo

Mashua ha sido erróneamente descrito como una planta anual debido a su ciclo de producción (Arbizú y Tapia, 1992; Zela *et al.*, 1997). Sin embargo, el término anual está reservado para las plantas, en las que solo las semillas sexuales dan lugar a una nueva generación, y no sucede así para la mashua cultivada, ni silvestre, en las que las plantas persisten a través de sus tubérculos; por lo tanto, mashua debería ser considerada como una planta perenne, en la que los tubérculos pequeños son frecuentemente dejados en el campo donde brotan con facilidad, especialmente en las condiciones más húmedas en los Andes del norte. En tales circunstancias, mashua puede convertirse en un problema de mala hierba, lo que confirma que la especie es de naturaleza plenamente perenne. A diferencia del olluco, la mashua presenta abundante floración, a partir de 3 a 5 meses después de la siembra, con una duración de 1 a 2 meses y con producción de semillas abundantes. Los tubérculos están listos para la cosecha de 6 a 9 meses después de la siembra (**Figura 1**) (Grau *et al.*, 2003).

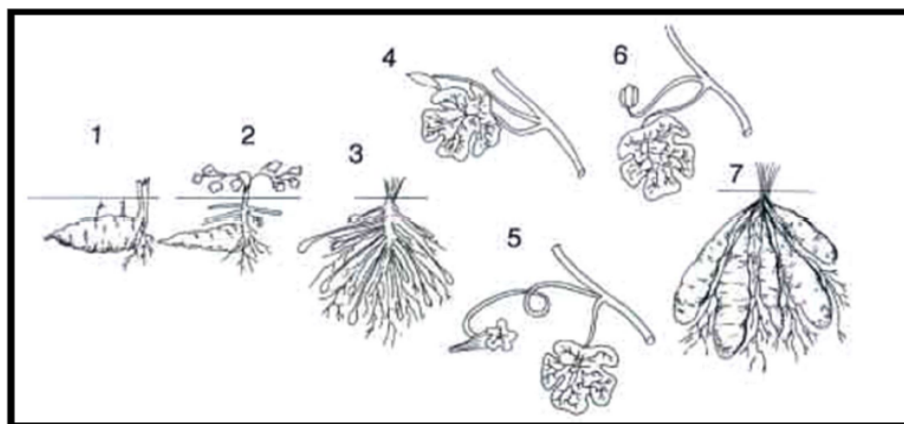


Figura 1: Desarrollo de mashua: 1, Emergencia; 2, Formación del estolón; 3, Tuberización; 4-5, Floración; 6, Fructificación; 7, Maduración del tubérculo
Fuente: Lescano, 1994, p. 74.

2.6.1 Morfología de la planta

La mashua es una planta herbácea perenne trepadora, glabra de 20-80 cm de alto, de crecimiento inicialmente erecto, que luego varía a semiprostrado y es ocasionalmente trepador, mediante pecíolos táctiles (Arbizú y Tapia, 1992), con un follaje que puede variar de verde amarillento a verde oscuro.

Sus tallos aéreos son cilíndricos de 3-4 mm de grosor, ramificados y pueden variar de color de verde a púrpura grisáceo con diferentes grados de pigmentación.

Las hojas son alternas separadas por entrenudos de 1-8 cm con pecíolo de 2-30 cm de longitud. Las láminas son peltadas de 5-6 cm de ancho, tri o pentalobadas, también se puede observar en una misma planta hojas tri y pentalobadas. La base de la lámina es truncada en la base. Las hojas son verde oscuras, brillantes en el haz y más claras en el envés (Cadima, 2006).

Las flores solitarias aparecen sobre pedúnculos de 10-15 cm, intensamente pigmentados. Son zigomorfas de 2-2.5 cm de longitud. El cáliz de color rojo intenso tiene cinco sépalos unidos en su base, los tres sépalos superiores se prolongan en un espolón de 1-1.5 cm de longitud. La corola es de cinco pétalos rojo anaranjados y provistos de una nervadura roja oscura, los dos pétalos superiores son orbiculares de 5-8 mm de diámetro y los inferiores son espatulados de 10-12 mm de longitud (Cadima, 2006). El color de las flores va desde

un color amarillo oscuro, anaranjado y escarlata (Travis, 1999). El fruto es un esquizocarpo, formado de tres mericarpos uniseminados indehiscentes. La semilla botánica es viable (Barreda *et al.*, 2004).

Los tubérculos que produce la mashua se producen en los estolones axilares que se agrandan para formar el tubérculo, estos miden de 5 a 15 cm de largo, tienen forma cónica alargada, yemas profundas, y variados colores (Travis, 1999). El color que presentan estos es variado, según los descriptores de mashua (Cadima, 2006) existen al menos nueve colores: blanco amarillento, amarillo pálido, amarillo, amarillo naranja, naranja, rojo grisáceo, rojo grisáceo oscuro, púrpura grisáceo y negro, siendo dominante el amarillo con ojos negruzcos o anaranjados. También son comunes los tubérculos con fondo claro con color secundario, distribuido en los ojos y bandas irregulares o también en forma de puntos densos o manchas irregularmente distribuidos. Los ojos de la mashua son siempre profundos, anchos y estrechos, sin brácteas (Cadima, 2006). De vez en cuando la piel es de color violeta o rojo. A menudo, son manchas o rayas de color rojo o púrpura, especialmente debajo de los ojos. La carne es de color amarillo (NRC, 1989). Estos pueden ser almacenados hasta seis meses en lugares fríos y ventilados, inclusive pueden ser guardados bajo el suelo para ser extraído cuando se necesiten (Travis, 1999).

2.6.2 Biología reproductiva

La mashua produce fácilmente semilla abundante, sin embargo poco se conoce sobre su biología reproductiva. Hasta la fecha solo se han detallado dos investigaciones desarrolladas por Pocco (1976) y Vallenas (1977). Según Vallenas la planta comienza a florear después de 3-4 meses de la emergencia de la planta, la cual se prolonga de 1-1.5 meses. Además las flores se mantienen abiertas por un lapso de 8-15 días y el estigma esta receptivo por un lapso de 40 horas desde el inicio de la antítesis; el polen es viable 24 horas antes de la antítesis y su viabilidad se prolonga por un lapso de 24 horas.

La abundante floración atrae a un número considerable de insectos y pájaros. Pocco estimó que la viabilidad del polen era de 50-53 por ciento. Sin embargo, Johns y Towers, 1981 encontraron una viabilidad mayor (95 por ciento) en *T. tuberosum spp. tuberosum* y *T. tuberosum ssp. silvestres*.

Sin embargo, pese a la formación de la semilla botánica, esta no se utiliza con fines de propagación en las prácticas agrícolas actuales y conservación de germoplasma, a pesar de que la mashua produce gran cantidad de semilla viable (Arbizu y Tapia, 1994).

2.6.3 Producción agrícola de mashua

La mashua forma parte de los sistemas de cultivo tradicionales orientados a la subsistencia de tierras alto andinas. Esta se intercala con otros tubérculos como la papa, oca, olluco; también con las haba, quinua, tarwi andino; en otros casos junto con la oca y olluco forma parte del sistema de rotación de cultivos, o se utiliza para repeler plagas de papa sembrándola en filas fronterizas que rodean los campos de papa. Según la oficina de Estudios Económicos y Estadísticos (MINAG, 2012), se estima que alrededor de 6000 ha se siembran anualmente en el Perú, con un rendimiento promedio de 5,2 - 6,2 ton/ha y en condiciones experimentales se ha obtenido hasta 7 ton/ha. En la **Tabla 4**, se observa la producción de mashua a nivel nacional durante los años 2000-2013.

Tabla 4: Producción de mashua a nivel nacional 2000-2013

Año	Producción Nacional (t)	Superficie Cosechada (ha)	Rendimiento (kg/ha)
2000	35459	6700	5293
2001	36089	6806	5302
2002	36394	6425	5664
2003	37088	6658	5571
2004	35484	6653	5334
2005	33585	6313	5320
2006	32151	5600	5741
2007	30444	5307	5737
2008	29003	5262	5511
2009	32913	5552	5929
2010	29196	5107	5717
2011	29103	5030	5786
2012	31413	5050	6221
2013	31113	4971	6259

Fuente: Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos (MINAG, 2012)

2.6.4 Plagas y enfermedades

La rusticidad es uno de los atractivos de la mashua. Sin embargo, la información sobre la gravedad de plagas y enfermedades es todavía limitada. Algunos informes indican que no hay daño relevante a través de plagas y enfermedades, esto puede deberse al contenido de sustancias fungistáticas y repelentes de insectos y nemátodos.

2.7 Composición y usos tradicionales

2.7.1 Composición

El tubérculo posee una textura arenosa con un alto porcentaje de carbohidratos y agua. El contenido de agua de los tubérculos de mashua va desde 79 hasta 94 por ciento. Los tubérculos secos pueden contener desde 14 por ciento hasta 16 por ciento de proteína, casi el 80 por ciento de carbohidratos, alrededor de 9 µg/100g β-caroteno, y casi 480 mg de vitamina C/100g (Travis, 1999). También contienen todos los aminoácidos esenciales y poseen altos niveles de ácido ascórbico (Travis, 1999). Además contiene isotiocianatos, los cuales son usados en etnomedicina, compuestos fenólicos, antioxidantes como la vitamina C, β- caroteno, flavonoides y antocianinas (Travis, 1999).

Los glucosinolatos son metabolitos secundarios, responsables del sabor picante y aroma sulfuroso de algunas plantas, que produce, como resultado, el rompimiento en isotiocianatos. Estos han captado atención debido a sus propiedades como acción anti-tumoral, biopesticidas, antiafrodisiacos (Ortega *et al*, 2006).

2.7.2 Usos tradicionales

A. Culinarias

Los tubérculos recién extraídos del suelo son amargos. Tradicionalmente se consume en forma de “tayacha”, que es la mashua cocida, congelada y sopada en miel de caña. Ocasionalmente se utiliza para espesar sopas o también en “wathia” similar a la oca, luego se asolear por varios días. En Bolivia se consume para el engorde de los cerdos (Terrazas y Valdivia, 1998).

B. Medicinal

La mashua tiene “fama” de tener efectos beneficiosos sobre el hígado y los riñones, y aliviar trastornos de próstata y urinarios. (Grau *et al.*, 2003). En la sierra ecuatoriana utilizan el isaño negro cocinado con panela para contrarrestar la prostatitis y también para aliviar la blenorragia. Los enfermos de riñones mejoran al tomar una infusión de isaño, caballochupa y pelo de choclo (Cadima, 2006).

Además también es utilizado como depurativo, para curar enfermedades venéreas; también detiene hemorragias y cicatriza heridas internas y externas (Cadima, 2006).

C. Antiafrodisiaco

Se atribuye a la mashua propiedades antiafrodisiacas a través de disminuir la cantidad de testosterona y dihidrotestosterona en la sangre. Se dice que reduce el instinto sexual y se cuenta que las tropas de los incas llevaban mashua como fiambre para olvidarse de sus mujeres. Hoy se sabe que los niveles de testosterona se reducen significativamente en ratas machos alimentados con este tubérculo (Arbizú y Tapia, 1992).

D. Ornamental

La planta de *Tropaeolum tuberosum*, por su profusa floración y atractivo color de flores, constituye una especie llamativa de flora andina. Por esta razón también sirve a veces como planta ornamental en algunas regiones de Sudamérica (Chacón, 1960).

E. Biopesticida

Los glucosinolatos pueden conferir resistencia a insectos, herbívoros, hongos, moluscos, bacterias y microorganismos. Las propiedades defensivas de éstos aumentan cuando los tejidos son fragmentados, por daño mecánico, infección o ataque de plagas, puesto que el rompimiento celular expone los glucosinolatos y los pone en contacto con la enzima mirosinasa (una β -tioglucosidasa) (Arias, 2011).

2.8 Antecedentes

2.8.1 Caracterización citológica

Se han realizado diversos estudios sobre la variación citológica de la mashua, sin embargo estos resultados son contradictorios, pero la gran mayoría coinciden que las formas cultivadas de mashua son tetraploides $2n=52$ con un número básico de $x=13$, y las formas silvestres son $2n=42$ (Gibbs *et al.*, 1978; Johns y Towers, 1981). Sin embargo se ha reportado otros niveles de ploidía $2n=43$, 48 , $51,64$ como valores menos frecuentes que surgen de configuraciones meioticas anormales (Gibbs *et al.*, 1978). Posteriormente se han encontrado otros niveles de ploidía $2n=18$, 27 y 36 con un número básico de $x=9$ (Román y García, 1997) y $2n=26$ y $2n=39$ para el número básico $x=13$ (Gaspar, 1998). Estos resultados solo confirman que la mashua es una especie poliploide, pero todavía existen dudas sobre el nivel de ploidía de la especie.

2.8.2 Caracterización morfológica

La variación morfológica en la mashua se aprecia mayormente en los tubérculos, los cuales pueden medir entre 5 a 15 cm. de largo, en cuanto a su forma pueden ser cónicos, cónico alargados y alargados. Pero su mayor variación es el color del tubérculo, según los descriptores de mashua existen al menos de nueve colores: blanco amarillento, amarillo pálido, amarillo, amarillo naranja, naranja, rojo grisáceo, rojo grisáceo oscuro, púrpura grisáceo y negro, siendo dominante el amarillo con ojos negruzcos o anaranjados. También son comunes los tubérculos con fondo claro con color secundario, distribuido en los ojos y bandas irregulares sobre tuberizaciones o también en forma de puntos densos o manchas irregularmente distribuidos. Los ojos de la mashua son siempre profundos, anchos y estrechos, sin brácteas (Cadima, 2006). De vez en cuando la piel es de color violeta o rojo. A menudo, son manchas o rayas de color rojo o púrpura, especialmente debajo de los ojos y la pulpa es de color amarillo (NRC, 1989).

Los marcadores morfológicos son fácilmente controlables, pero pueden ser afectados por el medio ambiente, estos son limitados en número y algunos aparecen más tarde en el desarrollo de la planta, haciendo imposible la caracterización al inicio. Además un marcador morfológico dado puede afectar a otros marcadores morfológicos o rasgos de interés en los programas de mejoramiento debido a la acción de los genes pleiotrópicos, todo esto hace que su uso sea de manera restringido y limitado (Henry, 2001).

Las evaluaciones morfológicas casi siempre han ido acompañadas de evaluaciones en el rendimiento, a continuación una lista de las evaluaciones morfológicas y de rendimiento

- Chacón (1960) evaluó 77 clones del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la finca de Chicua a 3000 msnm., en las laderas del Volcán Irazú de Costa Rica. Las características evaluadas de los tubérculos fueron: el color, forma, número de ojos y rendimiento. Se clasificó los clones en grupos basados en la distribución de antocianinas en los tubérculos y en otras características como la forma, tipo de ojos, la relación entre el peso y el número de ojos fue constante, pero se presentó una variabilidad en el rendimiento.
- Llanos (1974) realizó una evaluación morfológica y de rendimiento de 11 clones de isaño, la evaluación se realizó en el campo experimental de la UNTA, a una altura de 3825 msnm. Esta consistió en evaluar las características del tubérculo, de la planta, la

floración y el rendimiento obtenido. La evaluación se realizó a los 47 y 75 días de emergencia, los follajes fueron verdes y demoraron, las flores nacieron en las axilas de las hojas y los tubérculos presentaron una variación de amarillo-blanquecino a anaranjado, de forma cilíndrica, claviformes y elipsoidales, cortos o largos, con ojos superficiales, medios y profundos y variaron en el número de tubérculos por planta. Además también se evaluó el rendimiento y se encontró una diferencia altamente significativa entre los clones desde 5 555.5 hasta 10 577.7 kg/ha.

- Delgado (1978) realizó una evaluación morfológica asociada al rendimiento bajo condiciones de secano durante el ciclo vegetativo en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Ayacucho. De esta evaluación se concluyó que las características morfológicas de la planta, asociadas mayormente al rendimiento y que pueden servir como criterio de selección por tener un buen porcentaje de asociación sobre la variación del rendimiento son: diámetro del tubérculo, número de tubérculos y altura de planta y su porcentaje de asociación con el rendimiento fue: 41,6 por ciento, 26,9 por ciento y 9,4 por ciento, respectivamente.
- Figueroa (1997) realizó una caracterización morfológica y agronómica en la comunidad campesina de Llocllapinapa ubicado a 3500 msnm en el departamento de Junín durante la campaña 94-95. Con respecto a la evaluación morfológica 5 accesiones fueron agrupadas basándose en el crecimiento semi erecto de la planta, peciolo verdes, brotes claros y tubérculos anaranjados; con respecto al rendimiento las entradas cultivadas oscilan de 24, 45 a 74,48 tn/ha.
- Monteros (1997) evaluó en campo 78 entradas de mashua provenientes del Ecuador, Colombia y Bolivia, mediante el empleo de 44 descriptores tanto agronómicos como morfológicos.
- Gaspar (1998) realizó caracterización morfológica y nivel de ploidía de isaño (*Tropaeolum tuberosum*). Con los datos obtenidos de la caracterización morfológica realizó análisis multivariado considerando 2 criterios en el análisis: 1) general y 2) solo descriptores de tubérculo, con el fin de obtener descriptores que mejor discriminen la variabilidad entre las accesiones, así la como la formación de grupos morfológicamente similares, obteniendo la formación de 13 y 9 grupos respectivamente. En base a esta agrupación realizó estudios de ploidia en 13 accesiones de isaño donde 8 accesiones fueron diploides ($2n = 2X = 26$) y 5 tetraploides ($2n = 2X = 36$).

- Zambrano (2004) evaluó la variabilidad de melloco, oca y mashua en la finca de Colta-Chimborazo, para ello trabajó con 15 ecotipos de melloco, 11 de oca y 9 de mashua, concluyendo que entre el 50-70 por ciento de la producción de oca y melloco se comercializa, sin embargo la mashua es el único que presenta falta de demanda en el mercado, su presencia y ausencia permitió observar una disminución en la variabilidad genética, debido a factores ambientales y los bajos precios regidos por el mercado.
- Nieto (2004) cuantificó la erosión genética de melloco, oca y mashua en Chimborazo y Tungurahua, en la que realizó una caracterización morfológica, molecular (RAPD) y encuestas; concluyendo que no hay erosión genética de morfotipos y genotipos en melloco; en el caso de oca revelo una pérdida del 25 por ciento a nivel de genotipos, pero no de morfotipos y en el caso de mashua una alarmante pérdida de morfotipos a un nivel del 27 por ciento y se deduce una alta pérdida de genotipos.
- Durand (2006) evaluó un total de 1396 entradas de oca, olluco y mashua en 6 comunidades del Cusco, identificando 136 morfotipos de oca, 102 de mashua y 47 de olluco. Posteriormente realizó una homologación con tubérculos, obteniendo así 72 morfotipos en oca, 29 en olluco y 68 en año.
- Quispe (2012) realizó una caracterización morfológica de 89 accesiones de 9 comunidades del Cusco, mediante el empleo de 38 descriptores, sin embargo mediante el empleo de los 11 caracteres de tubérculo se encontró 79 morfotipos; además realizó una caracterización molecular por RAPDs, pero no encontró grupos genéticos.

2.8.3 Caracterización molecular

Algunas variaciones han sido detectadas a nivel molecular de distintos clones de mashua mediante marcadores moleculares.

- Monteros (1997) identificó la variabilidad genética de 78 entradas de mashua utilizando características morfológicas, agronómicas y de patrones electroforéticos de isoenzimas (PGM-fosfoglucomatasa y MDH- malato deshidrogenasa) agrupando las colecciones en 15 y 10 subgrupos respectivamente.
- Ortega *et al.* (2007) determinaron la diversidad genética en seis comunidades del Cusco, de tubérculos de mashua cultivados, silvestres y de colectas del CIP,

mediante marcadores SRAP, basado en ocho combinaciones de iniciadores, encontrando un alto nivel de variación en las comunidades del Cusco, en especial en la comunidad de Sayllafaya.

- Huamaní (2008) desarrolló iniciadores microsatélite en *Tropaeolum tuberosum* R & P, empleando 2 estrategias: la primera buscó fragmentos del género *Tropaeolum* y la segunda encontró microsatélites transferibles de camote a mashua; para ello empleo 24 iniciadores; de éstos se seleccionó 5 microsatélites de *Tropaeolum* y 3 microsatélites transferibles de camote; los que se probaron en 48 entradas de mashua.
- Alagón y Rosas (2008) reportaron la caracterización molecular con AFLP de poblaciones de mashua procedentes de Cusco (136) y Huánuco (42). Ellos utilizaron 8 combinaciones de los marcadores referidos y se obtuvieron dos grandes grupos diversos que corresponden a las localidades mencionadas.
- Pissard (2008) determinó la estructura y la diversidad genética de oca y mashua; mediante marcadores ISSR; además determinó la influencia geográfica en la estructura genética de tubérculos con 17 cebadores seleccionados, obteniéndose un dendograma con 3 grupos. La tesis mencionada fue redactada en un artículo ese mismo año (Pissard *et al.*, 2008).
- Malice (2010) empleó marcadores ISSR, para caracterizar 15 variedades de oca, 15 de olluco y 26 de mashua, colectadas en 2006. El valor promedio de PIC (Índice de Contenido Polimórfico) fue 0,15 para olluco, 0,40 para oca y 0,40 para mashua; se obtuvo una distancia genética de 0,41 para oca, 0,24 para olluco y 0,50 para mashua; al siguiente año la tesis fue redactada en un artículo (Malice *et al.* 2010).

2.9 Recursos genéticos

La convención sobre Diversidad Biológica de 1992, define a los recursos genéticos, los organismos o partes de ellos, poblaciones o cualquier otro tipo de componente biótico de los ecosistemas de valor o utilidad real o potencial para la humanidad.

Y según el tratado internacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura del 2006, se entiende por “recursos fitogenéticos” a cualquier material genético de origen vegetal de valor real o potencial para la alimentación y la agricultura, incluido el material reproductivo y de propagación vegetativa, que contiene unidades funcionales de la herencia.

Los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura son la materia prima sobre la que el mundo depende para mejorar la productividad y calidad de los cultivos, la ganadería, la silvicultura y la pesca, así como para mantener poblaciones saludables de especies silvestres. Por tanto, la conservación y el uso sostenible de los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura están en el centro de la seguridad alimentaria y la nutrición. La conservación y el uso de una amplia gama de la diversidad - tanto entre especies y dentro de las especies - significa asegurar opciones para responder a los retos del futuro.

2.9.1 Colectas de germoplasma

Se denomina colectas al proceso de obtención de muestras de semillas representativas de poblaciones vegetales silvestres o variedades de especies cultivadas. Las muestras deben ser de semillas, que tengan la facultad de germinar y desarrollar plantas parecidas a las plantas madre si se siembran en ambientes similares. Las colecciones de germoplasma se realizan con la finalidad de: conservar la diversidad de la especie, obtener germoplasma para usarlo en mejoramiento genético o en la búsqueda de nuevas formas no disponibles en los bancos de germoplasma (Sevilla y Holle, 2004).

2.9.2 Accesoión o entrada

Es la unidad de conservación, es una muestra de semillas, o de cualquier órgano reproductivo, que se identifica con un número o código que lo distingue del resto del germoplasma, y que entra o se “accesa” a un banco de germoplasma (Sevilla y Holle, 2004).

2.9.3 Morfotipo

En las plantas agámicas o de reproducción vegetativa, se usa el termino morfotipo para diferenciar poblaciones de individuos. Un morfotipo está definido por una serie de características principalmente morfológicas, es decir son plantas que muestran el mismo fenotipo, pero no necesariamente tienen la misma constitución genética (Sevilla y Holle, 2004).

2.10 Caracterización morfológica

La caracterización morfológica no requiere tecnología cara, pero grandes extensiones de tierra a menudo se requieren para estos experimentos, por lo que podría resultar más costoso que la evaluación molecular. Estos rasgos son a menudo susceptibles a la plasticidad fenotípica; a la inversa, esto permite la evaluación de la diversidad en la presencia de la variación ambiental (Mondini *et al.*, 2009).

2.10.1 Caracterización de germoplasma

Es un proceso que se inicia con la colecta o introducción, y debe finalizar con la publicación y la difusión de la información junto con la semilla, para que pueda ser utilizada por los usuarios. El objetivo principal de esta es describir y dar a conocer el valor del germoplasma (Sevilla y Holle, 2004).

2.10.2 Descriptores

Describen o califican las características de las accesiones con un valor numérico, con una escala, un código o un adjetivo calificativo. A cada una de las variables de un descriptor se le denomina “estado”. Los criterios considerados para definir los descriptores son: heredabilidad, valor taxonómico, valor agronómico y facilidad de registro. La elaboración de listas de descriptores es un proceso dinámico y abierto, sin embargo la uniformización de los descriptores es un requisito universal para que la caracterización tenga valor universal, y tanto el nombre como la forma y la unidades de medida deben ser convenidos por los científicos dedicados a la caracterización de una especie en particular (Sevilla y Holle, 2004).

En la mayoría de plantas cultivadas los órganos más importantes para la descripción adecuada son aquellos menos influenciados por el ambiente. Entre estos órganos quizá los más importantes son la flor y el fruto, le siguen en importancia otros como las hojas, raíces y los tejidos que muchas veces son difíciles de caracterizar (Blas, 1999).

2.11 Caracterización molecular

La evaluación de la diversidad genética dentro y entre las poblaciones se realiza rutinariamente a nivel molecular utilizando diversas técnicas basadas en laboratorio, tales como alozimas o análisis de ADN, que miden los niveles de variación directamente. Los

análisis moleculares comprenden una gran variedad de marcadores moleculares de ADN, que se pueden emplear para el análisis de la variación. Diferentes marcadores tienen diferentes cualidades genéticas (que pueden ser dominantes o co-dominante, pueden amplificar loci anónimos o caracterizados, pueden contener secuencias expresadas o no expresadas, etc.). (Mondini *et al.*, 2009).

2.11.1 Extracción de ADN

La extracción del ADN (nuclear, mitocondrial y/o cloroplástico) de una muestra en estudio es el comienzo del análisis por marcadores moleculares. El ADN puede ser extraído ya sea a partir de muestras frescas, liofilizadas, conservadas o secas, pero el material fresco es ideal para la obtención de ADN de buena calidad. Hay muchos protocolos alternativos para la extracción de ADN y la elección de un protocolo depende de la calidad y cantidad de ADN necesaria, la naturaleza de las muestras, y la presencia de sustancias naturales que pueden interferir con la extracción y el análisis posterior. Los protocolos de extracción de ADN más comúnmente utilizados implican romper a través de molienda o digestión de las paredes celulares y las membranas con el fin de liberar los constituyentes celulares. La eliminación de las membranas lipídicas se facilita mediante el uso de detergentes tales como dodecil sulfato de sodio (SDS), bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB) o alquilo-trimetil amonio bromuro (MTAB). El ADN liberado debe ser protegido de las nucleasas endógenas y por ello EDTA se incluye en el tampón (buffer) de extracción para quelar iones de magnesio que son un co-factor necesario para nucleasas. El ADN extraído a menudo contiene una gran cantidad de ARN, proteínas, polisacáridos, taninos y pigmentos, que pueden interferir con el ADN extraído. La mayoría de las proteínas se eliminan mediante la adición de una enzima degradadora de proteínas (proteínasa-K), la desnaturalización a 65°C y precipitación usando cloroformo y alcohol isoamílico. El ARN se eliminan normalmente utilizando enzima degradante de ARN llamada RNasa A. La mayoría de los contaminantes son polisacáridos, y son eliminados con NaCl y CTAB (Murray y Thompson, 1980; Paterson *et al.*, 1993.), sin embargo, algunos protocolos cambian el NaCl por KCl (Thompson y Henry, 1995). El ADN debe ser separado de los compuestos contaminantes (lípidos, proteínas, carbohidratos y /o fenoles), para ello se emplea la centrifugación y el ADN queda en la fase acuosa. El ADN de la fase acuosa se transfiere a tubos nuevos, donde este es precipitado con una solución salina (Acetato de Sodio) o alcohol (isopropanol o etanol 100 por ciento) y posteriormente se disuelve en

agua estéril o tampón (buffer). Finalmente la concentración de ADN extraído es medida en geles de electroforesis al 1 por ciento o en espectrofotómetro (Semagn *et al.*, 2006).

2.11.2 Marcadores moleculares

Un marcador molecular puede ser definido como un locus genómico, detectado a través de una sonda o iniciadores específicos (iniciadores), que en virtud de su presencia distingue de forma inequívoca el rasgo cromosómico que representa, así como las regiones flanqueantes en los extremos 3 'y 5' de las extremidades.

Los marcadores moleculares pueden o no estar correlacionados con la expresión fenotípica de una característica, y muestran numerosas ventajas sobre el fenotipo, como la estabilidad, fácil detección en todos los tejidos y adicionalmente no son confundidos por efectos ambientales, pleitrópicos y efectos epistáticos (Mondini *et al.*, 2009).

Un marcador molecular ideal debe de poseer las siguientes características: tener herencia mendeliana (transmitirse de una generación a otra), ser polimórfico (debe presentar varios alelos en un locus-multialélico); estar uniformemente distribuido en todo el genoma; ser codominante (permitir la discriminación entre homocigoto y heterocigoto), proporcionar una resolución adecuada de las diferencias genéticas (permite diferenciar a diferentes individuos); generar marcadores múltiples, independientes y fiables (independiente del ambiente, es decir no presentar plasticidad fenotípica), ser sencillo, rápido y barato; requerir pequeñas cantidades de muestras de tejido y ADN; estar ligado a distintos fenotipos, no debe requerir información previa sobre el genoma de un organismo y debe ser altamente reproducible (Mondini *et al.*, 2009)

Los marcadores básicos se pueden clasificar en dos categorías según su metodología de análisis:

A. Basados en métodos de hibridación

Se basan en combinar el uso de endonucleasas de restricción y el método de hibridación. Las endonucleasas son enzimas bacterianas capaces de cortar el ADN, mediante la identificación de secuencias palíndromo específicas y produciendo así fragmentos de polinucleótidos de dimensión variable. Entre los marcadores basados en métodos de hibridación tenemos:

- RFLP (Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción)
- VNTRs (Número Variable de Repeticiones en Regiones Inter o Microsatélites)

B. Basados en PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa)

La invención de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha revolucionado la biología molecular. La Reacción en Cadena de la Polimerasa es una técnica in vitro utilizada para la amplificación de un segmento específico de un ácido nucleico. Comenzando con sólo una cantidad muy pequeña de material, un segmento de ADN se puede multiplicar por más de un millón de veces. Debido a esta gran sensibilidad, la PCR ha encontrado popularidad en una amplia gama de aplicaciones. Para llevar a cabo la amplificación por PCR, es necesario combinar todos los componentes: ADN molde, iniciadores, enzima ADN polimerasa, magnesio (Mg^{+2}), desoxinucleótido de trifosfato (dNTPs.) y el buffer tampón.

Esta técnica consiste en tres pasos:

- Desnaturalización del ADN a través de la fusión a temperatura elevada para convertir el ADN de doble cadena en el ADN de una sola hebra. Para obtener la desnaturalización de ADN, la temperatura se aumenta generalmente a $\sim 93-96$ ° C.
- Anileamiento (hibridación) o rehibridación de las hebras de ADN se lleva a cabo a temperatura más baja (por lo general 55 - 65 °C). Una vez que la temperatura se reduce, las dos cadenas de ADN complementarias reformarán en una molécula de ADN de doble cadena.
- Extensión de la cadena de ADN por la adición de nucleótidos a los iniciadores utilizando ADN polimerasa como catalizador en presencia de iones Mg^{2+} . En este paso los iniciadores se extienden a través de la secuencia molde mediante el uso de una ADN polimerasa termoestable (frecuentemente Taq ADN polimerasa) en presencia de dNTPs dando lugar a la duplicación del material diana de partida. La temperatura de trabajo ideal para la Taq ADN polimerasa es de 72 ° C. (Somma y Querci, 2006).

Entre los marcadores basados en PCR más conocidos tenemos:

- RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)
- AFLP (Amplified fragment length polymorphism polymerase chain reaction)
- SSR (Simple Sequence Repeat)
- ISSR (Inter Sequence Simple Repeat)

- EST (Expressed sequence tags)
- SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)

2.11.3 Marcadores moleculares de diversidad genética en evaluación

Uno de los aspectos más importantes en los planes de mejoramiento es el manejo eficiente de los recursos genéticos y del germoplasma disponible. Tradicionalmente, los recursos genéticos se caracterizaban por una combinación de caracteres morfológicos y agronómicos. Los marcadores moleculares, al analizar varios loci por reacción, permiten estimar en forma rápida y eficiente la diversidad genética existente en el plan de mejoramiento y el grado de similitud genética entre los cultivares (Masuelli, 1999).

2.11.4 AFLP (Amplified fragment length polymorphism polymerase chain reaction)

Los AFLP son intermedios entre RFLP y PCR, AFLP se basa en amplificar selectivamente un subconjunto de fragmentos de restricción a partir de una mezcla compleja de fragmentos de ADN obtenidos después de la digestión del ADN genómico con endonucleasas de restricción. Los polimorfismos se detectan a partir de las diferencias en la longitud de los fragmentos amplificados mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (Kumar *et al.*, 2009).

AFLP implica la restricción de ADN genómico, seguido por la ligación de adaptadores complementarios a los sitios de restricción y la amplificación selectiva por PCR del subconjunto de los fragmentos de restricción adaptados. Estos fragmentos se visualizan en geles de poliacrilamida desnaturalizantes ya sea a través de metodologías de autorradiografía o fluorescencia (Vos *et al.* 1995). Los pasos más en detalle para los marcadores AFLP en el caso de plantas son:

- **Digestión:** El primer paso en el procedimiento de AFLP (**Figura 2**) implica la preparación de las plantillas por la digestión enzimática del ADN, típicamente con dos enzimas de restricción. Las dos enzimas de restricción utilizadas son generalmente (pero no necesariamente) una de corte raro (enzima EcoRI de seis pares de bases) y una de corte frecuente (enzima MseI de cuatro pares de bases). La de corte frecuente se utiliza para generar fragmentos que se encuentran en un rango de longitud de 50-500 pb resoluble mediante electroforesis. La de corte raro se utiliza para limitar el número de

fragmentos que pueden ser amplificados y, por lo tanto, para definir el número eficaz de amplicones AFLP.

- **Ligación:** Posteriormente, los adaptadores de doble cadena se ligan a los extremos de los fragmentos de restricción. Los adaptadores constan de una secuencia principal y una secuencia específica para la enzima. Los adaptadores son específicos tanto para EcoRI y MseI. Usualmente la digestión y la ligación toman lugar en una sola reacción. La ligación de los adaptadores al ADN digerido altera los sitios de restricción para prevenir una segunda restricción después de la ligación. La secuencia principal de los adaptadores es una secuencia conocida de 20 nucleótidos, la cual es usada después como iniciadores en la PCR.
- **Amplificación:** El siguiente paso del procedimiento AFLP es la amplificación por PCR del subconjunto de fragmentos de restricción, utilizando iniciadores selectivos de AFLP. Las partes comunes de estos iniciadores corresponden a las secuencias de reconocimiento de las enzimas de restricción y adaptadores, y estas tienen un número de bases adicionales en el extremo 3' que se extiende en los fragmentos de restricción, llamados nucleótidos selectivos. Estos nucleótidos selectivos aseguran que sólo un subconjunto de fragmentos de restricción se amplifique a un nivel detectable, es decir, aquellos fragmentos donde los nucleótidos que flanquean el sitio de restricción coincidan con las extensiones de los iniciadores. Las huellas dactilares de AFLP de baja complejidad (plásmidos, cósmidos y BACS) no requieren nucleótidos selectivos; mientras que los grandes genomas (>100 Mb) usualmente llevan dos o tres bases selectivas en uno o ambos iniciadores y se realiza generalmente en dos etapas consecutivas:
 - Pre-amplificación: los iniciadores utilizados para esta amplificación pre selectiva tienen una base suplementaria, reduce de la complejidad de la plantilla mezcla, amplificando $\frac{1}{4}$ de los fragmentos que poseen un adaptador en ambos extremos, permitiendo su visualización en gel de agarosa 1,6 por ciento.
 - Amplificación selectiva: el objetivo de este paso es restringir el nivel de polimorfismo y marcar el ADN. Para esta segunda amplificación, se añade tres nucleótidos más en el extremo 3' de la secuencia del cebador utilizada para la pre-amplificación (=secuencia de los adaptadores + 3 nucleótidos). Estos dos nucleótidos adicionales hacen la amplificación más selectiva e incrementan el número de fragmentos digeridos amplificados (polimorfismo).

- Electroforesis:** El paso final de la técnica es la electroforesis por fraccionamiento del tamaño de las huellas dactilares. Para este propósito, los productos de la reacción se separaron en geles de poliacrilamida desnaturalizantes similares a los utilizados para la secuenciación. En el caso de la electroforesis en gel convencional usando iniciadores marcados radiactivamente, los geles se secaron en papel o fijos en placas de vidrio después de la electroforesis, y las imágenes de AFLP se pueden generar utilizando autorradiografía convencional o la tecnología con fósforo. En el caso de la electroforesis en gel usando colorante de infrarrojos (IRD) o iniciadores marcados con fluorescencia, imágenes de AFLP se pueden generar usando LI-CO o Aplplied Biosystems (ABI) y Mega BACE (Vuylsteke *et al.*, 2007). El análisis de AFLP consta de 3 etapas (**Figura 2**).

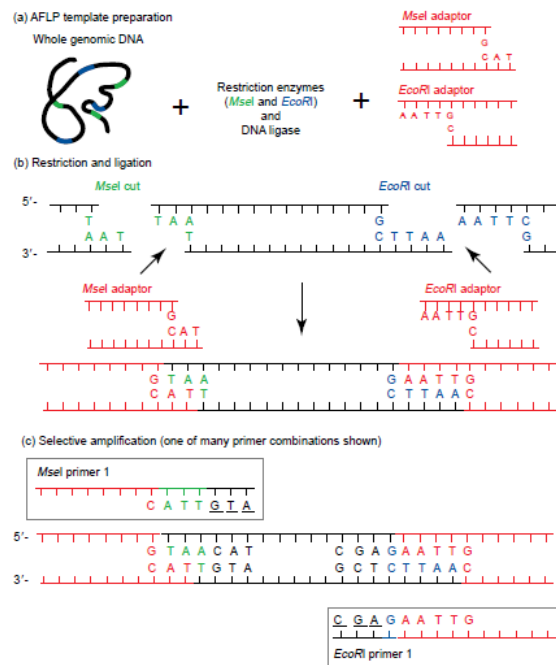


Figura 2: Pasos a seguir para la obtención de AFLP
Fuente: Müller y Wolfenbarger, 1999.

Ventajas: La principal características de AFLP es su capacidad para detectar simultáneamente muchas regiones del ADN distribuidas del genoma, permitiendo así la detección simultánea de muchas regiones del genoma. Presenta varias ventajas con respecto a los demás marcadores, entre ellas tenemos: la cantidad de información generada, el costo es relativamente barato, el método es fácil, rápido y viable para generar cientos de marcadores informativos, la reproducible resolución hacen de AFLP un buen marcador molecular. Presenta las siguientes 6 ventajas:

- **Alcance de la taxonomía:** estos se pueden generar para cualquier organismo con ADN y no requieren de ningún conocimiento previo acerca de su genoma
- **Niveles de error:** las amplificaciones se realizan bajo condiciones de alta selectividad, eliminando así los artefactos generados con otros marcadores (RAPD), además muestra repetitividad perfecta.
- **Cantidad de ADN:** requiere de cantidades mínimas de ADN y puede utilizar muestras parcialmente degradadas (0.1-0.5ng.)
- **Eficiencia:** los marcadores se pueden generar a gran velocidad, como lo demuestra la alta proporción de polimorfismos generados.
- **Herencia mendeliana:** los marcadores AFLP se segregan de manera mendeliana y se pueden utilizar para poblaciones genéticas y en el análisis QTL.
- **Resolución:** debido al número casi ilimitado de marcadores que se pueden generar, usando una serie de combinaciones de iniciadores, algunos marcadores se encuentran regiones variables y por ello revelan diferencias genéticas (Müller y Wolfenbarger, 1999).

Desventajas: La principal desventaja de AFLP-PCR es la dificultad en la identificación de marcadores homólogos (alelos), lo que hace este método menos útil para los estudios que requieren la asignación precisa de los estados alélicos, tales como análisis de heterocigosidad.

Aplicaciones: entre las posibles aplicaciones de los marcadores tipo AFLP tenemos:

- Descubrir la variación genética encriptado o en especies estrechamente relacionadas que había sido imposible distinguir.
- En la sistemática su utilidad descansa más en la rápida agrupación de linajes estrechamente relacionados, que es crucial para los estudios de la biodiversidad o la investigación epidemiológica.
- También se emplean en el análisis de la variación genética por debajo del nivel de especie, sobre todo en la investigación de la estructura y la diferenciación de la población, incluida la estimación de los análogos de F_{ST} y la variación genética dentro de las poblaciones.
- Evaluar el flujo de genes y la dispersión, la polinización cruzada, la introgresión y casos de hibridación.

- La alta resolución de marcadores AFLP también permite la estimación precisa e imparcial de una relación, así como diferencias de individuos de descendencia clonal y para análisis de paternidad.
- Se han utilizado ampliamente para la construcción de mapas de ligamiento de QTL de rasgos agronómicos de las plantas, tales como resistencia a enfermedades y tolerancia a la sal, y la identificación de QTL asociados con rasgos fisiológicos (Müeller y Wolfenbarger, 1999).

En la **Tabla 5** se observa una comparación entre los diferentes marcadores moleculares más frecuentemente usados.

Tabla 5: Comparación de las diferentes características de los marcadores más frecuentemente usados

Marcador molecular	RFLP	RAPD	AFLP	SSR	CAPS	SCAR	IRAP/ REM RAMP SSCP SNP AP			
							REM	RAMP	SSCP	SNP
Grado molecular	M	M	M	M	L	M	M	M	L	H
Especificidad de locus	Y	N	N	N	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Dominancia/codominancia	C	D	D	C	C	C	D	D	C	C
Fácil replicación	H	L	H	M	H	H	H	M	M	H
Abundancia	H	H	H	M	L	L	H	M	L	H
Requiere información de secuencia	Y	N	N	N	Y	Y	Y	N	Y	Y
Cantidad de ADN requerido	H	L	M	L	L	L	L	L	L	L
Automatización	N	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y
Costo por ensayo	H	L	M	L/M	M	L	L	M	H	L
Requerimientos técnicos	H	L	M	L/M	H	M	H	H	H	M

H=Alto; M=Medio; L=Bajo; Y=Yes; N=No; D=Dominancia; C=Codominancia.
Fuente: Mondini *et al.* (2009)

2.12 Análisis de información

Taxonomía es el estudio teórico de la clasificación, incluyendo sus bases, principios, procedimientos y reglas. El motivo de estudio de las clasificaciones son los objetos y organismo a clasificar. La taxonomía es la disciplina que trata de explicar cómo se clasifican y como se determina (Crisci y Lopez, 1983).

La taxonomía numérica 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 (Crisci y Lopez, 1983). La taxonomía numérica se utiliza para eliminar las subjetividades en el proceso de asignar individuos o clases previamente definidos. Al usar procedimientos estadísticos con criterios establecidos para hacer los grupos, la clasificación o asignación de los individuos a los grupos se hace con objetividad (Sevilla y Holle, 2004).

La taxonomía numérica, además de hacer más objetiva la asignación de individuos en grupos, tiene la finalidad de evaluar cuantitativamente las semejanzas o diferencias entre grupos y presentar el ordenamiento de estos grupos en niveles jerárquicos (Sevilla y Holle, 2004).

Pasos elementales en casi todas las técnicas numéricas son:

- 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 los caracteres que describan a las OTU y se registra el estado de los caracteres presentes en ellas.
- C. Construcción de una matriz básica de datos: con la información obtenida en los pasos anteriores se construye una matriz básica de datos (MBD) de OTU por estados de los caracteres.
- D. Obtención de un coeficiente de similitud para cada par posible de OTU: a base de la MBD y utilizando un coeficiente adecuado a los datos que contiene, se calcula la similitud para cada par posible de las unidades taxonómicas.
- E. Construcción de la matriz de similitud: con los valores de similitud calculados en el 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 caracteres discriminativos, relación entre los organismos, inferencias acerca de los taxones, etc.

2.12.1 Elección de las unidades

El primer paso en cualquier proceso clasificatorio consiste en elegir las unidades a clasificar, es decir las OTU. La elección de la unidad de estudio entre esas entidades dependerá en gran medida, de la estrategia y de los objetivos del trabajo taxonómico. Cualquiera que sea la entidad unitaria, siempre está compuesta por individuos y por lo tanto estos deberán ser la unidad universal. La única regla general en la elección de las OTU es que cada una de ellas debe ser internamente lo más homogénea posible. Excepto en el caso del individuo como unidad, siempre existirá cierta variación interna imposible de eludir (Crisci y Lopez, 1983)

2.12.2 Elección de los caracteres

El carácter puede definirse como cualquier propiedad que varía en las OTU en estudio. Los posibles valores que ese carácter pueda presentar se consideran sus estados. Los tipos de caracteres podrían ser: morfológicos, fisiológicos, químicos, etológicos, ecológicos, geográficos y genéticos (Crisci y Lopez, 1983).

Los caracteres observados o medidos son atributos diferenciales, en los cuales cada individuo de cualquier clase debe diferir al menos en un atributo, con cada individuo de cualquier otra clase. La dificultad está en definir el atributo; no son tan claramente diferenciables (Sevilla y Holle, 2004).

Los caracteres deben ser observados y registrados en datos, la observación científica debe ser sistemática, detallada y variada. Los datos deben ser objetivos y precisos. La taxonomía numérica exige que todos los datos sean expresados en forma cuantitativa, de modo que sean computables, es decir que puedan realizar operaciones de cálculos mediante números.

Como no todos los caracteres se pueden expresar de este modo, algunos deben ser sometidos a una transformación para poder trabajar con ellos, como sucede con los de tipo morfológico (Crisci y Lopez, 1983).

Los datos para expresar su variabilidad pueden ser:

- Doble estado: son los denominados datos binarios, es decir aquellos que tienen solo dos estados.
- Multiestado: son aquellos que poseen tres o más estados y pueden ser de dos tipos: cualitativos o cuantitativos. Los primeros pueden ser ordinales o nominales según su naturaleza; los segundos pueden ser discontinuos o continuos (Crisci y Lopez, 1983).

2.12.3 Construcción de la matriz básica de datos

Los datos obtenidos se presentan en forma de cuadro o tabla denominada Matriz Básica de Datos. La matriz básica de datos (MBD) se construye a partir de la información que se obtiene en la caracterización y evaluación de especies. Consiste en un arreglo en forma de cuadrícula con tantas filas como accesiones existentes (n) y una columna para cada variable (p). La construcción de la MBD es fundamental porque constituye el punto de partida o materia prima para la aplicación de las herramientas estadísticas (Franco e Hidalgo, 2003).

2.12.4 Obtención del coeficiente similitud para cada par de OTU

El parecido o similitud es cuantificable aplicando un coeficiente de similitud. Con el uso de estos coeficientes en operaciones matemáticas se puede calcular las similitudes respecto a cada par posible de OTU de una MBD. La taxonomía numérica ha formulado numerosos coeficientes de similitud, los más conocidos son:

A. Coeficiente de Asociación

Southwood afirma que en diferentes investigaciones ecológicas es deseable examinar y expresar cuantitativamente el grado de asociación entre dos especies por lo que entre los tipos de índices más simples para medir la asociación entre especies se encuentran aquellos basados en la comparación de la distribución entre ellas. Para ello se tiene dos aproximaciones: una está basada en la afirmación que tienen una misma oportunidad de

presentarse en todas las muestras, y el grado de asociación se mide comparando la diferencia entre el número actual y el número esperado de ocurrencias conjuntas; la segunda aproximación considera solo el número de ocurrencias conjuntas como una porción del número total de ocurrencias, y describe la frecuencia con la cual dos especies se encuentran juntas (índices de afinidad) (Rodríguez *et al.*, 2001). Se presentan los principales coeficientes para los diferentes tipos de datos (**Tabla 6**).

Tabla 6: Principales coeficientes de asociación según el tipo de datos

Tipo de dato	Índices
Binarios o doble estado	Emparejamiento Simple (Sokal Y Michener, 1958), Rogers Y Tanimoto (1960), Hamman (1961), Jaccard (1908), Kulczynsky (1927), Russell Y Rao (1940), Dice (1945), Ochiai (1957), Sokal Y Sneath (1963), Yule (1911), Pearson.
Cualitativos	Extensión Del Emparejamiento Simple, Distancia Chi-Cuadrado (Benzecri, 1970).
Cuantitativos	Euclídea, Manhattan, Bray-Curtis, Canberra, Minkowski, Mahalanobis
Datos mixtos	Gower (1971).
Genéticos	Nei (1972), Nei (1978), Hillis (1984), Swofford-Olsens (1990), Cavalli-Forza Y Edwards (1967) O Distancia Del Arco, Cavalli-Sforza Y Edwards (1965) o Distancia De La Cuerda, Rogers (1972), Prevosti (Wright, 1951).

Fuente: Ligaretto en Franco e Hidalgo (2003).

B. Coeficientes de similitud

Janson y Vergelius anotan que dentro de las medidas de similitud ecológica existen aquellas que tratan de medir el grado de coexistencia entre dos especies sobre diferentes localidades, es decir, la frecuencia con que se encuentran dos especies en la misma localidad. De todos los coeficientes de asociación, los más prolíficos son los de similitud, estos miden la asociación entre muestras, permitiéndonos conocer cuan cercanos o cuan lejanos con los individuos unos con otros (Rodríguez *et al.*, 2001).

Las medidas de similitud no son métricas y son interpretadas en términos de dissimilaridad y similaridad, siendo así dos individuos cercanos cuando su dissimilaridad o distancia es pequeña, mientras que su similaridad es grande (Everitt *et al.*, 2011).

Estos miden las coincidencias y diferencias en los estados de los caracteres entre dos OTUs. Esta medición exige datos del tipo doble-estado, aunque bajo determinadas condiciones algunos de estos coeficientes pueden aplicarse sobre datos multiestado sin secuencia lógica (Crisci y Lopez, 1983). Si se compara un carácter doble estado de dos OTUs, j y k, se presentan cuatro posibilidades: que se observan en la **Tabla 7**:

Tabla 7: Matriz de combinaciones posibles al compararse dos OTUs para un carácter doble-estado

		OTU _k	
		1	0
OTU _j	Presente (1)	1,1(a)	1,0(b)
	Ausente (0)	0,1(c)	0,0(d)

Donde:

- a: Ambos OTUs tienen el carácter comparado
- b: El carácter está presente en el primer OTU y ausente en el segundo
- c: El carácter está ausente en el primer OTU y presente en el segundo
- d: Ambos OTUs no tienen el carácter comparado

El coeficiente de asociación varía de 0 a 1, siendo el valor 1 el que expresa la máxima semejanza entre dos OTUs.

La razón de la existencia de un gran número de coeficientes de similaridad es debido a la aparente incerteza sobre la consideración de las dobles ausencias (d). En algunos casos las dobles ausencias son completamente equivalentes a las dobles presencias y ambos son considerados en el cálculo de la medida de similaridad, pero en otros casos no se consideran las dobles ausencias.

b.1. Coeficiente de similaridad Simple Matching

Simple matching o coeficiente de Igualdad Simple fue desarrollada para analizar características evaluadas a partir de claves taxonómicas dicotómicas, este coeficiente asume que no existen diferencias entre las dobles presencias y las dobles ausencias, por lo que la variable o el atributo pueden tomar el valor de cero o de uno indistintamente (Rodríguez *et al.*, 2001). La fórmula es:

$$d_{ij} = \frac{a + d}{a + d + b + c}$$

b.2 Coeficiente de similitud Jaccard

El coeficiente de Jaccard o llamado coeficiente de comunidad, es el más conocido de los coeficientes que ignora o excluyen a las dobles ausencias, este considera la proporción entre localidades donde ambas especies se encontraron y el número total de localidades, donde al final una de ellas se encontró (Rodríguez *et al.*, 2001). La fórmula es:

$$d_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

Los coeficientes de similitud para datos binarios se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8: Coeficientes de similitud más utilizados en caracterización de germoplasma

Coeficiente	Formula	Autor
Simple Matching	m/n	Sokal y Sneath (1963)
Jaccard	$a/n - d$	Jaccard (1908)
Dice	$2a/2a + b + c$	Dice (1945), Nei y Li (1979)
Phi	$(ad - bc) / \sqrt{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)}$	Sokal y Sneath (1963)
Kulezynski 1	a/u	Kulezynski (1927)
Kulezynski 2	$\frac{1}{2}[(a/a + b) + (a/a + c)]$	Kulezynski (1927)
Hamann	$(m - u)/n$	Hamann (1961)
Roger y Tanimoto	$m/(n + u)$	Roger y Tanimoto (1960)
Russel y Rao	a/n	Russel y Rao (1940)
Ochiai	$a / \sqrt{(a + b)(a + c)}$	Ochiai (1957)
Yule	$(ad - bc) / (ad + bc)$	Yule (1911)

$m=a+d$; $u=b+c$; $n=m+u$

Fuente Nuñez y Escobedo, 2011

C. Coeficiente de Distancia

Representa la similitud como la proximidad de las accesiones con respecto a sus variables. Son en realidad medidas de diferencias donde los valores elevados indican una menor similitud. Según Crisci y López (1983) su uso se recomienda para analizar datos cualitativos, cuantitativos y mixtos (ambos tipos). Los resultados se obtienen en una matriz simétrica cuyos valores varían de 0 a α (infinito), donde 0 es el indicativo de máxima

similitud. Entre los coeficientes más usados se tiene 'Mean Character Difference' (MCD) y las distancias de Manhattan (MD), Taxonómica (TD), euclidiana (DE) y euclidiana al cuadrado (d^2) (Crisci y López, 1983). Como síntesis de los conceptos sobre los índices o coeficientes de similitud o de distancias, Bramardi explica que la semejanza entre pares de unidades ha recibido diferentes denominaciones tales como similitud, proximidad, disimilitud y distancia o asociación, por tanto, se sugiere que todas estas acepciones sean consideradas como un grupo de índices de distancia. (Franco e Hidalgo, 2003).

La distancia euclidiana o medida lineal de distancia es la medida estadísticas más comúnmente usada para la estimación de la distancia genética entre individuos (genotipos o poblaciones) para datos morfológicos. Gower describió un coeficiente general para medición de la distancia entre individuos en base al tipo de carácter como dicotómico, cualitativo y cuantitativo. Para caracteres cualitativo la distancia entre dos individuos es 0 (idénticos) o 1 (diferentes); mientras que en los caracteres cuantitativos la distancia es calculada como la diferencia entre los valores de las características dividido sobre el rango de las características (Mohammadi y Prasanna, 2003).

D. Coeficientes de Correlación

Cuantifica en términos relativos el grado de asociación íntima o variación conjunta entre dos descriptores cuantitativos, por ej., entre altura de planta y días a floración. Su valor oscila entre -1 y +1. El signo del coeficiente indica el tipo de asociación negativo (-) si la relación es inversa y positivo (+) si es directa. La magnitud está asociada con el grado de intimidad entre las variables, si el valor es próximo a 1 están estrechamente correlacionadas; por el contrario, un valor próximo a 0 debe ser interpretado con reserva ya que puede indicar independencia entre las variables o una relación no lineal. El coeficiente más empleado es el de Pearson que se recomienda para datos de tipo multiestados cuantitativos, aunque también es útil para datos mixtos (Franco e Hidalgo, 2003).

2.12.5 Matriz de similitud

Los resultados obtenidos de la aplicación de cualquiera de los coeficientes de similitud para los pares posibles de OTU ordenados en forma tabular constituyen la matriz de similitud. Las OTUs ocuparán tanto las filas como las columnas, siguiendo el mismo orden en ambas, de esta manera se logra comparar cada OTU consigo misma y con las restantes

OTUs. Así estructurada la matriz cada valor de la diagonal principal (S_{11} , S_{22} , S_{33} , ..., S_{tt}) representa a cada OTU comparada consigo misma, este valor corresponde al de máxima similitud, que es 1, (con coeficiente de similitud) y 0 (con coeficiente de distancia taxonómica) (Crisci y López, 1983).

2.12.6 Análisis de agrupamientos

El análisis de agrupamiento comprende técnicas que, siguiendo reglas más o menos arbitrarias, forman grupos de OTU que se asocian por su grado de similitud. Las más utilizadas son las exclusivas, jerárquicas, aglomerativas y secuenciales.

Entre las técnicas jerárquicas una de las más sencillas, es la técnica del "grupo par" ("pair group") en la cual solo puede ser admitido una OTU o un grupo de OTUs por nivel. Esto significa que los grupos formados en cualquier etapa de los agrupamientos contienen solo dos miembros. En la incorporación de nuevas OTUs o núcleos (conjunto formado por dos OTUs) o grupos (formado por conjuntos con más de 2 OTUs) existentes, se puede seguir por tres caminos diferentes denominados: ligamiento simple, ligamiento completo y ligamiento promedio.

El método de incorporación de OTU más usado es el de ligamiento promedio, en donde se considera que el valor de similitud entre la OTU candidato a incorporarse y el grupo o núcleo es igual a una similitud promedio resultante de los valores de similitud entre el candidato y cada uno de los integrantes del grupo o núcleo. La técnica más utilizada de entre los diferentes tipos de promedios que hay es la media aritmética no ponderada UPGMA ("Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average") Crisci y López (1983).

El método UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) o grupo de ligamiento promedio, también conocido como el método de agrupamiento de pares no ponderado usando el enfoque del promedio, siendo así un intermedio entre el ligamiento simple y el ligamiento completo, es un método relativamente robusto.

Usualmente emplea matrices de similaridad o distancia, donde la distancia entre dos agrupamientos es el promedio de la distancia entre todos los pares de individuos que se componen de un individuo de cada grupo (Everitt, *et al.*, 2011).

A. Representación

La estructura taxonómica obtenida de la matriz de similitud con las técnicas de análisis de agrupamiento puede representarse gráficamente de varias formas, pero la más utilizada es el fenograma, el cual es un diagrama arborescente que muestra la relación en grado de similitud entre dos OTUs o grupo de OTUs. El fenograma es un diagrama arborescente que muestra la relación en grado de similitud entre dos OTU o grupos de OTU.

Respecto a la terminología, se distinguen entre fenograma que representa las relaciones fenéticas, y cladograma, donde las ramificaciones están basadas en las conexiones filogenéticas entre las OTU. El termino dendograma incluye a los fenogramas y a los cladogramas (Crisci y López, 1983).

B. Distorsión

Es imposible que el fenograma sea un reflejo exacto de la matriz de similitud. Algunas de las relaciones de similitud serán distorsionadas al realizar una representación bidimensional. La técnica más conocida para medir este grado de distorsión es la del coeficiente de correlación cofenético establecido por Sokal y Rohlf. Consiste en construir una nueva matriz de similitud a partir de los valores del fenograma y se denomina matriz cofenético. Entonces se calcula el coeficiente de correlación entre ambas matrices. El coeficiente de correlación cofenético es una medida de la distorsión interna de la técnica, pero no una evaluación de la clasificación (Crisci y López, 1983).

De acuerdo con Rholf (2001), los rangos de confianza de la correlación cofenético son:

Rango	Interpretación
$0,9 \leq r$	Muy buen ajuste
$0,8 \leq r < 0,9$	Buen ajuste
$0,7 \leq r < 0,8$	Pobre ajuste
$r < 0,7$	Muy pobre ajuste

C. Índice de consenso (Cl_c)

La comparación entre los dendogramas obtenidos se hace mediante el empleo del índice de consenso Cl_c , este provee una estimación relativa de la similitud entre los dendogramas. El índice de consenso se obtiene dividiendo el número de ramificaciones en común en los

dendogramas, entre el número máximo posibles de ramificaciones (es $n-2$, donde n corresponde al número de OTUS). El valor del índice de consenso varía desde 0 donde no existe ningún consenso hasta 1 cuando los dendogramas son idénticos (Crisci y Lopez, 1983).

2.12.7 Análisis de correspondencia múltiple

Análisis de correspondencia múltiple (ACM) es una extensión del análisis de correspondencias (CA), que permite analizar el patrón de relaciones de varias variables dependientes categóricas. Como tal, también puede ser visto como una generalización de análisis de componentes principales cuando las variables a ser analizadas son categórico en lugar de cuantitativo (Abdi y Valentin, 2007).

El análisis de correspondencias es una técnica de reducción de dimensiones y elaboración de mapas porcentuales. Los mapas porcentuales se basan en la asociación entre objetos y un conjunto de características descriptivas o atributos especificados por el investigador. Su aplicación es muy directa y su beneficio es la capacidad para representar filas y columnas en un mismo espacio. En este sentido la finalidad será determinar la posición de una serie de objetos según una serie de características a través de un espacio vectorial en dos, tres o más dimensiones. En su forma básica, el Análisis de Correspondencia examina las relaciones entre categorías de datos nominales mediante la medida de asociación chi-cuadrado. Este análisis realiza una reducción de la dimensión del problema en donde la proximidad, en sentido matemático, entre los individuos indicara el nivel de asociación (Nenadíc y Greenacre, 2007).

2.12.8 Análisis de la variabilidad genética

A. Índice de Contenido Polimórfico (PIC)

El PIC (Polymorphism Index Content) se utiliza para estimar la capacidad de cada marcador para revelar los loci polimórficos en el germoplasma.

Según Rimachi *et al.* (2012), a pesar de ser conceptos diferentes, los términos PIC (Contenido de Información Polimórfica) y H (Heterocigosidad) se utilizan como sinónimos para estimar la “diversidad genética” (Smith *et al.*, 1997) y resultaría ser la probabilidad de que un marcador encuentre diferencias entre 2 individuos en al menos 1 locus.

Los valores del PIC varían desde 0 (monomórfico o no discriminatorio) hasta 1 (muy polimórfico o altamente discriminatorio, con varios alelos en igual frecuencia). (Smith *et al.*, 1997). Para un locus con dos alelos se utiliza la siguiente fórmula:

$$H = PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2$$

$$H = PIC = 1 - p^2 - q^2$$

Donde “p” es la frecuencia de la presencia del marcador (alelo 1) y “q” es la frecuencia de la ausencia del marcador (alelo 2) (Powell *et al.*, 1996).

Los valores PIC nos dan una idea de la capacidad de cada marcador generado para revelar loci polimórficos en nuestras entradas, así, como el valor de la frecuencia de ocurrencia de cada una de nuestras bandas (alelos) y es considerada además, una medida de diversidad genética (Smith *et al.*, 1997).

Sin embargo la formula anteriormente dada corresponde a la heterocigocidad, que es una medida alternativa para medir el grado de polimorfismo, y corresponde a la probabilidad de escoger un individuo heterocigoto. Entonces la formula correcta para el cálculo del PIC es:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2 = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + \sum_{i=1}^n p_i^4$$

Donde pi=frecuencia alélica del marcador y n=número de diferentes loci. El PIC siempre es más bajo que la herocigocidad (Hildebrand *et al.*, 1992).

B. Índice de diversidad de Shanon Weaver

La medición de la variabilidad genética mediante el número de cultivares en un sitio recientemente se adopta a los conceptos de diversidad de especies. Para esta medición, las accesiones o variedades locales provenientes de una región en particular se clasifican en una serie de clases o rangos definidos en función de la expresión fenotípica. Una vez definidas las clases, se clasifican las accesiones y se estiman los índices de diversidad con el objeto de determinar la variabilidad genética preservadas por las comunidades en función de la riqueza de morfotipos, variedades o bien de la riqueza de cultivares en un

área destinada. Uno de los índices más utilizados para cuantificar la biodiversidad específica es el de Shannon, también conocido como Shannon-Weaver (Franco e Hidalgo, 2003).

El índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa. Conceptualmente es una medida del grado de incertidumbre asociada a la selección aleatoria de un individuo en la comunidad. La diversidad máxima ($H_{max} = \ln S$) se alcanza cuando todas las especies están igualmente presentes (Pla, 2006).

2.12.9 Análisis de la estructura de la población

Métodos espaciales específicos en busca de los límites genéticos a nivel individual pueden aplicarse directamente para inferir la estructura de población de marcadores dominantes. Una vez que los límites genéticos se han identificado y evaluado su significado, es posible reunir grupos de individuos. El análisis de la estructura de la población se realiza mediante el AMOVA.

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

Es una herramienta ampliamente utilizada para cuantificar la contribución de los diversos niveles de estructura de la población a los patrones de variación genética (Fitzpatrick, 2009).

La estructura genética de una especie está relacionada con la distribución de la diversidad entre y dentro de las poblaciones. Su estudio se lleva a cabo normalmente mediante un análisis de varianza que permite comprobar la bondad de una estructura genética jerárquica propuesta.

La varianza molecular total es la suma de los componentes de la covarianza debido por ejemplo a las diferencias entre los individuos dentro de una población, a las diferencias entre las distintas poblaciones dentro de un grupo y a las diferencias entre distintos grupos de poblaciones. En términos estadísticos, la estructura de la población introduce alguna correlación o covarianza entre los genes tomados de diferentes subdivisiones el hecho de subdivisión significa en términos genéticos que los individuos no se aparean al azar y que la población no es panmictica.

El concepto de índice de fijación se introdujo por Sewall Wright para describir el efecto de la estructura de la población en la cantidad de endogamia a un nivel dado de subdivisión. A partir del efecto de panmixia se crea una correlación entre genes homólogos en unidades gaméticas relacionadas a un par de genes tomados al azar de la población. Wright propone el uso de esta correlación para describir la estructura genética y la cuantificación del efecto de endogamia (Balding *et al.*, 2008).

Wright (1951) introdujo un método para partir el coeficiente de endogamia en una población subdividida (FIT) entre el componente debido a apareamientos no aleatorios dentro de poblaciones (FIS) y la subdivisión entre poblaciones (FST). Así, la endogamia total tendría un componente generado por la cruce entre parientes dentro de una población (FIS) y otro por el balance entre deriva génica y flujo (FST). La definición original de Wright se basaba en el coeficiente de endogamia. Así, los estadísticos F pueden ser vistos como la correlación entre genes homólogos tomados de un nivel de la subdivisión en relación con cualquier otro nivel superior: la correlación entre los genes de los individuos (I) y los de la población total (T) es representada por FIT, que corresponde a la endogamia total. La correlación entre los genes de los individuos y los de la subpoblación (S) es representada por FIS, mientras que la correlación entre los genes de la subpoblación y los de la población total está representada por FST, que es igual a la probabilidad de que dos alelos idénticos por descendencia (identical by descent) se combinen en un cigoto, o autocigosis (Piñero, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

La caracterización morfológica del presente trabajo de investigación se realizó en dos localidades: la comunidad de Huancco Pillpinto, en la provincia de Calca, en el departamento de Cusco; y en el caserío de Carbón Alto, provincia de San Marcos, en el distrito de Gregorio Pita Pautamarca, en el departamento de Cajamarca. El primero está a una altitud de 3200msnm., entre los -13.9542 de latitud y -71.7597 de longitud. Mientras que el segundo se halla a una altitud de 3884msnm., entre los -07°07.627" de latitud sur y -78°10.269" de longitud oeste. La caracterización molecular se realizó en el Área de Biología Molecular del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2 Materiales

3.2.1 Material Vegetal

Las plantas fueron obtenidas de la colección 2011-2012 del Proyecto AGROECO-UNALM de las comunidades campesinas del Cusco y de Cajamarca (**Figura 3**). La colección consta de 251 accesiones del Cusco y 20 accesiones de Cajamarca. Los datos pasaporte de las accesiones utilizadas se observan en el **Anexo 1**.

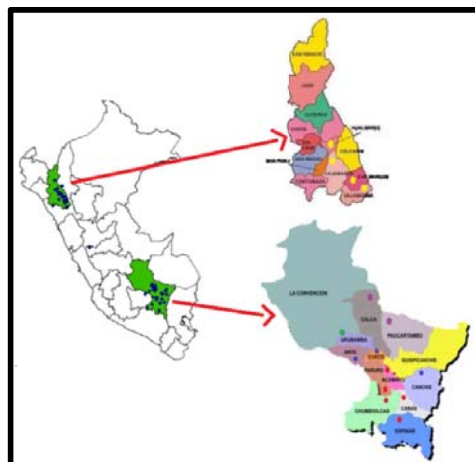


Figura 3: Procedencia de las accesiones de mashua de los departamentos de Cusco y Cajamarca Materiales y equipos de laboratorio

3.2.2 Materiales para la extracción de ADN

Reactivos Químicos

- Ácido Acético Glacial
- Agua Destilada
- Alcohol Isoamílico
- Bromuro de Hexadeciltrimetil Amonio (CTAB)
- β Mercaptoetanol
- Cloroformo
- Cloruro de Sodio
- EDTA (Ácido Etilen Diamino Tetra-Acético)
- Etanol Absoluto
- Isopropanol
- Nitrógeno Líquido
- RNAase A
- PVP (Polyvinilpyrrolidone)
- Tris (Tris Hidroxymethyl Amino Ethan)

Material de laboratorio

- Agitadores magnéticos
- Espátulas, pinzas y tijeras
- Contenedor de nitrógeno líquido
- Guantes de vinilo
- Magnetos
- Matraces erlenmeyer
- Morteros de porcelana con pistilos
- Pipetores o pipetas
- Puntas plásticas de 10, 200 y 1000 μ l
- Probetas 10, 100, 1000 ml.
- Racks polipropileno
- Tubos para micro centrífuga de 1.5 ml (Eppendorf)
- Vasos de precipitados

Equipos

- Autoclave
- Balanza analítica
- Bomba de vacío
- Cámara de baño maría
- Congelador a -20°C
- Estufa
- Horno microondas
- Potenciómetro
- Refrigeradora
- Vórtex

3.2.3 Materiales para la electroforesis

Reactivos Químicos

- Ácido acético glacial
- Acrilamida
- Agarosa
- Agua destilada
- Azul de bromofenol
- Bind silano adherente, silane A 174
- Bromuro de etidio
- Bisacrilamida (N,N'-methylene-bis-acrylamide)
- Formaldehído
- Formamida
- Hidróxido de sodio
- Marcador de peso fago λ digerido con enzima Pst I
- Nitrato de plata
- Orange G(**)
- Persulfato de amonio
- TEMED (N,N,N',N'-Tetra-metil etilen di-amina)
- Urea
- Xilen cianol

Materiales de Laboratorio

- Tubos eppendorf
- Pipetas
- Placas de 96 pocillos, capacidad de 200µl
- Racks polypropylne (soporte de tubos eppendorf)
- Termómetros
- Vasos precipitados

Equipos

- Cámara de electroforesis horizontal
- Cámara de electroforesis vertical
- Transiluminador UV ULTRA LUM
- Escáner
- Fuente de poder
- Horno microondas
- Shaker
- Bomba de vacío

3.2.4 Materiales para la PCR

Reactivos Químicos

- Adaptadores ECO DS y MseI DS
- Agua mili Q (agua ultra pura)
- Alcohol: 96 por ciento y absoluto
- BSA 10X
- Buffer 10X
- Buffer 10X Ligasa
- Cloruro de magnesio MgCl₂
- Desoxinucleotidos (dATP, dCTP, dGTP, Dttp)
- Enzimas de restricción: ECORI y MseI
- Enzima T4 ADN ligasa
- Enzima Taq - ADN polimerasa
- Iniciadores para ECO RI y Mse I

Materiales de Laboratorio

- Micropipetas regulables de 0.5-10µl, 2-20 µl, 100-1000 µl
- Placas de policarbonato PCR 96 pocillos
- Puntas para micropipetas
- Tapas de placas PCR de 96 pocillos
- Tubos strips 0.2ml para PCR

Equipos

- Micro centrífuga para tubos de 1.7 ml.
- Termociclador

Software

- NTSYs-pc versión 2.20
- Minitab versión 16
- Arlequin 3.01 (Excoffier *et al.*, 1992)
- Darwin

3.3 Métodos

3.3.1 Caracterización morfológica

A. Siembra de las accesiones

Para la caracterización morfológica, las accesiones del departamento de Cusco fueron sembradas en parcelas demostrativas en terreno de la comunidad de Huancco Pillpinto, en la provincia de Calca. Mientras que las accesiones de Cajamarca fueron sembradas en el caserío de Carbón Alto, provincia de San Marcos, en el distrito de Gregorio Pita Pautamarca. Se optó por elegir un diseño sistemático para la distribución de las accesiones en la parcela, tomando como criterio el orden alfabético de los nombres comunes de las mismas, considerando 5 repeticiones en el surco individual por accesión (5 tubérculos).

B. Definición de Descriptores

Los descriptores utilizados en la caracterización morfológica fueron seleccionados a partir de los propuestos por Arbizu y Tapia (1994), por Monteros (1997) y Durand (2006) con algunas modificaciones realizadas en el momento de la caracterización (**Anexo 2**). La lista de descriptores con sus estados fenológicos para la evaluación de las accesiones de mashua se muestra en la **Tabla 9**:

Tabla 9: Lista de los descriptores cualitativos para mashua

Estructura	Marcador	Estados	
Planta	Tipo de planta	1 Erecta, 2 Semi-erecta, 3 Postrado	
	Cobertura del suelo	1 Bajo, 2 Medio, 3 Alto	
Tallo	Color tallo	1 Verde, 2 Verde con rojo grisáceo, 3 Púrpura rojizo, 4 Verde con púrpura grisáceo, 5 Púrpura grisáceo o morado	
	Pigmentación axilar	1 Verde, 2 Verde con rojo grisáceo, 3 Verde con púrpura grisáceo, 4 Rojizo, 5 Púrpura grisáceo o morado	
	Color estípula	1 Verde, 2 Verde con rojo grisáceo, 3 Verde con púrpura grisáceo, 4 Rojiza, 5 Púrpura grisáceo o morado	
	Fasciación	0 Ausente, 1 Presente	
	Color haz	1 Verde amarillento, 2 Verde, 3 Verde oscuro	
Hojas	Color nervadura haz	1 Verde, 2 Verde púrpura, 3 Púrpura	
	Color predominante del envés	1 Verde claro, 2 Verde	
	Color secundario. envés	0 Ausente, 1 Presente	
	Color nervadura. envés	1 Verde, 2 Verde púrpura, 3 Púrpura	
	Color borde lamina	1 Verde, 2 Verde púrpura, 3 Púrpura	
	Forma lóbulo	1 Semicircular, 2 Circular, 3 Semicircular y circular	
	Número lóbulos	1 Tres, 2 Cinco, 3 Tres y cinco	
	Color peciolo	1 Verde, 2 Rojo verdoso, 3 Rojo, 4 Morado y morado con pigmentación rojiza	
	Flor	Primario de corola (externa e interna.)	0 Sin información, 1 Amarillo, 2 Anaranjado, 3 Anaranjado rojizo
		Secundario corola (externa e interna)	0 Sin información, 1 Ausente, 2 Amarillo oscuro, 3 Anaranjado, 4 Anaranjado rojizo
Color superior de la corola externa		0 Sin información, 1 Amarillo, 2 Anaranjado-amarillo, 3 Anaranjado	
Color inferior de la corola externa		0 Sin información, 1 Amarillo, 2 Amarillo - naranja	
Color cáliz		0 Sin información, 1 Naranja, 2 Rojo naranja, 3 Rojo, 4 Rojo oscuro	
Color pedúnculo flor		0 Sin información, 1 Rojo grisáceo con verde, 2 Rojo grisáceo, 3 Púrpura rojizo o púrpura, 4 Púrpura con verde, 5 Púrpura grisáceo	
Color espolón		0 Sin información, 1 Anaranjado, 2 Rojo naranja, 3 Rojo, 4 Rojo oscuro	
Espolón	Número de espolones	0 Sin información, 1 Uniespolonado, 2 Uni y biespolonado, 3 Uni, bi y triespolonado	
	Forma de espolón	0 Sin información, 1 Acampanado, 2 Cónico, 3 Cónico, acampanado y aberraciones	
Órganos de flor	Número de estigmas	0 Sin información, 1 Trífido, 2 Tetrafido, 3 Pentafido, 4 Tri y tetrafido, 5 Tri y pentafido, 6 Tetra y pentafido, 7 Tri, tetra, pentafido	
	Pigmentación de los estigmas	0 Sin información, 1 Ausente, 2 Presente	
	Pigmentación de los estilos	0 Sin información, 1 Ausente, 2 Presente	
	Número de estambres	0 Sin información, 1 < 8 estambres, 2 8 estambres, 3 > 8 estambres	
	Pigmentación filamentos	0 Sin información, 1 Ausente, 2 Presente	
Fruto	Presencia de fruto	0 Sin información, 1 Ausente, 2 Presente	
	Número carpelos	0 Sin información, 1 Sin semilla, 2 Tricarpelar, 3 Tetracarpelar, 4 Pentacarpelar, 5 Tri y tetracarpelar, 6 Tri y pentacarpelar, 7 Tetra y pentacarpelar, 8 Tri, tetra, pentacarpelar	
	Superficie de carpelo	0 Sin información, 1 Falta madurar, 2 Liso, 3 Rugoso	
Tubérculo	Tamaño	1 Pequeño (0-5:2.5cm), 2 Mediano (6-10: 2.6-5cm), 3 Grande (11 a más: 5.1 a mas)	
	Uniformidad	1 Baja, 2 Media, 3 Alta	
	Tipo de superficie	1 Rugosa, 2 Lisa, 3 Lisa y rugosa	

Continuación

Forma del tubérculo	1 Cónico acortado, 2 Cónico, 3 Cónico alargado, 4 Cónico elipsoidal, 5 Cilíndrico
Profundidad de los ojos	1 Superficiales, 2 Semiprofundos o ligeramente profundos, 3 Profundos
Tuberizaciones en los ojos	0 Ausencia, 1 Presencia
Color primario o predominante de la piel del tubérculo	1 Blanco, 2 Blanco amarillento (4d,8d,10d), 3 Amarillo verdoso (4a,b,c), 4 Amarillo (8a,b y 10a,b), 5 Amarillo naranja (13a,b y 17 b, c), 6 Naranja (25abc), 7 Rosado (34c, 35b), 8 Púrpura (187d), 9 Púrpura grisáceo (187b,c), 10 Morado (79a,b), 11 Café (200 c, d), 12 Negro (200a)
Color secundario de la piel del tubérculo	0 Ausente, 1 Amarillo (8a,b y 10 a, b, c), 2 Amarillo oscuro (13a,b,c), 3 Amarillo naranja (17a,b,c), 4 Naranja (25b,c), 5 Rosado o Rojo naranja (35b,c y 37a), 6 Rojo (42a,b,c), 7 Rojo oscuro (45a,b,46a), 8 Rojo grisáceo (183b,c), 9 Púrpura o Magenta (77b,d), 10 Púrpura grisáceo (187a,b,c), 11 Morado (79a,b), 12 Morado grisáceo (187b), 13 Negro (200a)
Distribución del color secundario de la piel del tubérculo	0 Ausente, 1 Ojos, 2 Debajo de los ojos, 3 Hacia el ápice, 4 Hacia la base, 5 Igualmente distribuido, 6 Ojos y debajo de los ojos, 7 Ojos y ápice, 8 Ojos y base, 9 Debajo de los ojos y hacia el ápice, 10 Debajo de los ojos y hacia la base, 11 Ojos, debajo de los ojos y hacia el ápice, 12 Ojos, debajo de los ojos y hacia la base, 13 Ojos, hacia el ápice y hacia la base, 14 Debajo de los ojos, hacia el ápice y hacia la base, 15 Irregularmente distribuido
Forma de coloración	0 Ausente, 1 Jaspe, 2 Bandas, 3 Puntos, 4 Manchas en los ojos, 5 Jaspes y bandas, 6 Jaspes y puntos, 7 Jaspes y manchas en los ojos, 8 Bandas y puntos, 9 Bandas y manchas en los ojos, 10 Puntos y manchas en los ojos, 11 Jaspes, bandas y puntos, 12 Jaspes, bandas y manchas en los ojos, 13 Bandas, puntos y manchas en los ojos, 14 Jaspes, puntos y manchas en los ojos
Color predominante de la pulpa del tubérculo	1 Blanco, 2 Blanco amarillento (4d,8d,10d), 3 Amarillo (8a,b,c; 10a,b,c y 13a,b,c), 4 Amarillo naranja (17a,b,c), 5 Naranja (24 a, b, c), 6 Naranja oscuro (25b,c), 7 Morado (79a,b)
Color secundario de la pulpa	0 Ausente, 1 Amarillo claro(8a,b,c y 10 a, b, c), 2 Amarillo oscuro (13a,b,c), 3 Amarillo Naranja (17a,b,c), 4 Rojo grisáceo (183 c, d), 5 Morado (79a,b), 6 Morado grisáceo (187b)
Distribución del color secundario de la pulpa del tubérculo	0 Ausente, 1 Epidermis, 2 Zona cortical, 3 Anillo vascular, 4 Medula, 5 Epidermis mas zona cortical, 6 Zona cortical más anillo vascular, 7 Medula más epidermis, 8 Anillo más epidermis, 9 Medula más anillo, 10 Medula mas zona cortical, 11 Epidermis, anillo vascular y medula

C. Caracterización en campo

Se caracterizaron plantas de mashua procedentes de 11 provincias del departamento del Cusco y de 3 provincias del departamento de Cajamarca, utilizando 45 caracteres morfológicos cualitativos y 4 caracteres cuantitativos. De los caracteres cualitativos 32 caracteres corresponden a la parte aérea y 13 a los tubérculos.

La caracterización de la parte aérea de la planta se realizó durante la última semana del mes de Abril y primera semana de Mayo, cuando más del 50 por ciento de las plantas se encontraban en plena floración. Se evaluaron 32 caracteres morfológicos en 5 plantas por accesión.

La caracterización de los tubérculos se realizó durante el mes de Julio, inmediatamente después de la cosecha durante el mes de Julio, con la finalidad de evitar variación de color. Para ello los tubérculos se evaluaron en campo y además fueron trasladados al fundo de la UNALM en donde en primer lugar se ordenaron los tubérculos según su color principal desde el más claro (Blanco) hasta el más oscuro (Morado), su tamaño y formas de coloración secundaria. Se evaluaron 13 caracteres, en 5 tubérculos por cada accesión. Para las evaluaciones se empleó la tabla de colores de Royal Society of Horticulture y se tomaron fotografías.

3.3.2 Caracterización molecular

A. Extracción de ADN

El ADN genómico total fue extraído de hojas jóvenes frescas, según la metodología de Doyle & Doyle (1990), la cual consiste en mezclar en un tubo eppendorf de 1.5 ml. hojas jóvenes, previamente trituradas con nitrógeno líquido, con 0.7 ml de CTAB 2X (20 g. CTAB, 81.81 g. NaCl, 40 ml. 0.5 M EDTA a pH 8.0, 100 ml. de 1M Tris:HCl a pH 8.0 y 10 g. de PVP para 1 L.) con β -mercaptol e incubados a 65°C durante 45 min. Después de la incubación se añadió 0.7 ml. de cloroformo: alcohol isoamilico (24:1) y se centrifugo a 14 000 rpm. durante 10 min. Luego se transfirió el sobrenadante y se añadió 0,065 ml. de CTAB 10X (10 g. CTAB, 5 g. NaCl, 10 ml. 0.5 M EDTA a pH 8.0 para 100 ml.) y cloroformo y se volvió a centrifugar. Después se volvió a transferir en sobrenadante y se precipito con 2-propanol. Por último se lavó el ADN con etanol al 70 por ciento y al 90 por ciento, para que luego se diluya en T₁₀E_{0.1} (100 ml. de 1M Tris: HCl a pH 8.0, 0.5 M EDTA a pH 8.0 para 400 ml.) y se almacene a -20°C.

B. Determinación de la calidad y concentración de ADN

La determinación de la calidad y concentración del ADN en las muestras extraídas se realizó en geles de agarosa al 1 por ciento (2,5 g. Agarosa en 250 ml. TBE 1X) en una cámara electroforética horizontal sumergido en buffer TBE 1X (buffer TBE 10X- 108 g. de Tris Base, 55 g de Ácido Bórico, 40ml. de 0.5 M EDTA a pH 8 para 1L.) Para ello se realizó previamente una dilución 1:10 de 1 μ l de ADN extraído con 9 μ l de tampón de carga SALB 1X (SALB 10X- 75 mg. Azul de Bromofenol, 75 mg. Xilene Cyanol, 100 mg. Orange G, 2.5 ml. TBE10X y 30 g. Sucrosa en 50 ml.). La estimación de la concentración se realizó mediante la comparación de la intensidad de banda de ADN con la primera

banda del fago λ digerida con la enzima de restricción Pst I (280 ng/ μ l equivalente a 14800 pb). La visualización de dichas bandas se hizo con bromuro de Etidio (10mg/ml), bajo la exposición de rayos UV.

C. Obtención de marcadores AFLP

La técnica usada en la detección de marcadores moleculares es la técnica de AFLP (Polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados), según el manual de protocolos de Biología Molecular del Instituto de Biotecnología (IBT). Esta técnica consta de 4 pasos importantes según el procedimiento desarrollado por Vos *et al.*, (1995) digestión, ligación, pre-amplificación y amplificación selectiva; con el empleo de 6 combinaciones de iniciadores.

a. Digestión

En esta primera etapa, la digestión se efectuó con 50ng de ADN genómico con enzimas de restricción Eco RI y Mse I, haciendo un volumen total de 10 μ l por muestra. Cada pocillo se homogenizó y centrifugó y posteriormente se incubó a 37°C por un lapso de 24 horas (Vos *et al.*, 1995, modificado por IBT), tal como se muestra en la **Tabla 10**.

Tabla 10: Requerimiento para la digestión de ADN genómico

Digestión				
Reactivos	1X (μ l)		220X (μ l)	
EcoRI NEB (100,000U/ml) = 20U	0.1	μ l	22	μ l
MseI NEB (50,000U/ml) = 5U	0.05	μ l	11	μ l
BSA 10X (1mg/ml)	1	μ l	220	μ l
10X NEB	1	μ l	220	μ l
H ₂ O Mili Q	2.85	μ l	627	μ l
50 ng ADN	5	μ l	1100	μ l

b. Ligación de adaptadores

En esta segunda etapa, la ligación se efectuó con el ADN digerido de la etapa anterior, al cual se le agregó la mezcla de reacción de ligación (**Tabla 11**); luego de homogenizar y mezclar se incubó a temperatura ambiente por un lapso de 24 horas. Una vez digerido y ligado el ADN se realizó la dilución 1:4 con tampón T₁₀E_{0.1}, el cual sirvió para realizar la amplificación pre-selectiva (Vos *et al.*, 1995, modificado por IBT).

Tabla 11: Requerimiento para la ligación de ADN digerido a los adaptadores

Ligación		
Reactivos	1X (μl)	220X (μl)
EcoRI DS adapter	0.5 μl	110 μl
MseI DS adapter	0.5 μl	110 μl
10X Ligase Buffer from NEB	1.25 μl	275 μl
T4 ligase NEB (400000U/ml)**	0.15 μl	33 μl
H ₂ O Mili Q	0.1 μl	22 μl

c. Pre Amplificación selectiva

En esta tercera etapa, el proceso consistió en la pre-amplificación selectiva del ADN-digerido-ligado-diluido, tal como se observa en la **Tabla 12**. Para ello, se realizó una PCR con los iniciadores complementarios al sitio de corte de Eco RI y Mse I y a la secuencia del adaptador. Para este paso se tomó 5μl del ADN-digerido-ligado-diluido y se homogenizó con 20μl de máster mix pre-selectivo (Tabla 12). La PCR se llevó a cabo en un termociclador, con un programa de amplificación consistió en 1 ciclo a 72°C por 2 minutos y 94°C por 4 minutos, luego 22 ciclos a 94°C por 30s., 56°C por 60s. y 72°C por 60s., seguido de 22 ciclos a 72°C por 5 minutos y 8°C de almacenamiento constante. Concluida esta etapa se realizó nuevamente una dilución de 1:4 con Agua Mili Q, el cual sirvió para realizar la amplificación selectiva (Vos *et al.*, 1995, modificado por IBT).

Tabla 12: Requerimiento para la pre-amplificación del ADN digerido-ligado

Pre-Amplificación		
Reactivos	1X (μl)	220X (μl)
H ₂ O Mili Q	11.55 μl	2541 μl
10X PCR Buffer	2.5 μl	550 μl
ClMg	2.5 μl	550 μl
dNTP mix(5mM)	1.25 μl	275 μl
EcoRI+0 primer (10uM)	1 μl	220 μl
MseI+0 primer (10uM)	1 μl	220 μl
Taq polymerase	0.2 μl	44 μl
50 ng ADN RL	5 μl	1100 μl

d. Amplificación selectiva

En esta cuarta etapa, el proceso consistió en la amplificación selectiva de un número limitado de fragmentos de restricción, el cual se logró con el uso de la combinación de iniciadores que llevan tres nucleótidos selectivos adicionales. Para esto, se tomó 2µl de ADN pre selectivo-diluido y se homogenizó con 8µl de máster mix selectivo (Tabla 13).

Tabla 13: Requerimiento para la amplificación selectiva del ADN pre-amplificado

Amplificación Selectiva		
Reactivos	1X (µl)	220X (µl)
H ₂ O Mili Q	2.7 µl	594 µl
10X PCR Buffer	1.1 µl	242 µl
ClMg	1.1 µl	242 µl
dNTP mix(5mM)	0.6 µl	132 µl
EcoRI+3 primer (10uM)	2 µl	440 µl
MseI+3 primer (10uM)	0.3 µl	66 µl
Taq polymerase	0.2 µl	44 µl
50 ng ADN RLA	2 µl	440 µl

La PCR se llevó a cabo en un termociclador, con un programa de amplificación que consistió en 1 ciclo a 94°C por 4 minutos, seguido de 10 ciclos a 94°C por 20s., 66°C por 30s. y 72°C por 2 minutos; luego 20 ciclos a 94°C por 20s., 56°C por 30 minutos y 72°C por 2 minutos y finalmente 20 ciclos a 60°C por 30s y 8°C a almacenamiento constante (Vos *et al.*, 1995, modificado por IBT).

Finalizada la amplificación selectiva se procedió a añadir 5µl de DYE 1X (9.6 ml. de Formamida, 0.2M EDTA y 100 µl de Dye Stock (50 mg. Xilencianol y 50 mg. Azul de Bromofenol en 1ml. de Agua Mili Q), el cual nos permitió observar la corrida de las muestras a través del gel y la visualización de las mismas.

e. Selección previa de iniciadores AFLP

Usando ADN de 8 muestras de mashua diferentes morfológicamente se hizo una selección previa de iniciadores AFLP, con el fin de escoger las combinaciones más polimórficas y que brindaran bandas de mayor calidad, para escoger los iniciadores finales se tomó en cuenta tanto el número de bandas polimórficas obtenidas por combinación de iniciadores como la nitidez y definición de las bandas.

D. Electroforesis en geles de poliacrilamida

a. Preparación de geles

Se preparó geles de poliacrilamida al 6 por ciento (420 g. úrea, 60 g. acrilamida, 3g. bis acrilamida y 50 ml. TBE 10X para 1L.) usando vidrios de 41 x 60 cm de 4mm de espesor, uno con muesca y el otro sin muesca. Ambos vidrios fueron limpiados y pulidos con etanol 96 por ciento con papel toalla. Posteriormente se procedió a tratar los vidrios, el vidrio con muesca se trató con repelente de lluvia usado para evitar la retención de las gotas de agua en el parabrisas de los automóviles (“Rain Repell”); mientras que el vidrio sin muesca fue tratado con una solución adherente (15 µl de Bind Siline, 15 µl de ácido acético y 1.5 ml de etanol absoluto). Luego de los respectivos tratamientos se procedió a pulir y dejar secar los vidrios por 10 minutos. Transcurrido ese tiempo se procedió a colocar los separadores en medio de los dos vidrios en paralelo, el cual aseguramos con abrazaderas de metal. Luego se preparó el gel: 70 ml. de acrilamida, 45 µl. de TEMED y 450 µl de APS (1g. Persulfato de amonio/10 ml. de agua miliQ); después verter el gel en los vidrios y se dejó polimerizar por 30 minutos.

b. Electroforesis del producto amplificado

Se preparó la cámara electroforética colocando verticalmente los vidrios con gel de acrilamida, luego se procedió a añadir buffer TBE 0.5X en la parte superior de la cámara (cátodo) y TBE 1X en la parte inferior de la cámara (ánodo), y se conectó a la fuente poder por 15 minutos a 1600 voltios, iniciándose así la pre-corrída. Concluido ese tiempo se eliminó el buffer 0.5X con ayuda de una jeringa de los pocillos. Una vez limpios los pocillos se cargaron 5µl de ADN de la amplificación selectiva en cada uno, y luego se conectó la cámara a la fuente de poder iniciando así la migración a través del gel. El voltaje varió según la migración (300V o 1400V) y el tiempo (4h o 17h), y la migración varió según la combinación de iniciadores.

c. Tinción y revelado de los geles

La visualización de los fragmentos de ADN amplificados se realizó a través de la tinción y revelado de los geles de poliacrilamida en nitrato de plata. Realizando la fijación, tinción, revelado y secado del gel, según el procedimiento descrito en los protocolos de laboratorio del CIMMYT modificado por IBT. Esta metodología consistió en 4 pasos: fijación del ADN al gel con el empleo de la solución de fijación (100ml. Ácido acético, 5 ml. Etanol en

1L. de Agua destilada) por 20 minutos, tinción de las bandas con la solución de nitrato de plata (2 g. de Nitrato de plata en 1L. de Agua destilada) por 20 minutos, revelado de las bandas con la solución de hidróxido de sodio (30 g. de NaOH, 10 ml. de Formaldehído en 1L. de Agua destilada) por 15 minutos y enjuague con Agua destilada para eliminar los excesos.

5.4.3 Análisis de datos

A. Análisis de los datos de la caracterización morfológica

Los datos morfológicos fueron ingresados a una tabla u hoja de cálculo Microsoft Excel 2007, siendo las filas las accesiones y las columnas los caracteres morfológicos. Los datos obtenidos de este análisis fueron del tipo multiestado, en donde cada carácter presentó su respectivo número de estados.

a. Análisis univariado

i. Análisis porcentual

Una vez generada la matriz, se procedió a realizar un análisis univariado o análisis porcentual, es decir el cálculo de frecuencias y modas de cada uno de los descriptores morfológicos cualitativos evaluados, este análisis se realizó en el software Mitab versión 16 y las gráficas fueron realizadas en Microsoft Excel 2007.

ii. Determinación del índice de diversidad de Shannon-Weaver

La cuantificación de la variación se realizó mediante el empleo del índice de Diversidad de Shannon Weaver. Para ello se estimó la variabilidad de cada carácter cualitativo mediante la siguiente formula:

$$H^+ = - \sum_{i=1}^n pi(\log_2 pi) / \log_2 n$$

Donde pi=frecuencia del estado de cada descriptor, y n=número de estados. El índice de diversidad de Shanon Weaver presenta un rango de valores de 0 a 1, donde 0 indica la ausencia de diversidad y 1 indica la máxima diversidad (Siopongco *et al.*, 1999).

b. Análisis multivariado

i. Análisis de correspondencia múltiple

Posterior a un primer análisis de agrupamiento, se realizó un análisis de correspondencia múltiple, esta técnica descriptiva o exploratoria tuvo como objetivo resumir la gran cantidad de datos en un número reducido de dimensiones, con la menor pérdida de información posible. El análisis de correspondencia múltiple secuencial se realizó para seleccionar los descriptores más informativos y el criterio de selección de los órdenes de contribución promedio. La selección basada en el promedio del orden de contribución de los descriptores (O_s) en los tres primeros ejes factoriales del análisis completo y el del último eje factorial (O'_p) (Silva *et al.*, 2013).

$$O_s = (O_1 + O_2 + O_3 + O'_p) / 4$$

Para ello se empleó el paquete FactoMineR en software libre “R” versión 3.1.0 (Olivera *et al.*, 2014).

ii. Análisis de agrupamiento

Los datos morfológicos fueron analizados mediante el coeficiente de distancia taxonómica, en el paquete estadístico NTSYS versión 2.2.

$$D_{jk} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - X_{ik})^2 / n}$$

Donde n es el número de características, X_{ij} es el valor del carácter i del OTU j y X_{ik} es el valor carácter i del OTU k .

Posterior al cálculo de las distancias entre cada par de accesiones con el coeficiente de distancia taxonómica promedio, se procedió a realizar el análisis de agrupamiento o elaboración del dendograma, según el algoritmo UPGMA, dentro del módulo SAHN del programa NTSYS - pc versión 2.2 (Applied Biostatistics Inc., Setauket, Nueva York, EE. UU.).

B. Análisis de los datos de la caracterización molecular

Las bandas se registraron mediante una matriz binaria, en la cual a las bandas presentes se les asignó el valor de uno y a las ausentes se les asignó el valor de cero. Para el análisis solamente fueron considerados aquellos fragmentos con media o alta intensidad, siendo eliminadas aquellas bandas tenues o dudosas. Para mantener un registro de cada banda estas fueron identificadas con su combinación de iniciadores respectiva. Se asumió que el patrón de las bandas muestra dominancia, es decir, la presencia de la banda representa al genotipo homocigoto dominante y heterocigoto, y la ausencia corresponde al genotipo homocigoto recesivo. Todos los datos fueron ingresados a una tabla u hoja de cálculo Microsoft Excel 2007, siendo las filas los loci AFLP y las columnas las entradas.

a. Análisis univariado

i. Determinación del índice de contenido polimórfico (PIC)

El porcentaje de polimorfismo se calculó como la proporción de bandas polimórficas sobre el número total de bandas. La variabilidad para cada locus se midió utilizando el contenido de índice de polimorfismo (PIC).

Se calculó el contenido de información polimórfica (PIC) para cada combinación de iniciadores según la siguiente fórmula:

$$1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + \sum_{i=1}^n p_i^4$$

Donde p_i es la frecuencia alélica y n es el número total de bandas (Hildebrant *et al.*, 1992). PIC máximo para marcadores dominantes es 0,5 (De Rieck *et al.*, 2001).

Como primer paso se calcularon los PIC para cada marcador polimórfico o fragmento y luego se procedió a calcular el índice de iniciador AFLP para cada combinación mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de iniciador} = \sum (PIC_{a1} + PIC_{a2} + \dots + PIC_{ax}) / L$$

Donde $a1$, $a2$, ax son los fragmentos polimórficos y L el número total de bandas por combinación de primers. Los cálculos se realizaron en Microsoft Excel 2007.

ii. Determinación del índice de diversidad de Shannon-Weaver

Se determinó el índice de diversidad de Shannon para la cuantificación de la diversidad obtenida a partir de las bandas generadas por los marcadores AFLP. Para ello se estimó la variabilidad mediante la siguiente fórmula:

$$S = - \sum_{i=1}^n p_i \ln(p_i)$$

Donde p_i es la frecuencia de la presencia banda en el marcador i -ésimo dentro de la población. Este índice da más peso a la presencia que a las ausencias de bandas.

Esto no tiene ningún soporte biológico real, aunque podría explicar las ausencias de bandas homoplásticas (Bonin *et al.*, 2007).

b. Análisis multivariado

i. Análisis de agrupamiento

El análisis de agrupamiento fue calculado en base a la matriz de similaridad generada por cada coeficiente de similitud. Los coeficientes de similitud calculados fueron Simple Matching y Jaccard, para estimar las relaciones entre las accesiones. Un dendrograma de relación genética fue producido, en base a cada matriz de similaridad, por la agrupación de los datos utilizando el método del grupo de pares no ponderados con la media aritmética (UPGMA). Además se calculó las correlaciones de coeficiente cofenético, y prueba de Mantel para verificar el ajuste del dendrograma con la matriz de similaridad usada. Todos los pasos anteriores se realizaron dentro del programa NTSYS - pc versión 2.2 (Applied Biostatistics Inc., Setauket, Nueva York, EE. UU.).

ii. Análisis de Coordenadas Principales (ACoP)

El análisis de coordenadas principales es un método de escalamiento u ordenación a partir de una matriz de similaridad o dissimilaridad entre un grupo de individuos para producir un gráfico de pocas dimensiones de los datos de tal manera que las distancias entre los puntos en la gráfica están cerca de diferencias originales (Mohammadi y Prasanna, 2003).

El análisis de coordenadas principales es una técnica de ordenación que permite la proyección de los datos en dos o tres ejes, a fin de visualizar las diferencias en los individuos e identificar más fácilmente la presencia de grupos. Para poder usar el análisis

de coordenadas principales, es necesario calcular primero los auto valores que representan al valor de la variancia atribuida a un componente, y luego los auto vectores, que son la correlación entre la variable original y el componente principal.

El análisis de coordenadas principales se realizó en el programa DARwin versión 5.0144, que permite de manera más fácil la identificación de grupos, así como también nos permite calcular el porcentaje de variación que explican los primeros ejes. Para poder hacer correctamente este análisis es necesario partir de una matriz de disimilitud y que tenga la propiedad de ser una matriz de distancias euclidianas.

c. Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Finalmente, la partición de la varianza molecular dentro y entre los grupos y de las adhesiones se calculó mediante la técnica de AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) utilizando el software ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2001). Se utilizó el análisis de varianza molecular (AMOVA) para estudiar los patrones y el grado de parentesco revelado por escalamiento multidimensional del dendrograma de agrupamiento. Además se usó la estructura de la población con los datos de los marcadores de diferentes genotipos, sin dejar de ser lo suficientemente flexible para adaptarse a los diferentes tipos de supuestos sobre la evolución del sistema genético).

El AMOVA proporciona parámetros de estructura genética en forma de estadísticos F que permiten el análisis de la estructura en poblaciones subdivididas para medir la distancia genética entre las subpoblaciones (Excoffier *et al.*, 1992). Wright aprovecha la consistencia de 3 coeficiente diferentes que estiman:

- F_{CT} La correlación de poblaciones entre grupos
- F_{SC} La correlación de haplotipos entre poblaciones dentro de grupos (Entre grupos)
- F_{ST} La correlación de haplotipos entre poblaciones entre grupos (Dentro de poblaciones)

El rango ($F_{ST}=0$), cuando no existe divergencia genética, es decir las subpoblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas. F_{ST} es una medida de diferenciación genética de las subpoblaciones y siempre es positiva. F_{SC} y F_{CT} son medidas de desviación de las proporciones de Hardy-Weinberg dentro de subpoblaciones y en el total de poblaciones,

respectivamente, donde los valores positivos indican una deficiencia de heterocigotos, y valores negativos indican exceso de heterocigotos.

El AMOVA se realizó formando grupos y subgrupos; los grupos fueron los departamentos y los subgrupos estuvieron conformados por las cuencas hidrográficas.

C. Congruencia entre la caracterización morfológica y molecular

La congruencia entre la caracterización morfológica y molecular se midió a través de las coincidencias entre las matrices de similitud de los caracteres morfológicos y de los marcadores AFLP, también se realizó una comparación visual. Para ello se realizó el test de Mantel que evaluó la correlación entre las matrices y el rango va de -1 a 1, donde la máxima correlación está dada por la mayor proximidad al valor absoluto 1.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de la variabilidad morfológica

4.1.1 Selección de descriptores

La lista de descriptores empleada se muestra en la tabla 9, se muestra un total de 45 descriptores del tipo cualitativo. Los caracteres que no fueron seleccionados fueron aquellos que no presentan variación dentro de la población evaluada; como por ejemplo enroscamiento con presencia en un 100 por ciento en la población; así como también aquellos caracteres problemáticos o muy difíciles en el momento de la evaluación; como la longitud de la planta y el diámetro del entrenudo, debido a que es una planta trepadora no se pudo definir exactamente los parámetros para ambos caracteres, así como la abundancia de los mismo en cada planta.

Sin embargo se consideraron 4 descriptores cuantitativos como son la altura de planta, la longitud del tubérculo, el diámetro del tubérculo y el número de ojos por tubérculos, puesto que dichos caracteres son los más relacionados con la producción de mashua y nos sirvieron con la finalidad de determinar la variación entre departamentos.

4.1.2 Análisis porcentual de descriptores morfológicos cualitativos

A. Características del follaje

En las características de follaje se consideró el tipo de planta y la cobertura del suelo. El tipo de planta que se observó en Cusco es mayormente semi-erecta (48,21 por ciento), mientras que en Cajamarca es mayormente postrada (60 por ciento) y en ambos departamentos abundan ambos estados con respecto al erecto que se presenta en una menor proporción (15,3 y 10 por ciento).

En la cobertura del suelo se observó que en Cusco abundó la alta cobertura (68,92 por ciento); mientras que en Cajamarca la cobertura media y alta se observó igual (45 por ciento).

Además ambos departamentos mostraron pocas accesiones que presentaron una baja cobertura del suelo (9,16 por ciento y 10 por ciento). La gráfica de porcentajes de caracteres de follaje en Cusco y Cajamarca se encuentra en la **Figura 4**.

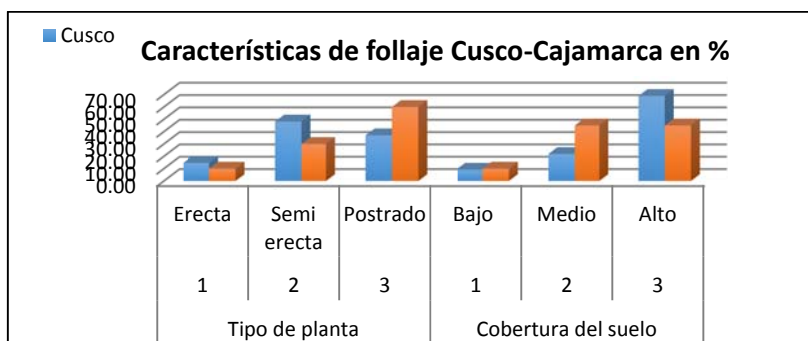


Figura 4: Follaje de los departamentos de Cusco y Cajamarca

B. Características del Tallo

En las características de los tallos se consideró el color del tallo, la pigmentación axilar, el color de la estípula y la fasciación. Tanto el color de tallo como la pigmentación axilar y el color de la estípula, mostraron estados del descriptor muy semejantes.

El color de tallo presentó 5 diferentes estados, los cuales se encontraron en ambos departamentos; en ambos el color verde rojizo fue el más común, en Cusco 39,44 por ciento y en Cajamarca 55 por ciento. Sin embargo, en Cusco el estado más bajo fue el púrpura grisáceo (5,98 por ciento); mientras que en Cajamarca fue el púrpura rojizo (5 por ciento).

La pigmentación axilar también presentó 5 estados, en Cusco se encontró los 5 estados; mientras que en Cajamarca se encontró 3. Además, mientras que la pigmentación axilar en Cusco es predominantemente verde con rojo grisáceo (39,84 por ciento) y la menos común es verde (7,57 por ciento); en Cajamarca predomina el verde (70 por ciento) y el verde con rojo grisáceo y el púrpura grisáceo presentan igual frecuencia (15 por ciento).

El color de la estípula también presenta 5 estados, y en ambos departamentos se encontró los cinco estados, en Cusco predominó la estípula rojiza (43,43 por ciento) y la menos común fue la púrpura grisáceo o morada (5,98 por ciento) mientras que en Cajamarca predominó la estípula color verde con rojo grisáceo (35 por ciento) y la menos común fue la verde con púrpura grisáceo (5 por ciento).

La presencia de fasciación en tallo, se observó solo en las entradas de Cusco con un porcentaje de 9,16 por ciento; mientras que en Cajamarca no se observó, además dicho carácter no fue observado en todas las repeticiones de cada accesión. La gráfica de porcentajes de caracteres de tallo en Cusco y Cajamarca se encuentra en la **Figura 5**.

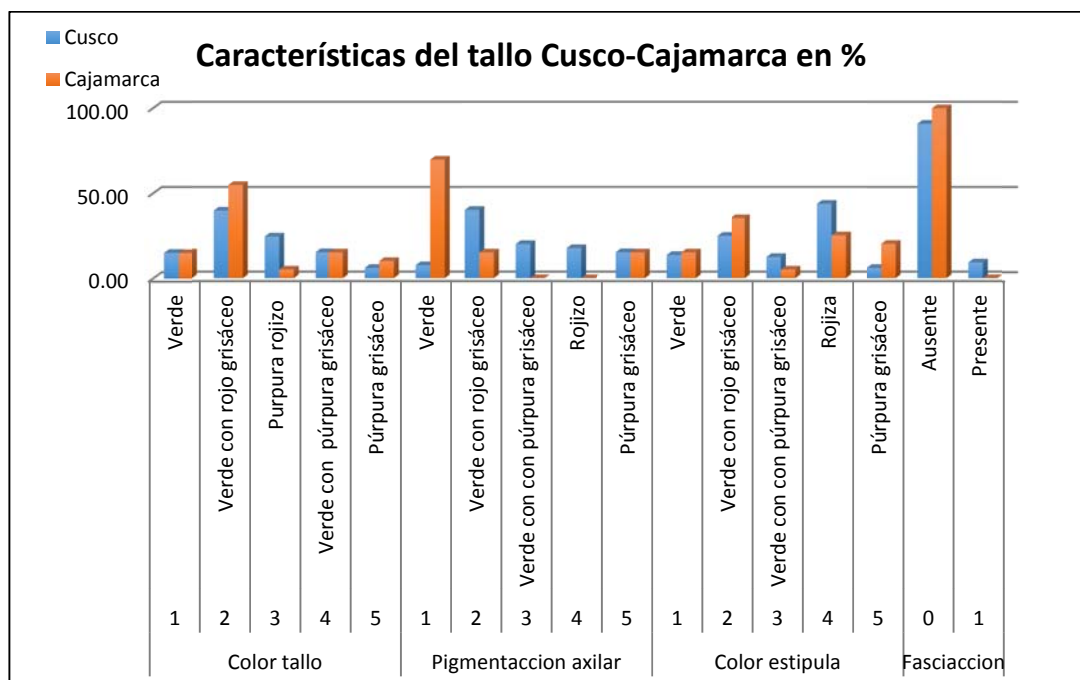


Figura 5: Características de los tallos de los departamentos de Cusco y Cajamarca

C. Características de las hojas

La gráfica de los nueve caracteres de las hojas en Cusco y Cajamarca se muestra en la **Figura 6** en porcentajes. El color del haz de la hoja mostro 3 estados en ambos departamentos, en donde predominó el color verde en el haz de la hoja (56,57 por ciento en Cusco y 70 por ciento en Cajamarca) y el color menos común fue el verde amarillento en ambos departamentos (11,16 por ciento en Cusco y 10 por ciento en Cajamarca).

El color de la nervadura del haz varió en 3 estados en Cusco, el color más predominante en la nervadura del haz fue el verde púrpura (52,99 por ciento) y el de menor frecuencia fue el púrpura (5,98 por ciento). Sin embargo, en Cajamarca no hubo variación de dicho carácter y todas las hojas mostraron un color de la nervadura verde.

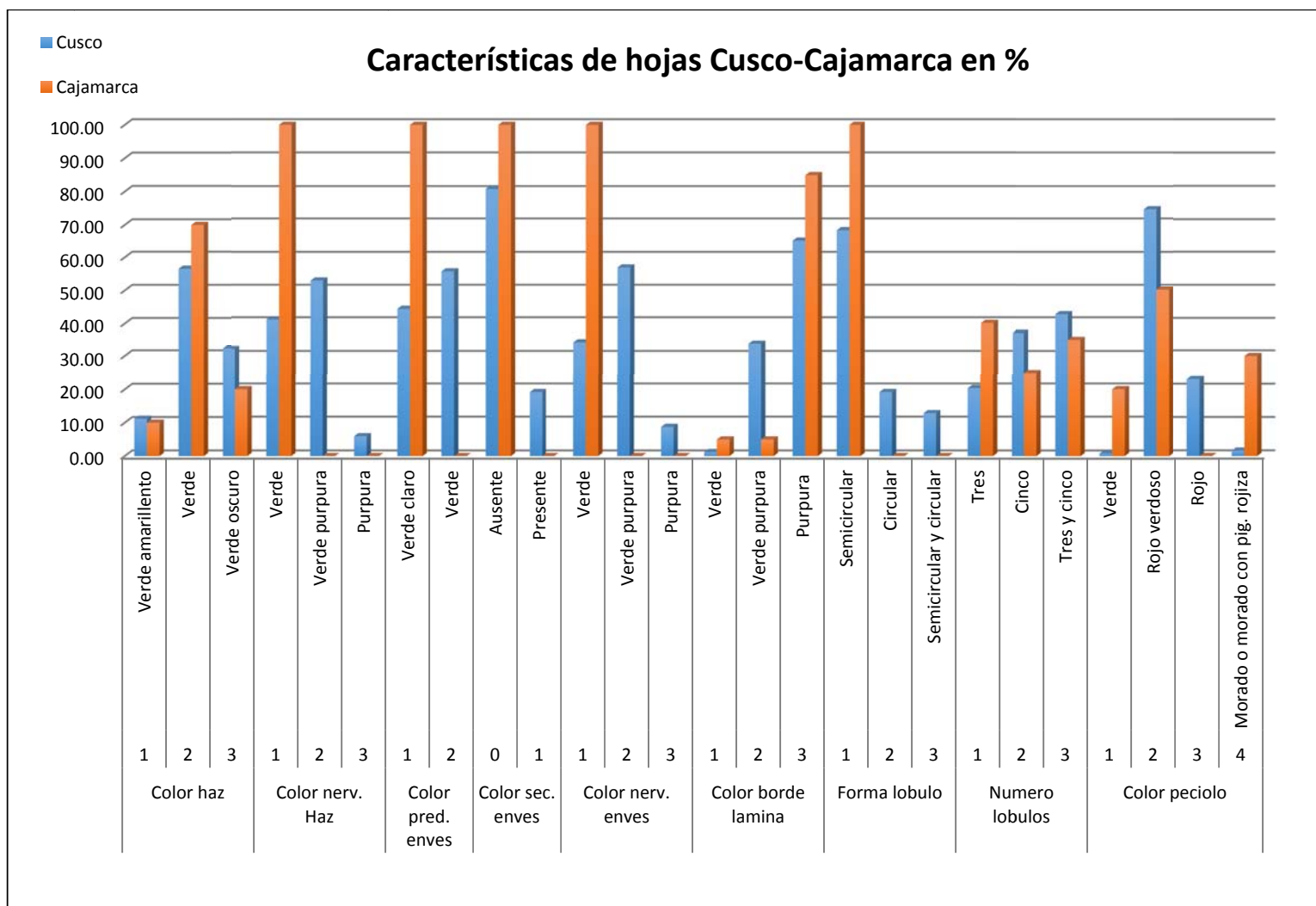


Figura 6: Características de las hojas de los departamentos de Cusco y Cajamarca

El color predominante del envés solo presentó 2 estados, los cuales solo se encontraron en Cusco, siendo 44,22 por ciento verde y 55,78 por ciento verde claro. Sin embargo, en Cajamarca se encontró solo un estado, es decir todas las hojas presentaron un color verde claro en el envés. Además, pocos individuos presentaron un color secundario en el envés (19,12 por ciento) y este se observó solo en la población de Cusco.

El color de la nervadura del envés mostro 3 estados, los cuales solo se observaron en Cusco, siendo el de mayor frecuencia la nervadura de color verde púrpura (56,97 por ciento); mientras que en Cajamarca solo se encontró nervaduras del envés de color verde.

El color del borde de la lámina también presentó 3 estados, los que se encontraron en ambos departamentos. En ambos departamentos predominó el color púrpura en el borde de la lámina (64,94 por ciento en Cusco y 85 por ciento en Cajamarca); mientras que el color del borde de la lámina de menor frecuencia fue el verde (1,20 por ciento) y solo se encontró en Cusco.

La forma del lóbulo de las hojas fue de dos tipos, sin embargo se incluyó un tercer estado del descriptor debido a la presencia de ambos estados en algunas accesiones, sin embargo solo en Cusco se encontraron dichos estados. En Cusco predominó la forma semicircular (68,13 por ciento) y en menor frecuencia se encontró las accesiones que presentaron forma semicircular y circular a la vez (12,75 por ciento); mientras que en Cajamarca no hubo variación en la forma del lóbulo, todas fueron semicirculares.

El número de lóbulos al igual que la forma fueron dos; sin embargo se incluyó un tercer estado debido a la presencia de ambos en algunas accesiones. En Cusco predominaron las hojas con tres y cinco lóbulos (42,63 por ciento); mientras que en Cajamarca predominaron las hojas con tres lóbulos (40 por ciento). Sin embargo los otros estados se presentaron ligeramente más bajos que el predominante en ambos departamentos.

El color del peciolo presentó 4 estados; sin embargo en Cajamarca se encontraron solo 3 estados; en ambos departamentos predominaron accesiones con peciolos de color rojo verdoso (74,50 por ciento en Cusco y 50 por ciento en Cajamarca), mientras que en menor proporción se encontró peciolos de color verde (0,80 por ciento en Cusco y 20 por ciento en Cajamarca).

D. Características de la Flor

Las características de las flores evaluadas fueron los pétalos, los espolones y los órganos florales. En todos los descriptores de flor se añadió el estado sin información (0), debido a la ausencia de este durante las fechas de evaluación. Las accesiones que no presentaron estos descriptores fueron: UNAQA-074; UNACA-009 y UNACA-016; la primera pertenece a la población de Cusco y las dos últimas pertenecen a la población de Cajamarca.

a. Características de los pétalos

La gráfica de porcentajes de los caracteres de flor en Cusco y Cajamarca se encuentra en la **Figura 7**. Los pétalos incluyeron los colores de la corola primario y secundario, color superior e inferior de la corola, colores del cáliz y color del pedúnculo de la flor. En los descriptores mencionados se añadió el estado sin información (0), debido a la ausencia del descriptor en la accesión durante las fechas de evaluación.

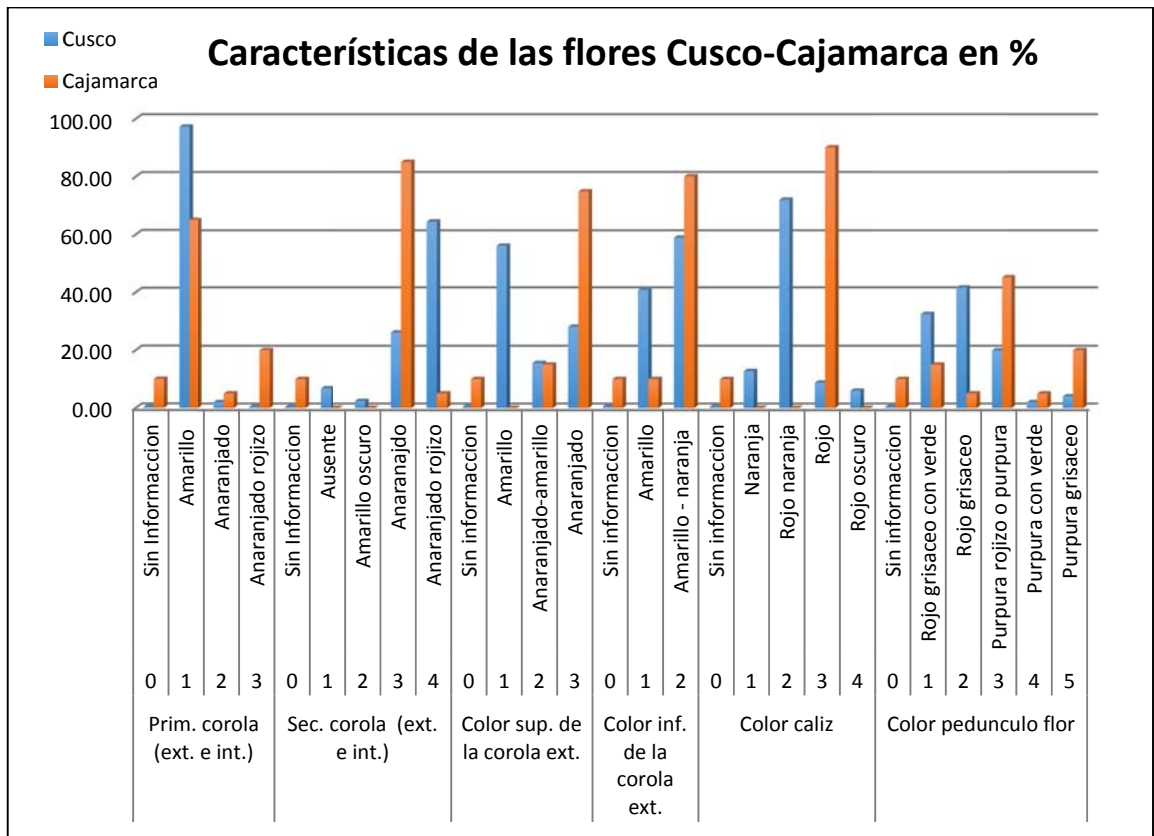


Figura 7: Características de las pétalos de los departamentos de Cusco y Cajamarca

El color primario de la corola (externo e interno) presentó 4 estados, siendo el color primario amarillo predominante en ambos departamentos (97,21 por ciento en Cusco y 65 por ciento en Cajamarca); sin embargo el color de menor frecuencia en Cusco fue el anaranjado rojizo (0,4 por ciento) mientras que el color anaranjado en Cajamarca (5 por ciento).

El color secundario de la corola presentó 5 estados, los cuales se encontraron en Cusco; mientras que en Cajamarca solo se encontró 3 estados. El color secundario de la corola externa que predominó en Cusco fue el anaranjado rojizo (64,54 por ciento) y el menor frecuente fue el sin información (0,40 por ciento); mientras que en Cajamarca predominó el anaranjado (85 por ciento) y el de menor frecuencia tampoco presentó información (10 por ciento).

El color superior externo de la corola presentó 4 estados en Cusco, de los cuales el color secundario amarillo (56,18 por ciento) predominó en la población; mientras que en Cajamarca solo se encontró 3 estados, predominando el color secundario anaranjado (70 por ciento).

El color inferior externo de la corola presentó 3 estados, predominado en ambos departamentos el color inferior amarillo naranja (58,96 por ciento en Cusco y 80 por ciento en Cajamarca) y el de menor frecuencia no presentó información (0,4 por ciento) en Cusco.

El color del cáliz presentó 5 estados, predominando el color de cáliz rojo naranja en Cusco (70,7 por ciento) y el color rojo en Cajamarca (90 por ciento); mientras que el color de cáliz de menor frecuencia fue el rojo oscuro (5,98 por ciento) en Cusco.

El color del pedúnculo floral presentó 6 estados, y ambos se encontraron en ambos departamentos; en Cusco predominó el pedúnculo de color rojo grisáceo (41,43 por ciento) y en Cajamarca el púrpura rojizo o púrpura (45 por ciento); mientras que el color de pedúnculo de menor frecuencia fue el púrpura con verde en Cusco (1,99 por ciento).

b. Características de los espolones

La gráfica en porcentajes de los tres caracteres de los espolones evaluados en Cusco y Cajamarca se encuentra en la **Figura 8**. Al igual que con los caracteres de los pétalos, se añadió el estado sin información a cada uno de los descriptores de los espolones evaluados.

Los espolones presentaron 5 estados para color del espolón, los cuales se encontraron en Cusco, donde predominó el color de espolón rojo naranja (35,86 por ciento); mientras que en Cajamarca todas las accesiones con flores presentaron espolones de color rojo oscuro (90 por ciento).

El número de espolones presentes por flor varió en 4 estados, los cuales se encontraron en Cusco, donde predominaron los uniespolonados (75,9 por ciento); mientras en Cajamarca todas las accesiones que presentaron flores fueron uniespolonadas (90 por ciento).

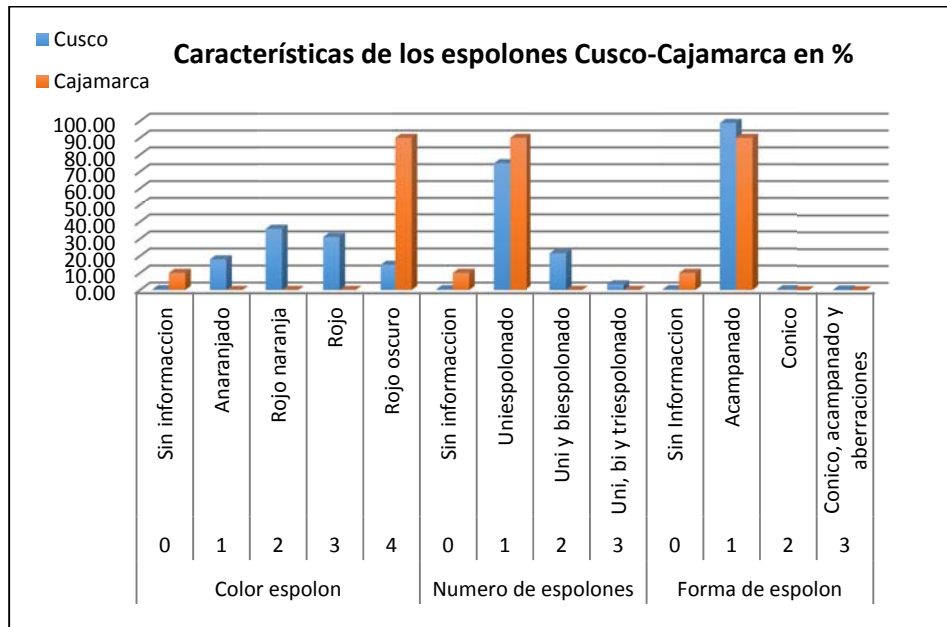


Figura 8: Características de los espolones de los departamentos de Cusco y Cajamarca

La forma de los espolones por lo general es acampanada o de embudo; sin embargo en Cusco se encontró otra forma de espolón, del tipo cónico (0,4 por ciento) que corresponde a la muestra UNAQA-196; además también se encontró otro tipo de malformaciones en la formación de espolones debido a la no separación de los espolones en la misma flor, estas se denominaron aberraciones en el presente trabajo (0,4 por ciento) que corresponde a la muestra UNAQA-263.

c. Características de los órganos florales

Los órganos florales evaluados fueron los estigmas y estambres y la gráfica de porcentajes de estos caracteres se encuentra en la **Figura 9**. Al igual que en los otros descriptores evaluados se añadió el estados sin información (0).

El número de estigmas por flor podía ser de tres tipos, sin embargo debido a la presencia de 2 o 3 tipos por accesión el número de estados aumentos a 7, en Cusco se encontró los 7 estados, pero en Cajamarca solo se encontró 3 estados. El número de estigmas predominantes en Cusco fue el trífido (67,33 por ciento) y el número de menor frecuencia fue el trífido, tetráfido y pentáfido (1,59 por ciento); mientras que en Cajamarca el más predominante fue el trífido y tetráfido (60 por ciento) y el de menor frecuencia fue el trífido y pentáfido (5 por ciento). Además el 23,90 por ciento de la población de Cusco presentó pigmentación en los estigmas y el 40 por ciento en Cajamarca. Y la mayoría de los estilos tanto en Cusco como en Cajamarca no presentaron pigmentación, solo un 2,79 por ciento presentó pigmentación en los estilos en Cusco.

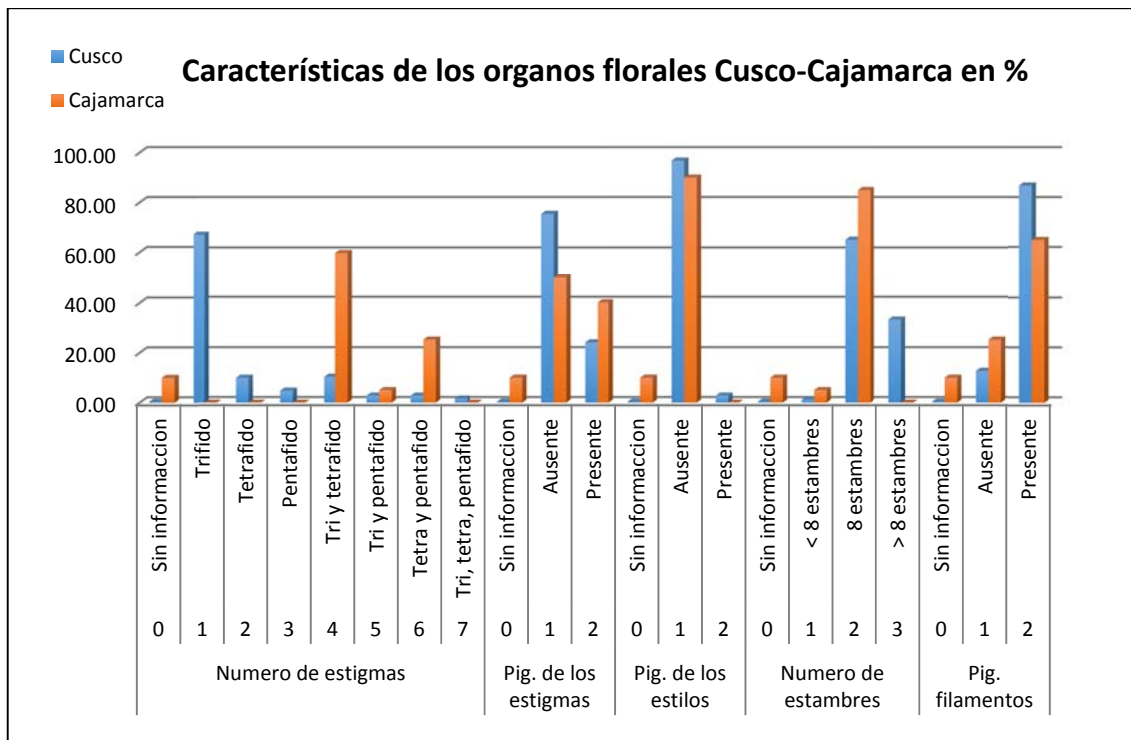


Figura 9: Características de los órganos florales de los departamentos de Cusco y Cajamarca

El número de estambres por flor mayormente fue de 8, en Cusco el 65,9 por ciento y en Cajamarca el 85 por ciento presentaron 8 estambres por flor; sin embargo se encontró accesiones con menos de 8 estambres (7) y otras con más de 8 estambres (9-12). Mientras en Cusco un 33,07 por ciento presentaron un número de estambres superiores a 8 y un 1,20 por ciento presentaron menos de 8 estambres; en Cajamarca el 5 por ciento presenta un número de estambres menor a 8. Los filamentos mayormente presentaron pigmentación tanto en Cusco (86,85 por ciento) como en Cajamarca (65 por ciento).

d. Características del fruto

La gráfica de porcentajes de los 3 caracteres de fruto en Cusco y Cajamarca se encuentra en la **Figura 10**. Al igual que los otros descriptores se añadió el estado sin información donde estuvo ausente el descriptor.

Posterior a la polinización de las flores se formó un fruto, este no se encontró en toda la población en el momento de la evaluación. Mientras que en Cusco el 96,8 por ciento de la población presentó fruto, en Cajamarca solo el 20 por ciento presentó fruto. El fruto presentó carpelos, los cuales se describieron en número y superficie. Según el número de carpelos, el fruto presentó 7 estados, los cuales se encontraron en la población de Cusco, siendo el 71,31 por ciento predominantemente tricarpelar; mientras en Cajamarca el 10 por ciento fue tricarpelar y el otro 10 por ciento fue tetracarpelar. Los carpelos presentaron una superficie lisa o rugosa, la que se encontró de manera equitativa en las accesiones tanto en Cusco (48,21 por ciento Lisa y 47,41 por ciento Rugosa) como en Cajamarca (10 por ciento Lisa y 10 por ciento Rugosa).

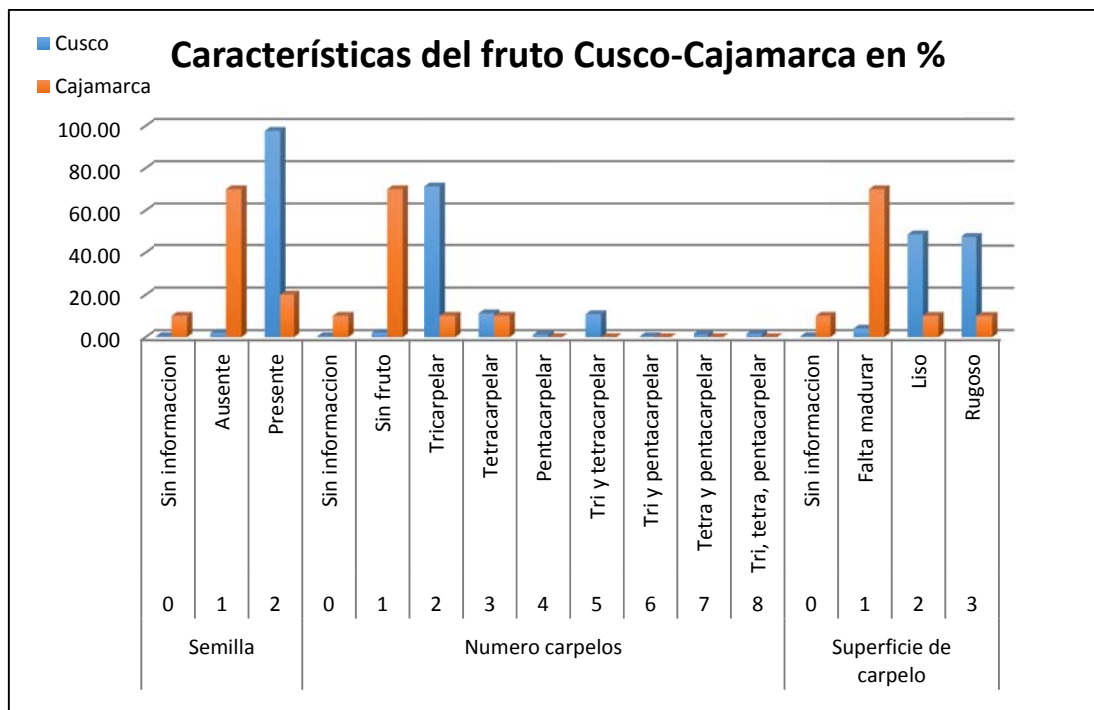


Figura 10: Características del fruto de los departamentos de Cusco y Cajamarca

E. Características de los tubérculos

Las características generales a nivel de tubérculo, evaluadas en las accesiones fueron: el tamaño de los tubérculos, la uniformidad de los tubérculos, el tipo de superficie, la forma de los tubérculos, la profundidad de los ojos y las tuberizaciones secundarias. La gráfica de porcentajes de los caracteres mencionados se observa en la **Figura 11**.

El tamaño de los tubérculos mayormente fue mediano tanto en Cusco como en Cajamarca (57,77 por ciento y 65 por ciento, respectivamente); mientras que en menor frecuencia se encontró los grandes en Cusco (20,32 por ciento) y los pequeños en Cajamarca (10 por ciento).

La uniformidad de los tubérculos en la población de Cusco mayormente fue media (53,39 por ciento); mientras que en Cajamarca fue alta (70 por ciento).

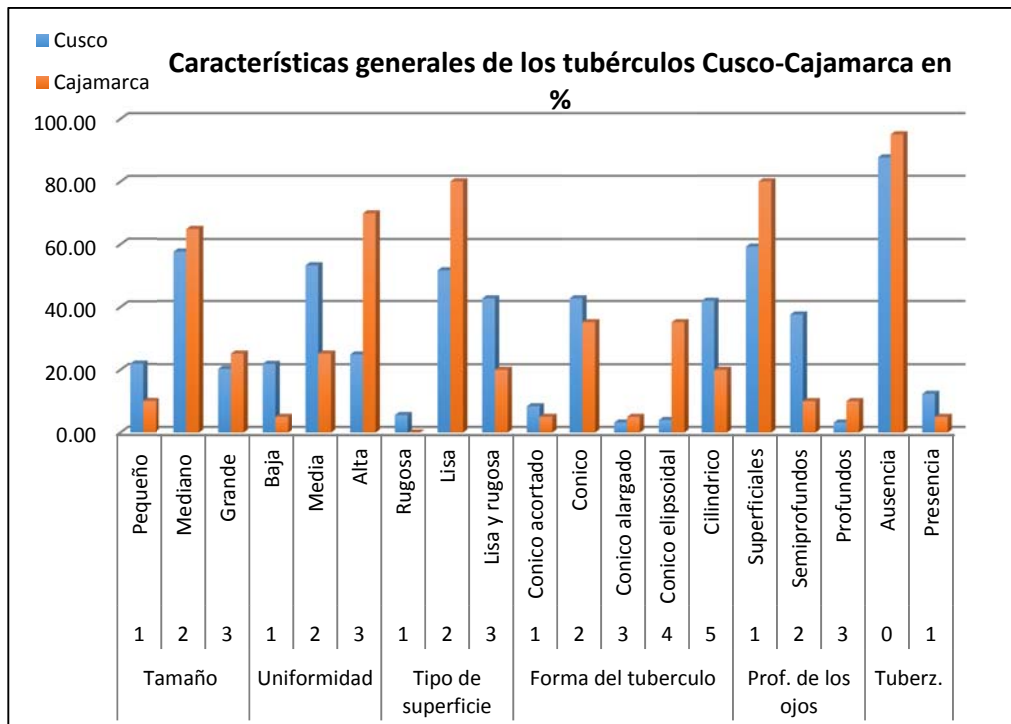


Figura 11: Características generales de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca

El tipo de superficie de los tubérculos fue de 3 estados, tanto en Cusco como en Cajamarca predominaron tubérculos con la superficie lisa (51,79 por ciento en Cusco y 80 por ciento en Cajamarca) y solo Cusco presentó tubérculos con superficie rugosa (5,58 por ciento); esta características se asoció con la presencia del color secundario en la piel del tubérculo, ya que este proporcionó una superficie rugosa en el tubérculo.

La forma del tubérculo presentó 5 estados, en Cusco predominó la forma cónica (42,63 por ciento) y en menor frecuencia la cónico alargado (3,19 por ciento); mientras en Cajamarca predominó la cónico elipsoidal y la cónica (35 por ciento cada uno, respectivamente) y en menor frecuencia se encontró la cónica acortada y la cónica alargada (5 por ciento cada uno, respectivamente).

La profundidad de los ojos en los tubérculos fue predominantemente superficial en ambos departamentos (59,36 por ciento en Cusco y 80 por ciento en Cajamarca) y en menor proporción se encontró ojos profundos en Cusco (3,19 por ciento), mientras en Cajamarca la semi-profunda y profunda tuvieron igual frecuencia (10 por ciento cada uno, respectivamente).

Además también se consideraron las tuberizaciones secundarias presentes en los ojos, donde solo un 12,5 por ciento en Cusco y un 5 por ciento en Cajamarca presentaron tuberización. Sin embargo, dicha característica no se presentó de manera uniforme en las accesiones donde se encontró este estado.

a. Características de la piel del tubérculo

En la piel del tubérculo se caracterizó el color predominante de esta, el color secundario, la distribución del color secundario y la forma de coloración secundaria. El color predominante de la piel del tubérculo mostro 12 diferentes estados, que variaron desde el blanco hasta el negro.

En Cusco el 55,38 por ciento de la población presentó un color amarillo-naranja y el 25,50 por ciento presentó un color amarillo. Los colores que mostraron muy baja frecuencia en población fueron: el negro (1,20 por ciento), el café (0,80 por ciento), el rosado, el púrpura y el blanco (0,40 por ciento cada uno en el color predominante de la piel del tubérculo los tres últimos).

Mientras en Cajamarca el 35 por ciento de la población presentó un color amarillo naranja y el 5 por ciento presentó un color predominante púrpura.

El color secundario de la piel del tubérculo no siempre estuvo presente en las accesiones, se encontró 13 estados de color secundario, los que se encontraron en ambas poblaciones. Además la distribución del color secundario en la piel del tubérculo presentó 15 estados y las formas en que se presentó se dividieron en 12 estados.

Las accesiones que no presentaron color secundario en la piel del tubérculo representaron un 24,30 por ciento en Cusco, estas tampoco presentaron distribución y forma del color secundario; mientras que en Cajamarca todas las accesiones presentaron color secundario.

En Cusco predominaron las accesiones que presentaron un color secundario púrpura grisáceo (27,09 por ciento), el resto de los porcentajes de color secundario en la población fueron bajos. Los colores secundarios con muy baja frecuencia fueron: el amarillo oscuro y el negro, que representaron el 1,20 por ciento cada uno y los colores amarillo-naranja y naranja que representaron el 0,8 por ciento cada uno, respectivamente. Las distribuciones de color secundario fueron principalmente 6. Sin embargo, se encontró accesiones que

presentaron dos o tres distribuciones a la vez, es por ello que el número de estados incremento a 15. Las distribuciones de color secundario que más predominaron en Cusco fueron: en los ojos y en el ápice (25,90 por ciento), solo en los ojos (20,32 por ciento) y en los ojos y debajo de los ojos (12,75 por ciento). Las demás distribuciones se encontraron en menor proporción dentro de la población y la de menor frecuencia fue el igualmente distribuido. En cuanto a las formas de coloración secundaria, las principales fueron 3; sin embargo los estados fueron 12 debido a la presencia de dos o tres estados a la vez. Las formas de coloración secundaria que predominaron en Cusco fueron: jaspes y manchas en los ojos (30,28 por ciento), y solo manchas en los ojos (19,52 por ciento); mientras que la menos frecuente fue jaspes, bandas y puntos (0,40 por ciento).

En Cajamarca solo se encontró 3 estados de color secundario en la piel del tubérculo, el color secundario de mayor predominancia en la piel fue el morado grisáceo (45 por ciento), el amarillo y rojo se encontraron en igual proporción (25 por ciento). En las distribuciones del color secundario, solo se encontró 7 estados, el 55 por ciento se encontró en los ojos y el 5 por ciento se encontró en dos diferentes estados (debajo de los ojos y hacia el ápice, y en los ojos, debajo de los ojos y hacia el ápice). Por último la forma de coloración secundaria en la piel del tubérculo solo se encontró en 5 estados, de los cuales el 55 por ciento se encuentra en forma de manchas en los ojos, el 25 por ciento se encuentra en forma de jaspes y manchas en los ojos, el 10 por ciento en forma de jaspes y bandas y por último el 5 por ciento se encuentra en 2 estados diferentes (en forma de jaspes y en forma de jaspes, bandas y manchas en los ojos).

En la **Figura 12** se muestran los porcentajes del color de piel del tubérculo y en la **Figura 13** se observa la forma y distribución.

b. Características de la pulpa del tubérculo

Las características evaluadas en la pulpa del tubérculo fueron el color predominante, el color secundario y la distribución del color secundario de esta. En la **Figura 14** se muestra el color y distribución de la pulpa

El color predominante de la pulpa del tubérculo presentó 7 estados, los cuales variaron desde el blanco hasta el morando.

En Cusco predominó el color naranja (39,84 por ciento) como color predominante de la pulpa, seguido del amarillo (24,70 por ciento) y el blanco amarillento (13,15 por ciento). El color predominante de la pulpa de menor frecuencia fue el morado (0,4 por ciento).

En Cajamarca solo se encontraron 4 estados de color predominante de la pulpa del tubérculo, donde los colores de mayor frecuencia fueron el blanco amarillento (45 por ciento) y el naranja oscuro (40 por ciento), mientras en menor frecuencia se encontró el amarillo (5 por ciento).

El color secundario de la pulpa del tubérculo presentó hasta 6 estados, sin embargo no todas las accesiones presentaron esta característica en la pulpa tanto en Cusco (35,60 por ciento) como en Cajamarca (5 por ciento), además estas accesiones no presentaron distribución del color secundario en la pulpa del tubérculo. La distribución del color secundario de la pulpa presentó 11 estados, 10 se encontraron en Cusco y solo 5 se encontraron en Cajamarca

En Cusco el 32,67 por ciento de la población presentó un amarillo-naranja como color secundario en la pulpa, el 17,13 por ciento presentó un color amarillo claro y el 8,37 por ciento presentó un amarillo oscuro y en menor frecuencia se encontró el color morado grisáceo (0,80 por ciento). En cuanto a la distribución del color secundario en la pulpa, la de mayor frecuencia fue en la epidermis con 47,01 por ciento, mientras que los estados con menor frecuencia fueron: en la epidermis y la zona cortical (1,99 por ciento), en la medula y el anillo (0,80 por ciento) y por último en la zona cortical y el anillo (0,40 por ciento).

En Cajamarca el 35 por ciento presentó un color amarillo claro y el 30 por ciento presentó un color amarillo-naranja, mientras que 5 por ciento presentaron un color amarillo oscuro. En cuanto a la distribución del color secundario el 65 por ciento se encontró solo en la epidermis, el 15 por ciento solo en el anillo vascular y epidermis y el 5 por ciento se presentaron en 3 diferentes estados (medula y epidermis, medula y anillo, y epidermis, medula y anillo vascular).

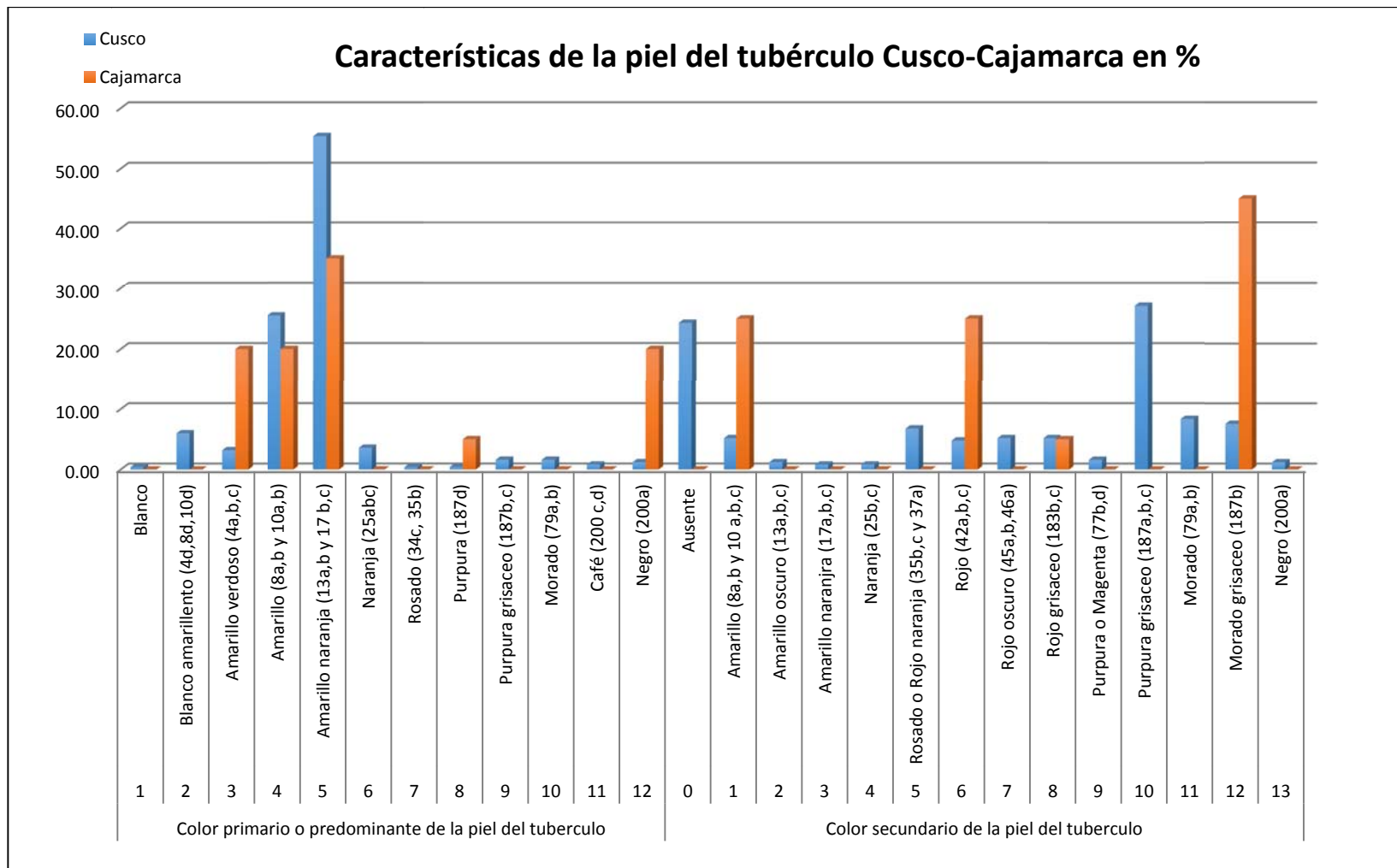


Figura 12: Características del color de la piel de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca

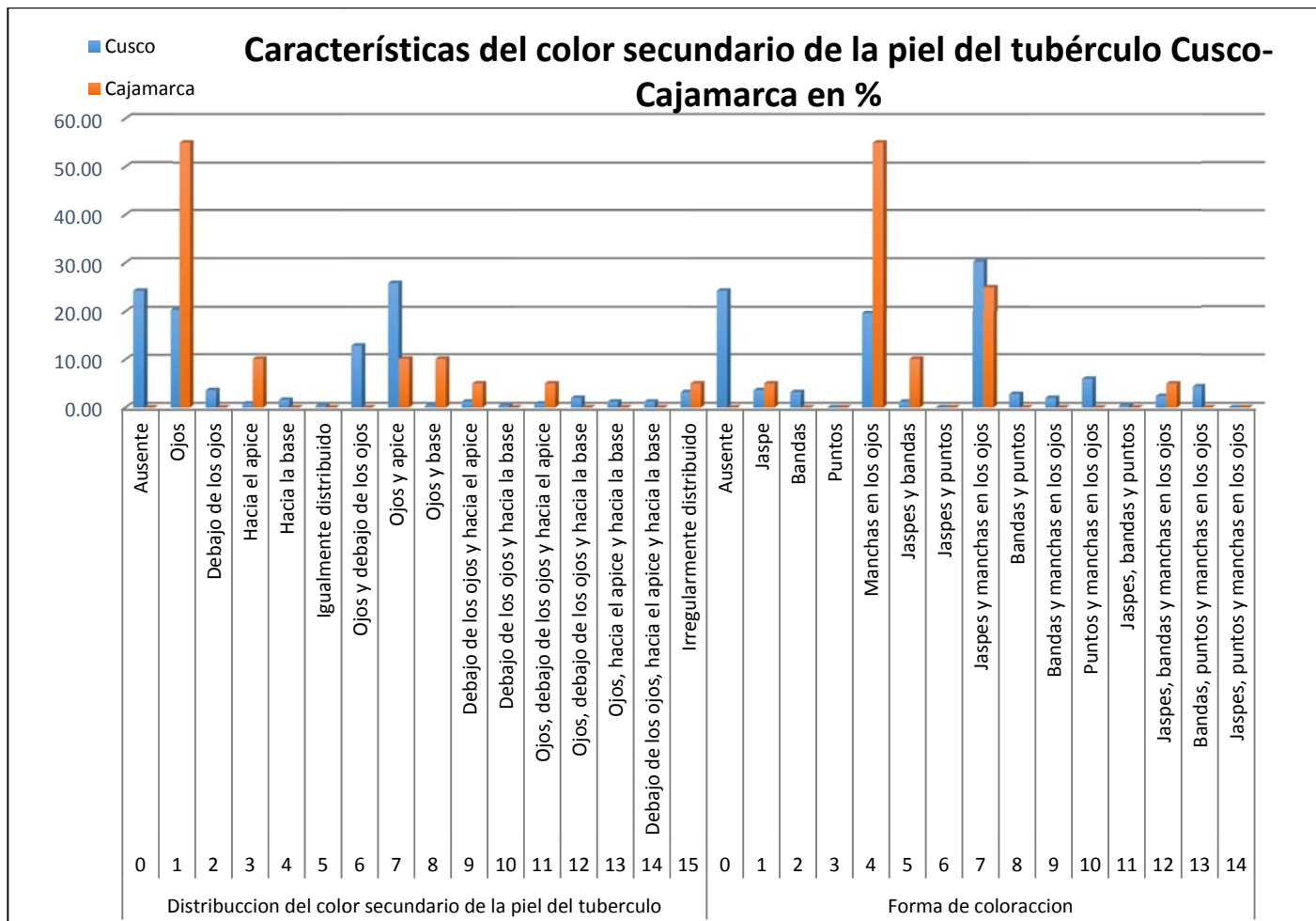


Figura 13: Características de la distribución y forma del color secundario de la piel de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca

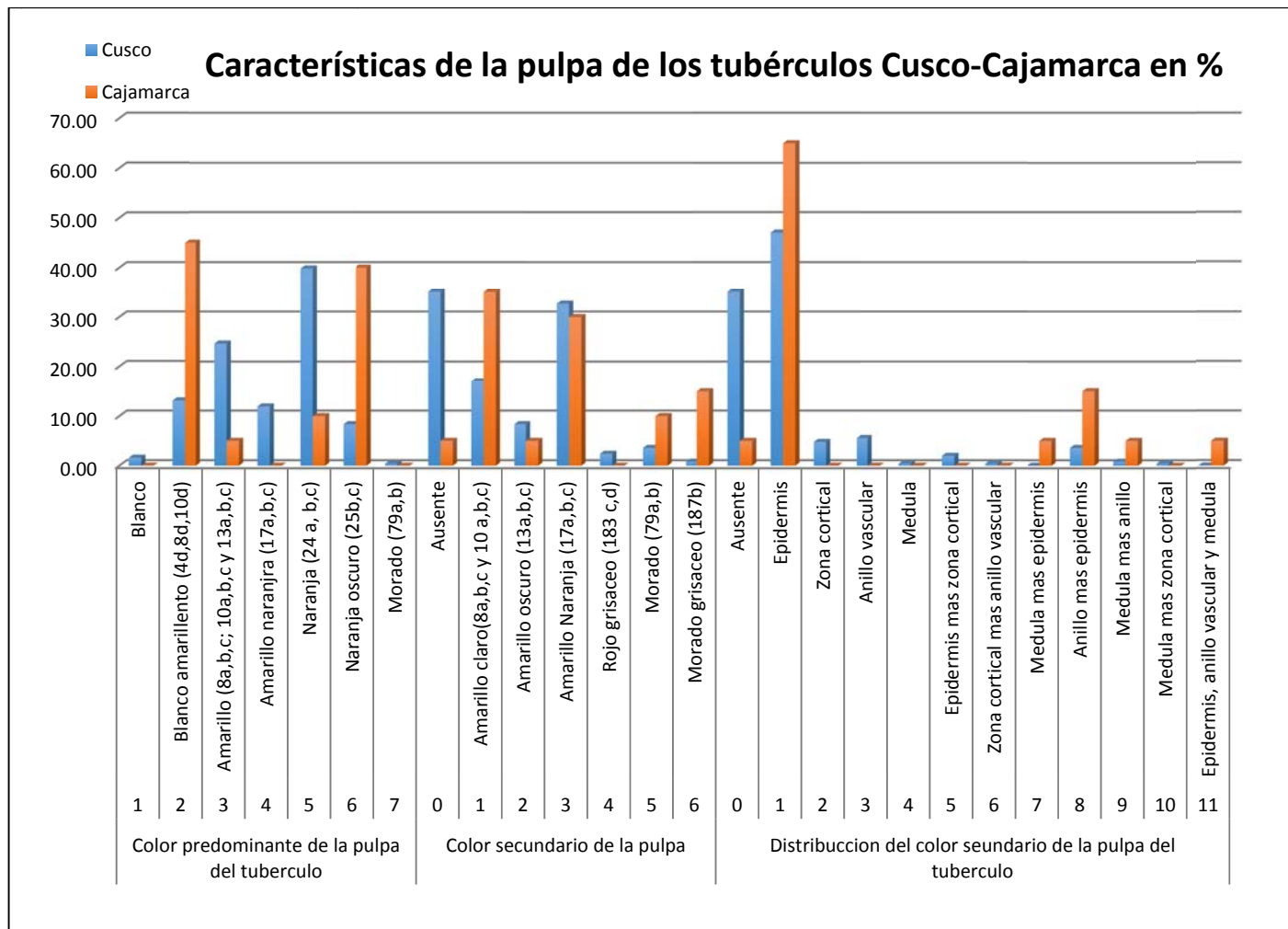


Figura 14: Características del color y distribución de la pulpa de los tubérculos de los departamentos de Cusco y Cajamarca

En conclusión de las evaluaciones porcentuales, aparentemente no se debería realizar una comparación entre los dos departamentos debido a que el tamaño de muestra del departamento de Cajamarca (20 accesiones) es muy pequeño con respecto a Cusco (251); sin embargo se realizó estas comparaciones debido a que la población de Cajamarca es una muestra representativa de todo el departamento. Además también se puede notar que la mayoría de los estados de los descriptores se encuentran en Cusco; esto es debido al tamaño de muestra y a que probablemente sea el centro de origen de este cultivo; sin embargo, hay algunos estados que hemos encontrado en Cajamarca y no en Cusco (descriptores de tubérculo) y esto puede deberse a que probablemente sea un centro de diversificación de este cultivo.

4.1.3 Estadísticas de descriptores morfológicos cuantitativos

En la **Tabla 14** se menciona los caracteres cuantitativos considerados, tales como la altura de planta, longitud de tubérculo, diámetro de tubérculo y número de ojos por tubérculo.

Tabla 14: Estadísticas de los caracteres cuantitativos en Cusco y Cajamarca

Departamento	Características	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Coefficiente de variación
CUSCO	Altura de Planta	28,73	66,50	16,40	5,24	18,22
	Longitud tubérculo	7,19	14,64	2,66	2,12	29,49
	Diámetro tubérculo	3,24	5,64	2,24	0,43	13,37
	Ojos tubérculo	21,09	35,50	10,80	4,75	22,53
CAJAMARCA	Altura de Planta	28,89	58,00	18,00	9,12	31,55
	Longitud tubérculo	8,49	12,64	4,48	2,22	26,18
	Diámetro tubérculo	3,47	4,18	2,56	0,48	13,72
	Ojos tubérculo	18,60	29,80	7,00	4,80	25,80
CUSCO-CAJAMARCA	Altura de Planta	28,74	66,50	16,40	5,58	19,43
	Longitud tubérculo	7,29	14,64	2,66	2,15	29,52
	Diámetro tubérculo	3,26	5,64	2,24	0,44	13,51
	Ojos tubérculo	20,88	35,50	7,00	4,79	22,96

El descriptor altura de planta presenta medias semejantes tanto en Cusco como en Cajamarca, sin embargo si existen diferencias en la variación presente en ambos departamentos. Los valores de desviación estándar (9,12) y coeficiente variación (31,55) son mayores en Cajamarca, posiblemente debido a que las condiciones del terreno de Cusco no fueron iguales a las de Cajamarca.

El descriptor de longitud y diámetro de tubérculo difieren ligeramente en sus medias y presentan desviaciones estándar muy bajas, pero el descriptor longitud de tubérculo presenta coeficientes de variación mayor al 25 por ciento. Este último presenta un coeficiente de variación mayor en Cusco (29,49), posiblemente debido a la existencia de una mayor diversidad en los tubérculos.

Tres de los cuatro descriptores evaluados presentan valores de desviación estándar y coeficiente de variación más altos en Cajamarca con respecto a Cusco; esto se debe a que los valores obtenidos de las accesiones presentan valores extremos y que no son muy cercanos al promedio, además el tamaño de la población de Cajamarca es pequeña.

Además podemos notar que los coeficientes de variación más altos son los de longitud del tubérculo y número de ojos por tubérculo tanto para ambos departamentos como la población en conjunto, lo que nos indica que las accesiones son muy heterogéneas para estos descriptores.

4.1.4 Índice de diversidad de Shannon-Weaver para caracteres cualitativos

El cálculo del índice de diversidad de Shannon para caracteres cualitativos se empleó para estimar la variación de las poblaciones evaluadas mediante los descriptores cualitativos seleccionados. El rango de variación de los índices de diversidad fue de 0,00 a 0,99, en donde los valores de 0,00 indicaron que no hubo variación del descriptor dentro de la población; mientras que los valores cercanos a 1 indicaron una gran variación. Los índices calculados por carácter se observan en la **Tabla 15**.

Los valores de los índices de diversidad en Cusco fueron mayormente de variación media a alta, en donde los valores más altos se encontraron en el follaje como el color del envés de la hoja (0,99); el número de lóbulos de la hoja (0,96), la pigmentación del tallo (0,92) y el

tipo de planta (0,91); sin embargo, el color primario de la corola (0,11) fue el único con variación baja.

Tabla 15: Índices de Diversidad de Shannon-Weaver de caracteres cualitativos

Caracteres	Descriptor	Cusco	Cajamarca	Cusco	Cajamarca	Promedio
Follaje	Tipo de planta	0,91	0,82			
	Color tallo	0,90	0,79			
	Pigmentación axilar	0,92	0,51			
	Color estípula	0,87	0,91			
	Color haz	0,85	0,73	0,85	0,61	0,73
	Color envés	0,99	0,00			
	Forma lóbulo	0,76	0,00			
	Número lóbulos	0,96	0,98			
	Color peciolo	0,48	0,74			
Flor	Primario corola	0,11	0,71			
	Secundario corola	0,58	0,32			
	Color superior	0,72	0,53			
	Color inferior	0,64	0,58			
	Color cáliz	0,56	0,20			
	Color pedúnculo flor	0,71	0,83	0,60	0,51	0,55
	Color espolón	0,83	0,20			
	Número de espolones	0,49	0,23			
	Número de estigmas	0,56	0,50			
	Pigmentación estigmas	0,52	0,86			
	Pigmentación estilos	0,91	0,82			
	Número de estambres	0,52	0,37			
	Tubérculo	Forma del tubérculo	0,73	0,84		
Profundidad de los ojos		0,72	0,58			
Color primario de la piel del tubérculo		0,55	0,60			
Color secundario de la piel del tubérculo		0,83	0,47			
Distribución del color secundario de la piel del tubérculo		0,71	0,53	0,71	0,58	0,65
Forma de coloración		0,77	0,49			
Color predominante de la pulpa		0,79	0,57			
Color secundario de la pulpa del tubérculo		0,77	0,79			
Distribución del color secundario de la pulpa del tubérculo	0,52	0,40				
Promedios de Índice de diversidad Shannon-Weaver		0,71	0,56	0,71	0,56	0,63

Mientras que en Cajamarca los valores de los índices de diversidad fueron mayormente de variación media a baja, debido a la ausencia de algunos estados, sin embargo se encontró valores con variación alta como el número de lóbulos (0,98) y el color de la estípula (0,91); además se encontró descriptores que no presentaron variación y por ello tuvieron un índice de 0, los cuales fueron el color del envés (0,00) y la forma del lóbulo (0,00).

Los valores más altos de diversidad se encuentran en los descriptores de follaje y tubérculo en Cusco (0,85 y 0,71), los que permitieron la obtención de un índice de diversidad promedio de 0,70 (diversidad alta), mientras que en Cajamarca se encontró en los descriptores de follaje y tubérculo (0,61 y 0,58), permitiendo así la obtenido de in índice de diversidad promedio de 0,54 (diversidad media).

Los valores de los índices de diversidad dependen de los valores de la frecuencia de los estados de cada descriptor; es por ello que algunos índices son más altos en Cajamarca con respecto a Cusco como el caso del color primario de la corola y el color del peciolo; sin embargo, a pesar de esto la cantidad de estados por descriptor es mayor en Cusco así como el tamaño de muestras; es por ello que se encontró un índice de diversidad mayor.

En conclusión la población de Cusco presentó un promedio del índice de diversidad alto (0,71); mientras que la población de Cajamarca presentó un promedio medio del índice de diversidad (0,56). El promedio del índice de diversidad de ambas poblaciones (0,63) indico la existencia de una variación media dentro de la población Cusco y Cajamarca.

4.1.5 Análisis de agrupamiento mediante 45 descriptores evaluados

A. Análisis de agrupamiento para las accesiones de Cusco

El dendograma de las accesiones de Cusco mostrado en la **Figura 15**, muestra la separación de las accesiones en dos grandes grupos a un coeficiente de distancia de 2,15 aproximadamente. Estos grupos se diferenciaron según el color secundario de la piel del tubérculo. El primer grupo se caracteriza por incluir accesiones que no presentan coloración secundaria y accesiones que comprenden los colores secundarios amarillo, amarillo oscuro y amarillo-naranja. El segundo grupo incluye las demás accesiones que se caracterizan por presentar colores secundarios que van desde el naranja hasta el negro.

B. Análisis de agrupamiento para las muestras de Cajamarca

Para el análisis de las accesiones de Cajamarca, se eliminó aquellos caracteres que se expresaron de manera homogénea en la población como son: el color secundario del envés (estuvo ausente en toda la población) y la fasciación (no se observó en toda la población).

El dendograma mostrado en la **Figura 16**, muestra la separación de las accesiones en dos grupos a un coeficiente de distancia de 2,38 aproximadamente, que se diferencian en la distribución del color secundario en la pulpa del tubérculo y el color de piel. El primer grupo conformado por las accesiones con piel amarilla, y separa a la accesión UNACA-024 a un coeficiente de distancia de 2,16, por la ausencia de color secundario en la pulpa y las accesiones restantes se caracterizan por una distribución en la epidermis. El segundo grupo se caracteriza por incluir 3 accesiones negras y 1 púrpura que se separan a un coeficiente de distancia de 1,12.

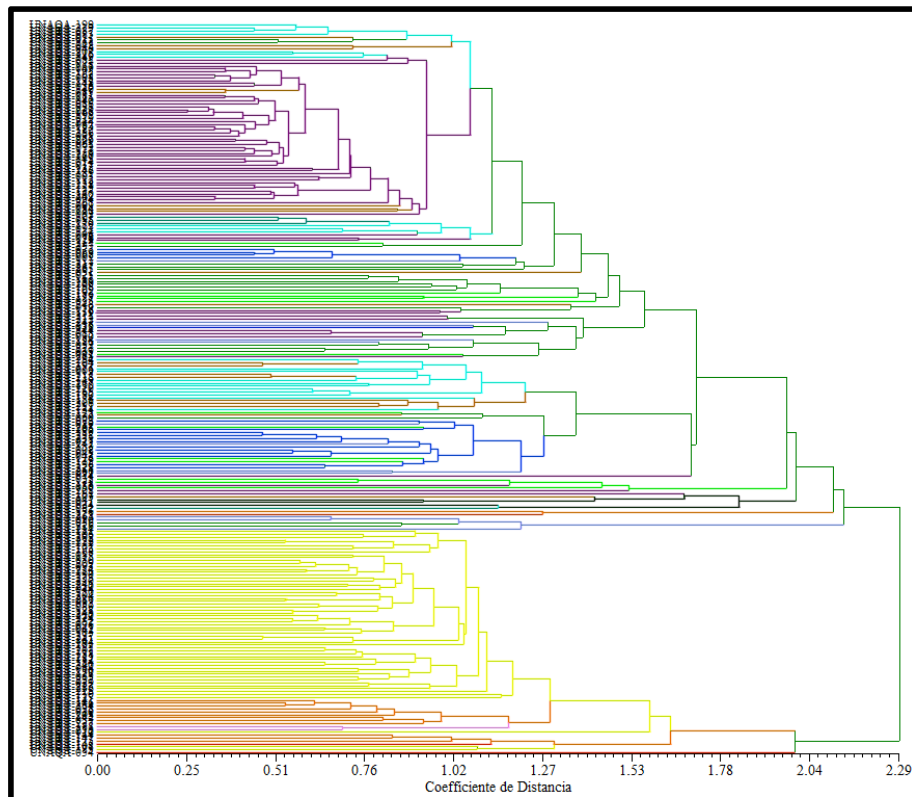


Figura 15: Gráfica horizontal del agrupamiento de 251 accesiones de Cusco mediante el coeficiente de distancia con 45 descriptores, según los grupos del color secundario de la piel del tubérculo.

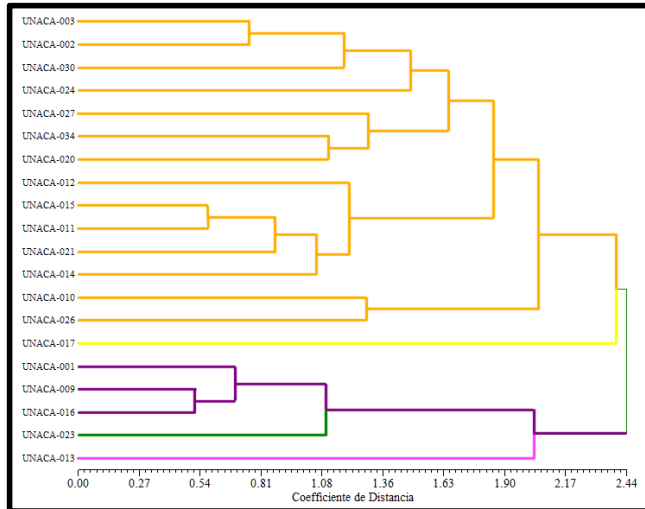


Figura 16: Gráfica horizontal del agrupamiento de 20 accesiones de Cajamarca mediante el coeficiente de distancia con 45 descriptores, según los grupos de la distribución del color secundario de la pulpa del tubérculo.

C. Análisis de agrupamiento para las accesiones de Cusco y Cajamarca

Según los descriptores evaluados las accesiones de Cusco no se separaron de las accesiones de Cajamarca, sino que se incluyeron dentro de los grupos formados por las accesiones de Cusco, quedando así enmascaradas, debido a que estas presentaron características similares a este último.

El dendograma del agrupamiento en las muestras de Cusco y Cajamarca mediante los 45 descriptores morfológicos, no mostró ningún duplicado, debido a que no todos descriptores evaluados en la población son informativos y discriminantes, ocasionando así una mayor separación de las accesiones y no permitiendo agrupar la variabilidad presente en la población. Sin embargo se puede notar que las accesiones tienden agruparse según el color secundario de la piel, la distribución y forma de coloración secundaria de la piel del tubérculo como se observa en la **Figura 17**.

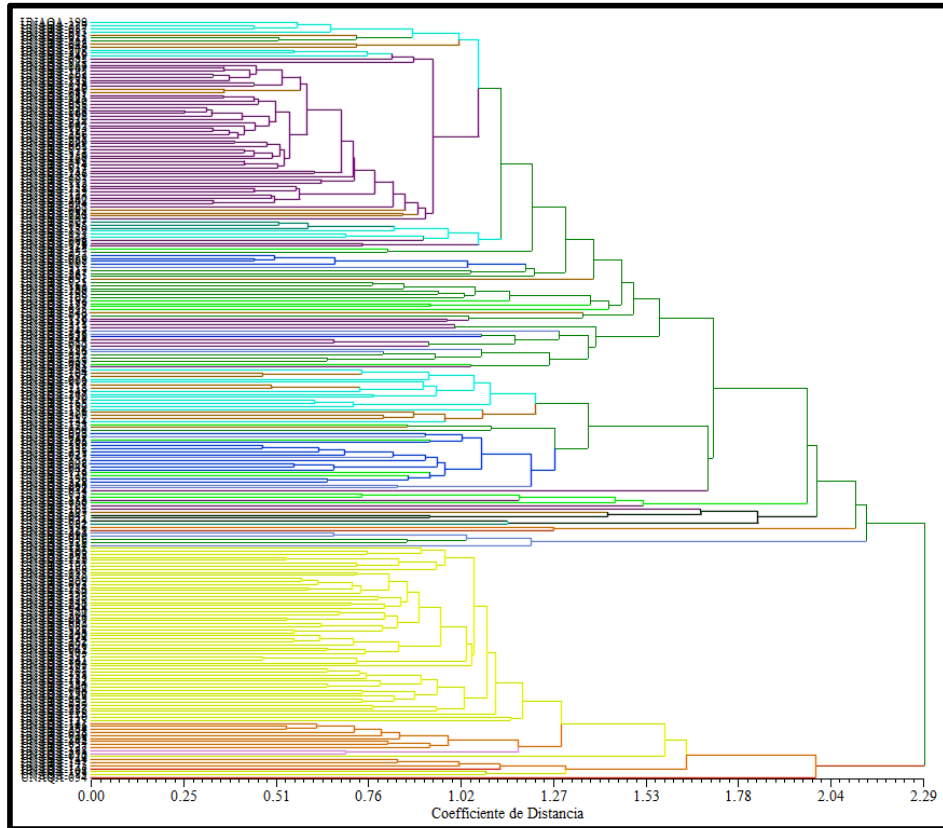


Figura 17: Agrupamiento de 271 accesiones de Cusco y Cajamarca mediante el coeficiente de distancia con 45 descriptores según los grupos del color secundario de la piel del tubérculo.

4.1.6 Análisis de correspondencia múltiple (ACM) y selección de descriptores

El ACM secuencial seleccionado fue el basado en el segundo criterio desarrollado por Olivera *et al.*, 2014. La finalidad de dicho análisis fue el de seleccionar aquellos descriptores de gran interés que nos permiten diferenciar las accesiones, es decir que son más informativos y discriminantes permitiendo clasificar mejor la diversidad; así como la eliminación de aquellos descriptores que no son relevantes. Los ACM se realizaron para la población Cusco y Cajamarca y para la población de Cusco.

A. Análisis de correspondencia múltiple de 45 descriptores

- Análisis de correspondencia de las accesiones de Cusco y Cajamarca

El análisis de correspondencia múltiple mostró que el 80,46 por ciento de la variación de la población es explicada mediante las cincuenta y siete primeras dimensiones de 157. Sin

embargo solo el 9,75 por ciento de la variación total es explicada mediante la primera dimensión, el 4,40 por ciento por la segunda dimensión y el 3,39 por ciento por la tercera dimensión; permitiendo así definir el 17,55 por ciento de la variación presente en la población. Los 25 descriptores discriminantes seleccionados según el ACM para la clasificación de las accesiones de mashua en las poblaciones Cusco y Cajamarca según su orden descendiente de importancia se muestran en la **Tabla 16**.

Tabla 16: Descriptores seleccionados según los ACM a partir de 45 descriptores

ACM CUSCO-CAJAMARCA		ACM CUSCO	
Orden	Descriptor	Orden	Descriptor
1	Forma coloración secundaria	1	Distribución del color secundario de la piel
2	Distribución del color secundario de la piel	2	Forma coloración secundaria
3	Número carpelos	3	Color secundario de la piel del tubérculo
4	Presencia de fruto	4	Número carpelos
5	Superficie del fruto	5	Presencia de fruto
6	Color secundario de la piel del tubérculo	6	Superficie del fruto
7	Color cáliz	7	Número de estigmas
8	Color espolón	8	Número de estambres
9	Número de estigmas	9	Número de espolones
10	Distribución del color secundario de la pulpa	10	Color pedúnculo de la flor
11	Color predominante de la piel del tubérculo:	11	Color del espolón
12	Color secundario de la corola (ext. e int.)	12	Color del cáliz
13	Número de estambres	13	Tipo de superficie
14	Número de espolones	14	Pigmentación de los estigmas
15	Color pedúnculo flor	15	Color secundario de la corola (ext. e int.)
16	Color superior de la corola (externa)	16	Forma del espolón
17	Tipo superficie	17	Color superior de la corola (externa)
18	Color primario de la corola (ext. e int.)	18	Forma del tubérculo
19	Pigmentación de los estigmas	19	Uniformidad
20	Uniformidad	20	Tamaño de los tubérculos
21	Forma del tubérculo	21	Pigmentación .estilos
22	Tamaño de los tubérculos	22	Color del tallo
23	Color inferior de la corola (externa)	23	Pigmentación axilar
24	Pigmentación de los filamentos	24	Color inferior de la corola (externa)
25	Color predominante de la pulpa	25	Color del peciolo

- **Análisis de correspondencia múltiple de las accesiones de Cusco**

El análisis de correspondencia múltiple mostró que el 80,34 por ciento de la variación de la población es explicada mediante las cincuenta y cinco primeras dimensiones de 154. Sin embargo solo 9,76 por ciento de la variación total presente en la población es explicada mediante la primera dimensión, el 4,21 por ciento por la segunda dimensión y el 3,32 por ciento por la tercera dimensión; permitiendo así definir el 17,29 por ciento de la variación presente en la población. Los 25 descriptores discriminantes seleccionados según el ACM para la clasificación de las accesiones de mashua en la población de Cusco según su orden descendentes también se muestran en la **Tabla 16**.

Comparando los descriptores seleccionados para Cusco y Cajamarca con los de Cusco, podemos notar que casi todos los caracteres seleccionados (21) fueron semejantes entre ambos ACM; sin embargo 4 caracteres fueron diferentes. Mientras que en Cusco y Cajamarca le dio importancia a el color primario de la corola (externa e interna), la pigmentación de filamentos, el color predominante de la piel del tubérculo y la distribución del color secundario de la pulpa del tubérculo; el ACM de Cusco le dio importancia a el color del peciolo, el color del tallo, la pigmentación axilar del tallo y la pigmentación de los estilos.

B. Valoración de los descriptores evaluados

Debido a que en los 25 descriptores seleccionados se encontró descriptores no muy adecuados para la clasificación, se procedió a realizar la valoración de los 45 descriptores.

Los primeros descriptores descartados o eliminados fueron aquellos que son muy subjetivos y que a su vez estarían siendo muy influenciados por el medio ambiente como son la cobertura del suelo, el tamaño de los tubérculos, la uniformidad de los tubérculos y el tipo de superficie de los tubérculos. Los segundos descriptores eliminados fueron aquellos que no se encontraron de manera estable dentro de una misma planta y en sus repeticiones (accesión) como la presencia de fasciación en el tallo, la presencia de tuberización en los ojos y el color secundario del envés de la hoja, y además es probable que dichos descriptores se deban a causas fisiológicas. Luego se eliminó aquellos descriptores que además de ser inestables en la accesión fueron difíciles de evaluar como son el color de la nervadura del haz de la hoja, el color de la nervadura del envés de la hoja

y el borde de la lámina de la hoja. Además también se eliminó la pigmentación de los filamentos, debido a la falta de una mayor definición de los estados y el descriptor forma del espón, debido a que solo estuvo presente en una accesión.

Por último se eliminó los descriptores relacionados con la presencia del fruto (3), a pesar de que estos nos permiten agrupar las accesiones, debido a que se encontraron en diferentes etapas de desarrollo, por consiguiente la evaluación se ve afectada impidiendo de esa manera la clasificación adecuada de accesiones muy precoces o muy tardías en el desarrollo del fruto.

Luego de esta apreciación sobre los descriptores evaluados, la lista fue reducida a una 30 descriptores. Se realizó el agrupamiento en clúster con esta nueva lista, encontrándose un total de 270 accesiones diferentes y una repetición a una distancia de 0,18 en la población Cusco-Cajamarca, mientras que en la población Cusco se encontró 250 accesiones diferentes. Además se realizó una comparación de matrices, como una medida de la calidad de la lista de descriptores, con los agrupamientos encontrados mediante los 45 descriptores evaluados y se encontró una alta correlación ($r=0,99600$; $r=0,99625$) y por consiguiente no hay pérdida de descriptores discriminantes luego de la selección.

C. Análisis de correspondencia múltiple de 30 descriptores

• Análisis de correspondencia de las accesiones de Cusco y Cajamarca

El análisis de correspondencia múltiple mostró que el 80,52 por ciento de la variación de la población es explicada mediante las cincuenta y uno primeras dimensiones de 129. Sin embargo solo 8,61 por ciento de la variación total presente en la población es explicada mediante la primera dimensión, el 4,17 por ciento por la segunda dimensión y el 3,38 por ciento por la tercera dimensión; permitiendo definir el 16,17 por ciento de la variación presente en la población. Los descriptores discriminantes seleccionados según el ACM para Cusco y Cajamarca se observan en la **Tabla 17**. Con los descriptores seleccionados se realizó el agrupamiento en clúster, encontrándose un total de 257 morfotipos diferentes, con 8 duplicados que incluyen 22 accesiones. Además se realizó una comparación de matrices entre los agrupamientos encontrados con los 45 descriptores evaluados y los obtenidos con los 19 descriptores discriminantes propuestos, la alta correlación encontrada ($r= 0,97735$) indica una buena calidad de descriptores seleccionados, es decir que son los más informativos y discriminantes de todos los descriptores evaluados.

- **Análisis de correspondencia múltiple de las accesiones de Cusco**

El análisis de correspondencia múltiple mostró que el 80,32 por ciento de la variación de la población es explicada mediante las cuarenta y nueve primeras dimensiones de 126. Sin embargo solo el 8,59 por ciento de la variación total presente en la población es explicada mediante la primera dimensión, el 4,11 por ciento por la segunda dimensión y el 3,52 por ciento por la tercera dimensión; permitiendo definir el 16,22 por ciento de la variación presente en la población. Los descriptores discriminantes seleccionados según el ACM para Cusco se observan en la **Tabla 17**. Con los descriptores seleccionados se realizó el agrupamiento en clúster, encontrándose un total de 237 morfotipos diferentes, con 8 duplicados que incluyen 22 accesiones. Además se realizó una comparación de matrices entre los agrupamientos encontrados con los 45 descriptores evaluados y los obtenidos con los 19 descriptores discriminantes propuestos, la alta correlación encontrada ($r= 0,98926$) indica una buena calidad de descriptores seleccionados, es decir que son los más informativos y discriminantes de todos los descriptores evaluados.

Tabla 17: Descriptores seleccionados y propuestos según los ACM y valoración en orden descendente a partir de 30 descriptores

ACM de la población de Cusco-Cajamarca		ACM de la población de Cusco	
Orden	Descriptor	Orden	Descriptor
1	Forma coloración secundaria de la piel	1	Distribución del color secundario de la piel
2	Distribucion del color secundario de la piel	2	Forma coloración secundaria de la piel
3	Color secundario de la piel del tubérculo	3	Color secundario de la piel del tubérculo
4	Color del cáliz	4	Número de estigmas
5	Color del espolón	5	Número de estambres
6	Color pedúnculo flor	6	Número de espolones
7	Número de estigmas	7	Color secundario corola
8	Color secundario corola	8	Color predominante de la piel del tubérculo
9	Número de estambres	9	Distribución del color secundario de la pulpa
10	Color predominante de la piel del tubérculo	10	Color del espolón
11	Distribución del color secundario de la pulpa	11	Color del cáliz
12	Número de espolones	12	Color secundario de la pulpa
13	Color superior de la corola	13	Color pedúnculo flor
14	Color secundario de la pulpa	14	Color superior de la corola
15	Pigmentación de los estigmas	15	Color inferior de la corola
16	Forma del tubérculo	16	Pigmentación de los estigmas
17	Color primario de la corola	17	Forma del tubérculo
18	Color inferior de la corola	18	Color primario de la corola
19	Color predominante de la pulpa	19	Color predominante de la pulpa

D. Comparación entre los ACM de Cusco y Cajamarca con el de Cusco

Comparando los descriptores seleccionados para Cusco y Cajamarca con los de Cusco (25 descriptores) podemos notar que casi todos los caracteres seleccionados fueron semejantes (21) entre ambos ACM, se observó que 7 descriptores corresponden a tubérculo, 5 corresponden a las flores, 3 a los espolones, 3 a los órganos florales y 3 a los fruto; sin embargo 4 caracteres fueron diferentes entre ambos.

Los descriptores 19 obtenidos mediante el segundo ACM fueron los mismos tanto para la población de Cusco como para la población Cusco-Cajamarca. Sin embargo el orden en que contribuyeron a las dimensiones varió en cada ACM secuencial. De los descriptores seleccionados 8 son de los tubérculos, 6 son de la flor, 3 de los órganos florales y 3 de los espolones.

4.1.7 Análisis de agrupamiento mediante 19 descriptores seleccionados

A. Análisis de agrupamiento de las accesiones de Cusco y Cajamarca

En el análisis de agrupamiento en clúster mediante los 19 descriptores seleccionados, podemos encontrar 8 morfotipos duplicados: UNAQA-167 y UNAQA-195; UNAQA-036, UNAQA-192, UNAQA-259; UNAQA-081 y UNAQA-185; UNAQA-019, UNAQA-014, UNAQA-163, UNAQA-260, UNAQA-005 y UNAQA-095; UNAQA-153 y UNAQA-246; UNAQA-140 y UNAQA-085B; UNAQA-137 y UNAQA-094; UNAQA-007B, UNAQA-069 y UNAQA-068; a un coeficiente de distancia de 0. Los agrupamientos se observan en la figura 18, donde se determinó 3 puntos de corte; uno para los grupos (A), el segundo para los subgrupos (B) y el último para los sub-subgrupos (C).

Los grupos A1 y A2 se determinaron a un coeficiente de distancia de 3,25; que se diferencian por el color secundario de la piel del tubérculo. En el grupo A1 grupo se encuentran accesiones que no presentan coloración secundaria y las accesiones que presentan una coloración secundaria desde el amarillo hasta el amarillo-naranja. En el grupo A2 se encuentran las accesiones con color secundario desde el naranja hasta el negro.

Los siete subgrupos: B1, B2, B3, B4, B5, B6 y B7 se encuentran a un coeficiente de distancia de 2,59. Los dos primeros pertenecen al grupo A1 y los cinco restantes al grupo A2.

El subgrupo B1 solo incluye las accesión UNAQA-054 que se caracteriza por presentar por ser la única accesión con color de pulpa morado.

El subgrupo B2 incluye accesiones con color predominante naranja, rosado, púrpura y negro que presentan un color secundario amarillo naranja; y accesiones amarillas y amarillas-naranja que no presentan color secundario en la piel del tubérculo.

El subgrupo B3 incluyó ocho accesiones con color predominante oscuro en la piel (púrpura, morado y negro), con una distribución del color secundario mayormente en forma de manchas en los ojos, además mayormente presentaron un color secundario de la corola anaranjado, con ausencia de pigmentación en los estigmas y la mitad presentó un espolón y el resto o dos espolones.

El subgrupo B4 incluyó cinco accesiones que presentaron una distribución irregular del color secundario de la piel del tubérculo y mayormente en forma de jaspes, con ausencia mayormente del color secundario en la pulpa, además presentaron el color secundario de la corola mayormente anaranjado - rojizo y sin pigmentación en los estigmas.

El subgrupo B5 incluyó seis accesiones que presentaron el color secundario en forma de jaspes y manchas en los ojos y una de estas además presentó bandas, además el color secundario de la pulpa se encontró en el anillo y en la epidermis o en el anillo y la médula, el color secundario de la corola mayormente fue anaranjado-rojizo y no presentó pigmentación en los estigmas.

El subgrupo B6 incluyó seis accesiones, que presentaron mayormente un color secundario amarillo en forma de jaspes y manchas en los ojos, así también presentaron mayormente el color secundario de la pulpa en la epidermis, además incluyo la accesión UNACA-016 que no presenta flores, pero se incluyó en este grupo por las características del tubérculo. Las accesiones que presentaron flor, mostraron un color superior anaranjado y mayormente presentaron pigmentación en los estigmas.

El subgrupo B7 incluye las demás accesiones, sin embargo se puede visualizar dos subgrupos, por ello se realizó un tercer punto de corte a un coeficiente de distancia de 2,21.

Los trece sub-subgrupos: C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13 se determinaron a un coeficiente de distancia de 2,21. Solo los sub-subgrupos C1 y C4 estuvieron conformados por sus mismos subgrupos B1 y B3 respectivamente.

El subgrupo B2 estuvo conformado por los sub-subgrupos C2 y C3, donde el sub-subgrupo C2 se caracteriza por incluir accesiones con color predominante de la piel del tubérculo oscuro (rosado, púrpura y negro), que presentaron color secundario en la pulpa del tubérculo en su mayoría presentan un color de cáliz rojo-naranja, con ausencia de pigmentación en los estigmas y con 8 estambres; y el sub-subgrupo C3 se caracterizó por incluir accesiones con color predominante de la piel amarilla, amarillas-naranja y naranja, donde las 2 primeras se caracterizaron por no presentar color secundario en la piel del tubérculo y la última presentaron color secundario amarillo en los ojos y ausencia en el color secundario en la pulpa del tubérculo. El subgrupo B4 estuvo conformado por dos sub-subgrupos C5 y C6, donde el sub-subgrupo C5 estuvo conformado solo por la accesión UNACA-024 que se separó del subgrupo B4, por ser la única que presentó bandas además de jaspes; y el subgrupo C6 incluyó las demás accesiones.

El subgrupo B5 estuvo conformado por dos sub-subgrupos C7 y C8, donde C7 incluyó las accesiones UNAQA-082 y UNAQA-034 que se diferenciaron del subgrupo por presentar una distribución irregular; y el sub-subgrupo C8 está conformado por las accesiones UNAQA-031, UNAQA-047, UNAQA-103 y UNAQA-161A que mantuvieron las principales características del subgrupo B5.

El subgrupo B6 estuvo conformado por tres sub-subgrupos C9, C10 y C11, donde el sub-subgrupo C9 solo incluyó la accesión UNACA-016 que se caracterizó por la ausencia de los descriptores de flor; el sub-subgrupo C10 incluyó las accesiones UNACA-034, UNACA-027 y UNACA-017 que se diferenciaron del subgrupo B6 por presentar un color predominante amarillo-naranja; y el sub-subgrupo C11 incluyó las accesiones UNAQA-176 y UNAQA-221 que se caracterizaron por presentar un color predominante oscuro (rojo grisáceo y púrpura).

El subgrupo B7 estuvo conformado por dos sub-subgrupos C12 y C13, donde el sub-subgrupo C12 que se caracteriza por presentar mayormente el color secundario desde el rosado hasta el morado grisáceo en los ojos, además de no presentar color secundario en la pulpa del tubérculo; y el sub-subgrupo C11 se caracteriza por presentar de 2 a 3 distribuciones al mismo tiempo, al igual que de 2 a 3 formas del color secundario de la piel del tubérculo.

En el dendograma también observamos que a un coeficiente de distancia de 0,0 se obtiene un total de 257 morfotipos; sin embargo, a medida que disminuimos el coeficiente de distancia disminuyen la cantidad de morfotipos, en donde a un coeficiente de 0,5 se obtendría un total de 205 morfotipos, a un coeficiente de 0,6 se obtendría 188 morfotipos, a un coeficiente de 0,7 se obtendría 159 morfotipos, a un coeficiente de 0,8 se obtendrían 142, a un coeficiente de 0,9 se obtendría 124 morfotipos y a un coeficiente de distancia de 1 se obtendrían 106 morfotipos (**Figura 18**).

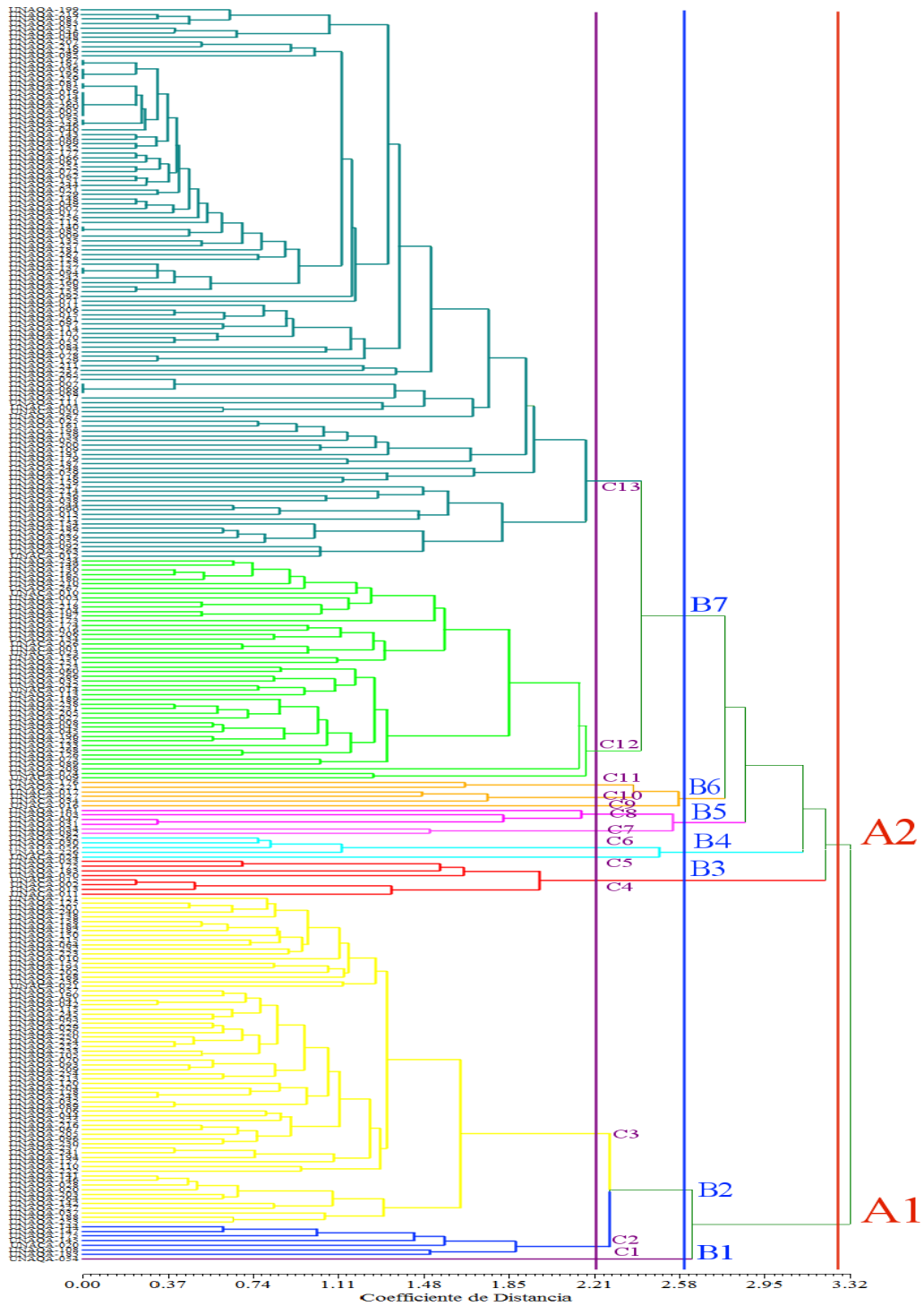


Figura 18: Dendrograma del análisis de agrupamiento morfológico mediante 19 descriptores de 271 accesiones de Cusco y Cajamarca.

B. Análisis de agrupamiento de las accesiones de Cusco mediante 19 descriptores seleccionados

En el análisis de agrupamiento en clúster mediante los 18 caracteres seleccionados, podemos encontrar 8 duplicados: UNAQA-167 y UNAQA-195; UNAQA-036, UNAQA-192, UNAQA-259; UNAQA-081 y UNAQA-185; UNAQA-019, UNAQA-014, UNAQA-163, UNAQA-260, UNAQA-005 y UNAQA-095; UNAQA-153 y UNAQA-246; UNAQA-140 y UNAQA-085B; UNAQA-137 y UNAQA-094; UNAQA-007B, UNAQA-069 y UNAQA-068. Los agrupamiento generales en el dendograma son semejantes con los encontrados para el dendograma de Cusco y Cajamarca; pero hubo ligeras variaciones en el orden de los subagrupamientos, debido a que el orden de importancia de los 19 descriptores seleccionados para Cusco no fue exactamente el mismo que para Cusco y Cajamarca (**Tabla 17**).

C. Homologación del análisis de agrupamiento con los caracteres de tubérculo

Se realizó un análisis de agrupamiento solo con los caracteres de tubérculo para las 271 accesiones considerando los 8 descriptores de tubérculo seleccionados según el ACM, debido a que la conservación y clasificación de la mashua por los agricultores se realiza a través de los tubérculos, además los ACM mostraron que los caracteres de mayor importancia y más discriminantes son los de tubérculo (8).

La **Figura 19** muestra el dendograma obtenido mediante los descriptores tubérculo, donde se encontró un total de 144 morfotipos a un coeficiente de distancia de 0, donde se encontró un total de 127 accesiones repetidas que correspondieron a 47 morfotipos mostrados en la tabla 12 y representan el 46,86 por ciento de la población. De los morfotipos 128 corresponden al departamento de Cusco y 16 al departamento de Cajamarca.

Posterior a los agrupamientos, se calculó la correlación entre ambos, es decir entre el obtenido a partir de los 45 descriptores y el obtenido a partir de los 8 descriptores, encontrándose una alta correlación ($r=0,97301$).

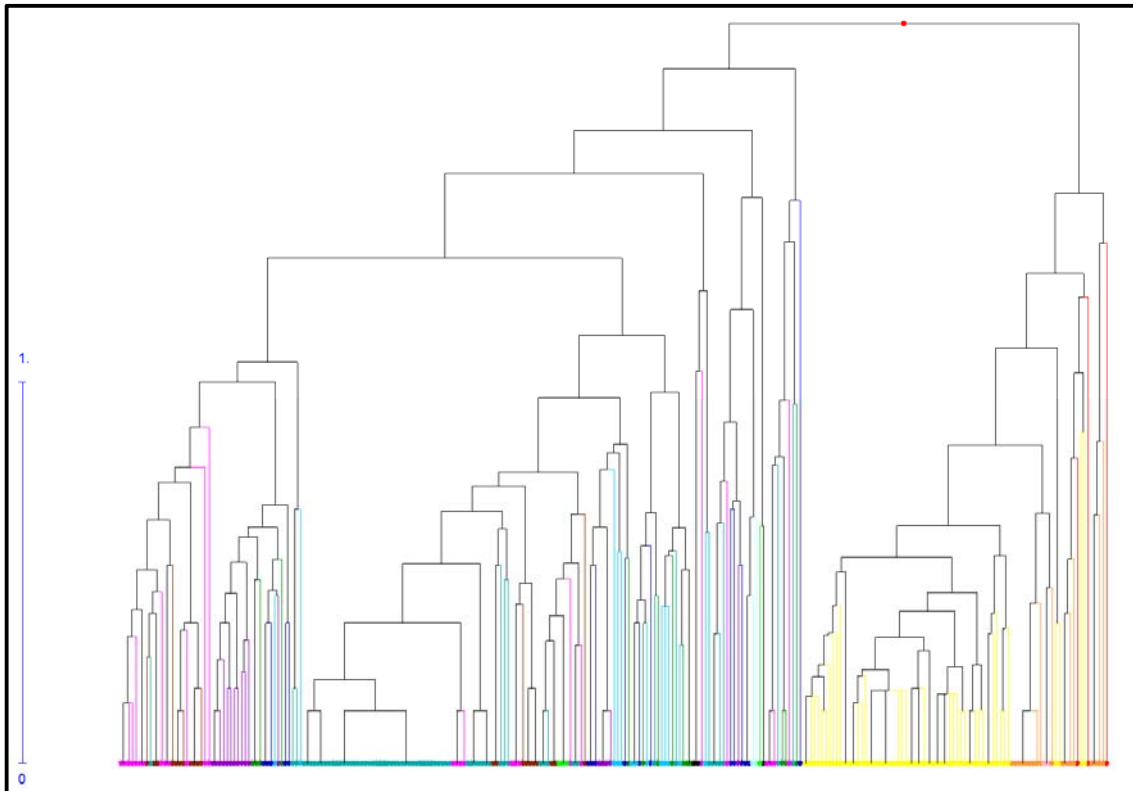


Figura 19: Agrupamiento de 271 accesiones de Cusco y Cajamarca según el coeficiente de distancia 0 de 8 descriptores de tubérculo.

En la **Tabla 18** podemos notar los duplicados encontrados mediante los descriptores de tubérculo:

Tabla 18: Duplicados de los morfotipos de tubérculo y procedencia de las accesiones

Morfotipos	Duplicados por morfotipo	Origen
1	Q-2, Q-63	Paucartambo y Calca
2	Q-6, Q-213, Q-7	Acomayo y Calca
4	Q-16, Q-217, Q-225	Lares
8	Q-5, Q-61B	Chumbivilcas
10	Q-10, Q-11, Q-26, Q-44A, Q-49, Q-50, Q-58B, Q-62, Q-64, Q-69B, Q-70, Q-72B, Q-76, Q-77, Q-78, Q-85, Q-86, Q-87B, Q-92, Q-100, Q-102, Q-104, Q-119, Q-152, Q-176, Q-179, Q-180, Q-182, Q-184, Q-186, Q-187, Q-188, Q-190, Q-191, Q-192, Q-195, Q-196, Q-212, Q-218, Q-227, Q-266	40 Accesiones: 1 Acomayo, 25 Calca, 2 Canas, 2 Canchis, 5 Espinar, 2 Paruro, 2 Paucartambo y 1 Urubamba
11	Q-21, Q-116B, Q-126B, Q-216	4 Accesiones: 2 Calca, 1 Canas y 1 Canchis
12	Q-37, Q-52, Q-154, Q-168, Q-185, Q-201, Q-230	7 Accesiones: 4 Calca, 1 Canas, 1 Espinar y 1 Paruro
13	Q-81, Q-250	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Urubamba
15	Q-177, Q-209, Q-224	3 Accesiones: 2 Calca y 1 Espinar
16	Q-75, Q-158, Q-170	3 Accesiones: 2 Calca y 1 Urubamba
18	Q-149, Q-164	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Canchis
21	Q-72A, Q-93, Q-122	3 Accesiones de Calca
23	C-2, C-22	2 Accesiones: 1 San Marcos y 1

Continuación		Hualgayoc
33	Q-8, Q-42	2 Accesiones de Calca
39	Q-99B, Q-106	2 Accesiones: 1 Acomayo y 1 Calca
44	Q-9, Q-69A, Q219	3 Accesiones: 1 Anta, 1 Canas y 1 Paruro
45	Q-178, Q-236, Q-238, Q-244	4 Accesiones: 2 Calca 1 Canchis y 1 Chumbivilcas
49	Q-194, Q-198	2 Accesiones: 1 Acomayo y 1 Urubamba
50	Q-56, Q-67	2 Accesiones de Calca
54	C-21, C-25	2 Accesiones: 1 Cajabamba y 1 San Marcos
56	Q-214, Q-220, Q-221, Q-223	4 Accesiones: 1 Calca 1 Espinar, 1 Paucartambo y 1 Urubamba
59	Q-66, Q-166	2 Accesiones: 1 Anta y 1 Urubamba
63	Q-103, Q-174	2 Accesiones: 1 Anta y 1 Calca
68	Q-48B, Q-132B, Q-148, Q-243A	4 Accesiones: 1 Chumbivilcas 1 Cusco y 2 Paruro
83	Q-58A, Q-89	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Paruro
87	Q-22, Q-175	2 Accesiones: 1 Cusco y 1 Espinar
91	Q-189, Q-231	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Cusco
98	C-16, C-31	2 Accesiones de Cajamarca
103	Q-126A, Q-15	2 Accesiones: 1 Canchis y 1 Urubamba
104	Q-27, Q-257	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Espinar
105	Q-84, Q-255 ^a	2 Accesiones: 1 Paruro y 1 Urubamba
107	Q-18, Q-65, Q-120, Q-125, Q-130, Q-159, Q-172, Q-253, Q-263, Q-265	10 Accesiones: 1 Acomayo, 5 de Calca, 1 Cusco, 1 Paruro y 2 Urubamba
108	Q-83, Q-165 ^a	2 Accesiones de Calca
112	Q-68A, Q-264	2 Accesiones de Acomayo
115	Q-160, Q-262	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Chumbivilcas
117	Q-24, Q-124	2 Accesiones de Calca
118	Q-121, Q-240, Q-254 ^a	3 Accesiones: 2 Calca y 1 Chumbivilcas
119	Q-127, Q-261	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Paucartambo
120	Q-30, Q-51, Q-61A, Q-144, Q-197	5 Accesiones: 1 Calca, 1 Chumbivilcas, 1 Paucartambo y 2 Urubamba
121	Q-132A, Q-246	2 Accesiones: 1 Acomayo y 1 Chumbivilcas
127	Q-68B, Q-128	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Acomayo
128	Q-79, Q-136	2 Accesiones de Paruro
130	Q-31, Q-91, Q-96, Q-98, Q-99A, Q-101, Q-107	7 Accesiones: 1 Anta, 1 Acomayo, 1 de Calca, 2 Canas, 1 Cusco y 1 Paucartambo
132	Q-260, Q-268	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Espinar
136	Q-203, Q-204 ^a	2 Accesiones: 1 Calca y 1 Canas
143	C-12, C-33	2 Accesiones: 1 Cajamarca y 1 Hualgayoc

4.18 Relación de los análisis de agrupamiento con los datos de colecta

Se relacionó los agrupamientos encontrados en la caracterización morfológica con los nombres y lugar de procedencia de las accesiones (**Anexo 1**).

- **Nombre común:** Los nombres comunes más repetitivos fueron: Zapalla (Añu 15 accesiones, amarillo 1 y 2 solo Zapalla), Yuraq (10 accesiones Añu, Yana 2 y 5 con otro nombre), Yana (13 accesiones Ñawi, 9 Añu y 10 otro nombre), Wallata (2), Waka (6 accesiones Waqra, 2 Añu, 3 Hasta), Sara (3 accesiones), Q'ello (21 accesiones Añu, 3

Yana, 2 Zapallo y 12 otro nombre), Puka (9 accesiones Añu y 14 otro nombre), Papa Añu (3 accesiones), Paro Añu (2 accesiones), Muro (6 accesiones Añu, 3 Puka y 3 otro nombre), Lllawar waqaq (3 accesiones), Cuerpo de Cristo (3 accesiones), Azul Nawi (4 accesiones), Mashua Zapalla (3 accesiones), Zapalla (3 accesiones) y Mashua Negra (2) y Ojo Morado (2). De los nombres más comunes, la mayoría pertenece al departamento de Cusco, excepto los cuatro últimos que pertenecen al departamento de Cajamarca.

En el grupo A1 se encontró agrupadas las accesiones con los nombres Yana añu (subgrupo C2), Puka añu (subgrupo C3), y pequeños subgrupos de los nombres Q'ello Añu y Zapallo Añu (subgrupo C3).

En el grupo A2 se encontró agrupadas las accesiones en pequeños subgrupos con nombres comunes Yana Añu (subgrupo C4), Yuraq (subgrupo C12), Yana (subgrupo C12) y Waka (subgrupo C13). La **Figura 20** muestra los algunos agrupamientos basados nombres comunes en un eje de coordenadas.

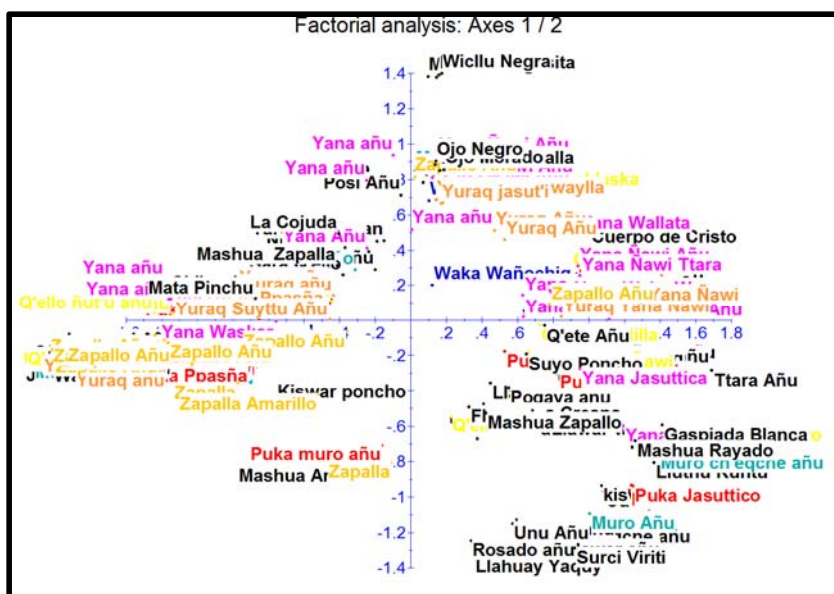


Figura 20: Ploteo de análisis morfológico basado en los nombres comunes.

- **Lugar de procedencia:** Las muestras provienen de 11 provincias del departamento del Cusco y de 4 provincias del departamento de Cajamarca. En el dendograma se puede notar que las accesiones de la provincia Calca se encuentran distribuidas en todos los agrupamientos; esto nos muestra la gran variabilidad morfológica que se encuentra en dicha provincia además de la gran cantidad de muestras provenientes de esta. Las

accesiones no se agruparon según el lugar de procedencia de la accesión. La **Figura 21** muestra un ploteo de las accesiones en los 2 primeros ejes según el lugar de procedencia de las accesiones.

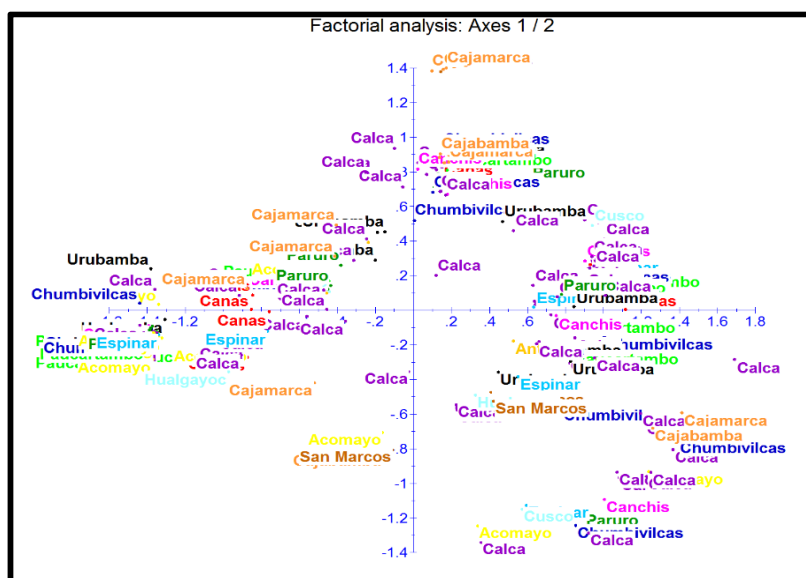


Figura 21: Ploteo de análisis morfológico basado en los lugares de origen de las accesiones.

4.2 Caracterización de la variabilidad molecular

4.2.1 Selección de combinaciones de iniciadores de AFLP

Se probó un total de 18 combinaciones de iniciadores en este estudio, de las cuales se seleccionó 6 combinaciones por presentar mayor polimorfismo. Las combinaciones seleccionadas se muestran en la **Tabla 19**:

Tabla 19: Iniciadores para la obtención de marcadores AFLP

Nombre	Secuencias de (5'-3')-Iniciador Eco RI	Nombre	Secuencias de (5'-3')-Iniciador Mse I
E32	GACTGCGTACCAATTC AAC	M40	GATGAGTCCTGAGTAAAGC
E32	GACTGCGTACCAATTC AAC	M41	GATGAGTCCTGAGTAAAGG
E32	GACTGCGTACCAATTC AAC	M59	GATGAGTCCTGAGTAACTA
E45	GACTGCGTACCAATTC ATG	M41	GATGAGTCCTGAGTAAAGG
E40	GACTGCGTACCAATTC AGC	M35	GATGAGTCCTGAGTAAACA
E35	GACTGCGTACCAATTC ACA	M48	GATGAGTCCTGAGTAACAC

4.2.2 Marcadores AFLP detectados

A. Marcadores AFLP detectados en Cusco

En la **Tabla 20** se muestra el total de fragmentos amplificados en el departamento de Cusco. Un total de 333 fragmentos amplificados (loci) que fueron detectados dentro de 201 accesiones de Cusco, en donde el 59,46 por ciento de bandas (198) AFLP fueron polimórficas, es decir son las más informativas. El número de loci polimórficos varió por combinación de iniciadores de 26 a 40 bandas ([E32 M40] y [E35 M48], respectivamente, con un promedio de 33 bandas polimórficas por iniciador).

Tabla 20: Número y porcentajes de bandas polimórficas y monomórficas detectadas en los patrones AFLP de la localidad de Cusco

CUSCO					
Iniciadores	Bandas Monomórficas	% Bandas Monomórficas	Bandas Polimórficas	% Bandas Polimórficas	Número Total de Bandas
E32-M40	30	42,86	40	57,14	70
E32-M41	27	45,00	33	55,00	60
E32-M59	20	38,46	32	61,54	52
E45-M41	19	37,25	32	62,75	51
E40-M35	13	27,08	35	72,92	48
E35-M48	26	50,00	26	50,00	52
Total	135	40,54	198	59,46	333
Promedio	22,5	40,54	33,00	59,46	55,50

Comparando los resultados obtenidos de dos combinaciones de AFLP más polimórficas de Alagon y Rosas (2008) empleadas en el presente trabajo (E32M40 y E32M41), observamos variaciones en el número de bandas evaluadas (monomórficas y polimórficas), pero los porcentajes de bandas polimórficas fueron semejantes.

B. Marcadores AFLP detectados en Cajamarca

En la **Tabla 21** se muestra el total de fragmentos amplificados en el departamento de Cajamarca. Un total de 313 fragmentos amplificados (loci) que fueron detectados dentro de 20 accesiones de Cajamarca, en donde el 58,82 por ciento de bandas (187) AFLP fueron polimórficas, es decir son las más informativas.

El número de loci polimórficos varió por combinación de iniciadores de 23 a 38 bandas ([E32 M40] y [E35 M48], respectivamente, con un promedio de 30 bandas polimórficas por iniciador).

Tabla 21: Número y porcentajes de bandas polimórficas y monomórficas detectadas en los patrones AFLP de la localidad de Cajamarca

CAJAMARCA					
Iniciadores	Bandas Monomórficas	% Bandas Monomórficas	Bandas Polimórficas	% Bandas Polimórficas	Número Total de Bandas
E32-M40	30	44,12	38	55,88	68
E32-M41	25	47,17	28	52,83	53
E32-M59	19	39,58	29	60,42	48
E45-M41	15	34,09	29	65,91	44
E40-M35	11	25	33	75	44
E35-M48	26	53,06	23	46,94	49
Total	126	41,18	180	58,82	306
Promedio	21	41,18	30	58,82	51

C. Marcadores AFLP exclusivos por localidad

Se detectaron marcadores exclusivos para cada uno de los departamentos respectivamente, estos marcadores exclusivos fueron contabilizados y mostraron valores diferentes para cada par de iniciadores, como se observa a continuación (**Tabla 22**).

Tabla 22: Número de marcadores exclusivos detectados en los patrones AFLP para cada departamento.

MARCADORES EXCLUSIVOS		
Iniciadores	CUSCO	CAJAMARCA
E32-M40	6	5
E32-M41	4	1
E32-M59	1	0
E45-M41	4	0
E40-M35	3	0
E35-M48	6	1
Total	24	7

Las bandas exclusivas que se consideraron fueron solo las bandas polimórficas para la población Cusco Cajamarca, ya que estas fueron las bandas informativas de cada departamento. Además también podemos notar que al igual que en Alagón y Rosas (2008) el departamento con mayor cantidad de bandas exclusivas fue Cusco.

4.2.3 Análisis de polimorfismo

A. Determinación del índice de contenido polimórfico (PIC)

El índice de contenido polimórfico (PIC) se calculó para cada fragmento polimórfico y este indicó el poder de discriminación de cada marcador. Los valores por debajo de 0,05 de PIC se eliminaron debido a que la cantidad de bandas ausentes o presentes sobrepasó el 90 por ciento con respecto a la otra (menos de 4 individuos); estas bandas no fueron incluidas en el análisis estadístico de PIC. Los valores PIC se muestran en la **Tabla 23**.

Tabla 23: Índice y promedio de contenido polimórfico para Cusco y Cajamarca

CUSCO Y CAJAMARCA				
Iniciadores	Marcadores	PIC 211	Marcadores	PIC 201
E32 M40	45	0,27	42	0,29
E32 M41	34	0,31	33	0,32
E32 M59	32	0,30	32	0,30
E45 M41	34	0,27	33	0,28
E40 M35	36	0,31	35	0,32
E35 M48	30	0,23	26	0,27
TOTAL	211	0,28	201	0,30

De los 211 marcadores encontrados se eliminará un total de 10 marcadores, quedándonos así con 201 marcadores debido a que presentaron valores por debajo de 0,05 cuando se analizó los valores de PIC como una sola población, estos no se incluyeron en los análisis posteriores.

También se determinó el PIC por cada departamento en la **Tabla 24** y **Tabla 25**.

Tabla 24: Índice y promedio de contenido polimórfico para Cusco

CUSCO				
Iniciadores	Marcadores	PIC 204	Marcadores	PIC 198
E32 M40	40	0,29	40	0,29
E32 M41	33	0,31	33	0,31
E32 M59	32	0,29	31	0,30
E45 M41	34	0,26	32	0,28
E40 M35	36	0,30	35	0,31
E35 M48	29	0,23	27	0,25
TOTAL	204	0,28	198	0,29

De los 211 marcadores encontrados en la población conjunta de Cusco-Cajamarca, para la población de solo Cusco se eliminó un total de 7 marcadores específicos de Cajamarca, quedándonos así 204 marcadores, y estos últimos fueron reducidos a 198 marcadores, debido a que presentaron valores por debajo de 0,05 cuando se analizó los valores de PIC solo en la población de Cusco.

Tabla 25: Índice y promedio de contenido polimórfico para Cajamarca

CAJAMARCA		
Iniciadores	Marcadores	PIC 180
E32 M40	38	0,32
E32 M41	28	0,28
E32 M59	29	0,30
E45 M41	28	0,32
E40 M35	33	0,31
E35 M48	24	0,27
TOTAL	180	0,30

De los 211 marcadores encontrados en la población conjunta de Cusco-Cajamarca, se eliminó 24 marcadores específicos para Cusco, quedándonos así 187 marcadores, y de estos se eliminó 7 marcadores más, debido a que dichas bandas fueron monomórficas en toda la población de Cajamarca, pero polimórficas cuando se consideraron con la población de Cusco y por consiguiente no nos brindaron información relevante, quedándonos así con 180 marcadores para la población de Cajamarca.

No se pudieron realizar comparaciones de los valores de PIC con los de Alagón y Rosas (2008), debido a que la fórmula que emplearon es la de heterocigocidad y no la del PIC.

B. Determinación de los iniciadores más polimórficos

Los índices de iniciadores muestran el poder de discriminación de cada combinación de iniciadores, estos fueron analizados en general y por departamento y por combinación. Para este análisis se consideraron todos los marcadores encontrados, incluidos los que presentaban un PIC inferior a 0,05. Los valores se muestran en la **Tabla 26**.

Los iniciadores con índices de iniciador más elevados son el E32M40 y E40M35; mientras que el con menor índice de iniciador es el E35M48 en ambos departamentos y en conjunto. Los iniciadores con mayor PIC fueron las combinaciones E32M41 y E40M35 para la

población en conjunto. Sin embargo, no necesariamente un mayor índice de iniciador tendrá un mayor PIC. El iniciador más polimórfico en Cusco fue el E32M41 que presentó un mayor PIC en Cusco. Sin embargo, no presentó el más alto índice de iniciador; mientras que el iniciador más polimórfico en Cajamarca fue el E32M40, que también presentó el más alto índice de iniciador.

Tabla 26: Contenido de polimorfismo calculado para Cusco y Cajamarca

Departamento	Cajamarca		Cusco		Cusco y Cajamarca	
	Índice Iniciador	Promedio PIC	Índice Iniciador	Promedio PIC	Índice Iniciador	Promedio PIC
E32 M40	12,03	0,32	11,47	0,29	12,03	0,29
E32 M41	7,71	0,28	10,35	0,31	10,47	0,32
E32 M59	8,75	0,30	9,42	0,29	9,71	0,30
E45 M41	8,95	0,31	8,89	0,26	9,20	0,28
E40 M35	10,22	0,31	10,72	0,30	11,08	0,32
E35 M48	6,51	0,28	6,72	0,23	7,04	0,27
PROMEDIO	9,03	0,30	9,60	0,29	9,92	0,30

C. Determinación del índice de diversidad de Shannon Weaver

Se determinó el índice de diversidad de Shannon para cuantificar la biodiversidad específica total y la de ambos departamentos (Tabla 27).

Tabla 27: Índice de Shannon Weaver molecular

Índice de Shannon Weaver	
Población	Índice
Cusco-Cajamarca	5,14456978
Cusco	5,12036797
Cajamarca	5,0589333

Estos valores fueron superiores a 5, por consiguiente confirman la existencia de una gran diversidad encontrada con los marcadores AFLP tanto considerada como un conjunto o por departamentos. A pesar de que las accesiones de Cajamarca fueron solo 20 se puede notar la presencia de una gran diversidad.

4.2.4 Análisis de agrupamiento

La importancia de determinar la similitud genética entre individuos de una población, es que a partir de ella se pueden realizar correctamente los análisis de agrupamiento y diversidad. No existe un coeficiente de similitud universalmente reconocido para el análisis con marcadores moleculares, además también se debe de considerar el tipo de carácter dominante o codominante

La similitud genética entre 221 accesiones de mashuas de Cusco y Cajamarca se calculó empleando los coeficientes de similitud Simple Matching y Jaccard. Se obtuvieron dos matrices donde se comparan entre si cada uno de las accesiones.

A. Coeficiente Simple Matching

Del análisis de agrupamiento, según el coeficiente de SM, mostrado en la **Figura 22** y **Figura 23**, se puede notar la formación de dos grupos bien diferenciados a un coeficiente de similaridad de 0,58, el primer grupo A1 está conformado por todas las accesiones de Cusco, mientras que el segundo grupo A2 está conformado por las accesiones de Cajamarca, esto probablemente se debe a la presencia de bandas exclusivas, las cuales permiten la separación entre ambos departamentos.

Los porcentajes de similitud encontrados para este coeficiente son de 58 por ciento a 95 por ciento. El porcentaje de similitud más alto encontrado en este análisis de AFLP fue entre las accesiones UNAQA-049 y UNAQA-135 con 95 por ciento, y de manera similar las accesiones UNAQA-163 y UNAQA-185 al mismo porcentaje, lo que indica una alta similitud genética entre ellos. Se encontró la formación de 4 subgrupos a un coeficiente de similaridad de 0,61. El primer subgrupo B1 está conformado por las accesiones de Cajamarca, el subgrupo B2 está conformado por las accesiones UNAQA-129, UNAQA-059, UNAQA-063 y UNAQA-242, el subgrupo B3 incluye las accesiones UNAQA-198, UNAQA-027, UNAQA-030, UNAQA-034, UNAQA-050A y UNAQA-175, y el subgrupo A3 está conformada por el resto de las accesiones. Se determinó un tercer punto de corte a 0,9 y se encontró un total de 203 accesiones diferentes a nivel molecular.

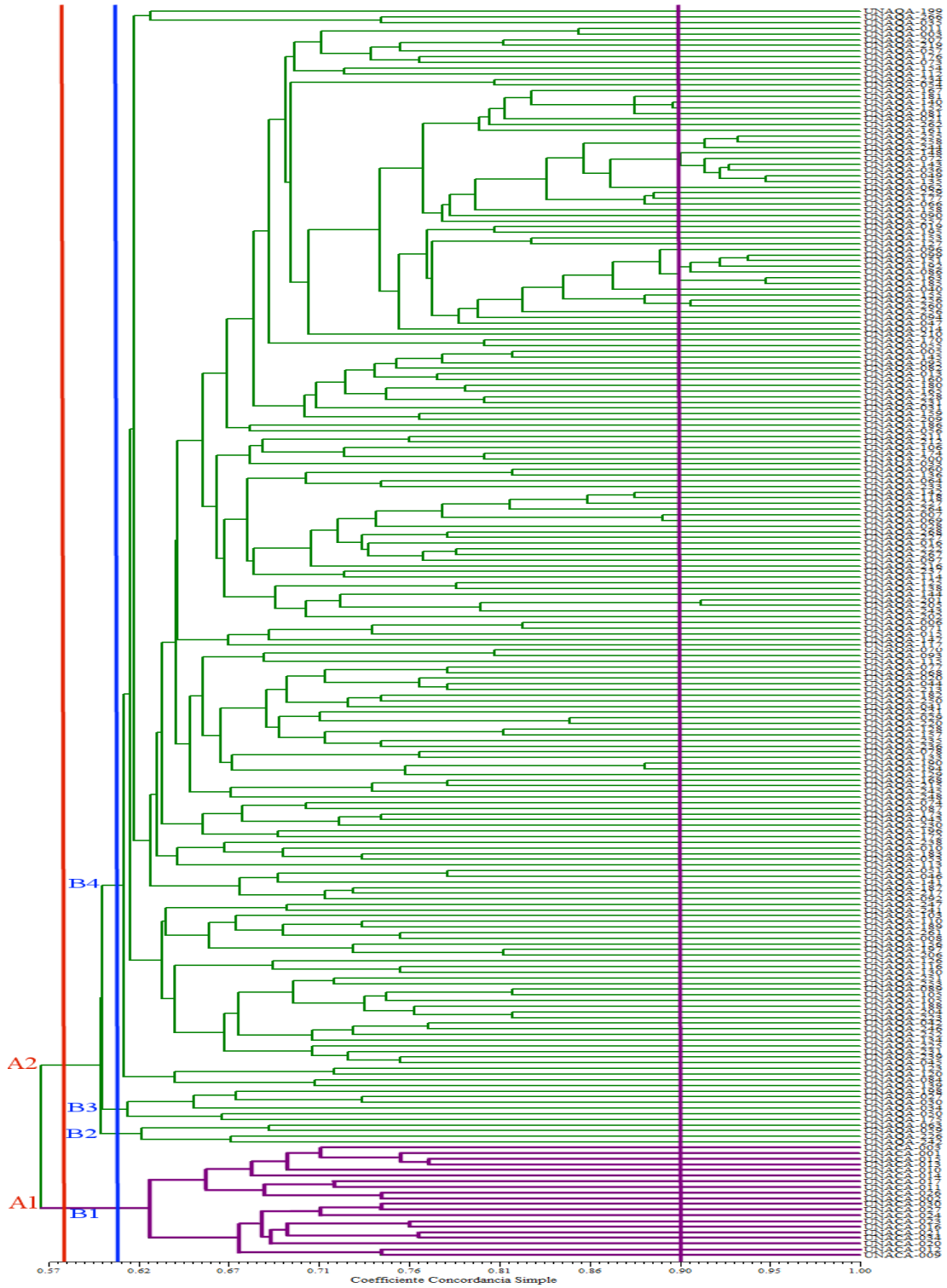


Figura 22: Grupos formados mediante el coeficiente Simple Matching en 221 accesiones

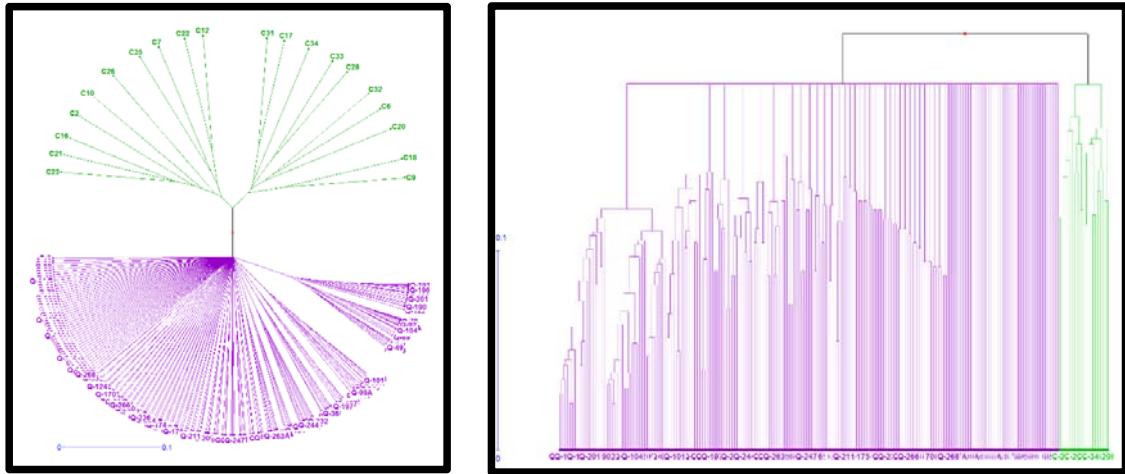


Figura 23: Agrupamiento de las accesiones de Cusco y Cajamarca según el índice de similitud Simple Matching. a.Izquierda: Gráfica Radial, b.Derecha: Dendograma Vertical.

B. Coeficiente Jaccard

Del análisis de agrupamiento, según el coeficiente de Jaccard, mostrado en la **Figura 24** y **Figura 25**, podemos observar en el dendograma resultante que todas las accesiones están incluidas dentro de un mismo clúster, por ello establecemos los grupos a un coeficiente de similitud de 0,37, donde se forman dos grupos, uno del departamento de Cusco y el otro del departamento de Cajamarca, sin embargo se encuentran 12 accesiones excluidas de ambos grupos. Los grupos encontrados a un coeficiente de similitud de 0,37 fueron 12. El primer grupo A1 está conformado por la accesión UNAQA-008, el grupo A2 está conformado por la accesión UNAQA-261, el grupo A3 está conformado por la accesión UNAQA-084, el grupo A4 está conformado por la accesión UNAQA-251, el grupo A5 está conformado por las accesiones UNAQA-206 y UNAQA-197, el grupo A6 está conformado por la accesión UNAQA-241, el grupo A7 está conformado por la accesión UNAQA-247, el grupo A8 está conformado por la accesión UNAQA-110, el grupo A9 está conformado por las accesión UNAQA-116 y UNAQA-130, el grupo A10 está conformado por las accesiones UNAQA-188, UNAQA-223, UNAQA-204, UNAQA-105A, UNAQA-105B, UNAQA-089, UNAQA-253 y UNAQA-229. El grupo A11 corresponde a las accesiones del departamento de Cajamarca y el grupo A12 incluye el resto de las accesiones. El porcentaje de similitud más alto encontrado en este análisis de AFLP fue entre las accesiones UNAQA-163 y UNAQA-185 con 92 por ciento, lo que indica que genéticamente son muy semejantes. Se determinó un tercer punto de corte a 0,9 donde se 270 accesiones diferentes a nivel molecular.

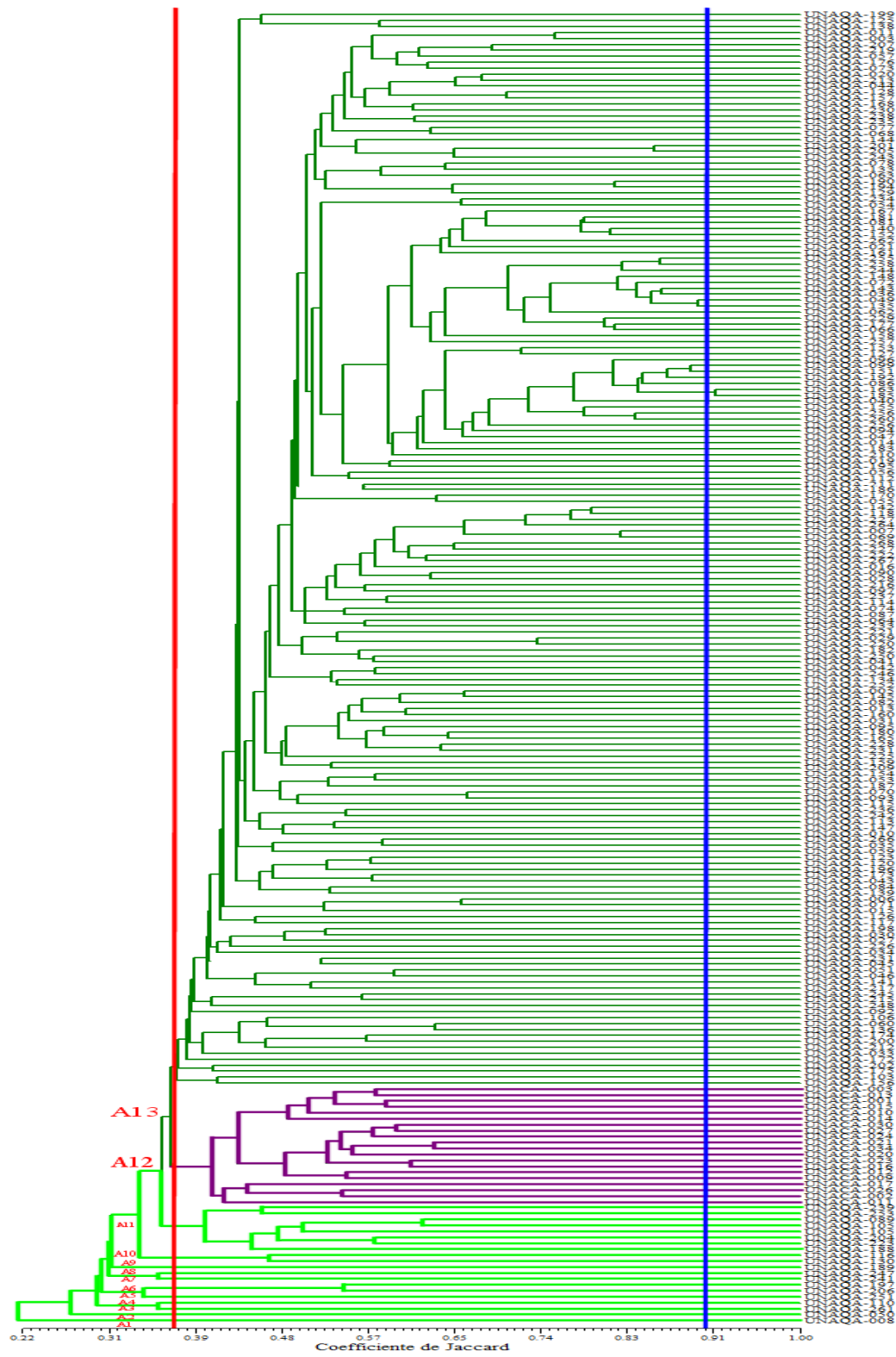


Figura 24: Grupos formados mediante el coeficiente Jaccard en 221 accesiones

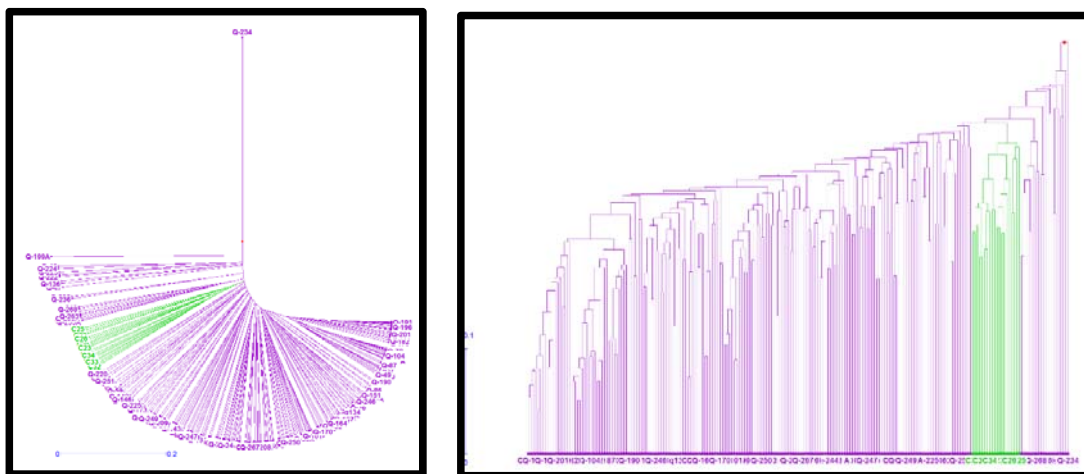


Figura 25: Agrupamiento de las accesiones de Cusco y Cajamarca según el índice de similitud Jaccard. a.Izquierda: Gráfica Radial, b.Derecha: Dendograma Vertical

C. Coeficiente de correlación cofenético

Una vez generadas las matrices de similitud, se evaluó independientemente cada una para obtener la matriz cofenética, la cual resultó de un análisis cofenético a partir del dendograma generado con cada coeficiente de similitud empleado en este estudio.

Se midió la concordancia entre ambas matrices para evaluar la existencia de diferencias significativas en la correlación de las mismas, dando como resultado los valores "r" de coeficiente de correlación cofenético. Los valores están considerados dentro de un rango de buen agrupamiento, sin embargo los valores de Simple Matching (0,7402) es ligeramente más bajo que Jaccard (0,8353).

D. Índice de consenso Cl_c

Para comparar los dendrogramas generados se usó el índice de consenso Cl_c que indica la similitud entre los agrupamientos generados en cada dendograma. El coeficiente consenso hallado entre el dendograma de Simple Matching con el dendograma de Jaccard fue bajo (0,47032), esto se debió a que el coeficiente SM proporciona igual valor a las ausencias y presencias; mientras que Jaccard proporciona un mayor valor a las presencias.

4.2.5 Relación de los análisis de agrupamiento con los datos pasaporte

Se relacionó los datos pasaporte de las accesiones con los agrupamientos formados mediante los respectivos agrupamientos formados. Los datos pasaporte considerados fueron: Nombre común y lugar de procedencia (**Anexo 1**).

A. Coeficiente Simple Matching

Se realizó la comparación de los datos pasaporte con los agrupamientos encontrados en el índice SM.

- **Nombre común:** Los nombres comunes más repetitivos fueron: Zapalla (Año 11 accesiones, amarillo 1 y 2 solo Zapalla), Yuraq (11 accesiones Año, Yana 2 y 6 con otro nombre), Yana (8 accesiones Ñawi, 5 Año y 10 otro nombre), Wallata (2), Waka (7 accesiones Waqra, 2 Año, 2 Hasta), Sara (2 accesiones), Q'ello (18 accesiones Año, 2 Yana, 2 Zapallo y 10 otro nombre), Puka (8 accesiones Año y 7 otro nombre), Papa Año (2 accesiones), Paro Año (2 accesiones), Muro (5 accesiones Año, 2 Puka y 1 otro nombre), Cuerpo de Cristo (2 accesiones), Azul Nawi (3 accesiones), Mashua Zapalla (3 accesiones), Zapalla (3 accesiones) y Mashua Negra (2) y Ojo Morado (2). De los nombres más comunes, la mayoría pertenece al departamento de Cusco, excepto los cuatro últimos que pertenecen al departamento de Cajamarca. En el grupo B4 que corresponde al departamento de Cusco se puede observar subgrupos de accesiones con los nombres comunes Yana (7), Yuraq (5), Q'ello (19) y Zapalla (10). En el subgrupo B1 que corresponde al departamento de Cajamarca se agruparon accesiones Mashua Zapalla y las Ojo morado en un mismo clúster. En la **Figura 26** se observan algunos de los agrupamientos según los nombres comunes de las accesiones representados en un eje factorial.
- **Lugar de procedencia:** se observa que primero se separan los dos departamentos, el primer agrupamiento denominado A2 corresponde a las accesiones del departamento Cusco, mientras que el segundo denominado A1 corresponde a las accesiones de Cajamarca. (Figura 25a). Respecto a las provincias, se tiene 11 perteneciente a Cusco, sin embargo solo la provincia de Calca que incluye a la mayoría de las accesiones se divide en 5 distritos y la provincia de Urubamba en 2 distritos; y 4 pertenecientes a Cajamarca, pero solo San Marcos presenta 2 distritos. En el agrupamiento A2 según su lugar de procedencia se observa que las accesiones no se agrupan dentro de un solo clúster, por el contrario forman diferentes agrupamientos dentro de cada departamento respectivamente, además también se puede notar que las accesiones de la provincia de Calca, que presentan un mayor número de muestras, sus accesiones se encuentran en cada uno de los diferentes agrupamientos, por lo que concluiríamos que dicha provincia

presenta una gran variación genética. Mientras en el agrupamiento A1 las accesiones de Cajamarca según su lugar de procedencia se encuentran distribuidas en ambos agrupamientos independientes de su lugar de procedencia, a excepción de las accesiones del distrito de Bambamarca que solo se encuentran en un subgrupo.

Debido a la gran cantidad y variabilidad encontrada, probablemente el centro de origen de la diversidad de mashua se encuentre en el departamento de Cusco y más específicamente dentro de la provincia de Calca; también se puede ver que las demás provincias también presentan variabilidad, pese a la cantidad de muestras. Además como se observó desde un inicio la formación de dos agrupamientos, uno para cada departamento, se debería a la presencia de diferentes alelos específicos que permitirían distinguir una población de otra.

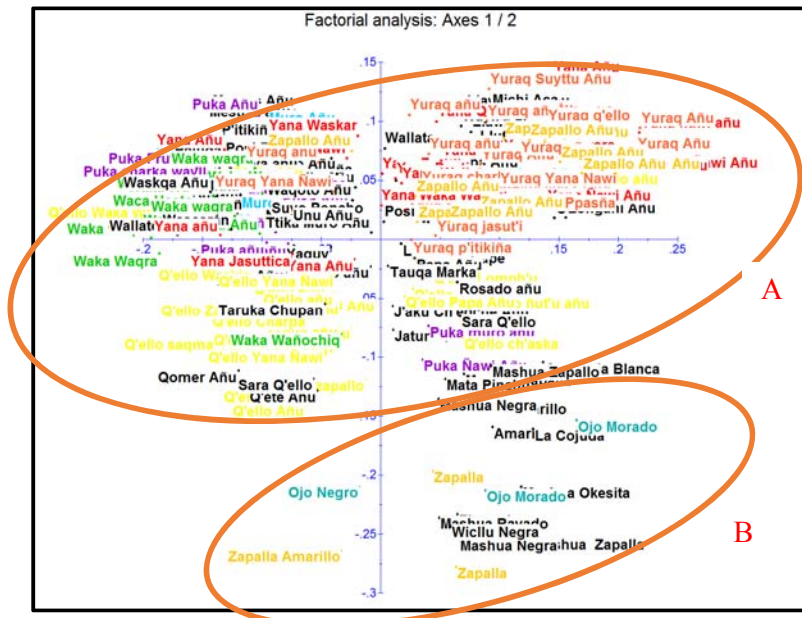


Figura 26: Ploteo del análisis molecular basado en los nombres comunes (Cusco A y Cajamarca B).

B. Coeficiente Jaccard

Se realizó la comparación de los datos pasaporte con los agrupamientos encontrados en el índice Jaccard.

- **Nombre común:** Los agrupamientos generados en el dendograma a diferencia de SM se encontró 12 accesiones que se agrupan antes de los agrupamientos A11 y A12, que corresponden a los departamentos. Del agrupamiento de las accesiones de Cajamarca en

A11 hay subgrupos con los nombres Mashua Zapalla y Zapalla. En el agrupamiento A12 de las accesiones de Cusco se puede observar subgrupos con los nombres comunes Zapalla Añu (7); Yuraq Añu (7), Yana (5), Waka (10) y Q'ello (14).

- **Lugar de procedencia:** Los lugares de procedencia son los mismos que los mencionados en SM, y al igual que en SM las accesiones de Calca se encuentran distribuidas en todo los subagrupamientos, incluyendo las accesiones que se hallan fuera de los agrupamientos A11 y A12. En los agrupamientos de Cajamarca A11, se puede notar que las accesiones según su lugar de procedencia se encuentran dentro de tres subagrupamientos, sin embargo solo Bambamarca se encuentra en un solo subgrupo. Debido a que todas las accesiones en un inicio se encuentran dentro de un mismo agrupamiento, es que suponemos que probablemente el centro de origen se encuentra en Cusco, tanto por la cantidad y variabilidad genética encontrada en este, además deducimos que probablemente el departamento de Cajamarca sea el lugar de diversificación de la mashua, debido tanto a la variabilidad encontrada así como debido a su separación de las accesiones de Cusco.

4.2.6 Análisis factorial de coordenadas principales (ACoP)

Se realizó el análisis de coordenadas principales para los dos coeficientes de similitud:

- Simple Matching: en el ACoP se calcularon 5 coordenadas; los cinco primeros ejes explicaron el 23,27 por ciento de la variación total, mientras que los tres primeros proporcionaron mayor información, con 6,9 por ciento, 5,03 por ciento y 4,8 por ciento, respectivamente.
- Jaccard: en el ACoP se calcularon 5 coordenadas; los cinco primeros ejes explicaron el 20,07 por ciento de la variación total, mientras que los tres primeros proporcionaron mayor información, con 6,07 por ciento, 4,28 por ciento y 3,97 por ciento, respectivamente.

En los análisis de coordenadas principales realizadas se puede notar que las proporciones son muy bajas, no permitiéndonos de esta manera definir agrupaciones dentro de cada departamento (**Figura 27**). La misma observación se ha hecho en otros estudios de diversidad sobre tubérculos andinos (Malice 2010, Malice *et al.*, 2010). Sin embargo si se puede notar dos grupos genéticos de acuerdo a la procedencia geográfica, uno de Cusco y

otro de Cajamarca. Una observación semejante se mostró en Pissard *et al.*, 2008; donde se definió tres grupos genéticos según la procedencia a partir de accesiones de todo el Perú.

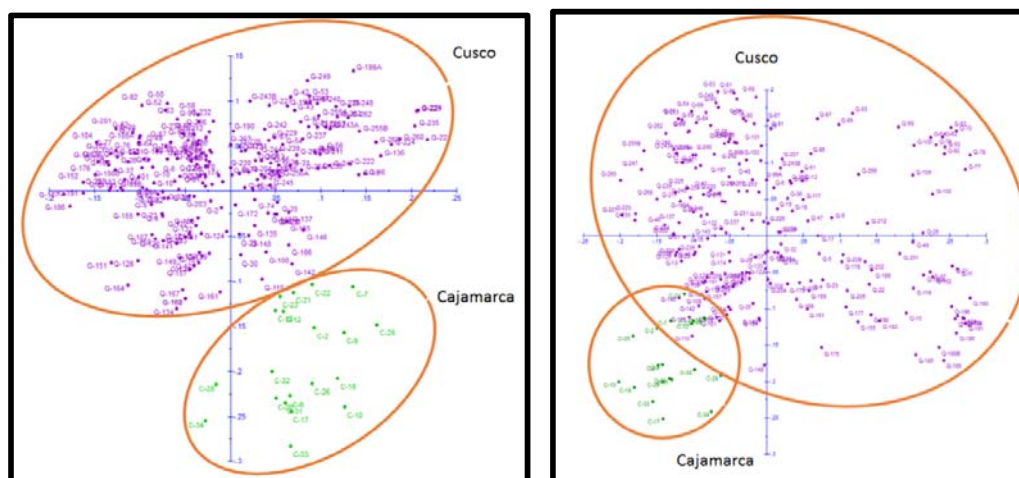


Figura 27: Ploteo de ACoP por departamentos a) SM y b) Jaccard

4.2.7 Selección del coeficiente de similitud

La importancia de determinar la similitud genética entre individuos de una población, es que a partir de ella se pueden realizar correctamente los análisis de agrupamiento y diversidad. No existe un coeficiente de similitud universalmente reconocido para el análisis con marcadores moleculares, además se debe de considerar el tipo de carácter dominante o codominante (Kosman y Leonard, 2005).

Se optó por desarrollar tanto el coeficiente de Jaccard como el de SM debido a que ambos son empleados para marcadores dominantes. En el dendograma generado por el coeficiente de Jaccard no se encontró grupos fácilmente definidos, mientras que con SM se observó que las accesiones se dividen en dos grandes grupos basados en su distribución geográfica (departamentos). Sin embargo dentro de los grupos no se pudo definir claramente agrupamientos. Es por ello que en ambos casos se definió subgrupos a diferentes puntos de corte; esto puede tener relación con los orígenes muy diversos de mashua dentro de las provincias, por lo que esta especie tendría una amplia base genética, lo cual se corrobora con los índices de Shannon-Weaver. Además según Jaccard, toda la diversidad presente se encuentra dentro del departamento de Cusco, sin embargo en uno de los subgrupos se encuentra claramente definido un grupo de Cajamarca.

De los análisis de agrupamientos obtenidos con los 2 coeficientes de similitud empleados, se puede notar que los agrupamiento del coeficiente de Jaccard difieren un poco de los obtenidos mediante SM, esto se debe a que Jaccard no da igual valor a las ausencias, debido al hecho de que dichas ausencias no garantizan similitud entre dos individuos, mientras que SM proporciona un valor igual tanto a las ausencias como a las presencias (Las observaciones en la semejanza de dichos análisis se corroboran con el índice de consenso).

Sin embargo se optó por elegir el coeficiente de similitud de Simple Matching, debido a que según Kosman y Leonard (2005) existe un alto grado de similitud en las secuencias de ADN de la misma especie eucariota, y además no se tiene un manera exacta de determinar la diversidad genética de organismos poliploides, empleando marcadores dominantes, por tal razón los resultados se deben contemplar como un estimado basado en la similitud fenotípica.

4.2.8 Análisis de la estructura genética

La estructura de la variabilidad genética de la colección fue tratada mediante el análisis de varianza molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) en base a la información disponible acerca del origen de los cultivares. El AMOVA fue realizado con la finalidad de evaluar si existían diferencias en la diversidad genética presente tanto dentro como entre los departamentos de Cusco y Cajamarca.

Con la finalidad de conocer los componentes de la varianza que influyen la variación genética presente en los departamentos de Cusco y Cajamarca se procedió a realizar 2 AMOVAs:

A. Análisis de varianza molecular según las cuencas hidrográficas

Los agricultores mantienen un sistema dinámico de flujo de semillas vegetativas, el que es realizado consciente e inconscientemente, para mantener la productividad de sus cultivos en los sistemas de siembra tradicional, dicho sistema permite el mantenimiento de una misma diversidad entre las zonas de intercambio de semillas, por lo que se puede apreciar una amplia diversidad en una pequeña zona de colecta. De esta manera los agricultores juegan un rol fundamental en la selección y dispersión de genotipos clónales (Cadima. 2006).

El flujo de semillas inter e intracomunal es generado por el número de intercambios y es realizado a través de regalos y trueques (Cadima *et al.*, 2003), tendiendo así a homogenizar las reservas genéticas dentro y entre las regiones y, por lo tanto contrarrestar parcialmente el efecto de la deriva genética entre bancos de genes separados. Además cabe recordar que la promoción de la disponibilidad de semillas y el intercambio son acciones efectivas para el mantenimiento y desarrollo de la diversidad, pero el uso y valoración de tubérculos nativos a nivel regional, nacional e internacional son las motivaciones fundamentales para mejorar las políticas y los procesos en esta dirección (Velázquez-Milla *et al.*, 2011).

Es por ello que se realizó un AMOVA para observar si existía variación dentro de las cuencas hidrográficas. Para este análisis se consideró como grupos las cuencas hidrográficas encontradas en el departamento de Cusco, mientras que el departamento de Cajamarca se consideró la cercanía del distrito; sin embargo debido a que la gran cantidad de individuos la cuenca del Apurímac y Vilcanota, se subdividieron en tres y dos respectivamente según la cercanía de los distritos. Los individuos pertenecientes a cada cuenca se muestran en la **Tabla 28**:

Tabla 28: Acciones agrupadas según las cuencas hidrográficas

Cuenca	Distrito	Acciones
Apurímac noroeste	Huarocondo y Chinchero	19
Apurímac norcentro	Lamay, Pisac y Taray	34
Apurímac noroeste	San Salvador y San Geronimo	30
Apurímac sur	Pomacanchis y Pitumarca	20
Vilcanota norte	Chamaca y Omacha	29
Vilcanota sur	Qewe y Coporaque	22
Urubamba	Lares	37
Yavero	Colquepata	10
Cajamarca Norte	Sitacocho y Gregorio Pita	8
Cajamarca Sur	Namora y Bambamarca	12

Los resultados del AMOVA se observan en la **Tabla 29**:

Tabla 29: AMOVA de comparación entre cuencas hidrográficas

Fuente de Variación	G.L.	Suma de Cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de Variación
Entre cuencas hidrográficas	9	714,794	1,68441Va	4,45
Entre distritos dentro de la cuencas	9	360,970	0,52417Vb	1,39
Entre las acciones	202	7194,842	35,61803Vc	94,16
Total	220	8270,606	37,82661	

Índice de Fijación	
FSC:	0,01450
FST:	0,05839
FCT:	0,04453

FST= 0 - 0,05 diferenciación pequeña
 FST= 0,05 - 0,15 diferenciación moderada
 FST= 0,15-0,25 gran diferencia
 FST > 0,25 muy grande diferenciación

Los resultados nos muestran que la mayor parte de la variabilidad se da entre las accesiones (94,16 por ciento), además existe un bajo nivel de variación genética a nivel de cuencas hidrográficas (4,45), y existe una variación aún más baja dentro de las cuencas (1,39); además el valor FST obtenido 0,05839 nos muestra que solo existe una moderada diferencia genética entre las mashuas dentro de los grupos dentro de cada cuenca hidrográfica, sin embargo tiende a una pequeña diferencia.

Estos valores bajos de variación indican que existe un flujo genético de mashua dentro y entre cuencas; el cual se está realizando mediante intercambio o trueque de semillas entre campesinos y pueden haber ayudado la dispersión a larga distancia de los tubérculos.

La estructura establecida para la población evita el sesgo ocasionado por las diferencias en el número de individuos presentes dentro de cada provincia y distrito; sin embargo opaca las variaciones y diferencias presentes dentro de los departamentos; es por ello que se realizó otro AMOVA cuyos grupos están formados los departamentos y subgrupos son las cuencas hidrográficas.

B. Análisis de varianza molecular según las cuencas hidrográficas dentro de los departamentos

Para este análisis se consideró como grupos a los dos departamentos, mientras que los subgrupos estuvieron formados por las cuencas hidrográficas, siendo ocho en Cusco y dos en Cajamarca.

Los resultados obtenidos se observan en la **Tabla 30**:

Tabla 30: AMOVA según las cuencas hidrográficas dentro de los departamentos

Fuente de Variación	G.L.	Suma de Cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de Variación
Entre grupos (Departamentos)	1	328,820	7,87470Va	17,80
Entre cuencas hidrográficas	9	385,975	0,54465Vb	1,23
Dentro de las accesiones	211	7555,812	35,80954Vc	80,96
Total	220	8270,606	44,22888	

Índice de Fijación

FSC: 0,01498

FST: **0,19036**

FCT: 0,17804

FST= 0 - 0,05 diferenciación pequeña

FST= 0,05 - 0,15 diferenciación moderada

FST= 0,15-0,25 gran diferencia

FST > 0,25 muy grande diferenciación

Los resultados del análisis indican que una gran porción de la variación genética se origina por la variación encontrada dentro de las accesiones (80,96 por ciento), una porción de la variación genética menor (17,80 por ciento) se debe a los departamentos y una porción aún menor se debe a las comunidades dentro de los grupos (1,23 por ciento). Además el valor FST obtenido nos muestra que existe una gran diferencia genética entre las mashuas dentro de las cuencas dentro de cada departamento.

Este índice de fijación indica que la diferenciación genética es muy grande, esto se evidencia en el dendograma y diagrama de coordenadas principales, donde se observa la separación de las accesiones según el área geográfica en la que fueron colectadas, estableciendo así la fijación alélica, lo que contribuye a la diferenciación genética entre Cusco y Cajamarca.

De la comparación entre cuencas de la **Tabla 31** se puede concluir:

- Las dos cuencas de Cajamarca difieren tanto entre ellas como con las cuencas del Cusco.
- La cuenca del Apurímac fue dividida en 4 subgrupos, podemos notar que la cuenca de A. noroeste no difiere de manera significativa de la cuenca de A. sur, sin embargo ambas presentan diferencias significativas de las cuencas A. norcentro y A. noreste. Así mismo las cuencas del norcentro y noreste no difieren significativamente, pero ambas presentan diferencias significativas con las cuencas de A. noroeste y A. sur.
- La cuenca del Vilcanota sur presenta diferencias significativas con Vilcanota norte, además V. norte no difiere significativamente de A. norcentro y A. noroeste.; mientras que V. sur no difiere significativamente de A. noroeste y de A. sur.
- La cuenca del Urubamba tampoco presenta diferencias significativas con las cuencas de A. norcentro, A. noreste y V. norte.
- La cuenca del Yavero no presenta diferencias significativas con A. noroeste, A. sur y V. Sur.

Tabla 31: Comparación entre las cuencas hidrográficas dentro de los departamentos

Cod.	Cuenca Hidrográfica	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Apurímac noroeste	0	+	+	-	+	-	+	-	+	+
2	Apurímac norcentro	+	0	-	+	-	+	-	+	+	+
3	Apurímac noreste	+	-	0	+	-	+	-	+	+	+
4	Apurímac sur	-	+	+	0	+	-	+	-	+	+
5	Vilcanota norte	+	-	-	+	0	+	-	-	+	+
6	Vilcanota sur	-	+	+	-	+	0	+	-	+	+
7	Urubamba	+	-	-	+	-	+	0	+	+	+
8	Yavero	-	+	+	-	-	-	+	0	+	+
9	Cajamarca Norte	+	+	+	+	+	+	+	+	0	-
10	Cajamarca Sur	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0

Los resultados indican que aquellos grupos donde no se encuentran diferencias significativas probablemente presente un flujo de genes entre ellos debido a la cercanía entre los distritos que conforman la cuenca y a la presencia de posibles intercambio realizados entre dichos grupos.

En conclusión de los dos AMOVAs, se puede observar que la mayor fuente de variación genética se encuentra dentro de las accesiones (que puede ser 80,96 o 94,16 por ciento, dependiendo de la estructura genética de la población), un porcentaje de la variación genética menor se debe a los departamentos (18 por ciento aproximadamente), así mismo también se encontraría una variación más pequeña (5 por ciento aproximadamente) entre las cuencas hidrográficas y por último se encontró una variación aún más pequeña (2 por ciento aproximadamente) dentro de los individuos de cada cuenca hidrográfica.

Estos resultados nos muestran que el aislamiento geográfico ha sido lo suficientemente intenso para generar considerables diferencias genéticas cualitativas, las cuales se ven favorecidas por las barreras geográficas, impidiendo así el flujo de genes (departamentos), sin embargo a medida que dicha distancias se reduce disminuye el porcentaje de variación genética (cuencas hidrográficas y distritos), debido a el intercambio se semillas realizado entre y dentro de las cuencas hidrográficas. Los valores FST, también nos permiten estimar de manera cuantitativa las diferencias existentes entre las poblaciones, lo cuales nos permiten dar un estimado de la deriva y flujo genético. De las correlaciones establecidas en

cada AMOVA, podemos notar que existe una gran correlación (0,19) en las comparaciones realizadas con los departamentos, lo cual significa que existe una gran diferencia en las frecuencias alélicas comparando los departamentos, además también existen diferencias moderadas considerando entre y dentro de las cuencas hidrográficas.

4.3 Congruencia entre los resultados morfológicos con los moleculares

Para evaluar la presencia de algún grado de relación entre la caracterización morfológica y la caracterización molecular, se realizó un test de asociación de matrices entre los respectivos agrupamientos UPGMA de los datos morfológicos y los datos moleculares AFLP, transformando a matrices comparables ambos agrupamientos mediante un índice de correlación cofenético. Para el análisis solo se evaluaron 192 accesiones que presentaban tanto datos morfológicos como moleculares. Los resultados se muestran en la **Tabla 32**:

Tabla 32: Tabla de asociación de caracterización morfológica-molecular SM

Test de asociación AFLP-Morfológico	
Descriptores Morfológico	Correlación de matrices r
Completo (45)	-0,33440
Completo (30)	-0,32898
Completo (19)	-0,32093

Los valores obtenidos muestran una asociación baja entre los marcadores moleculares y los descriptores morfológicos de planta, por consiguiente no será necesario realizar un análisis de agrupamiento. El signo es negativo debido a que se comparan dos métodos de agrupamiento diferentes.

Con la finalidad de conocer cuáles de los descriptores propuestos se asemejan más los marcadores moleculares, para esto se dividió los caracteres en dos grupos, los de flor (11) y los de tubérculo (8). El valor de correlación de matrices entre los descriptores de flor y los de marcadores moleculares fue $r = -0,46569$; mientras que el valor entre los descriptores de tubérculo y los marcadores moleculares fue $r = -0,30178$. Por consiguiente se concluye que existe una mayor correlación entre los caracteres de flor y los marcadores moleculares, sin embargo este grado de asociación sigue siendo bajo. Además, también se observó visualmente los agrupamientos morfológicos con los moleculares y se pudo notar que algunas accesiones se mantuvieron dentro de un mismo grupo tanto morfológicamente como molecularmente (6 por ciento de los morfotipos de tubérculo).

V. DISCUSIONES

- **DESCRIPTORES**

Los métodos multivariados empleados en el análisis de diversidad se dividen en dos grupos: ordenación y clasificación. Los métodos de ordenación nos permiten arreglar y representar gráficamente el material en estudio en un número reducido de dimensiones, el más conocido es el análisis de componentes principales (Franco e Hidalgo 2003). El análisis de componente principales (ACP) es un método estadístico multivariante de simplificación o reducción de la dimensión de una tabla de variables con datos cuantitativos, para obtener otra de menor número de variables por combinación lineal de las originales denominados como factores. Análogamente a este análisis existe el análisis de correspondencia múltiple (ACM) que es una técnica multivariante de interdependencia usada para reducir la dimensión en el caso de variables cualitativas. Como la mayoría de descriptores empleados son del tipo cualitativos, la selección de los descriptores s baso en la sustitución de PCA por ACM. (Silvia *et al.*, 2013).

Los autores como Gaspar (1998), Durand (2006) y Quispe (2012) determinan los descriptores mediante el análisis de componentes principales (ACP) para caracterizar accesiones de mashua, a pesar de que los caracteres evaluados en dichos análisis son del tipo cualitativos; sin embargo en nuestro trabajo empleamos el análisis de correspondencia múltiple (ACM) para la determinación de los descriptores discriminantes en la caracterización de mashua.

Los descriptores seleccionados por Gaspar (1998) mediante el ACP fueron descriptores de cuantitativos y cualitativos y dio mayor importancia al follaje y a los tubérculos. Durand (2006) resume que los descriptores que tuvieron mayor contribución a la variación total para discriminar morfotipos fueron también los de follaje y tubérculo, pero solo los descriptores cualitativos. Sin embargo Quispe (2012) los siguientes: tipo de planta, color de tallo, longitud de las hojas, ancho de las hojas, longitud del peciolo, forma del tubérculo, profundidad de los ojos, color secundario de la piel, distribución del color

secundario de la piel, formas de coloración secundario, color predominante de la pulpa. Mientras que el ACP realizado por Durand (2006) resume que los caracteres que tuvieron mayor contribución a la variación total para discriminar morfotipos fueron: color del envés, color del follaje, distribución del color secundario de la piel, color predominante de la piel, color secundario de la pulpa, forma de los tubérculos, color de los tallos, distribución del color secundario de la pulpa y número predominante de lóbulos. Quispe (2012) reporto mediante el ACP que los descriptores de mayor contribución a la variación fueron los caracteres de la flor y tubérculo y por último en el catálogo del CIP (Centro Internacional de la Papa) los 18 caracteres propuestos fueron de follaje, tallo, flor y tubérculos. En la presente investigación los caracteres más discriminantes fueron que más contribuyeron a la variación y la diferenciación de morfotipos fueron caracteres de flor y tubérculo. En conclusión como vemos en todos los trabajos incluido el presente los caracteres de tubérculo son los que son más empleados en la determinación de morfotipos, seguido de los de flor y por último los de tallo.

- **MORFOLÓGICO**

La presente investigación reporta la amplia variabilidad presente dentro de los departamentos de Cusco y Cajamarca, en donde encontramos 257 morfotipos a partir de 271 accesiones mediante el empleo de 19 descriptores, sin embargo se estableció los morfotipos a una distancia de 0,5 en donde encontramos un total de 205 morfotipos. Además mediante el empleo de los 8 descriptores de tubérculo seleccionados encontramos 144 morfotipos de los cuales 128 corresponden a Cusco y 16 a Cajamarca.

Esta amplia variabilidad morfológica del cultivo de mashua es reportada de igual manera por diferentes investigadores quienes colectaron, evaluaron y caracterizaron mashuas provenientes de diferentes países como Perú, Ecuador y Bolivia. Por ejemplo, en Ecuador Pozo (2000) identifico 27 morfotipos a partir de 34 accesiones de 3 comunidades, años más tarde Montero (1997) identificó seis grupos principales y 15 sub grupos en 78 entradas de mashua del banco de germoplasma de INIAP utilizando 44 descriptores morfológicos y agronómicos, no hallando duplicados. En Bolivia Cadima *et al.* (2003) a partir de 49 accesiones de la colección de Banco Nacional de tubérculos andinos de la zona de Bolivia encontró 10 grupos; mientras que Gaspar (1998) encontró 13 grupos morfológicos empleando 11 descriptores de la parte aérea y 9 grupos empleando 7 descriptores de tubérculo. Finalmente en Perú se realizaron la mayoría de las caracterizaciones como

Olivera (1968), que estudió la variabilidad morfológica de 24 clones de ñu, proveniente de los departamentos de Cusco y Puno, siendo estos agrupados en 20 morfotipos; Vivanco y Arvizu (1997) que caracterizaron morfológicamente 64 entradas de mashua procedentes de los departamentos de Puno, Cusco, Ayacucho, Junín, Pasco, Ancash, Cajamarca y Piura en Huancayo durante 5 campañas, logrando identificar 51 morfotipos mediante 29 caracteres morfológicos; Ortega (2000) que identificó 42 morfotipos de *Tropaeolum* spp. del departamento del Cusco distribuidos en 5 grupos a partir de 64 morfotipos colectados mediante el empleo de 65 caracteres morfológicos, Durand (2006) que identificó 102 morfotipos, distribuidos en 6 comunidades campesinas: Picol (9), Matinga (13), Qqueccayoc (2), Poques (22), Chumpe (17) y Sayllafaya (39); a partir de 308 accesiones mediante 16 descriptores y el último Quispe (2012) que reportó 89 morfotipos a partir de 89 accesiones provenientes de 9 distritos del Cusco utilizando 38 caracteres y formando 5 grupos; estableciendo así la ausencia de duplicados. Todos los análisis anteriormente mencionados nos permiten corroborar la alta diversidad encontrada en este cultivo.

La gran diversidad de mashua encontrada se debe a la presencia de reproducción sexual y su forma de propagación mediante tubérculos (semilla botánica), las cuales facilitarían el flujo de genes, otro elemento clave que influye en la diversidad genética y estructura de los tubérculos andinos es el intercambio de los tubérculos entre los agricultores y las comunidades realizado a través de semillas a pequeña escala (dentro de un microcentro de la diversidad), o a mayor escala (ferias de biodiversidad y de los mercados) (Terrazas y Valdivia, 1998).

- **MOLECULAR**

Se han realizado diversos estudios a nivel molecular mediante el empleo de diferente tipo de marcadores como RAPDs, ISSR, AFLP y SRAP. El más usado ha sido RAPDs, empleado por Ortega (2000), Zambrano (2004), Nieto (2004) y Quispe (2012), pero solo el primero y último evaluaron la diversidad, sin embargo en el primero se formó 17 núcleos conformados por los 40 genotipos; mientras que en el segundo no se observó un agrupamiento particular de un conjunto de 79 accesiones. Los marcadores ISSR fueron empleados por Malice (2009) donde no se encontró un agrupamiento particular en las 28 accesiones; y por Pissard (2008) donde se encuentran dos agrupamientos; uno que contiene las accesiones de Cajamarca, Cusco y Puno y un segundo agrupamiento que contienen las accesiones de los departamentos centrales; sin embargo el primer agrupamiento a su vez se

subdivide en dos agrupamientos, uno que contiene accesiones de Cajamarca y el otro que contiene accesiones de Cusco y Puno a partir de 68 accesiones. Los marcadores AFLP desarrollados por Alagón y Rosas (2008) en donde se encontró la separación en dos grandes grupos, uno de Cusco y otro de Huánuco. Por último tenemos el marcador SRAP donde también encontramos la separación en dos grandes grupos dividiéndolas en cultivadas y no cultivadas. De trabajos anteriormente mencionados podemos notar que molecularmente las accesiones de mashua tienden a separarse en base a su departamento de procedencia, pero no dentro de las provincias de un mismo departamento, así mismo también encontramos dentro de cada uno de los trabajos mencionados una amplia variabilidad genética presente. Finalmente en nuestra investigación al igual que Alagón y Rosas (2008) encontramos la separación de las accesiones según el departamento de procedencia

VI. CONCLUSIONES

1. Descriptores

Se han identificado 19 descriptores de mashua más discriminatorios, basándose en las evaluaciones realizadas en campo y en el análisis estadístico de correspondencia múltiple, los que deben ser utilizados para análisis de variabilidad morfológica de mashua.

2. Variabilidad

- a. La caracterización morfológica mostro alta variabilidad y se encontró 257 morfotipos empleando los 19 descriptores propuestos; y mediante 8 descriptores de tubérculos seleccionados se encontró 144 morfotipos, de los cuales 127 corresponden al departamento de Cusco y 16 al departamento de Cajamarca.
- b. El análisis molecular realizado mediante marcadores AFLP, mostro un alto grado de polimorfismo entre las accesiones analizadas, AMOVA mostro 80,41 por ciento de variación es explicado entre las accesiones. El análisis de agrupamiento separo las accesiones en dos grupos según el departamento de procedencia y el F_{st} fue 0,1980

3. Congruencia

La correlación entre los descriptores morfológicos con los marcadores moleculares realizada es baja ($r = -0,32093$); es por ello que para una adecuada evaluación de la diversidad siempre será necesaria ambas caracterizaciones.

VII. RECOMENDACIONES

- Los resultados obtenidos en el presente trabajo nos permiten un acercamiento a la caracterización morfológica y molecular de las accesiones de mashua, sin embargo se recomienda profundizar los estudios tanto a nivel molecular como morfológico
- En la caracterización morfológica se recomienda realizar dos o tres evaluación en campo de las accesiones, para verificar que las características descritas en este trabajo se mantenga de generación a generación y posean poca influencia ambiental, permitiéndonos de esa manera determinar de manera más precisa los descriptores que se deben de emplear.
- Se recomienda realizar evaluaciones sobre el conteo de cromosomas de mashua, con la finalidad de conocer la ploidía de este cultivo.
- En la caracterización molecular se recomienda el uso de marcadores codominantes como los microsatélites, que podrían revelar nuevas visiones sobre las relaciones filogenéticas de las accesiones.
- Emplear la información generada para proponer una primera aproximación de la clasificación intra específica de mashua del Cusco, como primer paso para tentar la clasificación a nivel nacional y de toda la región andina.

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Abdi, H., & Valentin, D. 2007. Multiple correspondence analysis. In N. Salkind (Ed.), *Encyclopedia of measurement and statistics*. pp. 652-658.
- Acosta, M. 1979. Tubérculos, raíces y rizomas cultivados en el Ecuador en Congreso internacional de cultivos andinos. II. (memorias). Riobamba, Ecuador. pp. 175-214
- Alagón, R. y Rosas, M. 2008. Caracterización molecular de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) de las comunidades campesinas de Cusco y Huánuco, mediante marcadores AFLP. Tesis Ing. Biotecnólogo Arequipa. 179 pp.
- Arbizu, C. and M. Tapia. 1992. Tubérculos Andinos. In: Cultivos Marginados, otra perspectiva de 1492 (J.E.Hernández and J. León, eds). Colección FAO: Producción y protección vegetal No. 26, FAO, Rome, Italy, pp. 147-161
- Arbizu, C. & Tapia, M.1994. Plant Production and Protection Series No. 26. FAO, Rome, Italy. p. 149-163. (CIP. Lima, Perú).
- Arbizu C, Barrera J, Mazón N, Iriarte V, Medina T, Meza G, Ugarte M, Vivanco F. 1999. Lista de descriptores para oca, ulluco y mashua. Informe Anual, Programa Colaborativo Biodiversidad de Raíces y Tubérculos Andinos. Centro Inter. de la Papa
- Arias, M. 2011. Análisis y comparación de los glucosinolatos presentes en diferentes accesiones de cubio (*Tropaeolum tuberosum*) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa *Spongospora subterránea*. Tesis Mg. Sc. Colombia. 122 pp.
- Balding, D. J., Bishop, M., & Cannings, C. 2008. Handbook of statistical genetics (Vol. 1). John Wiley & Sons.
- Barreda, V., Espinosa, C., Tapia C., Monteros, A. y Valverde., F. 2004. Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Raíces y tubérculos andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Instituto Nacional

Autónomo de Investigaciones agropecuarias, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el desarrollo y la cooperación. Quito, Ecuador-Lima, Perú. 176 pp.

- Blas, R. 1999. Caracterización y Evaluación de Arracachas Cultivadas (*Arracacia xanthorrhiza Bancroft*) del Perú. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Universidad Agraria La Molina. Lima Perú.
- Bonin, A., Ehrich, D., & Manel, S. 2007. Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Molecular ecology* 16(18): 3737-3758.
- Cadima X, W, García, F, Patino. 2003. El Isaño (*Tropaeolum tuberosum* R&P): avances en la investigación de un cultivo subutilizado. Fundación PROINPA, Cochabamba.
- Cadima, X. 2006. Tubérculos. In R. Moraes, B. Øllgaard, L.P. Kvist, F. Borchsenius and H. Balslev H (ed.) *Botánica Económica de los Andes Centrales*. (In Spanish, with English abstract.) Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia. p. 347–369
- Campos D., Noratto G., Chirinos R., Arbizu C., Roca W. y Cisneros-Zevallos L. 2006. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum sp.*), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *J Sci Food Agric* 86:1481–1488.
- Chacón, O. 1960. Estructura y variabilidad de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón. Tesis Mg. Sc. UNALM-Lima. 67 pp.
- Chaco. 2011. Verde Chaco (Blog spot): Flor pitito. Consultado el 10 de septiembre. Disponibles en <http://arbolesdelchaco.blogspot.com/search/label/Tropaeolaceae>.
- Crisci, J. & M. López. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Serie de biología No.26, Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos (OEA). Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico Washington, D.C. P. 132
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press, N.Y. and 1988. The evolution and classification of flowering plants, ed. 2. New York Botanical Garden, N.Y.

- Delgado, C. 1978. Características morfológicas asociadas al rendimiento en mashua (*Tropaeolum tuberosum* R et P) bajo condiciones de Allpachaka (3,600 m.s.n.m.) Ayacucho. Tesis Ing. Agrónomo. UNALM-Lima. 50 pp.
- De Riek, J., Calsyn, E., Everaert, I., Van Bockstaele, E., & De Loose, M. (2001). AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(8): 1254-1265.
- Doyle, J.J. & J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Durand, E. 2006. Caracterización morfológica de los cultivares morfotipos de oca, olluco y mashua. B.Sc. Tesis – McKnight Project, FAZ-UNSAAC, Cusco, Perú
- Everitt B. S., Landau S., Leese M. and Stahl D. 2011. Cluster Analysis. Publication WILEY. 5th ed. Pp: 330.
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491
- Figueroa, C. 1997. Caracterización morfológica y evaluación agronómica preliminar de 37 entradas de mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.) Tesis Mg. Sc. UNALM-Lima. 97 pp.
- Fitzpatrick, B. 2009. Power and sample size for nested analysis of molecular variance. *Molecular Ecology* 18(19): 3961-6.
- Franco, T. e Hidalgo, R. (eds.). 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p
- Gaspar, S. 1998. Caracterización morfológica y nivel de ploídia en cultivares de Oca (*Oxalis tuberosa* M.), Papalisa (*Ullucus tuberosus* C.) e Isaño (*Tropaeolum tuberosum* R&P.). Tesis Ing. Agronomo. UMSS.
- Gibbs, P.E.; Marshall, D.; Brunton, D. 1978. Studies on the cytology of *Oxalis tuberosa* and *Tropaeolum tuberosum*. Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh. (UK). 37(1): 215-220.
- Grau, A., D.R. Ortega, C.C. Nieto, and M. Hermann. 2003. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. International Potato Center, Lima. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome, Italy. pp 42.

- Henry, R. ed. (2001) Plant Genotyping CABI Publishing. Disponible en <http://books.google.com.pe/books?hl=en&lr=&id=OyymA1RBhbEC&oi=fnd&pg=PR10&dq=Plant+Genotyping+CABI+Publishing&ots=GOK0ZWPaRy&sig=Ak76GtJTWszhk1PzAnKIAbYl8#v=onepage&q=Plant%20Genotyping%20CABI%20Publishing&f=false>
- Hermann, M. y Heller, J. 1997. Andean roots and tubers at the crossroads. In: Hermann M, Heller J (eds) Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca, yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy 21: 5–11
- Hildebrand, C., Torney, D. C., and Wagner, R. P. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. Los Alamos Sci. 20: 100–102.
- Hind, N. 2010. Tropaeolaceae: 688, 689. TROPAEOLUM TUBEROSUM. Curtis's Botanical Magazine, 27(3): 301-313
- Huamani Parado, K. 2008. Desarrollo de marcadores moleculares microsatélites en Mashua. Tesis Mag. Sc. Lima, UNALM. pp 107
- Integrated Taxonomic Information System (IT IS) 2013. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506375
- Johns, T. and G.H.N. Towers. 1981. Isothiocyanates and thioureas in enzyme hydrolysates of *Tropaeolum tuberosum*. Phytochemistry 20: 2687–2689.
- Kosman, E. 2003. Nei's gene diversity and the index of average differences are identical measures of diversity within populations. Plant Pathology 52(5): 533-535
- Kumar, P., Gupta V. K., Misra A.K., Modi D. R. and Pande B. K. 2009. Review Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. Plant Omics Journal 2(4): 141-162.
- Lescano, J. 1994. Genética y mejoramiento de cultivos altoandinos. Programa interinstitucional de Waru Waru. Proyecto Especial Binacional. Convenio INADE/PELT COTESU. La Paz.
- Llanos, A. 1974. Evaluación morfológica y rendimiento de once clones de isaño (*Tropaeolum tuberosum* R. et. P.). Tesis Ing. Agronomo. UNALM-Lima. 54 pp.

- Malice, M. y Baudoin J. 2009. Genetic diversity and germplasm conservation of three minor Andean tuber crop species. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(3):441-448.
- Malice Marie. 2010. Genetics diversity and estructure of three and Andean tubers: *Oxalis tuberosa* Molina, *Ullucus tuberosus* Caldas and *Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon. Thesis to grade docteur in science agronomiques et. ingenierie biologique. Pp 185
- Malice, M., Bizoux J., Blas R. y Baudoin J. 2010. Genetic. Diversity of Andean Tuber Crop Species in the in situ Microcenter of Huanuco, Peru. *Crop Sci.* 50:1915–1923
- Masuelli, R. 1999. Uso de marcadores moleculares en el mejoramiento genético de especies hortícolas. *Avances en Horticultura* 4(1): 54-66.
- Mohammadi, S. y Prasanna B.M. 2003. Review & interpretation: Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4): 1235-1248.
- Mondini, L., Noorani A. and Pagnott M. 2009. Review Assessing Plant Genetic Diversity by Molecular Tools. *Diversity* 1: 9-35.
- Monteros, A. R. 1997. Estudio de la variación morfológica e isoenzimática de 78 entradas de mashua (*Tropaeolum tuberosum*.R &P) Santa Catalina- INIAP. Universidad Central de Ecuador. Tesis Ing. Agronomo. Pp: 173.
- Müller, U., Wolfenbarger LL (1999) AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends Ecol. Evol.* 14: 389-394.
- NRC (National Research Council). 1989. Lost crops of the Incas. Little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington, D.C. Pp 66-73.
- Nenadíc, O., & Greenacre, M. J. 2007. Correspondence Analysis in R, with Two- and Three-dimensional Graphics: The ca Package. *Journal of Statistical Software*, 20(3): 1-13.
- Nieto Jaramillo G. 2004. Cuantificación de la erosión genética de melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas), oca (*Oxalis tuberosa* Molina) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) en localidades de la provincias de Chimborazo y Tungurahua. Universidad Central de Ecuador. Tesis de Ing. Agronomo. Pp 87.

- Nuñez, C. y Escobedo D. 2011. Uso correcto del análisis clúster en la caracterización de germoplasma vegetal. *Agronomía mesoamericana* 22(2):415-427
- Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos y el Ministerio de Agricultura 2012. Disponible en http://frenteweb.minagri.gob.pe/sisca/?mod=consulta_cult
- Ortega, O. 2000. Estudio de la diversidad genética de ñuño cultivado (*Tropaeolum spp.*) en el departamento del Cusco. Tesis de Ing. Agronomo. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Pp 121.
- Ortega O, Kliebenstein D, Arbizu C, Ortega R, Quiros C. 2006. Glucosinolate survey of cultivated and feral mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) in the Cuzco region of Peru. *Economic Botany*; 60(3): 254 – 264.
- Ortega R., Durand E., Arbizu C., Roca W. Potter D., Quiros C. 2007. Pattern of genetic diversity of cultivated and non-cultivated mashua, *Tropaeolum tuberosum*, in the Cusco region of Peru. *Genet Resour Crop Evol* 54:807–821.
- Olivera, E. J. D., Oliveira Filho, O. S. D., & Santos, V. D. S. 2014. Selection of the most informative morphoagronomic descriptors for cassava germplasm. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49(11): 891-900.
- Piñero, 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 415-435.
- Pissard A., Arbizu C., Ghislain M., and Bertin P. 2008. Influence of geographical provenance on the genetic structure and diversity of the vegetatively propagated andean tuber crop, mashua (*Tropaeolum tuberosum*), highlighted by intersimple sequence repeat markers and multivariate analysis methods. *Int. J. Plant Sci.* 169(9):1248–1260.
- Pissard Audrey. 2008. Estructura and genetics diversity of two andean tubers crops, oca (*Oxalis tuberosum* mol.) and mashua (*Tropaeolum tuberosum* R & P). Thesis to grade docteur in science agronomiques et. ingenierie biologique. Pp 429.
- Pla L. 2006. Biodiversidad: inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Interciencia*: 31(8):583-590
- Pocco, P.M. 1976. Biología floral del ñuño (*Tropaeolum tuberosum* R. et P.). Thesis Ing. Agr. Universidad Nacional Técnica del Altiplano, Puno, Peru.

- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S. y Rafalski A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238
- Quispe Apaza C. 2012. Caracterización morfológica y molecular de Mashua *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (Tropaeolaceae) procedente de 9 distritos de la Región Cusco. Universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco. Tesis Biologo. Pp: 220.
- Rimachi L., Andrade D., Verástegui M., Mori J. Soto V. and Estrada R. 2012. Genetic variability and geographic distribution of peanut *Arachis hypogaea* L. in Ucayali, Peru. *Rev. Peru. biol.* 19(3): 241 – 248
- Rodríguez Salazar, M. E., Alvarez Hernández, S., & Bravo Núñez, E. 2001. Coeficientes de asociación. UAM-Plaza y Valdés. México,
- Román, N.A. and J.M. García. 1997. Citogenética de *Tropaeolum tuberosum*. Resúmenes X congreso internacional de cultivos andinos, Cusco, Perú.
- Schneider S, Roessli D and Excoffier L (2001) Arlequin: a software for population genetics data analysis. Version 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dep. of Athropology, University of Geneva, Geneva.
- Semagn K., Bjørnstad A. and Ndjiondjop M. 2006. *African Journal of Biotechnology* 5(25): 2540-2568.
- Sevilla, R. y M. Holle, 2004. Recursos Genéticos Vegetales. Edic. Luis Leon Asoc. Lima-Perú, p.445.
- Silva, W. C., de Carvalho, S. I. C., & Duarte, J. B. 2013. Identification of minimum descriptors for characterization of *Capsicum* spp. germplasm. *Horticultura Brasileira*, 31(2): 190-202.
- Siopongco, L. B.; Altoveros, N. C.; Cruz, V. M. V.; Villavicencio, M. L. H. 1999. Morphological diversity in NPGRL's local corn collection. *Philippine Journal of Crop Science* 24 (2/3): 103-113.
- Smith, J., E. Chin, Ll. Shu, O. Smith, S. Wall, M. Senior, S. Mitchell, S. Kresovich & J. Ziegler. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*. 95: 163-173.
- Somma y Querci, 2006. The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms. Session 6. Office for Official Publications of the

European Communities. Catalogue number: LB-X1-06-051-EN-C. ISBN-92-79-02242-3. Printed in Italy.

- Sparre, B. and L. Andersson. 1991. A taxonomic revision of the Tropaeolaceae. Opera Botanica, No. 108. Copenhagen, Denmark.
- Tapia C. & Estrella J., 2001. Genetic erosion quantification in ullucus (*Ullucus tuberosus* Caldas), oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) and mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) in agrosystems of the provinces of Cañar, Chimborazo and Tungurahua, Ecuador. In: Proceedings of the international symposium “Managing biodiversity in agricultural ecosystems”, 8-10 November 2001, Montreal, Canada.
- Terrazas F. & Valdivia G. 1998. Spatial dynamics of *in situ* conservation: handling the genetic diversity of Andean tubers in mosaic systems. PGR Newsletter 114: 9-1.
- Travis A. Clark. 1999. Mashua. Southern Illinois University Carbondale/Ethnobotanical Leaflets. pp: 1-6.
- Vallenás, M. 1977. Biología floral en isaño (*Tropaeolum tuberosum* R. et P.). Pp.254–268 in I Congreso Internacional de Cultivos Andinos (M.E. Tapia and M. Villaroel T., eds), Ayacucho, Perú.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M. y Reijans, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23 (21): 4407-4414
- Vuylsteke, M., Peleman, J. D., van Eijk, M.J. 2007. AFLP technology for DNA fingerprinting. Nature Protocole 2(6):1387-98.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. Annals of Eugenics 15, 323–354.
- Zambrano Zambrano E. 2004. Estudio de la variabilidad de melloco (*Ullucus tuberosus* Caldas), oca (*Oxalis tuberosa* Molina) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) en finca de agricultores Colta-Chimborazo. Tesis de Ing. Agronomo. Pp 93.
- Zela, C.G., B.H. Cortés and G. Meza Z. 1997. Caracterización y agrupamiento de morfotipos en 230 entradas de maswa (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.). In Resúmenes X congreso internacional de cultivos andinos, Cusco, Peru.

IX. ANEXOS

ANEXO 1: DATOS PASAPORTE

CUSCO

Accesión	Entrada	Nombre Común	Localidad	Comunidad	Distrito	Provincia	Altitud	Latitud	Latitud
Q2	UNAQA-199	Alqo añu	san'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q3	UNAQA-025	Atoq Añu	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q4	UNAQA-011	Azul Ñawi	Jatun Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q5	UNAQA-207	Azul Ñawi	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q6	UNAQA-219	Azul ñawi añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q7	UNAQA-249	Azul ñawi añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q8	UNAQA-191	Chachapia añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q9	UNAQA-234	Chaq'a añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q10	UNAQA-167	Charka waylla	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q11	UNAQA-181	Charka waylla	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q12	UNAQA-211	Ch'eqche añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q13	UNAQA-247	Ch'eqche añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q15	UNAQA-121	Chhukuta Añu	Chinchaq	Tauqa	Chinchero	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q16	UNAQA-051	Ch'irquina	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q17	UNAQA-054	Ch'irquina	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q18	UNAQA-057	Chupi Añu	Wayllayoc Pampa	Qeqayoc	Taray	Calca	3919	-13.46847	-71.8596
Q19	UNAQA-154	Cuerpo de Cristo	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q20A	UNAQA-161	Cuerpo de Cristo	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q20B	UNAQA-161	Cuerpo de Cristo	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q21	UNAQA-140	Doctorcha Añu	Wailla phaqa	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q22	UNAQA-262	Frutilla añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q23	UNAQA-003	Gringo Añu	Jatun Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q24	UNAQA-070	Hatun Puka Añu	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q26	UNAQA-081	Istaquillus	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q27	UNAQA-254	Jak'u añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	71°31.362'
Q28	UNAQA-077	J'aku Bolsa	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q29	UNAQA-123	J'aku Ch'eqche Añu	Chinchaq	Tauqa	Chinchero	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q30	UNAQA-120	Jatun Q'ello Añu	Chinchaq	Tauqa	Chinchero	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q31	UNAQA-141	Jaya Puka Añu	Wailla phaqa	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q32	UNAQA-186	kiswar añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q33	UNAQA-176	Kiswar poncho	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q35	UNAQA-103	Lanqape	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q36	UNAQA-073	Laqo Wayqa	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q37	UNAQA-152	Lisas Añu	Sapacto	Poques	Lamay	Calca	4203	-13°17.346"	-71°51.024"
Q38	UNAQA-056	Llahuay Yaquy	Wayllayoc Pampa	Qeqayoc	Taray	Calca	3919	-13.46847	-71.8596
Q39	UNAQA-214	Llawar añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q40	UNAQA-111	Llawar waqaq	Qonqor	Umasbamba	Chinchero	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q41	UNAQA-179	Llawar waqaq	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q42	UNAQA-187	Llawar waqaq	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q43	UNAQA-217	Llawar waqaq	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q44	UNAQA-092	Lluthu Runtu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q44	UNAQA-092	Lluthu Runtu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q45	UNAQA-084	Llwar Waqac	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q46	UNAQA-110	Longani Añu	Qonqor	Umasbamba	Chinchero	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q47	UNAQA-189	Loncus añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q48	UNAQA-238	Mantecoso añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q49	UNAQA-021	Marcos Añu	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q50	UNAQA-255	Marcos Añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q51	UNAQA-106	Merenda Añu	Qonqor	Umasbamba	Chinchero	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q52	UNAQA-258	Mestisa añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q53	UNAQA-033	Michi Aca	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598

Continuación

Q54	UNAQA-060	Muro Año	Wayllayoc Pampa	Qeqayoc	Taray	Calca	3919	-13.46847	-71.8596
Q55	UNAQA-136	Muro Año	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	14°22.894"	-71°27.145"
Q56	UNAQA-174	Muro Año	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	13°01.005'	-72°01.20'
Q57	UNAQA-200	Muro Año	sanj'usayoc	Tocera	Colquepata	Paucartambo	3811	13°19.610'	-71°44.552'
Q58	UNAQA-244	Muro Año	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q58	UNAQA-244	Muro Año	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q59	UNAQA-212	Muro ch'eqche año	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q60	UNAQA-142	Muro Puka Año	Wailla phaqa	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q61	UNAQA-216	Muro Puka Año	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q61	UNAQA-216	Muro Puka Año	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q62	UNAQA-148	Muro Waskar	Wailla phaqa	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q63	UNAQA-083	Muru Ppitiqiña	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q64	UNAQA-072	Naranja Año	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q65	UNAQA-125	Nina Q'ello	Chinchaq	Tauqa	Chincheru	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q66	UNAQA-268	Nut'u saqsa	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q67	UNAQA-016	Ñuttu Q'ello Año	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q68	UNAQA-222	Ñuttu Q'ello Año	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q68	UNAQA-222	Ñuttu Q'ello Año	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q69	UNAQA-267	Oqe saqsa	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q69	UNAQA-267	Oqe saqsa	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q69	UNAQA-267	Oqe saqsa	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q70	UNAQA-143	Oqe Waskar	Wailla phaqa	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q72	UNAQA-007	Papa Año	Jatum Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q72	UNAQA-007	Papa Año	Jatum Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q74	UNAQA-064	Papa Año	K'urpa Cancha	Pampa Llaqta	Pisac	Calca	3906	-13.35787	-71.79541
Q75	UNAQA-107	Paqawa Año	Qonqor	Umasbamba	Chincheru	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q76	UNAQA-036	Paro Año	Jancaeo Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q77	UNAQA-049	Paro Año	Jancaeo Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q78	UNAQA-135	Peluqa Año	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q79	UNAQA-237	P'enqayro	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q81	UNAQA-097	Phaspa Año	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q83	UNAQA-158	P'itikiña Año	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q84	UNAQA-233	P'itikiña Año	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q85	UNAQA-017	Plano Año	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q86	UNAQA-112	Plano Año	Qonqor	Umasbamba	Chincheru	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q87	UNAQA-257	Poqaya año	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q88	UNAQA-074	Posi Año	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q89	UNAQA-090	Posi Ppitiqiña	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q91	UNAQA-028	Puka Año	Sinj'anayoc	Waqoto	San Geronimo	Cusco	4068	-13.51176	-71.84959
Q92	UNAQA-062	Puka Año	K'urpa Cancha	Pampa Llaqta	Pisac	Calca	3906	-13.35787	-71.79541
Q93	UNAQA-069	Puka Año	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q96	UNAQA-146	Puka Año	Wailla phaqa	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q98	UNAQA-203	Puka año	sanj'usayoc	Tocera	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q99A	UNAQA-227	Puka año	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q99B	UNAQA-227	Puka año	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q100	UNAQA-229	Puka año	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q101	UNAQA-264	Puka año	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q102	UNAQA-177	Puka charka waylla	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q103	UNAQA-266	Puka ch'eqche	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q104	UNAQA-066	Puka Frutilla	K'urpa Cancha	Pampa Llaqta	Pisac	Calca	3906	-13.35787	-71.79541
Q105	UNAQA-052	Puka Jasuttica	Jancaeo Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q106	UNAQA-039	Puka Jasuttico	Jancaeo Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q107	UNAQA-020	Puka Moru	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q108	UNAQA-221	Puka muro año	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q110	UNAQA-198	Puka Ñawi Año	sanj'usayoc	Tocera	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q112	UNAQA-109	Puka Poncho	Qonqor	Umasbamba	Chincheru	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"

Continuación

Q113	UNAQA-037	Puka Ppasña	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q115	UNAQA-265	Puka saqsa	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q116	UNAQA-085	Puka Waqan	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q116	UNAQA-085	Puka Waqan	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q117	UNAQA-144	Puka Waskar	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q119	UNAQA-019	Q'ello Añu	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q120	UNAQA-029	Q'ello Añu	Sinjjanayoc	Waqoto	San Geronimo	Cusco	4068	-13.51176	-71.84959
Q121	UNAQA-032	Q'ello Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q122	UNAQA-068	Q'ello Añu	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q124	UNAQA-093	Q'ello Añu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q125	UNAQA-115	Q'ello Añu	Chinchaq	Tauqa	Chincheru	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q126	UNAQA-128	Q'ello Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q126	UNAQA-128	Q'ello Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q127	UNAQA-157	Q'ello Añu	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q127	UNAQA-157	Q'ello Añu	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q128	UNAQA-168	Q'ello añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q129	UNAQA-182	Q'ello Añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q130	UNAQA-184	Q'ello añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q131	UNAQA-201	Q'ello Añu	san'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q132	UNAQA-205	Q'ello añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q133	UNAQA-220	Q'ello añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q135	UNAQA-236	Q'ello Añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q136	UNAQA-241	Q'ello añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q137	UNAQA-243	Q'ello Añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q138	UNAQA-245	Q'ello añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q139	UNAQA-250	Q'ello añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	71°31.362'
Q141	UNAQA-044	Q'ello Charpa	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q142	UNAQA-248	Q'ello ch'aska	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q143	UNAQA-138	Q'ello Lomph'u	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	71°26.851"
Q144	UNAQA-067	Q'ello Nawi	K'urpa Cancha	Pampa Llaqta	Pisac	Calca	3906	-13.35787	-71.79541
Q146	UNAQA-215	Q'ello ñut'u añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	72°04.602'
Q148	UNAQA-027	Q'ello Papa Añu	Sinjjanayoc	Waqoto	San Geronimo	Cusco	4068	-13.51176	-71.84959
Q149	UNAQA-078	Q'ello Phutilla	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q151	UNAQA-213	Q'ello saqma	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q152	UNAQA-153	Q'ello Waka Waqra	Sapaccto	Poques	Lamay	Calca	4203	-13°17.346"	-71°51.024"
Q154	UNAQA-137	Q'ello Waskar	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q155	UNAQA-127	Q'ello Waskja	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q156	UNAQA-263	Q'ello yana muro	K'uchuyoc	Huamanmarca	Huarocondo	Anta	3351	-	-72°32.403"
Q157	UNAQA-133	Q'ello Yana Nawi	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q158	UNAQA-170	Q'ello Yana Nawi	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q159	UNAQA-041	Q'ello Zanoheria	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q160	UNAQA-190	Q'ello zapallo	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q161	UNAQA-194	Q'ello zapallo	san'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q162	UNAQA-129	Q'ete Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q163	UNAQA-102	Qolle Añu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q164	UNAQA-063	Qomer Añu	K'urpa Cancha	Pampa Llaqta	Pisac	Calca	3906	-13.35787	-71.79541
Q165	UNAQA-226	Rosado añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q166	UNAQA-126	Sara Q'ello	Chinchaq	Tauqa	Chincheru	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q167	UNAQA-242	Sara Q'ello	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q167	UNAQA-242	Sara Q'ello	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q168	UNAQA-096	Señorita Añu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q169	UNAQA-038	Surci Viriti	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q170	UNAQA-055	Suyo Poncho	Wayllayoc Pampa	Qeqayoc	Taray	Calca	3919	-13.46847	-71.8596
Q171	UNAQA-113	Taruka Chupan	Qonqor	Umasbamba	Chincheru	Urubamba	3870	-13°24.786"	71°59.775"
Q172	UNAQA-010	Tauqa Marka	Jatun Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q173	UNAQA-034	Tiara Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q174	UNAQA-035	Ttika Muro Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q175	UNAQA-030	Unu Añu	Sinjjanayoc	Waqoto	San Geronimo	Cusco	4068	-13.51176	-71.84959
Q176	UNAQA-099	Waca Hasta	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q177	UNAQA-006	Waka Añu	Jatun Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q178	UNAQA-210	Waka añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q179	UNAQA-061	Waka Hasta	K'urpa Cancha	Pampa Llaqta	Pisac	Calca	3906	-13.35787	-71.79541

Continuación

Q180	UNAQA-086	Waka Hasta	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q181	UNAQA-059	Waka Wañochiq	Wayllayoc Pampa	Qeqayoc	Taray	Calca	3919	-13.46847	-71.8596
Q182	UNAQA-014	Waka Waqra	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q184	UNAQA-151	Waka Waqra	Sapaccto	Poques	Lamay	Calca	4203	-13°17.346"	-71°51.024"
Q185	UNAQA-155	Waka Waqra	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q186	UNAQA-163	Waka Waqra	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q187	UNAQA-185	Waka waqra	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q188A	UNAQA-256	Waka waqra	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q189	UNAQA-047	Wallata	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q190	UNAQA-195	Wallata	sanj'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q191	UNAQA-192	Wallatena	sanj'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q192	UNAQA-259	Wallatina añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q194	UNAQA-117	Waqoto Añu	Chinchaq	Tauqa	Chincheru	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q195	UNAQA-260	Wascarán	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q196	UNAQA-040	Waskqa Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q197	UNAQA-202	Wayk'u añu	sanj'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q198	UNAQA-218	Wayk'u añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q199A	UNAQA-050	Yana Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q201	UNAQA-094	Yana Añu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q202	UNAQA-108	Yana añu	Qonqor	Umasbamba	Chincheru	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q203	UNAQA-147	Yana Añu	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q204	UNAQA-175	Yana añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q205	UNAQA-183	Yana añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q206	UNAQA-208	Yana añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q207	UNAQA-071	Yana Frutilla	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q208	UNAQA-053	Yana Jasuttica	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q209	UNAQA-015	Yana Marcos	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q211	UNAQA-139	Yana Muro Añu	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q212	UNAQA-005	Yana Ñawi	Jatum Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q213	UNAQA-087	Yana Ñawi	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q214	UNAQA-104	Yana Ñawi	Qonqor	Umasbamba	Chincheru	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q216	UNAQA-009	Yana Ñawi Añu	Jatum Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q217	UNAQA-048	Yana Ñawi Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q218	UNAQA-132	Yana Ñawi Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q219	UNAQA-149	Yana Ñawi Añu	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q220	UNAQA-156	Yana Ñawi Añu	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q221	UNAQA-197	Yana Ñawi Añu	sanj'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q222	UNAQA-206	Yana Ñawi Añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q223	UNAQA-251	Yana ñawi añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q224	UNAQA-261	Yana Ñawi Añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q225	UNAQA-046	Yana Ñawi Ttara	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q226	UNAQA-082	Yana Panti	Molinoyoq	Ccamahuara	San Salvador	Calca	3854	-13.44807	-71.77528
Q227	UNAQA-095	Yana Qolle	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q229	UNAQA-013	Yana uman	Jatun Pata	Oqoruro	San Salvador	Calca	4095	-13.44133	-71.78111
Q230	UNAQA-160	Yana Waka Waqra	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q231	UNAQA-031	Yana Wallata	Sinijanayoc	Waqoto	San Geronimo	Cusco	4068	-13.51176	-71.84959
Q232	UNAQA-145	Yana Waskar	Wailla phaqcha	C'hirupampa	Qewe	Canas	3960	-14°21.088"	-71°26.851"
Q234	UNAQA-008	Yuraq Añu	Jatum Pampa	Siusa	San Salvador	Calca	3860	-13.45309	-71.78181
Q235	UNAQA-116	Yuraq Añu	Chinchaq	Tauqa	Chincheru	Urubamba	3866	-13°24.547"	-71°00.23"
Q236	UNAQA-130	Yuraq Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q237	UNAQA-159	Yuraq Añu	Ponco Pata	Huama	Lamay	Calca	3713	-13°20.241"	-71°52.184"
Q238	UNAQA-180	Yuraq añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q239	UNAQA-196	Yuraq Añu	sanj'usayoc	Tocra	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q240	UNAQA-209	Yuraq añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q241	UNAQA-225	Yuraq añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q242	UNAQA-228	Yuraq añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q243A	UNAQA-231	Yuraq añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q244	UNAQA-165	Yuraq charkawaylla	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q245	UNAQA-173	Yuraq jasut'i	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q246	UNAQA-230	Yuraq p'itikiña	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q247	UNAQA-043	Yuraq Ppasña	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q249	UNAQA-045	Yuraq Suyttu Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598

Continuación

Q250	UNAQA-114	Yuraq Yana Ñawi	Qonqor	Umasbamba	Chinchero	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q251	UNAQA-172	Yuraq Yana Ñawi	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q252	UNAQA-232	Zapallito	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q253	UNAQA-042	Zapallo Añu	Janccao Pata	Pampacorral	Lares	Calca	4088	-13.1706	-71.97598
Q254	UNAQA-089	Zapallo Añu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q254	UNAQA-089	Zapallo Añu	Viscachayoq	Amaru	Pisac	Calca	3912	-13.37593	-71.8271
Q255A	UNAQA-105	Zapallo Añu	Qonqor	Umasbamba	Chinchero	Urubamba	3870	-13°24.786"	-71°59.775"
Q256A	UNAQA-134	Zapallo Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q256B	UNAQA-134	Zapallo Añu	Paqopata	Pampach'iri	Pitumarca	Canchis	3845	-14°22.894"	-71°27.145"
Q257	UNAQA-150	Zapallo Añu	Sapaccto	Poques	Lamay	Calca	4203	-13°17.346"	-71°51.024"
Q260	UNAQA-188	Zapallo Añu	Pucusa	Qollana	Lares	Calca	3250	-13°01.005'	-72°01.20'
Q261	UNAQA-193	Zapallo Añu	sanj'usayoc	Tocera	Colquepata	Paucartambo	3811	-13°19.610'	-71°44.552'
Q262	UNAQA-204	Zapallo Añu	Lloquepata	Q'ellamarca	Chamaca	Chumbivilcas	3692	-14°27.112'	-72°04.602'
Q263	UNAQA-223	Zapallo Añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q264	UNAQA-224	Zapallo Añu	Qaqa punku	Ttoqorani	Pomacanchis	Acomayo	3855	-13°56.679'	-71°38.153'
Q265	UNAQA-240	Zapallo Añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q266	UNAQA-246	Zapallo Añu	Quisini	Parcco	Omacha	Paruro	3215	-14.1278	-71.7169
Q267	UNAQA-252	Zapallo Añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'
Q268	UNAQA-253	Zapallo Añu	Machu puente	Apachaqo	Coporaque	Espinar	3924	-14°52.506'	-71°31.362'

CAJAMARCA

Accesión	Entrada	Nombre Común	Localidad	Comunidad	Distrito	Provincia	Altitud	Latitud	Latitud
C2	UNACA-003	Amarilla Crespa	Totorilla	Totorilla	Gregorio Pita	San Marcos	3890	-07°15.401"	-78°04.194"
C6	UNACA-030	Floreada	Apan Bajo	Apan Bajo	Bambamarca	Hualgayoc	3231	-06°42.766'	-78°33.991'
C7	UNACA-017	Gaspiada Blanca	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3884	-07°07.627"	-78°10.269"
C9	UNACA-012	La Cojuda	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3880	-07°08.207"	-78°11.170"
C10	UNACA-010	Mashua Zapalla	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3880	-07°08.207"	-78°11.170"
C12	UNACA-026	Mashua Amarillo	Suro Chico	Suro Chico	Sitacocha	Cajabamba	3833	-07°35.156"	-77°56.335"
C16	UNACA-001	Mashua Negra	Totorilla	Totorilla	Gregorio Pita	San Marcos	3890	-07°15.401"	-78°04.194"
C17	UNACA-023	Mashua Negra	Suro Chico	Suro Chico	Sitacocha	Cajabamba	3833	-07°35.156"	-77°56.335"
C18	UNACA-009	Mashua Okesita	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3880	-07°08.207"	-78°11.170"
C20	UNACA-024	Mashua Rayado	Suro Chico	Suro Chico	Sitacocha	Cajabamba	3833	-07°35.156"	-77°56.335"
C21	UNACA-015	Mashua Zapalla	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3884	-07°07.627"	-78°10.269"
C22	UNACA-002	Mashua Zapallo	Totorilla	Totorilla	Gregorio Pita	San Marcos	3890	-07°15.401"	-78°04.194"
C23	UNACA-013	Mata Pinchu	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3884	-07°07.627"	-78°10.269"
C25	UNACA-011	Ojo Morado	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3880	-07°08.207"	-78°11.170"
C26	UNACA-014	Ojo Morado	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3884	-07°07.627"	-78°10.269"
C28	UNACA-021	Ojo Negro	Suro Chico	Suro Chico	Sitacocha	Cajabamba	3696	-07°35.563"	-77°56.514"
C31	UNACA-016	Wicllu Negra	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3884	-07°07.627"	-78°10.269"
C32	UNACA-027	Zapalla	Apan Bajo	Apan Bajo	Bambamarca	Hualgayoc	3228	-06°42.766'	-78°33.991'
C33	UNACA-034	Zapalla	Carbón Bajo	Carbón Bajo	Gregorio Pita Paucamarca	San Marcos	3865	-07°11.017'	-78°12.413'
C34	UNACA-020	Zapalla Amarillo	Campo Alegre	Campo Alegre	Namora	Cajamarca	3884	-07°07.627"	-78°10.269"

ANEXO 2: DESCRIPTORES UTILIZADOS

ESTRUCTURA	CARACTERES	Arbizú 1994	Monteros 1997	INIA Y CIP 2005 I	INIA Y CIP 2005 II	INIA Y CIP 2007	Durand 2006	Lista empleada
MORFOLOGIA GENERAL	Tipo de planta o hábito de crecimiento	X	X	X	X	X		X
	Capacidad de enroscamiento			X	X		X	
	Cobertura del suelo	X	X	X	X			X
	Longitud de la planta	X	X					
	Longitud del entrenudo	X	X					
	Diámetro del entrenudo	X	X					
	Relación l/a		X					
	Altura de planta		X					X
CARACTERÍSTICAS DE TALLO	Diámetro de copa		X					
	Color del tallo			X	X	X	X	X
	Color primario de los tallos	X	X					
	Color secundario de los tallos	X	X					
	Número de tallos primarios							
	Número de tallos secundarios							
	Tendencia de los tallos a la fasciación			X	X	X		
	Pigmentación axilar			X	X	X		X
CARACTERÍSTICAS DE HOJA	Color de la estípula			X	X	X		X
	Color del haz	X	X	X	X	X		X
	Color de la nervadura del haz	X	X	X	X	X		X
	Color del envés	X	X	X	X	X	X	X
	Color de la nervadura del envés	X	X	X	X	X		X
	Color secundario del envés	X	X					X
	Color del peciolo			X	X	X		
	Número predominante de lóbulos	X	X	X	X	X	X	X
	Color del borde de la lámina			X	X			X
	Forma de hoja							X
	Longitud del peciolo	X	X					
	Longitud de la hoja	X	X					
	Ancho de la hoja	X	X					
	Relación l/d	X	X					
CARACTERÍSTICAS DE FLOR	Hábito de floración			X	X	X	X	
	Color primario de la corola	X	X					X
	Color secundario de la corola	X	X					X
	Color de la corola superior externa				X	X		X
	Color de la corola inferior externa				X	X		X
	Grado de floración	X	X					
	Color del espolón y sépalos			X	X			
	Color de la nervadura de la corola superior externa			X	X	X		
	Color del espolón				X	X		X
	Color del cáliz	X	X		X	X	X	X
	Color del pedúnculo floral					X		X
	Pigmentación de los estilos					X		X
	Pigmentación de los estigmas					X		X
	Pigmentación de los filamentos estaminales					X		X
	Número de espolones					X		X
	Número de estambres por flor					X		X
	Número de carpelos					X		X
Número de estigmas por flor					X		X	
Número de pétalos orbiculares					X			
Número de pétalos espatulados					X			
CARACTERÍSTICAS DE TUBÉRCULO	Tamaño de los tubérculos							X
	Uniformidad							X
	Forma del tubérculo	X	X	X	X	X	X	X
	Profundidad de ojos			X	X	X	X	X
	Formas de coloración secundaria de la piel del tubérculo	X	X					X
	Distribución del color secundario de la piel	X	X	X	X			X
Tipo de superficie de la piel del	X	X					X	

Continuación

tubérculo							
Color predominante de la piel	X	X	X	X	X	X	X
Color secundario de la piel	X	X	X	X	X	X	X
Color predominante de la pulpa	X	X	X	X	X	X	X
Color secundario de la pulpa	X	X	X	X	X	X	X
Distribución del color secundario de la pulpa	X	X	X	X	X	X	X
Número de ojos por tubérculo	X	X					X
Longitud por tubérculo							X
Diámetro por tubérculo							X
Relación l/d	X	X					