

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA**



**ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE CUATRO ACCESIONES DE  
*Chenopodium quinoa* Wild, BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS POR FRÍO**

El estudio es parte del proyecto: **EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÈNICA Y ANÀLISIS FUNCIONAL EN RESPUESTA A DIFERENTES TIPOS DE ESTÈS ABIÒTICO EN *Chenopodium quinoa* DE DIFERENTES ZONAS ANDINAS DEL ECUADOR**” aprobado por el Honorable Consejo Universitario y financiado por la Direccion de Investigacion y Desarrollo DIDE de la Universidad Tècnica de Ambato Resolución, 2462-CU-P-2017

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

**AUTOR**

**LÓPEZ MAYORGA FRANCIS RODRIGO**

**TUTOR**



Firmado electrónicamente por:  
**CARLOS LUIS  
VASQUEZ  
FREYTEZ**

-----  
**PhD. CARLOS VÁSQUEZ**  
**CEVALLOS – ECUADOR**

**2021**

## AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

EL suscrito, LÓPEZ MAYORGA FRANCIS RODRIGO, portador de cédula de ciudadanía número:1804437679, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE CUATRO ACCESIONES DE *Chenopodium quinoa* Wild, BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS POR FRÍO” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Francis Lopez", is centered on the page. The signature is stylized and cursive.

---

LÓPEZ MAYORGA FRANCIS RODRIGO

## DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE CUATRO ACCESIONES DE *Chenopodium quinoa* Wild, BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS POR FRÍO” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

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

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

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Francis Rodríguez López". The signature is stylized and cursive, with a large initial 'F' and 'L'.

---

LÓPEZ MAYORGA FRANCIS RODRIGO

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE CUATRO ACCESIONES DE  
*Chenopodium quinoa* Wild, BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS POR FRÍO

REVISADO POR:



.....  
PhD. Carlos Vásquez

TUTOR

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN**

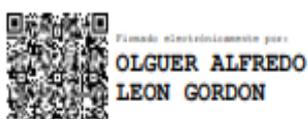
**Fecha**



29-03-2021

.....  
Ing. Mg. Marco Pérez

PRESIDENTE DE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



29-03-2021

.....  
Ing. Mg. Olguer León

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



29-03-2021

.....  
Ing. Mg. Jorge Dobronski

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

## **DEDICATORIA**

*A Dios por darme salud y vida para poder superar todo tipo de obstáculos, alcanzar un objetivo más en mi vida y ser un orgullo para mis padres.*

*A los docentes de la Universidad Técnica de Ambato que contribuyeron con sus conocimientos en mi formación académica de tercer nivel.*

*A mi tutor PhD. Carlos Vásquez quien me guió durante el proceso de la elaboración del proyecto de investigación.*

*A la Dra. Liliana Lalaleo por brindarme su apoyo y conocimiento para la elaboración del proyecto de investigación.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por su bendición, por haberme permitido tener una gran familia, por los momentos buenos y malos, por la salud y por brindarme la fuerza necesaria para seguir adelante y sobresalir sobre toda situación.

A mis padres Rodrigo López y Narcisa Mayorga, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años por lo que han sido mi motivación para culminar mi carrera profesional y seguir con cada una de mis metas propuestas.

A mis hermanos Jordy López y Dannita López, que gracias a ellos me esforcé a seguir adelante a superarme para que algún momento sigan mi ejemplo y logren llegar a sus metas propuestas.

A mis dos ángeles que me cuidan desde el cielo, a mi abuelo Ángel Miguel Mayorga y mi tía Angelita Mayorga que siempre estuvieron para motivarme y así poder seguir adelante y cumplir la meta de ser alguien en la vida.

A toda mi familia por estar siempre en mis momentos más difíciles, para progresar y llegar a ser una persona honrada y respetuosa que quiere cumplir sus sueños.

Este nuevo triunfo lo he concluido con éxito y en gran parte es gracias a ustedes, por el apoyo incondicional.

## Índice de Contenidos

|   |      |
|---|------|
| RESUMEN.....  | xii  |
| ABSTRACT.....   | xiii |
| CAPÍTULO I.....   | 1    |
| MARCO TEÓRICO.....  | 1    |
| INTRODUCCIÓN .....  | 1    |
| 1.1. Antecedentes Investigativos .....                          | 2    |
| 1.2. Objetivos .....  | 3    |
| 1.3. Categorías Fundamentales.....                              | 4    |
| 1.3.1. ADN Y ARN.....   | 4    |
| 1.3.2. Expresión genética y su regulación.....                  | 5    |
| 1.3.3. Identificación y análisis de la expresión genética ..... | 5    |
| 1.3.4. Genes relacionados con el estrés al frío .....           | 6    |
| 1.3.5. Estrés de las plantas .....                              | 7    |
| 1.4. Especie vegetal (Quinua).....                              | 7    |
| CAPÍTULO II .....   | 14   |
| METODOLOGÍA .....   | 14   |
| 2.1. Equipos, materiales e insumos .....                        | 14   |
| 2.1.1. Equipos.....   | 14   |
| 2.1.3. Reactivos .....  | 15   |
| 2.2. Factores de estudio .....                                  | 16   |

|                                     |  |    |
|-------------------------------------|--|----|
| 2.3.                                | Caracterización del lugar .....                              | 16 |
| 2.3.1.                              | Ubicación del ensayo .....                                   | 16 |
| 2.3.2.                              | Clima.....   | 16 |
| 2.3.3.                              | Sustrato.....  | 16 |
| 2.4.                                | Metodología de la investigación.....                         | 17 |
| 2.4.1.                              | Accesiones de quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd)..... | 17 |
| 2.4.2.                              | Tratamientos.....  | 17 |
| 2.5.                                | Diseño experimental.....                                     | 18 |
| 2.6.                                | Variables respuesta.....                                     | 18 |
| 2.7.                                | Manejo del experimento .....                                 | 18 |
| 2.1.                                | Procesamiento de la información .....                        | 21 |
| CAPÍTULO III.....                   |  | 22 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....        |  | 22 |
| 3.1.                                | Análisis de resultados .....                                 | 22 |
| 3.1.1.                              | Expresión génica bajo estrés por frío (-4°C).....            | 22 |
| 1.1.                                | Discusión de los resultados .....                            | 24 |
| 1.2.                                | Verificación de hipótesis .....                              | 25 |
| CAPÍTULO IV.....                    |  | 26 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... |  | 26 |
| 4.1.                                | Conclusiones .....   | 26 |
| MATERIALES DE REFERENCIA .....      |  | 28 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 28 |
| ANEXOS .....                    | 37 |

## Índice de tablas

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Genes relacionados al estrés por frío. ....                             | 6  |
| <b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica. ....  | 8  |
| <b>Tabla 3.</b> Variedades de quinua .....  | 9  |
| <b>Tabla 4.</b> Características físico-químicas de la Quinoa .....                      | 9  |
| <b>Tabla 5.</b> Tratamientos.....   | 17 |
| <b>Tabla 6.</b> Componentes utilizados en la hibridación de ARN.....                    | 19 |
| <b>Tabla 7.</b> Componentes utilizados en la transcripción de ARN.....                  | 19 |
| <b>Tabla 8.</b> Modo de ciclo estándar (primer $T_m \geq 60^\circ\text{C}$ ).....       | 20 |
| <b>Tabla 9.</b> Condiciones de la curva de disociación (etapa de la curva de melt)..... | 21 |

## Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Expresión génica de DREB1A bajo condiciones de estrés por frío (4°C), en 4 accesiones de quínoa. .... | 22 |
| <b>Figura 2.</b> Expresión génica de ESK1 bajo condiciones de estrés por frío (4°C), en 4 accesiones de quínoa. ....   | 23 |
| <b>Figura 3.</b> Expresión génica de PSC5 bajo condiciones de estrés por frío (4°C), en 4 accesiones de quínoa. ....   | 24 |

## RESUMEN

En el Ecuador existe alto grado de producción y consumo de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), el grano de este cultivar es considerado como un pseudocereal emergente con altos valores nutricionales, formando parte importante dentro de la seguridad alimentaria. Este cultivar logra adaptarse a varios factores edafoclimáticos, conservando gran tolerancia a bajas temperaturas (frío). En el presente trabajo de investigación se analizó la expresión génica de cuatro accesiones de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) bajo condiciones de estrés por frío. Se utilizaron cuatro accesiones de quinoa A1 (Tunkahuan), A2 (Chaucha dulce), A3 (Chaucha amarga) y A4 (Pata de Venado) evaluadas en T0 (0 horas), T1 (12 horas), T3 (24 horas) y T4 (48 horas). De manera general en la accesión A3 se logró obtener mayor grado de expresión de los genes DREB1, ESK1 y PSC5, de los cuales destacó DREB1, estos genes se encuentran involucrados en la activación de las rutas metabólicas que hacen frente a contrarrestar los efectos generados por bajas temperaturas (frío). Este estudio aporta información relevante para su posterior aprovechamiento en campo o laboratorio, identificando variedades con potencial de resistencia a este tipo de estrés abiótico.

**Palabras clave:** *Chenopodium quinoa*, expresión génica, estrés abiótico, DREB1, ESK1, PSC5

## ABSTRACT

In Ecuador there is a high degree of production and consumption of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), the grain of this cultivar is considered an emerging pseudocereal with high nutritional values, forming an important part of food security. This cultivar manages to adapt to several edaphoclimatic factors, maintaining great tolerance to low temperatures (cold). In the present research work, the gene expression of four accessions of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Was analyzed under cold stress conditions. Four types of ascents of quinoa were used A1 (Tunkahuan), A2 (Sweet bean), A3 (Bitter bean) and A4 (Venado leg) evaluated at T0 (0 hours), T1 (12 hours), T3 (24 hours) and T4 (48 hours). In general, in accession A3, it was possible to obtain a higher degree of expression of the DREB1, ESK1 and PSC5 genes, of which I highlight DREB1, these genes are involved in the activation of the metabolic pathways that counter the effects generated by low temperatures (cold). This study provides relevant information for its subsequent use in the field or laboratory, identifying varieties with potential resistance to this type of abiotic stress.

**Keywords:** *Chenopodium quinoa*, gene expression, abiotic stress, DREB1, ESK1, PSC5

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### INTRODUCCIÓN

En Ecuador existe una alta producción y consumo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) también conocida como kinua, kinuwa o quinoa (FAO 2011), este cultivar es originaria de la cordillera de los Andes, encontrándose mayor diversidad genética en las orillas del Lago Titicaca (Via y Fernández 2015). Este grano es considerado como un pseudocereal emergente con altos valores nutricionales, mismo que posee potencial para formar parte de la seguridad alimentaria global siendo reconocida por la ONU en el año 2013 (Schmöckel et al. 2017). La quinua posee gran diversidad genética, misma que ayuda de manera estratégica al desarrollo de nuevas variedades superiores con mejoramiento en su resistencia y tolerancia a factores edafoclimáticos y biológicos, precocidad, color, tamaño del grano, rendimiento del grano y obtención mejorada de los subproductos (FAO-ALADI 2014).

Los mejoramientos de las variedades nuevas han dado paso para el estudio de adaptación de la quinua a una alta resistencia de estrés salino, mismo que permite visualizar la posibilidad de generar resistencia a diferentes tipos de estrés que no se han logrado estudiar (Roy et al. 2014; Rozema et al. 2015; Schmöckel et al. 2017; Volkov 2015). Además, estudios recientes acerca del genoma de la quinua, ayudan a obtener información válida acerca del nivel de tolerancia a diversos tipos de estrés y relacionarlo con los genes que potencializan los procesos de los metabólicos de la planta (Burrieza et al. 2013). Así mismo, Garrido et al. (2013) menciona que este tipo de cultivar logra adaptarse a cualquier tipo de factores edafoclimáticos, por lo que posee gran capacidad de tolerancia al estrés, sin que su rendimiento de grano se logre ver afectado.

En base a lo anteriormente mencionado, la presente investigación tiene como objeto analizar la expresión génica de cuatro accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa*

Willd.) bajo condiciones de estrés por frío, con el fin de aportar información relevante para su posterior aprovechamiento.

### **1.1. Antecedentes Investigativos**

**Izquierdo (2016)**, en su estudio investigativo caracterizó el gen CRIO4 y su importancia frente al estrés por frío, concluyendo que la expresión de CRIO4 aumenta en tiempos cortos de estrés por frío, además el CRIO4 codifica la proteína Sec14, su sobre expresión concede a las células la capacidad de desarrollarse y crecer a bajas temperaturas. Por otra parte, el CRIO4 se coexpresa con TAT2 (permeasa de alta afinidad para triptófano) estimulando el transporte de Tat2p a la membrana plasmática, mismo que deriva una mejorada absorción del triptófano, lo que indica una mayor tolerancia al frío.

Por otro lado, **Chinnusamy et al. (2010)**, evaluaron la regulación genética durante la aclimatación al estrés por frío en plantas de *Arabidopsis* y cereales de invierno, teniendo como resultado que dichas plantas reprograman su expresión genética por medio de mecanismos transcripcionales, postranscripcionales y postraduccionales. Con el mecanismo *ICE1-CBF* observaron una mejora en la tolerancia al frío puesto que presentan mecanismos reguladores postranscripcionales que cuales regulan la expresión genética durante la aclimatación al frío. En plantaciones de *Arabidopsis* y arroz se identificó varios miARN regulados por estrés al frío. El transcriptoma inducido por el frío difiere significativamente entre las hojas, las raíces y los tejidos reproductivos (polen).

Así **Chinnusamy et al. (2004)**, reportaron que las plantas poseen respuestas adaptativas específicas a los diferentes tipos de estrés, teniendo como resultado por medio de un análisis genético que *SOS* (vía de sensibilidad excesiva a la sal) es detectada por una proteína de unión al calcio *SOS3* que activa la proteína quinasa *SOS2*. El complejo quinasa *SOS3* ± *SOS2* regula la expresión y actividad de transportadores de iones. La vía *ICE1* (Inductor de *CBF* Expression 1) ± *CBF* (C-

Repeat Binding Protein) es importante para la regulación del transcriptoma sensible al frío y tolerancia a la congelación adquirida. Los fenotipos de tolerancia visibles permitieron indicar si un componente de señalización funciona en una ruta o en varias.

Mientras que los estudios que reporta **Murata (2017)**, en su trabajo de investigación en papa nativas peruanas y su expresión genética en respuesta a temperaturas de congelación, concluyo que al exponer las plantas a 0°C se expresaron genes *CBF2*, *MYB*, *GA2ox* como los promotores para generar tolerancia frente a bajas temperaturas, además encontraron elementos relacionados a giberelinas y auxinas en la variedad tolerante al frío, significando que ellos forman parte importante en la fisiología de la planta.

Finalmente los estudios reportados por **Correa (2013)** en papa nativa (*Solanum juzepczuckii*) y su expresión genética en respuesta a temperaturas de congelación, encontró genes asociados a la tolerancia al frío (heladas), siendo algunos de ellos los factores de transcripción de familias *WRKY26*, *WRKY33*, *WRKY40*, *ERF7*, *CRF4*, *RAP2.12*, *BHLH122*, *BHLH68* y *WRKY41*, además, a partir del ARN se obtuvo genotecas de ADNc por *SSH*.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

- Analizar la expresión génica de cuatro accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) bajo condiciones de estrés por frío.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Identificar los genes responsables que activan rutas metabólicas para el estrés causado en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) por frío.

- Evaluar la expresión génica de cuatro accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) mediante el método de qPCR (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real).
- Identificar la accesión de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) que presenta mayor respuesta génica al estrés causado por el frío.

### 1.3. Categorías Fundamentales

#### 1.3.1. ADN Y ARN

El ADN (Ácido Desoxirribonucleico) es una molécula en la que reside la información genética de un ser vivo, esta molécula está formada por dos cadenas (azúcares y grupos fosfatos en cada una) que se entrelazan entre sí formando una estructura tipo doble hélice (**Chinnusamy et al. 2007; Wani et al. 2016**). Cada cadena se encuentra unida por las bases: A (adenina), G (guanina), C (citosina) y T (timina), mismas que están enganchadas a cada unidad de azúcar (desoxirribosa), los enlaces que se forman son A-T y C-G. A partir de la estructura de ADN se genera la molécula de ARN (**Correa 2013; Garcia 2008; Recillas 2002**).

El ARN (Ácido ribonucleico) es una molécula parecida al ADN, pero más sencilla, esta molécula posee en sus cadenas azúcares (ribosa) y grupos de fosfato alternados, en esta molécula las bases que se encuentran son A (adenina), G (guanina), C (citosina) y U (uracilo). Existen 3 tipos de ARN: mensajero (ARNm), ribosomal (ARNr) y de transferencia (ARNt) (**Pérez-Quintero et al. 2010; Recillas 2002; Xu et al. 2011**).

El ADN y ARN (ácidos nucleicos) junto con las proteínas son conocidos como las macromoléculas en las que residen la información genética y funcional de las células. Dentro de las especies vegetales existen estructuras conocidas como cromosomas (formadas por ADN) (**Chinnusamy et al. 2007; Garcia 2008**).

### **1.3.2. Expresión genética y su regulación**

La expresión genética es conocida como un proceso celular que permite que la información codificada de un gen (el gen está conformado por una secuencia de nucleótidos de ADN, el gen posee delimitaciones antes y después llamadas región promotora y de terminación, respectivamente) sea utilizada con el fin de producir moléculas de proteínas que la célula necesita (**Morillo *et al.* 2011; Verslues *et al.* 2006**). La interpretación que la célula realiza del código genético es que, por cada 3 grupos de letras, se inserta un aminoácido (de los 20 existentes) que se conforman como base importante para generar las moléculas de proteína (**Huang *et al.* 2012; Liu *et al.* 1998; Recillas 2002**).

Para dar paso a la síntesis de las proteínas, se realizan dos procesos: transcripción y traducción. En el núcleo se da el primero paso que es la transcripción, en donde una de las hebras del ADN funciona como molde con el fin de que a una molécula de ARN se copie una secuencia concreta, luego de ello, el ARNm lleva la secuencia de nucleótidos hacia los ribosomas (**Peleg y Blumwald 2011; Rout *et al.* 2006; Verslues *et al.* 2006**). El siguiente proceso se llama traducción, el cual tiene lugar en el citoplasma, en donde el ARNm se decodifica con el fin de crear una cadena de aminoácidos conocida como proteína. Es decir, que el código genético es la correspondencia entre la proteína y el ARNm (**Roy *et al.* 2014; Wani *et al.* 2016**).

### **1.3.3. Identificación y análisis de la expresión genética**

Los patrones de una expresión genética se analizan con el fin de identificar los genes específicos que actúan y se relacionan con las actividades metabólicas o moleculares del organismo, es por ello que en los últimos años se han empleado varios métodos con el fin de analizar estas expresiones (**Xu *et al.* 2011; Zhang *et al.* 2008**). Algunos genes han presentado modificaciones en su expresión en medio de su “infección”, codificando varios tipos de proteínas que se encuentran involucradas en los mecanismos celulares y en respuesta de defensa (factores de transcripción) (**Huang *et al.* 2012**).

Uno de los métodos usados para analizar la expresión génica es el despliegue diferencial de ADNs (DD), utilizados por medio de la PCR (Polymerase Chain Reaction) para amplificar transcritos de baja abundancia, evidenciando que existe una combinación promedio entre 80 a 120 cebadores específicos, los cuales son suficientes para revestir toda la población de transcritos presentes en la célula (**Greco et al. 2012; Ortega-Ramirez et al. 2014; Via y Fernández 2015**). El método por análisis PCR, es uno de los métodos mayormente usados por la comunidad científica para aislar genes que se encuentran involucrados en cambios fisiológicos, transducción de señales, respuesta a estrés y a metabolitos secundarios; es un método sencillo, práctico y de bajo costo, puesto que no requiere información bioquímica de las proteínas, además se logran comparar simultáneamente dos muestras con pequeñas cantidades de las mismas (**Amagua 2013; Chinnusamy et al. 2004; Font et al. 1999; Greco et al. 2012**).

#### 1.3.4. Genes relacionados con el estrés al frío

Existen varios genes que se relacionan con el estrés al frío, entre los más importantes tenemos los siguientes:

**Tabla 1.** Genes relacionados al estrés por frío.

| <b>Proteína</b> | <b>Especie</b>   |
|-----------------|--|
| DREB/CBF        | <i>Arabidopsis sp.</i>                                     |
| ESK1            | <i>Arabidopsis sp.</i>                                     |
| PCS5            | <i>Arabidopsis sp., Oriza sativa cv.</i><br><i>Milyang</i> |
| SOAR1           | <i>Arabidopsis sp.</i>                                     |

(**Amagua 2013; Hirayama y Shinozaki 2010; Jiang et al. 2015; Liu et al. 1998; Xin et al. 2007**)

### 1.3.5. Estrés de las plantas

El estrés se encuentra definida como un cambio ambiental que desestabiliza o modifica perjudicialmente las funciones principales del crecimiento y desarrollo de las plantas, limitando su productividad (**Amagua 2013**), es por ello que la mayoría de plantas han logrado adquirir o aumentar su tolerancia a frío o congelación, conocido como aclimatación al frío. Dependiendo del grado de temperatura se genera una reprogramación de la expresión genética que permite modificar su metabolismo, fisiología y por ende su desarrollo y crecimiento (**Chen et al. 2015; Viswanathan Chinnusamy et al. 2007**). La señal de frío que se emite en las plantas favorece en la activación de la vía transcripcional: de forma dependiente de CBF (dependiente del factor de unión al elemento de repetición C / respuesta a la sequía) e independiente de CBF, en donde la vía dependiente activa la regulación de CBF (**V Chinnusamy et al. 2010; Huang et al. 2012; Solanke y Sharma 2008**).

Al encontrarse las plantas en un cierto nivel de estrés se genera la regulación de la expresión génica, misma que se encuentra definida por la tasa de transcripción la cual depende directamente de distintos factores de transcripción (proteínas con el poder de adhesión a secuencias cortas de ADN que se encuentran en los promotores de genes) y sus interacciones (**Agarwal y Jha, 2010; García-Morales et al. 2013**).

## 1.4. Especie vegetal (Quinua)

### Generalidades y clasificación botánica

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), también llamada kinua, kinuwa, quinoa, pasca, cachuyusi o isualla pertenece a la familia Amaranthaceae y subfamilia *Chenopodioidea* (Tabla 2). Alrededor del mundo existen cerca de 750 especies de quinua, de las cuales alrededor de 76 se encuentran cultivadas y distribuidas en todo el Ecuador y 673 accesiones se encuentran conservadas en el banco de germoplasma de la Estación Experimental “Santa Catalina”; su domesticación se estima que fue hace 5000 A.C. desde el Sur de Chile hasta Colombia (**Antezana 2019; Arzapalo et al. 2015; Bazile 2014; FAO 2011**).

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica.

|                    |                                 |
|--------------------|---------------------------------|
| <b>División:</b>   | Magnoliofita                    |
| <b>Clase:</b>      | Magnoliopsida                   |
| <b>Orden:</b>      | Caryophyllales                  |
| <b>Familia:</b>    | Amaranthaceae                   |
| <b>Subfamilia:</b> | Chenopodioidee                  |
| <b>Género:</b>     | Chenopodium                     |
| <b>Especie:</b>    | <i>Chenopodium quinoa</i> Will. |

(Antezana 2019; Bellido-Valencia *et al.* 2018; Gross *et al.* 1989)

### **Origen**

La quinua es un cultivar originario de las orillas del lago Titicaca (Perú y Bolivia), la cual se expandió por todo el valle interandino (los Andes), logrado adaptarse a los diferentes cambios edafoclimáticos como altitud, clima, suelo, entre otras (**Daza *et al.* 2015; Mujica 2015**). Antiguamente la quinua se encontraba distribuida por Sudamérica, siendo cultivada por los mayas y aztecas; sin embargo, los botánicos poseen poca evidencia clara de su distribución por lo que mencionan que su domesticación llevo varios años, pese a esto, la quinua se convirtió en base fundamental de la alimentación de nuestros antepasados (**Bazile *et al.* 2014; Garrido *et al.* 2013**).

### **Variedades de Quinua**

En la Estación Experimental “Santa Catalina” del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP-Quito), existe una colección de germoplasma de quinua: con más de 271 accesiones, de las cuales, las más cultivadas se mencionan continuación (*Tabla. 3*).

**Tabla 3.** Variedades de quinua

| <b>Accesiones</b>           | <b>Característica</b>  |
|-----------------------------|--|
| INIAP-Tunkahuan             | Alto rendimiento, alto contenido de saponina                   |
| INIAP-Pata de Venado        | Alto rendimiento, bajo contenido de saponina                   |
| INIAP-Ingapirca             | Bajo rendimiento, bajo contenido de saponina                   |
| INIAP-Chaucha               | Alto rendimiento, bajo contenido de saponina, sabor dulce      |
| INIAP-Piartal               | Rendimiento promedio, alto contenido de saponina, sabor amargo |
| INIAP- Porotoc              | Rendimiento promedio, alto contenido de saponina, sabor amargo |
| INIAP-Amarga del Chimborazo | Alto rendimiento, alto contenido de saponina, sabor amargo     |

(Delgado *et al.* 2019; FAO 2011; Gandarillas *et al.* 1989; Gómez y Aguilar 2016; Murillo *et al.* 2013; Veloza-Ramírez *et al.* 2016)

### Valor Nutricional

La quinua posee características de valor nutritivo y agroindustria, las cuales posibilitan su usos y aplicaciones industriales (León-Lobos *et al.* 2018). Antezana (2019); Bazile (2014); Marca *et al.* (2011) mencionan que las características nutritivas se obtienen del promedio de un análisis físico-químico de los granos de quinua, los cuales se mencionan a continuación (Tabla 4):

**Tabla 4.** Características físico-químicas de la Quinua

| <b>Parámetro</b> | <b>Valor</b> | <b>Unidad</b> |
|------------------|--------------|---------------|
| <b>Cenizas</b>   | 3,63 ± 0,5   | %             |

|                        |         |   |       |             |
|------------------------|---------|---|-------|-------------|
| <b>Peso</b>            | 0,27    | ± | 0,08  | 100 granos  |
| <b>Humedad</b>         | 4,95    | ± | 0,05  | %           |
| <b>Proteína</b>        | 14,33   | ± | 1,69  | %           |
| <b>Grasa</b>           | 6,46    | ± | 1,05  | %           |
| <b>Fibra</b>           | 7,01    | ± | 1,19  | %           |
| <b>Carbohidratos</b>   | 58,96   | ± | 3,4   | %           |
| <b>Energía</b>         | 353,36  | ± | 13,11 | (Kcal/100g) |
| <b>Granulo almidón</b> | 4,47    | ± | 0,25  | μ           |
| <b>Calidad</b>         | Primera |   |       | ----        |

### Descripción botánica

Es una planta herbácea anual con 0,2-3 m de altura, con frutos y semillas de diversos colores (**Antezana, 2019**), posee un tallo principal firme (corteza lignificada) que puede estar o no ramificado dependiendo de la variedad, distancia, densidad y factores climáticos en el que se siembra (**León-Lobos et al., 2018; Marca et al., 2011**).

Las hojas son dentadas y polimorfas (varias formas en la misma planta), con un peciolo de variados colores (verde, rosa, púrpura), presenta pubescencia, sus basales son grandes y con formas triangulares o romboides, mientras que las hojas superiores que se encuentran cubriendo la panoja son lanceoladas (**FAO 2011; Gómez y Aguilar 2016; León-Lobos et al. 2018**).

La panoja posee una longitud entre 15-20 cm., con un eje principal más desarrollado a esta panoja se conoce la como inflorescencia, del eje principal se producen los ejes secundarios y rara vez los terciarios. Las flores son hermafroditas de pequeño tamaño y abundantes que se agrupan en glomérulos, son sésiles y pueden ser androestériles y pistiladas (**Daza et al., 2015; Mina, 2014**).

El fruto es un aquenio indehisciente que en su interior contiene un grano con un tamaño de 2,66 mm de diámetro, presenta alveolos en su pericarpio. El fruto posee un tamaño entre 1,5 y 3 mm de diámetro, presenta concentraciones variadas de saponinas dependiendo de la variedad, además el epispermo (capa externa que determina el color de la semilla) posee diversos colores que van desde los más claros: traslúcidos,

blancos, cremas, hasta los más oscuros: negros, grises, púrpuras, rojos, entre otros (**Antezana, 2019; Murillo et al., 2013; Peralta et al., 2012**).

### **Fenología de la quinua**

Para el cultivar de quinua se identifican etapas o fases fenológicas bien marcadas y diferenciadas, mismas que ayudan a identificar los cambios que se presentan en su crecimiento (**Zingaretti et al. n.d.**):

Emergencia o Germinación: Ocurre entre los 7-10 días después de la siembra, en esta primera etapa emerge la radícula, alargándose hacia el suelo (sistema radicular), mientras que el hipocotilo sale de la semilla para dirigirse hacia arriba, abriéndose paso por pequeñas partículas de suelo, abierto los cotiledones, mismos que se tornan de un color verde al iniciar sus procesos fotosintéticos. Además, es una etapa crítica por diversos factores: estrés hídrico, temperatura y daños por aves (**Antezana 2019; Mamani 2018; Toapanta 2016**).

Desarrollo vegetativo: Ocurre entre los 15-45 días después de la siembra, en esta etapa se puede observar la aparición de las dos hojas verdaderas (15-20 días) que crecen de forma perpendicular a los cotiledones, entre los 20-30 días se puede apreciar el desarrollo de las cuatro hojas verdaderas, al aparecer la quinta y sexta hoja verdadera (35-45 días) se presenta la formación de yemas axilares en las primeras hojas. En esta fase las hojas cotiledonales se caen, y el sistema radicular crece rápidamente, además la planta se vuelve más resistente al frío (**Gómez y Aguilar 2016; Mina 2014**).

Esta fase en algunos genotipos se presenta de manera rápida, logrando tener ventaja sobre las malas hierbas.

Ramificaciones: Ocurre entre los 45-50 días después de la siembra, en esta etapa se observan 8 hojas verdaderas e inflorescencia protegida (panoja cubierta), Las primeras yemas formadas se activan y dan paso a nuevas hojas, esto sucede de manera secuencial (**Mina 2014; Montes-Rojas et al. 2018**).

Desarrollo del botón floral: Ocurre entre los 55-60 días, en esta fase aparece la emergencia del primordio floral en el ápice, la cual está cubierta por pequeñas hojas, también se produce un crecimiento rápido del tallo (altura y diámetro), considerando

el tamaño del botón floral desde que aparece hasta la formación de su estructura piramidal se da paso al inicio de la inflorescencia (**Antezana 2019; Gómez y Aguilar 2016; Toapanta 2016**).

Desarrollo de la Inflorescencia: Ocurre desde los 65-70 días después de la siembra, en esta etapa se produce la formación y crecimiento de la panoja o inflorescencia, sus primeros glomérulos se elongan y se diferencian los ejes principales, secundarios y terciarios tornándose como la típica inflorescencia, con una longitud de 17-70 cm (dependiendo de la variedad y las características edafoclimáticas). Se presenta la formación de flores individualizadas y sus estructuras reproductivas. La panoja se encuentra recubierta por una pubescencia que dependiendo de su variedad pueden tener colores blancos, rosados o morados oscuros (**Mamani 2018; Pinto 2012**).

Floración: Ocurre entre los 75-80 días después de la siembra, en esta etapa las flores hermafroditas y pistiladas empiezan a abrirse, dejando ver los estambres separados con sus anteras amarillas y brillantes. Entre los 90-95 días la planta se encuentra en pleno estado de floración puesto que más del 50% de las flores se encuentran abiertas, el tiempo de duración de las flores abiertas es de 5-7 días (entre las 10 a.m. y 12 p.m.). A temperaturas de mayores de 38°C se puede producir aborto de flores, sin embargo, una sequía de 10 a 15 días permite la polinización cruzada o autopolinización (**Gómez y Aguilar 2016; Mina 2014**).

Fruto (Grano lechoso): Ocurre entre los 100-130 días después de la siembra, los granos que se encuentran en los glomérulos de la panoja, estos granos en crecimiento presentan una sustancia acuosa de color lechoso, en esta etapa es fundamental mantener un balance hídrico para no perjudicar el llenado del grano (**Mamani 2018; Pinto 2012**).

Fruto (Grano masoso o pastoso): Ocurre entre los 130-160 días después de la siembra, en esta fase la planta ha llegado a su madurez fisiológica, los granos cuando tienen a ser aplastados presentan una sustancia en forma de pasta blanquecina (45% Humedad) (**Antezana 2019; Toapanta 2016**).

Madurez fisiológica: Ocurre entre los 160-180 días después de la siembra, el grano posee entre 14 y 16 % de humedad (resistencia a penetración), en esta etapa se produce la senescencia de la planta, donde se presenta amarillamiento y defoliación. Cabe

recalcar que en esta fase la lluvia perjudica la calidad del grano (**Gómez y Aguilar 2016; Mamani 2018; Toapanta 2016**).

### **Requerimientos del cultivo**

Suelo y pH: El cultivar de quinua prefiere suelos francos; pocos profundos, con buen drenaje y ricos en materia orgánica, sin embargo, puede desarrollarse en suelos arenosos, franco arenoso y franco arcilloso. Dependiendo de la variedad, se ha encontrado que la quinua puede tener buenos rendimientos en suelos con pH alcalino de 9 y pH ácido de 4,5 (**Gómez y Aguilar 2016; Mendoza 2013**).

Clima: Al poseer la quinua una amplia variabilidad genética, esta se puede adaptar a varios ambientes climáticos (desérticos, calurosos, secos, fríos, lluviosos), de manera general, se considera que la quinua tolera desde temperaturas mayores de 35°C con un desarrollo lento, hasta temperaturas menores a -1°C provocando problemas en la fecundación de la flor (**Gómez y Aguilar 2016; Montes-Rojas et al. 2018; Peralta et al. 2012**).

Temperatura y Humedad: La temperatura promedio para el mejor desarrollo del cultivo de quinua varía entre 15 – 20°C, aunque a los 10 y 25 °C también logra desarrollarse sin problemas. La humedad relativa adecuada es del 40% en el altiplano y hasta los 100% en el sector costa (**Mendoza 2013; Veloza-Ramírez et al. 2016**).

Radiación y fotoperiodo: La quinua tolera radiaciones extremas de las zonas altas del valle interandino, mismas que favorecen su periodo vegetativo y productivo. En cuanto a horas luz, el cultivo se da buenos rendimientos al exponerse entre 12-14 horas diarias de luminosidad (**Antezana 2019; Mendoza 2013**).

Altura: El cultivo de quinua se adapta hasta los 4000 m.s.n.m.; sin embargo, al estar más cerca al nivel del mar su producción disminuye considerablemente (**Antezana 2019; Montes-Rojas et al. 2018**).

## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

#### 2.1. Equipos, materiales e insumos

##### 2.1.1. Equipos

- Amalgamador
- Balanza Electrónica
- Baño María
- Cámara de flujo laminar
- Congelador
- Equipo de electroforesis
- Microcentrífuga
- Nanodrop
- PCR cuantitativa (qPCR tiempo real)
- Tanque de nitrógeno líquido
- Termoblock
- Timer
- Vortex genie 2 con adaptador

##### 2.1.2. Materiales

- Bandejas de siembra
- Espátulas y pinzas metálicas
- Frascos de vidrio
- Fundas herméticas de plástico
- Guantes
- Humus
- Material vegetal: cuatro accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)

- Paletas de identificación
- Papel de aluminio
- Piceta
- Pipetas y micropipetas
- Plástico sellador
- Probeta
- Puntas para pipetas y micropipetas (con y sin filtro)
- Sustrato estéril
- Tierra negra
- Tubos de PCR
- Vasos de precipitación

### **2.1.3. Reactivos**

- Agua destilada esterilizada
- Agua DEPC
- Arseniato Dibásico de Sodio Heptahidratado ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
- Buffer TAE 1X
- Buffer de extracción
- Isopropanol
- Cloroformo
- Dinucleótidos (dNTPs)
- Etanol
- Poliacrilamida
- Racks para PCR
- Racks para tubos de 1.1 ml
- Racks para tubos de 2.2ml
- RNAsa
- Solución cloroformo-alcohol
- Solución de Trizol
- Taq DNA polimerasa
- Kit de síntesis de cDNA

## **2.2. Factores de estudio**

Los factores investigados fueron:

### **2.2.1. Temperatura**

4°C

### **2.2.2. Tiempo de recolección de las muestras**

|           |          |
|-----------|----------|
| <b>T1</b> | 0 horas  |
| <b>T2</b> | 12 horas |
| <b>T3</b> | 24 horas |
| <b>T4</b> | 48 horas |

## **2.3. Caracterización del Lugar**

El ensayo se realizó bajo cubierta, mismo que presenta características tales como:

### **2.3.1. Ubicación del ensayo**

El trabajo se efectuó en los predios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, provincia de Tungurahua - Ecuador. Según el sistema de posicionamiento global (GPS) se encuentra a una altitud de 2865 msnm y en coordenadas geográficas: latitud 01°22'02" Sur y longitud 78°36'20" Oeste (INAMHI 2017).

### **2.3.2. Clima**

El invernadero en donde se desarrolló la investigación presenta una temperatura interna media de 20°C, con temperatura máxima de 27°C y mínima de 15°C, la humedad relativa fue de 50%.

### **2.3.3. Sustrato**

Se utilizó sustrato estéril combinado con tierra negra y humus, previamente esterilizados.

## 2.4. Metodología de la investigación

### 2.4.1. Accesiones de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)

|           |                |
|-----------|----------------|
| <b>A1</b> | Tunkahuan      |
| <b>A2</b> | Chaucha dulce  |
| <b>A3</b> | Chaucha amarga |
| <b>A4</b> | Pata de Venado |

### 2.4.2. Tratamientos

**Tabla 5.** Tratamientos.

| <b>Accesiones</b> | <b>Tiempo</b> | <b>Codificación</b> |
|-------------------|---------------|---------------------|
| A1                | T1            | A1T1                |
|                   | T2            | A1T2                |
|                   | T3            | A1T3                |
|                   | T4            | A1T4                |
| A2                | T1            | A1T1                |
|                   | T2            | A2T2                |
|                   | T3            | A2T3                |
|                   | T4            | A2T4                |
| A3                | T1            | A3T1                |
|                   | T2            | A3T2                |
|                   | T3            | A3T3                |
|                   | T4            | A3T4                |
| A4                | T1            | A4T1                |
|                   | T2            | A4T2                |
|                   | T3            | A4T3                |
|                   | T4            | A4T4                |

## **2.5. Diseño experimental**

Para el análisis estadístico e interpretación de los datos se utilizó el diseño experimental completamente al azar con un arreglo de tratamientos en parcelas divididas, siendo la parcela principal las accesiones (A1, A2, A3, A4) y la subparcela el tiempo de horas frío (T1, T2, T3, T4), los datos serán sometidos a análisis de varianza (ADEVA) y aquellos que muestren diferencias significativas serán comparados mediante prueba de medias según Tukey ( $p < 0,05$ ).

## **2.6. Variables respuesta**

Al realizar esta investigación se pretende obtener resultado sobre el grado de expresión génica y la intervención en las rutas metabólicas que presentan los genes.

## **2.7. Manejo del experimento**

Se preparó el sustrato en el que se sembraron las semillas de quinua (de 3 a 4 semillas por pilón), para esto se hará una mezcla en proporciones 1:1:1 que corresponde a 1 kg de tierra negra, 1 kg de humus y 1 kg de sustrato estéril.

Las distancias de siembra serán de 3 x 3 cm, se realizaron fertilizaciones completas en casos necesarios, el riego fue constante para evitar que el sustrato se deshidrate.

La toma de muestras se iniciará un mes luego de la siembra y germinación de las plántulas de quinua, al presentarse más o menos 5 hojas verdaderas.

### **2.7.1. Extracción de ARN de las muestras a analizar**

Para la extracción de ARN de las muestras se procedió de acuerdo al protocolo de la casa comercial Thermo Fisher (TRIZOL™ Reagent), presentado a continuación:

- a. Se parte de 100 mg de material congelado y se homogeniza en un amalgamador con perlas de vidrio en tubos de centrifuga, por un tiempo de 10 segundos.

- b. Posteriormente se adiciona Trizol, con este reactivo logramos precipitar el ARN de cada muestra.
- c. Después se centrifuga para separar el material residual del ARN, luego pasamos el sobrenadante a un nuevo tubo donde se le adicionará cloroformo.
- d. La mezcla anterior se vuelve a centrifugar, de esta manera separarnos el sobrenadante o fase acuosa y se coloca en un nuevo tubo donde se adiciona isopropanol, agitamos mediante vortex por 5 segundos.
- e. Una nueva centrifugación es necesaria para descartar el sobrenadante, obteniendo un precipitado que será el ARN.
- f. Finalmente se diluye el precipitado (ARN) en agua DEPC (libre de nucleasas y Rnasas) para luego ser utilizado en la síntesis de cDNA.

### 2.7.2. Síntesis de cDNA

Para la síntesis de cDNA se procedió de acuerdo al protocolo de (SYBR TM Green) presentado a continuación:

- a. Se prepara el “primers” de hibridación con los componentes presentados en la siguiente tabla:

**Tabla 6.** Componentes utilizados en la hibridación de ARN.

|                   |        |
|-------------------|--------|
| Oligo d(T) primer | 0,5 uL |
| dNTP mix          | 0,5 uL |
| Plantilla ARN     | 3 uL   |
| Agua tratada DEPC | 2,5 uL |

- b. Posteriormente se lleva a incubación a 65°C durante 5 minutos, luego se adiciona lo siguiente:

**Tabla 7.** Componentes utilizados en la transcripción de ARN.

|                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| 5x SSIV Buffer                  | 2 uL   |
| DTT                             | 0,5 uL |
| Inhibidor de la Ribonucleasa    | 0,5 uL |
| Solución de retro transcripción | 0,5 uL |

- c. Seguido, se incubaba la mezcla anterior en baño maría a 55°C por 10 minutos.
- d. Guardar las muestras a -20°C para su posterior uso en la amplificación en el qPCR tiempo real.

### 2.7.3. Determinación de la calidad y concentración del ARN y cADN

La determinación de la pureza, y concentración del cADN y ARN se realizará mediante el uso del Nanodrop. La relación de lectura de absorbancia de A260/A280 proporciona un estimado de pureza. Una solución de ADN pura tiene una relación A260/A280 a razón de 1,7 a 1,9. una relación inferior a 1,7 indica que pueden existir proteínas y otros elementos absorbentes de luz ultravioleta en la muestra, una relación superior a 1,9 indica que las muestras pueden estar contaminadas con fenol o cloroformo.

### 2.7.4. Análisis de expresión génica por qPCR

El método de análisis fue el de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Polymerase Chain Reaction, qPCR) (Pérez de Castro 2010).

Se utilizó SYBER green Master Mix para las reacciones de qPCR, de acuerdo con las instrucciones de la casa comercial (Applied biosystems) conjuntamente con los “primers” diseñados para la amplificación de los genes de interés más un gen de control de expresión constitutiva.

La empresa Applied Biosystems, fabricante del equipo PCR tiempo real recomienda usar el siguiente protocolo:

**Tabla 8.** Modo de ciclo estándar (primer  $T_m \geq 60^\circ\text{C}$ ).

| Paso                        | Temperatura | Duración    | Ciclos |
|-----------------------------|-------------|-------------|--------|
| UDG activation              | 50°C        | 2 minutos   | Hold   |
| Dual-Lock TM DNA polymerase | 95°C        | 2 minutos   | Hold   |
| Denature                    | 95°C        | 15 segundos | 40     |
| Anneal/extend               | 60°C        | 1 minuto    |        |

**Tabla 9.** Condiciones de la curva de disociación (etapa de la curva de melt).

| <b>Paso</b>      | <b>Ramp rate</b> | <b>Temperatura</b> | <b>Tiempo</b> |
|------------------|------------------|--------------------|---------------|
| 1                | 1.6°C/segundo    | 95°C               | 15 segundos   |
| 2                | 1.6°C/segundo    | 60°C               | 1 minuto      |
| 3 <sup>[1]</sup> | 0.15°C/segundo   | 95°C               | 15 segundos   |

<sup>[1]</sup> Disociación

### **2.1. Procesamiento de la información**

Se realizó un análisis de varianza (ADEVA) con la prueba de significación Tukey al 5% para lograr interpretar los resultados alcanzados usando el programa Infostat versión 2018.

### **2.2. Hipótesis**

El estrés ocasionado por frío genera una respuesta génica en referencia al gen constitutivo en las cuatro accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.).

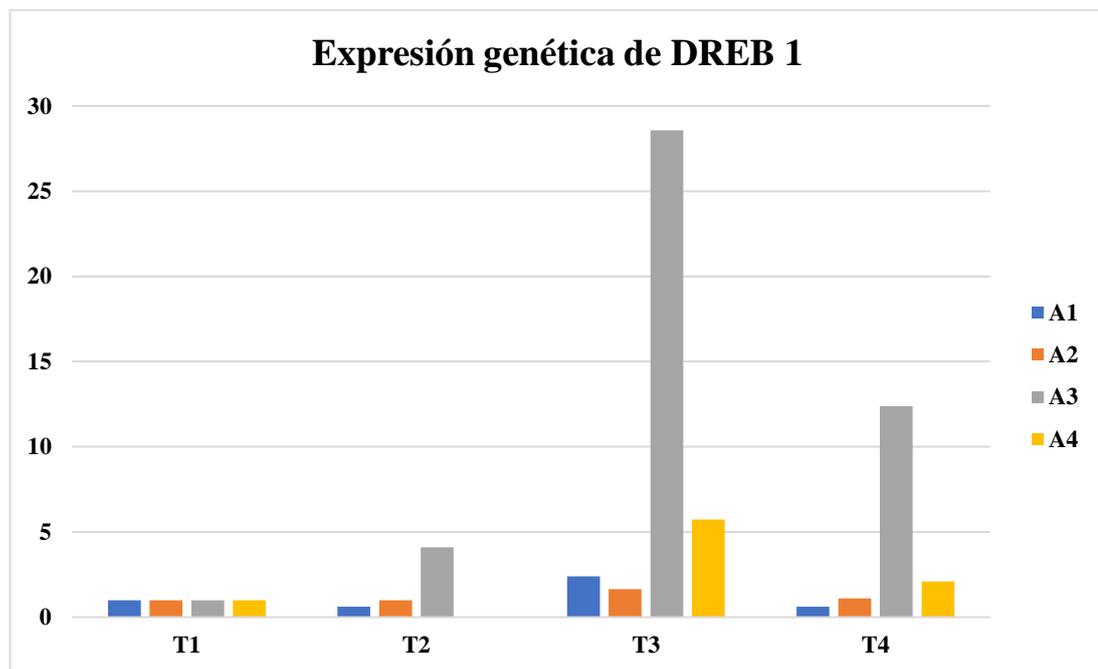
## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis de resultados

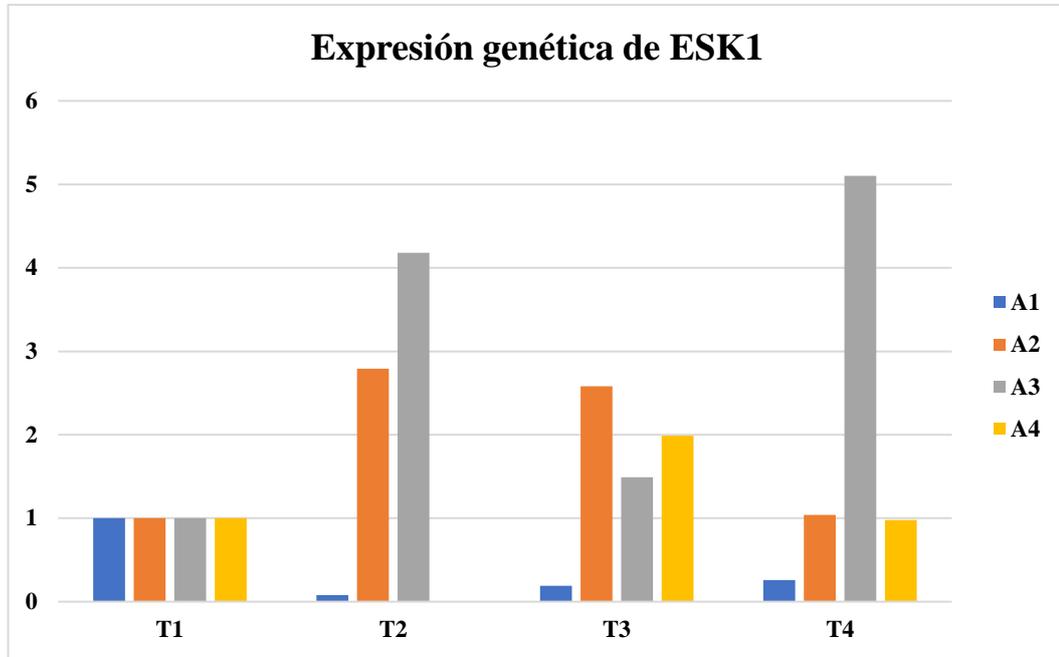
##### 3.1.1. Expresión génica bajo estrés por frío (-4°C).

Se evidenció la presencia de expresiones génicas en las cuatro ascensiones de quínoa, ( $p_{DREB1} < 0,0001$ ; gl:9 y  $F=64,69$ ;  $p_{ESK10,1212} < 0,0001$ ; gl:9 y  $F=1,93$ ;  $p_{PSC5} < 0,0001$ ; gl:9 y  $F=20,42$ ) (Figura 1, 2 y 3). El gen DREB1 obtuvo mayor expresión génica con el tratamiento A3T3 (Chaucha amarga a las 24 horas) con un valor de 28,43 siendo significativamente diferente al tratamiento A1T2 (Tunkahuan a las 12 horas) que presentó un valor de 0,61 de expresión génica.



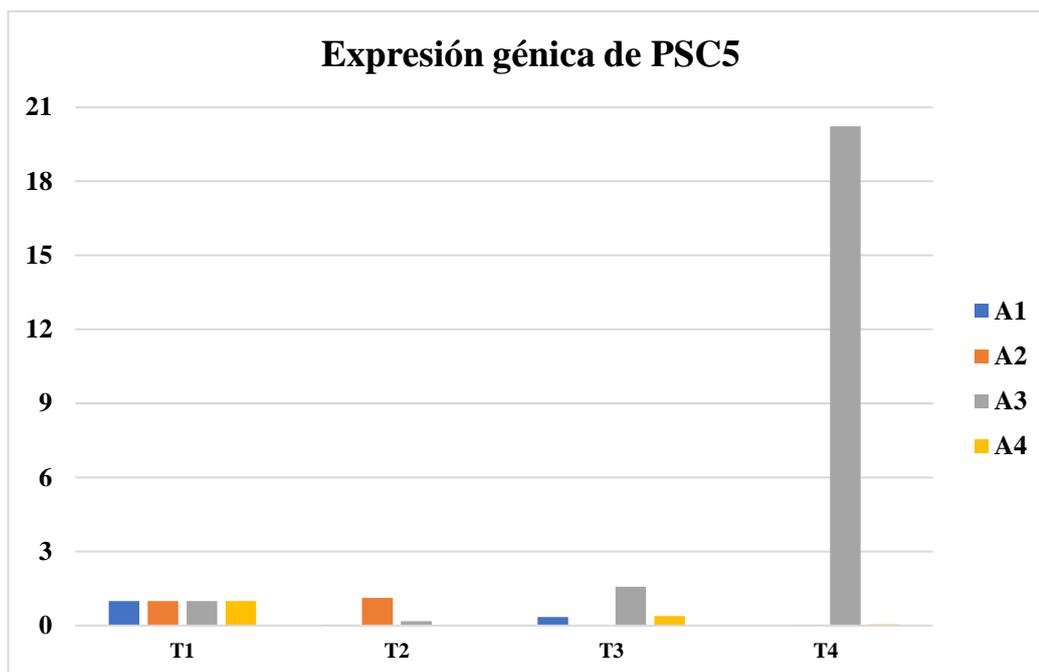
**Figura 1.** Expresión génica de DREB1 bajo condiciones de estrés por frío (4°C), en 4 accesiones de quínoa.

En cuanto al gen ESK1 se observó una mayor expresión génica con el tratamiento A3T4 (Chaucha amarga a las 48 horas) con un valor de 5,1, este tratamiento es significativamente diferente al tratamiento A4T2 (Pata de Venado a las 12 horas), el cual presentó la más baja expresión génica con un valor de 0,26.



**Figura 2.** Expresión génica de ESK1 bajo condiciones de estrés por frío (4°C), en 4 accesiones de quínoa.

El gen PSC5 obtuvo su mayor expresión génica con el tratamiento A3T4 siendo significativamente diferente al tratamiento A4T2, presentando valores de 20,23 y 0,0000049 respectivamente. A las 0 horas (T0), no se presentó grado de expresión alguna por ser el inicio de la experimentación.



**Figura 3.** Expresión génica de PSC5 bajo condiciones de estrés por frío (4°C), en 4 accesiones de quínoa.

### 3.2. Discusión de los resultados

La respuesta génica de las cuatro accesiones de quínoa frente al estrés ocasionado por bajas temperaturas (frío: -4°C) presentó expresión génica de tres tipos de genes diferentes: *DREB1*, *ESK1* y *PSC5*, mismos que tuvieron un alto grado de expresión con A3 (Chaucha amarga) entre las 12 y 48 horas de observación, esto puede deberse al tipo de ascensión de quínoa, puesto que es cultivada en zonas donde la temperatura fluctúa a la baja pudiendo llegar incluso a heladas, así como lo mencionan **Á. Mujica (2015)** y **A. Mujica, Izquierdo y Marathee (2001)**, además **Monteros y Jacobsen (1999)**; **Jacobsen et al. (2000)** citados por **A. Mujica et al. (2001)** señalan que las accesiones provenientes del altiplano poseen mayor tolerancia al frío en comparación con las del valle. La accesión 3 obtuvo mayor grado de expresión génica, asumiendo dicha expresión a la capacidad acumulativa de metabolitos (azúcares solubles, prolina y proteínas) (**Tambussi 2004**) que posee la quinua, así como el reducido porcentaje de agua reservado en las hojas, así como lo señala **Monteros (2000)**

**citado por A. Mujica et al. (2001)** determinando tolerancia al frío en el genotipo Witulla.

Entre los genes hallados se tiene a *DREB1*, *ESK1* y *PSC5*, mismos que se han reportado en *A. thaliana* según investigaciones de **Muñiz y Capiati (2011); Chinnusamy et al. (2010); Hirayama y Shinozaki (2010); Verslues et al. (2006)**, siendo factores de transcripción claves frente a la respuesta al frío. Además, se presume que el gen *DREB1* controla la expresión de un “regulón” de los genes que estimulados por bajas temperaturas (frío) logra aumentar la tolerancia a frío de los vegetales, de manera general, este gen favorece la estabilidad de las membranas frente a lesiones provocadas por el congelamiento. El gen codifica un polipéptido de 15 kD que se dirige hacia los cloroplastos mismos que se procesan en un polipéptido de 9,4 Kd (**Liu et al. 1998; Thomashow 1998**). Por otro lado según (**Xin et al., 2007**), el gen *ESK1* es un regulador negativo de la aclimatación al frío el cual codifica una proteína de 45 kD perteneciente a una gran familia de genes proteicos de dominio *DUF231*, los cuales codifican cerca de 45 proteínas con funciones que se desconocen, por último el gen *PSC5* demostró su regulación propia para la expresión por medio de la retroalimentación positiva mediante la unión de su propio promotor (**Correa, 2013**).

### **3.3. Verificación de hipótesis**

Se cumple la hipótesis planteada, debido a que el estrés ocasionado por frío genera una respuesta génica en referencia al gen constitutivo en las cuatro accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.).

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

- Se identificaron tres tipos de genes diferentes (*DREB1*, *ESK1* y *PSC5*) los cuales fueron responsables directos de la activación de las rutas metabólicas para el estrés al frío en las 4 accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).
- Mediante el método y/o tecnología qPCR (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real), se logró la rápida evaluación de la expresión génica en cada una de las accesiones de (*Chenopodium quinoa* Willd.), teniendo como resultado la expresión génica de *DREB1*, *ESK1* y *PSC5*, entre ellos el gen que presentó mayor expresión fue el *DREB1*, logrando activar rutas metabólicas de sistemas como ROS o ácido abscísico que se encuentran involucrados en la tolerancia o resistencia a bajas temperaturas (frío).
- Se encontró que la accesión 3 (Chaucha amarga) fue la que presentó mayor grado o respuesta génica de *DREB1*, *ESK1* y *PSC5* al estrés causado por bajas temperaturas (frío), de los cuales el que mejor destaco fue *DREB1*.

#### 4.2. Recomendaciones

- En base al estudio realizado, se recomienda la utilización de la accesión 3 (Chaucha amarga) en zonas donde la temperatura baje drásticamente, ya que se considera tolerante al frío.

- Realizar investigaciones similares con el objetivo de evaluar el comportamiento génico frente a otras variables como temperatura y fases fenológicas.
- Realizar programas de mejoramiento genético en base a cruces con accesiones que tengan una elevada expresión génica con otras con mejores características de rendimiento o producción y evaluar su comportamiento frente a este tipo de estrés.

## MATERIALES DE REFERENCIA

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, P. K., y Jha, B. (2010, April 15). Transcription factors in plants and ABA dependent and independent abiotic stress signalling. *Biologia Plantarum*, Vol. 54, pp. 201–212. <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0038-7>
- Amagua, J. (2013). *Respuesta a bajas temperaturas de treinta genotipos de papa (Solanum spp.), bajo condiciones controladas. cutuglahua, pichincha* (Universidad Central del Ecuador). Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/2028/1/T-UCE-0004-29.pdf>
- Antezana, E. (2019). *Respuesta de Quinua (Chenopodium quinoa) al estrés de sequia y calor bajo condiciones de la Molina*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Arzapalo, D., Huamán, K., Quispe, M., y Espinoza, C. (2015). Extracción y Caracterización del Almidón de Tres Variedades de Quinua (Chenopodium quinoa Willd) Negra Collana , Pasankalla Roja Y blanca Junín. *Universidad Nacional Del Centro*, 81(1), 44–54.
- Bazile, D. *et al.* (2014). Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013. In FAO-CIRAD (Ed.), *Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013* (1 ed). <https://doi.org/I4042>
- Bellido-Valencia, O., Huanca-Zúñiga, P., y Medina-Marroquín, L. (2018). Determination of the Morphology of the Starch Granules and the Optimum Internal Cooking Temperature of Four Andean Crops: Oca (Oxalis tuberosa Molina), Olluco (Ullucus tuberosus Loz), Isaño (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon) and Arracacha (Arracacia xant. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 21(2), 33–42. <https://doi.org/10.1515/auaft-2017-0013>
- Burrieza, H., Martínez-Tosar, L., Avella-Grillia, M., Kobayashi, K., y Maldonado, S. (2013). El grano de quinua y las dehidrinas. *Ciencia y Tecnología de Los Cultivos*

*Industriales*, 3(5), 16–24.

- Chen, H., Chen, X., Chen, D., Li, J., Zhang, Y., y Wang, A. (2015). A comparison of the low temperature transcriptomes of two tomato genotypes that differ in freezing tolerance: *Solanum lycopersicum* and *Solanum habrochaites*. *BMC Plant Biology*, 15(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0521-6>
- Chinnusamy, V, Jian-Kang, Z., y Sunkar, R. (2010). Plant Stress Tolerance. *NIH Public Access*, 639(1), 39.55. <https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0>
- Chinnusamy, Viswanathan, Schumaker, K., y Zhu, J. K. (2004). Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 55(395), 225–236. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh005>
- Chinnusamy, Viswanathan, Zhu, J., y Zhu, J. K. (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Science*, Vol. 12, pp. 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.07.002>
- Correa, M. (2013). *Búsqueda de genes asociados a la tolerancia de heladas a partir del análisis de genotecas de ADNc obtenidas por hibridación sustractiva por supresión (SSH) de la papa nativa Solanum juzepczuckii* (Vol. 53). Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Daza, R., Burín, D., Pereyra, E., y Heras, A. (2015). Quinua, regalo ancestral: historia, contexto, tecnología, políticas. In *Jujuy: Fundación Nueva Gestión*.
- Delgado, H., Tapia, C., Naranjo, E., Borja, E., y Martín, J. (2019). *Variación de la agrodiversidad en variedades tradicionales de Quinua (Chenopodium quinoa Willd) de la Región Andina de Ecuador*. Quito, Ecuador.
- FAO-ALADI. (2014). *Tendencias y perspectivas del comercio internacional de Quinua*. Retrieved from [www.fao.org/](http://www.fao.org/)
- FAO. (2011). *La quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*.

- Font, I., Abad, P., Albiñana, M., Espino, A., Dally, E., Jorda, C., y Davis, R. (1999). Amarillos y enrojecimientos en zanahoria: Una enfermedad a diagnóstico. *Bol. San. Veg. Plagas*, 25, 405–415.
- Gandarillas, S., Nieto, C., y Castillo, R. (1989). Razas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) en Ecuador. In *Boletín Técnico No. 67* (Estación E). Retrieved from <http://quinuaecuador.imagartes.com/index.php/publicaciones>
- García-Morales, S., Gómez-Merino, F. C., Trejo-Téllez, L. I., y Herrera-Cabrera, É. B. (2013). Factores de transcripción involucrados en respuestas moleculares de las plantas al estrés osmótico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(2), 105–115. <https://doi.org/10.35196/rfm.2013.2.105>
- García, D. (2008). Sistemas Regulatorios de la Expresión Genética. *Lsiweb.Lsi.Us.Es*, (1), 75. Retrieved from <http://lsiweb.lsi.us.es/docs/doctorado/memorias/Memoria-Invest-DMateosGarcia.pdf> [https://www.gdt-bio.com/assets/glosario-de-terminos-geneticos\\_mktgdtene20-vf.pdf](https://www.gdt-bio.com/assets/glosario-de-terminos-geneticos_mktgdtene20-vf.pdf)
- Garrido, M., Silva, P., Silva, H., Muñoz, R., Baginsky, C., y Acevedo, E. (2013). Evaluación del rendimiento de nueve genotipos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) bajo diferentes disponibilidades hídricas en ambiente mediterráneo. *Idesia (Arica)*, 31(2), 69–76. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292013000200010>
- Gómez, L., y Aguilar, E. (2016). Guía del cultivo de la quinoa. In *FAO y Universidad Nacional Agraria La Molina* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Greco, M., Chiappetta, A., Bruno, L., y Bitonti, M. B. (2012). In *Posidonia oceanica* cadmium induces changes in DNA methylation and chromatin patterning. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 695–709. <https://doi.org/10.1093/jxb/err313>
- Gross, R., Koch, F., Malaga, I., de Miranda, A. F., Schoeneberger, H., y Trugo, L. C. (1989). Chemical composition and protein quality of some local Andean food sources. *Food Chemistry*, 34(1), 25–34. <https://doi.org/10.1016/0308->

8146(89)90030-7

- Hirayama, T., y Shinozaki, K. (2010). Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *The Plant Journal*, 61(6), 1041–1052. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04124.x>
- Huang, G. T., Ma, S. L., Bai, L. P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., ... Guo, Z. F. (2012). Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. *Molecular Biology Reports*, 39(2), 969–987. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0823-1>
- INAMHI, (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología). (2017). *Anuario meteorológico Nº 53-2013*. Quito, Ecuador.
- Izquierdo, A. (2016). *Caracterización del gen CRIO4 y su implicación en tolerancia a estrés por frío*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Jiang, S. C., Mei, C., Liang, S., Yu, Y. T., Lu, K., Wu, Z., ... Zhang, D. P. (2015). Crucial roles of the pentatricopeptide repeat protein SOAR1 in Arabidopsis response to drought, salt and cold stresses. *Plant Molecular Biology*, 88(4–5), 369–385. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0327-9>
- León-Lobos, P., Morales, A., Ruf, K., Zurita, A., y Alfaro, C. (2018). Catálogo de Variedades Locales de Quínoa: Zona Centro Sur de Chile. In *Instituto De Investigaciones Agropecuarias (Inia)*. Retrieved from <https://www.inia.cl/wp-content/uploads/2019/01/Catálogo-Quínoa.pdf>
- Liu, Q., Kasuga, M., Sakuma, Y., Abe, H., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., y Shinozaki, K. (1998). Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis. *Plant Cell*, 10(8), 1391–1406. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.8.1391>
- Mamani, M. (2018). *Comportamiento agronómico de diez cultivares de Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) procedentes del Vale Altoandino, en Zona Árida*. Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa.

- Marca, S., Chaucha, W., Quispe, J., y Mamani, V. (2011). *Comportamiento actual de los agentes de la cadena productiva de quinua en la región Puno*. Puno, Perú.
- Mendoza, V. (2013). *Comparativo de accesiones de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) en condiciones de costa central*. Retrieved from [https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&biw=1366&bih=654&ei=\\_HVIX6a4GInz5gK1wr7gCw&q=Es+el+estudio+de+los+cambios+externos+diferenciables+y+visibles+que+muestran+las+plantas+como+resultado+de+sus+relaciones+con+las+condiciones+ambientales+%28temp](https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&biw=1366&bih=654&ei=_HVIX6a4GInz5gK1wr7gCw&q=Es+el+estudio+de+los+cambios+externos+diferenciables+y+visibles+que+muestran+las+plantas+como+resultado+de+sus+relaciones+con+las+condiciones+ambientales+%28temp)
- Mina, D. (2014). *Evaluación Agronómica de Líneas F5 de Quinua (Chenopodium quinoa Willd.) en dos Localidades de la Sierranía-Ecuador*. Universidad Central del Ecuador.
- Montes-Rojas, C., Burbano-Catuche, G., Muñoz-Certuche, E., y Calderón-Yonda, Y. (2018). Descripción del ciclo fenológico de cuatro ecotipos de (Chenopodium quinoa willd.), en Puracé – Cauca, Colombia. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(2), 26. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(16\)26-37](https://doi.org/10.18684/bsaa(16)26-37)
- Morillo, A., Morillo, Y., Fregene, M., Ramírez, H., Chávez, A., Sánchez, T., ... Ceballos, H. (2011). Diversidad genética y contenido de carotenos totales en accesiones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Acta Agronómica*, 60(2), 97–107. Retrieved from [http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/27832/28075](http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/27832/28075)
- Mujica, Á. (2015). El origen de la quínoa y la historia de su domesticación. In *Tierra Adentro INIA*. Retrieved from <http://www.inia.cl/descarga/revista-tierra-adentro-especial-quinua/>
- Mujica, A., Izquierdo, J., y Marathe, J.-P. (2001). Quinua ancestral. Cultivo de los Andes. In *Quinua (Chenopodium quinoa Willd.) Ancestral Cultivo Andino, Alimento del Presente y Futuro*. (pp. 1–19). Retrieved from

[http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP\\_FaoRlc/old/prior/segalim/prodali/m/prodveg/cdrom/contenido/libro03/home03.htm](http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodali/m/prodveg/cdrom/contenido/libro03/home03.htm)

- Muñiz, M., y Capiati, A. (2011). Utilización de factores de transcripción como herramienta biotecnológica para incrementar la tolerancia a la sequía en plantas. *Química Viva*, 10(3), 187–199.
- Murata, E. (2017). *Caracterización de la expresión genética en respuesta a temperaturas de congelamiento en papas nativas tolerantes y susceptibles*. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Murillo, A., Mazón, N., Rodríguez, D., y Vega, L. (2013). Mejoramiento genético de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Ecuador. In *Iniap*. Quito, Ecuador.
- Ortega-Ramirez, E., Ureta-Sierra, C., Mayanga Herrera, A., Morey-León, G., Graterol-Caldera, L., Dyer-Coriat, P., y Mialhe, E. (2014). Identificación molecular de la mosquilla del brote *Prodiplosis* sp. Gagné en los cultivos de *Asparagus officinalis* L. por amplificación parcial del gen citocromo oxidasa I. *Idesia (Arica)*, 32(4), 29–41. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000400005>
- Peleg, Z., y Blumwald, E. (2011). Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3), 290–295. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.02.001>
- Peralta, E., Mazón, N., Murillo, A., Rivera, M., Rodríguez, D., Lomas, L., y Monar, C. (2012). *Manual agrícola de granos andinos. chocho, quinua, amaranto y ataco* (3rd ed.; Estación Experimental Santa Catalina-INIAP, Ed.). Quito, Ecuador.
- Pérez-Quintero, Á., Zapata, A., y López, C. (2010). Identificación de miarns conservados en yuca (*Manihot esculenta*) Identification of Conserved miRNAs in Cassava (*Manihot esculenta*). *Acta Biológica Colombiana*, 15(2), 149–168.
- Pinto, M. (2012). *Aspectos de la fisiología del cultivo de la quinua*.
- Recillas, F. (2002). El control de la expresión genética en su contexto natural. *Ciencia-*

*Academica Mexicana de Ciencias*, 53(3), 84–91.

- Rout, G., Mohapatra, A., y Jain, S. (2006). Tissue culture of ornamental pot plant : A critical review on present scenario and future prospects. *Biotechnology Advances*, 24, 531–560. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.05.001>
- Roy, S. J., Negrão, S., y Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>
- Rozema, J., Cornelisse, D., Zhang, Y., Li, H., Bruning, B., Katschnig, D., ... van Bodegom, P. (2015). Comparing salt tolerance of beet cultivars and their halophytic ancestor: Consequences of domestication and breeding programmes. *AoB PLANTS*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu083>
- Schmöckel, S., Lightfoot, D., Razali, R., Tester, M., y Jarvis, D. (2017, June). Identification of Putative Transmembrane Proteins Involved in Salinity Tolerance in *Chenopodium quinoa* by Integrating Physiological Data, RNAseq, and SNP Analyses. In *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01023>
- Solanke, A. U., y Sharma, A. K. (2008). Signal transduction during cold stress in plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 14(1–2), 69–79. <https://doi.org/10.1007/s12298-008-0006-2>
- Tambussi, E. (2004). *Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio*.
- Thomashow, M. F. (1998). Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiology*, 118(1), 1–7. <https://doi.org/10.1104/pp.118.1.1>
- Toapanta, I. (2016). *Duración de las etapas fenológicas y profundidad radicular del cultivo de Quinoa (Chenopodium quinoa) var. Tunkahuán en el sector Querochaca, cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua*. Universidad Tecnica de Ambato.
- Veloza-Ramírez, C., Romero-Guerrero, G., y Gómez-Piedras, J. (2016). Respuesta morfoagronómica y calidad en proteína de tres accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en la sabana norte de Bogotá. *Revista U.D.C.A*

*Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2), 325–332.  
<https://doi.org/10.31910/rudca.v19.n2.2016.86>

Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., y Zhu, J. K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal*, 45(4), 523–539.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x>

Via, R., y Fernández, R. (2015). *Determinación de la diversidad genética de 172 accesiones de la colección nacional de Chenopodium quinoa Willd. “Quinoa” mediante marcadores microsatélites*. Universidad Ricardo Palma.

Volkov, V. (2015, October 27). Salinity tolerance in plants. Quantitative approach to ion transport starting from halophytes and stepping to genetic and protein engineering for manipulating ion fluxes. *Frontiers in Plant Science*, Vol. 6.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00873>

Wani, S. H., Sah, S. K., Sanghera, G., Hussain, W., y Singh, N. B. (2016). Genetic Engineering for Cold Stress Tolerance in Crop Plants. *Advances in Genome Science*, 173–201. <https://doi.org/10.2174/9781681081731116040010>

Xin, Z., Mandaokar, A., Chen, J., Last, R. L., y Browse, J. (2007). Arabidopsis ESK1 encodes a novel regulator of freezing tolerance. *The Plant Journal*, 49(5), 786–799. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02994.x>

Xu, D., Huang, X., Xu, Z. Q., y Schläppi, M. (2011). The HyPRP gene EARLI1 has an auxiliary role for germinability and early seedling development under low temperature and salt stress conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 234(3), 565–577. <https://doi.org/10.1007/s00425-011-1425-9>

Zhang, S., Raza, W., Yang, X., Hu, J., Huang, Q., Xu, Y., ... Shen, Q. (2008). Control of Fusarium wilt disease of cucumber plants with the application of a bioorganic fertilizer. *Biology and Fertility of Soils*, 44(8), 1073–1080.  
<https://doi.org/10.1007/s00374-008-0296-0>

Zingaretti, A., De Vita, M., Garcia, M., Ruiz, M., Bárcena, N., Roqueiro, G., y Bueno,

L. (n.d.). *Fenología de Cuatro Ecotipos de Quinoa sembrados en Otoño e Invierno en el Valle de Tullum, San Juan, Argentina*. 1–10.

## ANEXOS

### Anexo 1. Análisis ADEVA. Prueba Tukey al 5%

#### DREB1-FRÍO

##### Análisis de la varianza

| Variable    | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV    |
|-------------|----|----------------|-------------------|-------|
| Datos-DREB1 | 32 | 0,99           | 0,98              | 24,87 |

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.            | SC      | gl | CM     | F      | p-valor |
|-----------------|---------|----|--------|--------|---------|
| Modelo          | 1562,00 | 15 | 104,13 | 104,38 | <0,0001 |
| Accesión        | 605,42  | 3  | 201,81 | 202,28 | <0,0001 |
| Tiempo          | 374,39  | 3  | 124,80 | 125,09 | <0,0001 |
| Accesión*Tiempo | 582,20  | 9  | 64,69  | 64,84  | <0,0001 |
| Error           | 15,96   | 16 | 1,00   |        |         |
| Total           | 1577,96 | 31 |        |        |         |

#### ESK1-FRÍO

##### Análisis de la varianza

| Variable   | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV    |
|------------|----|----------------|-------------------|-------|
| Datos-ESK1 | 32 | 0,69           | 0,40              | 86,93 |

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.            | SC    | gl | CM   | F    | p-valor |
|-----------------|-------|----|------|------|---------|
| Modelo          | 64,26 | 15 | 4,28 | 2,38 | 0,0477  |
| Accesión        | 29,60 | 3  | 9,87 | 5,48 | 0,0087  |
| Tiempo          | 3,49  | 3  | 1,16 | 0,65 | 0,5967  |
| Accesión*Tiempo | 31,18 | 9  | 3,46 | 1,93 | 0,1212  |
| Error           | 28,79 | 16 | 1,80 |      |         |
| Total           | 93,05 | 31 |      |      |         |

#### PSC5-FRÍO

##### Análisis de la varianza

| Variable   | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV    |
|------------|----|----------------|-------------------|-------|
| Datos-PSC5 | 32 | 0,95           | 0,90              | 89,10 |

##### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.            | SC     | gl | CM    | F     | p-valor |
|-----------------|--------|----|-------|-------|---------|
| Modelo          | 736,73 | 15 | 49,12 | 20,25 | <0,0001 |
| Accesión        | 170,75 | 3  | 56,92 | 23,47 | <0,0001 |
| Tiempo          | 120,31 | 3  | 40,10 | 16,53 | <0,0001 |
| Accesión*Tiempo | 445,67 | 9  | 49,52 | 20,42 | <0,0001 |
| Error           | 38,81  | 16 | 2,43  |       |         |
| Total           | 775,54 | 31 |       |       |         |