

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**

**PROYECTO DE TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

**VARIABILIDAD MORFOLÓGICA, FISIOLÓGICA,
NUTRICIONAL Y MOLECULAR EN 10
ACCESIONES DE OCA (*Oxalis tuberosa* Mol.)**

Autor(a): Bach. Erika Llaja Zuta

Asesor(a): Dr. Jorge Alberto Condori Apfata

Registro:

CHACHAPOYAS - PERÚ

2025

1. Título

Variabilidad morfológica, fisiológica, nutricional y molecular en 10 accesiones de oca (*Oxalis tuberosa* Mol.).

2. Problema de la investigación

¿Existe variabilidad morfológica, fisiológica, nutricional y molecular entre diez accesiones de oca (*Oxalis tuberosa* Mol)?

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Caracterizar la variabilidad morfológica, fisiológica, nutricional y molecular en 10 accesiones de oca (*Oxalis tuberosa* Mol).

3.2. Objetivos específicos

- Evaluar las características morfológicas de diez accesiones de oca.
- Determinar los parámetros fisiológicos de diez accesiones de oca.
- Evaluar los componentes bioquímicos de diez accesiones de oca
- Ensamblar el genoma cloroplastidial de diez accesiones de oca.

4. Antecedentes de la investigación

Oxalis tuberosa Molina, comúnmente conocida como oca es un cultivo que forma tubérculos originario del centro de Perú y norte de Bolivia, y se cultiva principalmente en los Andes centrales y al igual que muchos otros cultivos subutilizados, desempeñan un papel importante en la seguridad alimentaria de las comunidades rurales andinas (Emshwiller et al., 2009; Siqueira et al., 2023).

En el Perú, el cultivo de oca ha registrado en los últimos años una superficie sembrada de aproximadamente 13 505 ha, alcanzando una producción total de 125 t/ha. El departamento de Cusco destaca como el principal productor con 112 t/ha, mientras que en la región Amazonas no se reporta producción de este tubérculo (Torres, 2024).

La oca se encuentra dentro de un clado conocido informalmente como la “alianza *Oxalis tuberosa*”, un grupo de varias docenas de especies morfológicamente similares que se encuentran en el norte y centro de los Andes (Emshwiller, 2002a).

La “alianza *Oxalis tuberosa*” es el nombre informal propuesto para un grupo de especies de *Oxalis* morfológicamente similares que comparten un número base de cromosomas raro en el género ($x = 8$), sin embargo la especie domesticada, *Oxalis*

tuberosa es una especie poliploide (De Azkue & Martínez, 1990). En la mayoría de los estudios realizados se ha encontrado que la oca cultivada es octoploide, pero la mayoría de las especies silvestres del clado de la alianza son diploides, con solo unos pocos poliploides silvestres (Emshwiller, 2002b).

El cultivo de la oca presenta una diversidad morfológica en forma, color y tamaño, así como variación nutricional (Steffanny Sanchez-Portillo et al., 2023).

El tubérculo de la oca tiene forma cilíndrica o turbinada, con una longitud entre 5 y 8 cm y un diámetro de 2 a 4 cm; su piel es mayormente lisa, con un color que puede ser morado, rojo, rosa y amarillo (Sangketkit et al., 2000).

El tubérculo de la oca es una fuente de una variedad de nutrientes, siendo el almidón el componente principal, con aproximadamente el 60 % del peso seco (Valcárcel-Yamani et al., 2013). Además, los tubérculos de oca de color amarillo-anaranjado son ricos en carotenoides, mientras que la oca de color púrpura contiene antocianinas, además, los tubérculos contienen otros polifenoles que incluyen derivados de los ácidos cafeico, vainílico y cinámico, así como derivados de flavonas (Chirinos et al., 2009). También se ha encontrado una cantidad significativa de fructooligosacáridos en los tubérculos de oca, mostrando una gama de actividades biológicas como la actividad antioxidante y la prevención de enfermedades digestivas (Jimenez et al., 2015). Sin embargo, la oca también contiene un nivel moderado de oxalatos solubles que forman parte de los factores antinutricionales (Ross et al., 1999).

La oca posee un sistema completo de caracteres asociados con la triestilia, es decir, tres longitudes diferentes de estilo y estambres que son responsables de la incompatibilidad, que promueve la exogamia e inhibe la autofecundación, sin embargo, aunque la formación de semillas sigue siendo posible, la oca se propaga esencialmente por tubérculos y nunca se ha observado propagación botánica de semillas por parte de los agricultores (Gibbs, 1976).

Este cultivo presenta resistencia a plagas, tolera condiciones ambientales adversas como sequías, heladas, y está adaptado a diversos tipos de suelo (Steffanny Sanchez-Portillo et al., 2023).

La oca en el Perú enfrenta diversas limitaciones, entre ellas la reducción del tamaño de las parcelas y el uso de tecnología poco desarrollada. Además, la falta de apoyo

crediticio por parte del estado y las deficiencias en infraestructura vial afectan negativamente su producción, llevándose a cabo principalmente en pequeñas áreas destinadas al autoconsumo interno (Tovar & Ninoska, 2019).

5. Hipótesis

Existe variabilidad en las características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y moleculares entre las diez accesiones de oca (*Oxalis tuberosa* Mol).

6. Metodología

Ubicación de la investigación

La investigación se llevará a cabo en el anexo El Mito, ubicado en el distrito de Soloco, provincia de Chachapoyas, en el departamento de Amazonas, Perú. El campo experimental será instalado a una latitud de 6°16'25.8" S y longitud de 77°46'44.7" W, a una altitud de 2580 metros sobre el nivel del mar (msnm).

6.1. Población, muestra y muestreo

6.1.1. Población

La población de estudio está conformada por accesiones de oca (*Oxalis tuberosa* Mol.), provenientes de Cajamarca y Amazonas. En total, la población incluye 1280 plantas distribuidas entre las 10 accesiones de oca.

6.1.2. Muestra:

La muestra estará constituida por 10 plantas de cada accesión de oca. Cada accesión estará distribuida en 4 bloques, sumando un total de 40 unidades experimentales.

6.1.3. Muestreo

Se empleará un muestreo no probabilístico y el experimento se establecerá bajo un diseño de bloques completos al azar (DBCA). La distribución de cada tratamiento será aleatoria.

6.2. Variable del estudio

6.2.1. Variable independiente

- Accesiones de oca (*Oxalis tuberosa*)

6.2.2. Variable dependiente

a) Morfológicas y fenológicas

- Altura de planta

- Número de brotes por planta
- Color de los tallos aéreos
- Pigmentación de las axilas
- Color del follaje
- Hábito de floración
- Color de la flor
- Heterostilia de las flores
- Forma de la corola
- Color de los sépalos
- Color predominante de la superficie de los tubérculos
- Color secundario de la superficie de los tubérculos
- Distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos
- Color predominante de la pulpa de los tubérculos
- Color secundario de la pulpa de los tubérculos
- Distribución del color secundario de la pulpa de los tubérculos
- Forma del tubérculo
- Número de tubérculos por planta
- Peso total de tubérculos por planta
- Días al inicio de floración
- Días a la cosecha

b) Fisiológicos

- Contenido de clorofila a y b
- Contenido de carotenoides totales
- Fotosíntesis neta
- Fluorescencia de la clorofila a

c) Bioquímicos (en tubérculos)

- Contenido de almidón
- Contenido de azúcares totales
- Contenido de aminoácidos totales
- Contenido de proteína total
- Contenido de fenoles totales
- Perfil de aminoácidos

- Perfil de azúcares y ácidos orgánicos
- Perfil de compuestos fenolicos

d) Molecular

- Secuencia del genoma cloroplastidial

6.3. Métodos

6.3.1. Material vegetal

Los tubérculos serán obtenidos de las regiones de Cajamarca y Amazonas, según Muestra la siguiente tabla:

Tabla 1: Acciones y lugar de origen de oca (*Oxalis tuberosa* Mol.)

Accesión	Origen
OT-001	Cajamarca/Chota
OT-002	Cajamarca/Chota
OT-003	Cajamarca/Chota
OT-004	Cajamarca/Chota
OT-005	Cajamarca/Chota
OT-006	Amazonas/Molinopampa
OT-007	Cajamarca/Celendin
OT-008	Cajamarca/Celendin
OT-009	Cajamarca
OT-010	Cajamarca/

6.3.2. Diseño experimental

Para la presente investigación se utilizará un diseño de bloques completamente al azar (DBCA). Cada accesión constituirá un tratamiento y serán distribuidos en cuatro bloques, lo que resultará en un total de 40 unidades experimentales. Cada unidad experimental estará compuesta por 32 plantas útiles, dispuestas en surcos con una distancia de 0.70 m entre surcos y 0.50 m entre plantas, con área total de 631.9 m²

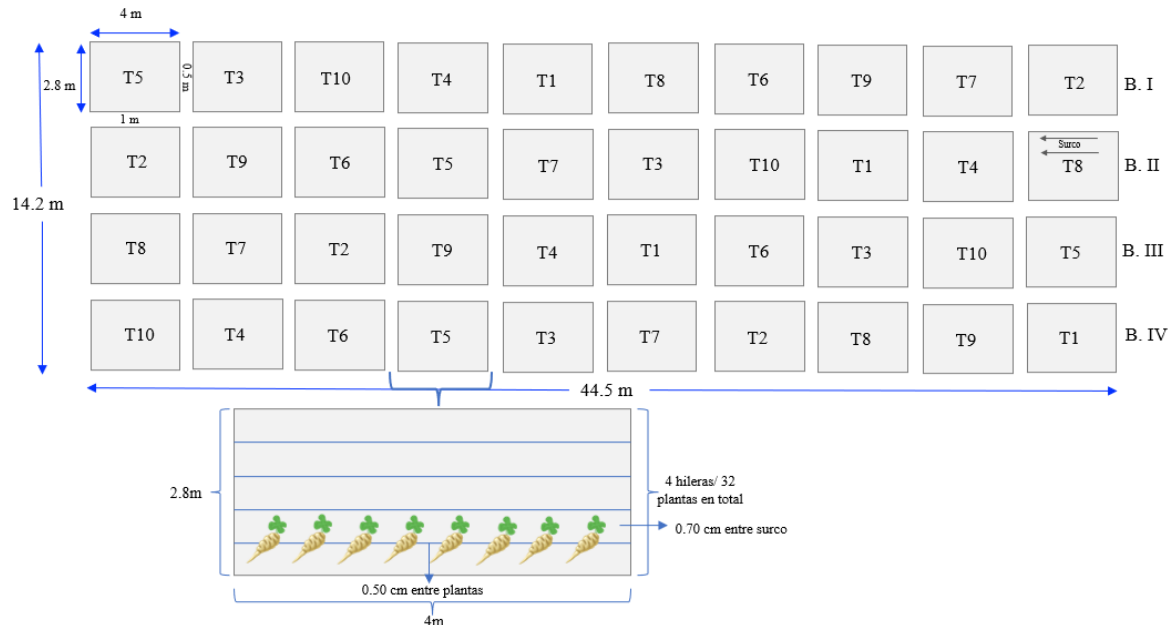


Figura 1: Croquis del campo experimental. Distribución de los tratamientos bajo un diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Tabla 1. Características del área donde se realizará la investigación

Área experimental	
Largo del área experimental	44.5 m
Ancho del área experimental	14.2 m
Área total del área experimental	631.9 m ²
Unidad experimental (UE)	
Número de UE	40
Largo de la UE	4 m
Ancho de la UE	2.8 m
Área neta de la UE	11.2 m
Bloques	
Número	4
Largo	44.5 m
Ancho	2.8 m
Distancia entre bloques	1 m
Surcos	
Número de surcos por UE	4
Largo	4 m

Distanciamiento entre surcos	0.70 m
Calles	
Ancho de las calles	1 m

Modelo aditivo lineal

El modelo aditivo lineal para un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con 10 tratamientos (accesiones) y 4 bloques se expresa de la siguiente manera:

Modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Valor observado de la variable respuesta en el tratamiento i y bloque j

μ : Media general

τ_i : Efecto del tratamiento (accesión) i , para $i = 1, 2, \dots, 10$

β_j : Efecto del bloque j , para $j = 1, 2, 3, 4$

ε_{ij} : Error aleatorio asociado a la observación ij .

i : Identifica el tratamiento o accesión (en este caso son 10 accesiones, por lo tanto, $i = 1, 2, \dots, 10$)

j : Identifica el bloque o repetición (en este caso son 4 bloques, por lo tanto, $j = 1, 2, 3, 4$).

6.3.3. Establecimiento del cultivo

Análisis de suelo

Para el análisis del suelo, se realizará un muestreo a 30 cm de profundidad, recolectando submuestras en distintos puntos del terreno en forma de zigzag. Estas submuestras se mezclarán adecuadamente para formar una muestra compuesta de aproximadamente 1 kg., la cual será enviada al laboratorio de suelos LABISAG de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, donde se llevará a cabo el análisis correspondiente.

Preparación del terreno

La preparación del campo se iniciará con una limpieza general del terreno, para la eliminación de malezas, para esta labor se utilizará una chaledora. Seguidamente, se realizará el arado del terreno empleando un motocultor, con el propósito de voltear y airear la capa arable del suelo. Luego, se llevará a cabo el mullido de los terrones utilizando herramientas manuales como lampa y pico. Finalmente, se distribuirá los bloques y las camas de las unidades experimentales.

Siembra

Para la siembra se utilizará como material de propagación tubérculos-semilla, con previo brotamiento. Estos tubérculos serán colocados directamente en el fondo del surco por golpe de siembra. El distanciamiento utilizado será de 0.70 m. entre surcos y 0.50 m. entre plantas.

Fertilización

La productividad del cultivo está estrechamente relacionada con su potencial genético y con las condiciones del entorno en el que se desarrolla. Dentro de los factores ambientales, la disponibilidad y balance de nutrientes en el suelo constituye un aspecto fundamental. Estudios realizados en el país han demostrado que el cultivo de oca responde positivamente a niveles medios de nitrógeno y presenta una alta demanda de fósforo y potasio. En condiciones similares a las de la región Cusco, se ha recomendado una fertilización referencial de 60-120-120 kg/ha de N-P-K (Valdivia et al., 2016). No obstante, las dosis específicas a aplicar serán determinadas en función de los resultados obtenidos del análisis de suelo.

Deshierbe y aporque

Dentro del manejo agronómico del cultivo de oca, destacan como prácticas culturales fundamentales el control de malezas y el aporque. Es esencial mantener el campo libre de competencia por malezas durante todo el ciclo del cultivo, por lo que se realizarán deshierbas periódicas utilizando herramientas manuales como la lampa y el pico. Asimismo, se efectuarán entre dos y tres aporques, según la necesidad observada en el desarrollo del cultivo (Suquilanda, 2012).

Riego por secano

En cuanto al manejo del riego, no se implementará ningún sistema de riego tecnificado, ya que el cultivo se establecerá aprovechando el régimen de lluvias de la zona. La siembra se programará para los meses de septiembre y octubre, coincidiendo con el inicio de la temporada de precipitaciones, lo que permitirá cubrir adecuadamente los requerimientos hídricos del cultivo de oca durante sus primeras etapas de desarrollo y garantizar un buen establecimiento del mismo sin la necesidad de riego suplementario.

Control fitosanitario

Se llevará a cabo el monitoreo fitosanitario de manera continua durante el desarrollo del cultivo, a fin de detectar oportunamente la presencia de plagas o enfermedades que puedan afectar el rendimiento. La evaluación fitosanitaria se realizará mediante inspecciones visuales del follaje y del suelo, lo que permitirá identificar síntomas y signos de enfermedades, además del ataque por gorgojos, áfidos, larvas de gusanos cortadores u otros insectos dañinos.

Cosecha

La cosecha se llevará a cabo al finalizar la fase de maduración del cultivo, momento en el cual las hojas comenzarán a tornarse amarillas y los tubérculos alcanzarán su color característico más intenso. Para evitar la proliferación del gorgojo de la oca, no se esperará a que los tallos se sequen completamente, ya que, al hacerlo, el estolón se seca también, generando un orificio que facilita el ingreso del insecto al tubérculo. La cosecha consistirá en escarbar cuidadosamente el suelo con herramientas manuales, procurando no dañar los tubérculos. Esta labor se realizará preferentemente en días sin presencia de lluvias; sin embargo, en caso de precipitaciones inevitables, los tubérculos cosechados serán aireados adecuadamente para prevenir problemas de pudrición.

6.3.4. Evaluación de las variables

6.3.4.1. Evaluación de las variables morfológicas y fenológicas

Altura de planta

La altura de planta se registrará de 10 plantas en plena floración desde la base del tallo hasta las yemas apicales, clasificándola como pequeña (<40 cm), intermedia (40 – 60 cm) y alta (>60 cm) (IPGRI/CIP, 1997a).

Número de brotes por planta

El número de brotes será evaluado en 10 plantas en plena floración.

Color de los tallos aéreos

El color de los tallos aéreos será registrado en 10 plantas y clasificado de acuerdo a lo propuesto en el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997a).

- 1 Verde amarillento
- 2 Verde grisáceo predominante con rojo grisáceo
- 3 Rojo grisáceo
- 4 Púrpura rojizo
- 5 Púrpura grisáceo

Pigmentación de las axilas

Se registrará en 10 plantas, clasificado de acuerdo al descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

- 0 Ausente
- 1 Presente

Color del follaje

Se realizará la toma de datos en 10 plantas, conforme al descriptor indicado (IPGRI/CIP, 1997b).

- 1 Verde amarillento
- 2 Verde amarillento oscuro
- 3 Verde amarillento oscuro con púrpura grisáceo
- 4 Púrpura grisáceo con verde amarillento oscuro

Hábito de floración

Se llevará a cabo el registro en 10 plantas, según lo establecido (IPGRI/CIP, 1997b).

- 0 Ninguna

3 Escasa

5 Moderada

7 Abundante

Color de la flor

El registro se hará en 10 plantas, empleando el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Amarillo

2 Naranja amarillento

Heterostilia de las flores

Se tomará el registro en 10 plantas y se categorizará conforme a lo establecido en el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Brevistilia

2 Mesostilia

3 Longistilia

4 Semi homostilia

5 fuertemente longistilia

Forma de la corola

Se registrará en 10 plantas, clasificado de acuerdo al descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Rotada ($\geq 75\%$ de pétalos superpuestos)

2 Semistrellada ($> 50\%$ de pétalos superpuestos)

3 Pentagonal (25 a 30% de pétalos superpuestos)

Color de los sépalos

Se realizará en 10 plantas, siguiendo los criterios del descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Verde

2 Verde predominante con púrpura grisáceo

3 Púrpura grisáceo

Color predominante de la superficie de los tubérculos

Se documentará en 10 plantas y se clasificará de acuerdo con el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Blanco

2 Blanco amarillento

3 Amarillo

4 Naranja amarillento

5 Rojo naranja

6 Rojo naranja oscuro

7 Rojo claro (rosado)

8 Rojo pálido

9 Rojo

10 Púrpura rojizo

11 Púrpura grisáceo claro

12 Púrpura grisáceo oscuro

Color secundario de la superficie de los tubérculos

Se registrará en 10 plantas conforme al descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

0 Ausente

1 Blanco

2 Blanco amarillento

3 Amarillo

4 Naranja amarillento

5 Rojo naranja

6 Rojo claro (rosado)

7 Rojo pálido

8 Rojo

9 Rojo grisáceo

10 púrpura rojizo

Distribución del color secundario de la superficie de los tubérculos

Se registrará en 10 plantas, clasificado de acuerdo al descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

0 Ausente

1 Ojos

2 Alrededor de ojos

3 Sobre tuberizaciones

4 Ojos e irregularmente distribuidos

5 Irregularmente distribuido

6 Veteaduras sobre tuberizaciones principalmente

Color predominante de la pulpa de los tubérculos

La evaluación se realizará en 10 plantas, siguiendo los criterios del descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Blanco

2 Blanco amarillento

3 Amarillo

4 Naranja amarillento

5 Rojo naranja

6 Rojo

7 Rojo grisáceo

8 Púrpura rojizo

9 Púrpura grisáceo

Color secundario de la pulpa de los tubérculos

Se documentará en 10 plantas y se clasificará de acuerdo con el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

0 Ausente

1 Blanco

3 Blanco amarillento

3 Amarillo

4 Naranja amarillento

5 Rojo naranja

6 Rojo claro (rosado)

7 Rojo pálido

8 Rojo

9 Rojo grisáceo

10 Púrpura rojizo

11 Púrpura grisáceo

Distribución del color secundario de la pulpa de los tubérculos

El registro será en 10 plantas y se categorizará conforme a lo establecido en el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b)

0 Ausente

1 Corteza

2 Anillo vascular

3 Médula

4 Anillo vascular y corteza

5 Médula y corteza

Forma del tubérculo

Se registrará en 10 plantas, clasificándola según el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Ovoide

2 Claviforme

3 Alargado

4 Cilíndrico

Número de tubérculos por planta

El número de tubérculos por planta se cuantificará mediante el conteo total de tubérculos obtenidos por planta, sin considerar su tamaño o estado. Esta evaluación se efectuará en una muestra aleatoria de 10 plantas por unidad experimental.

Peso total de tubérculos por planta

Se registrará en 10 plantas, clasificándola de acuerdo a los descriptores de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

1 Bajo (<1 kg)

2 Intermedio (1 – 2 kg)

3 Alto (>2 kg).

Días al inicio de floración

Se registrará de 10 plantas desde el día de la siembra hasta cuando haya florecido por lo menos el 50% de las plantas de cada accesión, clasificándola según el descriptor de oca (IPGRI/CIP, 1997b).

0 Ninguna floración

1 Temprana (<130 días)

2 Intermedia (130 – 150 días)

3 Tardía (>150 días)

Días a la cosecha

Se registrará el número de días transcurridos desde la siembra hasta el momento de la cosecha. La cosecha se realizará cuando las plantas presenten señales de madurez fisiológica, como el amarillamiento y marchitamiento natural del follaje, así como la formación completa de los tubérculos. Estas características indican que los tubérculos han alcanzado su máximo desarrollo y están listos para ser extraídos del suelo.

6.3.4.2. Evaluación de las variables fisiológicas

Contenido de clorofila a y b

Para la evaluación del contenido de clorofilas, primero se realizará una extracción etanólica (López-Hidalgo et al., 2021), el cual consiste en añadir 1 mL de etanol frío al 80 % (4 °C) a 5–10 mg de tejido seco (liofilizado y homogeneizado) o 50–70 mg de tejido fresco congelado pulverizado en nitrógeno líquido. A continuación, se centrifugará a 10 000 g durante 10 minutos a 4 °C. Finalmente, será diluido 300 µL del sobrenadante (1:1) en etanol frío al 80 % para las determinaciones de pigmentos fotosintéticos utilizando un espectrofotómetro.

El contenido de clorofila a y clorofila b se cuantificará de acuerdo con (Lichtenthaler, 1987), para lo cual se transferirá 150 µL de la muestra o blanco (etanol al 80 %) a una microplaca transparente de 96 pocillos. Luego se medirá las absorbancias utilizando un espectrofotómetro (lector de microplacas) a longitudes de onda de 470, 649 y 664 nm. Los resultados serán expresados en µg/mL, utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Clorofila a (Chl a) } (\mu\text{g/mL}) = 13.36 A_{664} - 5.19 A_{649}$$

$$\text{Clorofila b (Chl b) } (\mu\text{g/mL}) = 27.43 A_{649} - 8.12 A_{664}$$

Contenido de carotenoides totales

Para evaluar el contenido de carotenoides totales se utilizará la siguiente fórmula (Lichtenthaler, 1987):

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{g/mL}) = (1000 A_{470} - 2.13 \text{ Chl a} - 97.63 \text{ Chl b})/209$$

Fotosíntesis neta

La fotosíntesis neta será determinado simultáneamente con las mediciones de fluorescencia de clorofila a como lo describió previamente (Medeiros et al., 2017). El análisis se realizará utilizando un sistema portátil de fotosíntesis (LI-6800; LI-COR Inc., Lincoln, NE, EE. UU.) equipado con una cámara de fluorescencia integrada (6800-01A; LI-COR Inc.). El análisis de intercambio de gases instantáneo se medirá después de 1 h de iluminación durante el período de luz bajo $1000 \mu\text{mol}$ de fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La concentración de CO_2 de referencia se establecerá en $400 \mu\text{mol}$ de $\text{CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ de aire. Adicional a la evaluación de la fotosíntesis neta (A_N), también se evaluará la conductancia estomática (g_s), la tasa de transpiración (E), la concentración interna de CO_2 (C_i) y se calculará la eficiencia del uso de agua ($\text{WUE} = A_N/g_s$).

Fluorescencia de la clorofila a

La emisión de fluorescencia inicial (F_0) se medirá iluminando hojas adaptadas a la oscuridad con un haz de medición modulado débil ($0.03 \mu\text{mol}$ de fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Se aplicará un pulso de luz blanca saturada ($8000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) durante 0.8 s para obtener la fluorescencia máxima (F_m). Se estimarán otros parámetros asociados a la fluorescencia de Chl como se describió previamente (Genty et al., 1989; Logan et al., 2007), como las relaciones F_v/F_m y F_v'/F_m' , la disipación no fotoquímica (NPQ), la disipación fotoquímica (qP), la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (ϕPSII) y la tasa de transferencia de electrones (ETR).

6.3.4.3. Evaluación de las variables nutricionales

Contenido de azúcares totales y almidón

Los azúcares totales y almidón se determinarán utilizando el método de la antrona como lo describe Chow & Landhausser, (2004).

Contenido de aminoácidos totales

La determinación de aminoácidos totales se realizará utilizando el método de la ninhidrina como lo describe Yemm et al., (1955)

Contenido de proteína total

El contenido de proteínas totales se determinará utilizando el procedimiento establecido por (Bradford, 1976).

Contenido de fenoles totales

Los fenoles totales se determinarán utilizando el reactivo Folin–Ciocalteu como lo describen Ainsworth & Gillespie, (2007).

Perfil de aminoácidos

La cuantificación de aminoácidos se realizará de acuerdo a lo reportado previamente por Balcázar-Zumaeta et al., (2024), mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC); para ello, muestras de 1 g con ácido tricloroacético al 15% se centrifugarán a 11 800 rpm durante 10 min a 4 °C; luego, 1.5 µL de esta solución se filtrarán con un filtro de Nylon de 0.22 µm (Merck, Millex, Alemania).

La separación y cuantificación se realizará mediante UHPLC (Agilent Technologies, Infinity II, Waldbronn, Alemania), acoplado a un muestreador múltiple (G7167B), una bomba flexible (G7104A), un horno de columna (G7116B) y un detector de matriz de diodos (G7117B). La separación se realizará con una columna Zorbax Eclipse-AAA de 4.6 × 150 mm, 3.5.

Para la derivatización de aminoácidos se utilizará orto-ftalaldehído (OPA) y 9-fluorenil metil cloroformiato (FMOC), mientras que como solución tampón se utilizará 0,4 mol L⁻¹ de tampón borato (Agilent PN 5061–3339) (pH 10.2). Se utilizarán las siguientes fases: (A) NaH₂PO₄ y agua ultrapura (5.5 g/l L, pH 7.8); (B) solución de acetonitrilo (ACN)-metanol (MeOH)-agua (45:45:10), ambas soluciones filtradas en membranas LCR Millex 0.22. Se utilizará una mezcla de estándares de aminoácidos y se disolverá en 25 mL con HCl (0.1 N) para su identificación. El caudal será de 2 mL/min durante 16 min cada inyección y la temperatura de la columna de 40 °C. La cuantificación de aminoácidos se realizará comparando las áreas de los picos de la muestra con cada pico estándar utilizando el software de control ChemStation (OpenLAB). Los resultados se expresarán como mg de aminoácido/100 g de muestra.

Perfil de azúcares

La cuantificación de azúcares se realizará de acuerdo a lo reportado por (Alghamdi et al., 2020), el cual consiste en tomar 1 g de muestra y se disolverlo con 10 mL de agua, se llevará al ultrasonido a 60 °C por media hora y luego se centrifugará a 4 °C, 3 000 rpm por 15 minutos, posteriormente se filtrará con la ayuda del filtro Milpore de 0.45 µm y se llevará al HPLC para su lectura. Se empleará la columna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 con fase móvil de acetonitrilo al 20%, con un flujo de inyección de 1.5 mL/min. La temperatura de la columna se mantendrá a 27 °C. Se realizará una calibración externa con estándares de sacarosa, fructosa y glucosa para lo cual se pesará 200 mg de cada estándar y se preparará una solución madre con 10 mL de agua, a partir de la cual se hará la curva de calibración a diferentes concentraciones.

Perfil de ácidos orgánicos

La cuantificación de ácidos orgánicos se determinará de acuerdo a lo reportado por (Can et al., 2024) mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC). Se prepararán extractos, para ello se tomará 5 g de material en polvo se extraerán con 50 mL de metanol por 24 h a temperatura ambiente con la ayuda de un agitador.

Los extractos de cada muestra se separarán utilizando papel Whatman (No. 1), y el extracto resultante se secará utilizando rotavapor a 120 rpm (40 °C). Una porción de estas muestras se disolverá en metanol de grado HPLC, se filtrará a través de una micromembrana de PTFE (0.45 µm). Posteriormente se realizará una cromatografía en una columna analítica de fase reversa C18. La fase móvil A (agua y ácido fórmico al 0.1 %) y la fase móvil B (acetonitrilo y ácido fórmico al 0.1 %) serán parte del gradiente de elución. La temperatura de la columna se mantendrá constante a 30 °C. Después de 0 – 4 – 7 – 14 -1 5 – 15.1 –20 min, se aplicará el gradiente a la fase móvil B en concentraciones que oscilaban entre 5 y 5 -20 – 90 – 90 – 5 – 5, y el caudal fue de 0.4 mL/min. Se empleará una mezcla de ácidos orgánicos, y para la cuantificación de ácidos se realizará comparando las áreas de los picos de la muestra con cada pico estándar utilizando el software de control ChemStation (OpenLAB).

Perfil de compuestos fenólicos

La cuantificación de fenoles se realizará de acuerdo a lo reportado por (Zhang et al., 2024), mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC), el cual consiste en pesar aproximadamente 50 mg de muestra, que se disolverán en 1.2 mL de un extracto de metanol al 70 % y se agitarán cada 30 min un total de 6 veces. Después se centrifugará a 12 000 rpm durante 3 min, se aspirará el sobrenadante, se filtra a través de una membrana microporosa de 0.22 μ m y luego se coloca en un vial de inyección para el análisis.

La columna será una columna Agilent SB-C18. La fase móvil A tendrá agua ultrapura que contenía ácido fórmico al 0.1 %, mientras que la fase móvil B será acetonitrilo con ácido fórmico al 0.1 %. El gradiente de elución será el siguiente: 0–9 min, 5–95 % B; 10–11 min, 95–5 % B; 12–14 min, 5 % B. El volumen de inyección de la muestra será de 4 μ L. La temperatura de la columna se mantendrá a 40 °C y un caudal fue de 0.35 mL/min. Se empleará un kit de fenoles (Merck), para la identificación y cuantificación de los principales fenoles en la muestra que se realizará comparando las áreas de los picos de la muestra con cada pico estándar utilizando el software de control ChemStation (OpenLAB).

6.3.4.4. Evaluación de la variable molecular

Extracción de ADN

El ADN total se aislará mediante el procedimiento CTAB. La pureza de las muestras de ADN se evaluará espectrofotométricamente con un nanodrop. La cantidad de ADN se estimará con el fluorómetro Qubit y el kit de ensayo QubitTM dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, NM, EE. UU.). La calidad del ADN se verificará mediante electroforesis. Dado que el ADN genómico total contiene solo un 5 % de ADN plasmídico, para enriquecer esta fracción se utilizará un kit de enriquecimiento de ADN microbiano (NEB), lo cual es crucial para obtener una cobertura profunda y ensamblajes de alta calidad de genomas de organelos.

Preparación de librería y secuenciación

La biblioteca de lecturas largas se construirán utilizando el kit de ligadura y secuenciación SQK-LSK114 (Oxford Nanopore Technologies, en adelante

ONT) y NEBNext®; módulo complementario para Oxford Nanopore Technologies®; secuenciación de ligadura (NEB). Las bibliotecas de las 10 accesiones de oca se secuenciarán utilizando el secuenciador PromethION P2 Solo y la celda de flujo R10.4.1. Para obtener secuencias de la mejor calidad, las lecturas brutas generadas se procesaron con duplex_tools 0.2.20 (ONT) para generar pares de lecturas dúplex, lo que permitirá obtener secuencias de calidad superior a Q30. El llamado de bases se realizará con el software Dorado 0.1.1 (ONT) con un modelo de súper precisión (SUP) y modo estéreo-dúplex.

Ensamblaje y anotación del genoma cloroplastidial

Las lecturas de la llamadas a bases se ensamblarán en contigs utilizando Flye 2.91 (Kolmogorov et al., 2019) con el indicador - meta y una superposición mínima establecida en 2000 pb. Los contigs ensamblados se mapearán a genomas de referencia existentes utilizando minimap2 (Li, 2018). Los borradores de genomas se circularizarán y reasignarán utilizando minimap2 para corregir posibles errores y calcular la cobertura media. Los genomas corregidos se anotarán utilizando datos de plastomas previamente secuenciados utilizando Geneious Prime 2023.

Variantes estructurales y detección de SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

El análisis de la presencia de variantes estructurales en los plastomas las ocas analizadas se realizará mediante el pipeline Cp-Hap (Wang & Lanfear, 2019). Para cada uno de los plastomas ensamblados, se preparará un archivo fasta que incluya las regiones LSC, SSC e IR. Los archivos de mapeo BAM de la etapa de ensamblaje se utilizarán para identificar SNP mediante CLAIR3 v.1.0.0 (Zheng et al., 2022) y el modelo r1041_e82_400bps_sup_v400 con los siguientes parámetros: -t = 120, -p - min_coverage = 50, -enable_long_indel. Dado que las tecnologías de lectura larga son propensas a errores de delección, especialmente en regiones homopoliméricas, las variantes anotadas de este tipo se eliminarán de los análisis posteriores. La distribución de SNP heteroplásmicos se visualizará mediante Circos (Krzywinski et al., 2009).

6.3.5. Cronograma

Tabla 2: *Periodo del tiempo en el que se realizará la investigación*

ETAPAS	DURACIÓN	Periodo	
		Inicio	Fin
Revisión y aprobación del proyecto.	21 días	19/05/2025	09/06/2025
Establecimiento de la parcela, recolección de datos y evaluación de las variables.	10 meses	14/06/2025	14/04/2026
Análisis de datos.	1 mes	15/04/2026	15/05/2026
Elaboración de informe,	1 mes	16/05/2025	16/06/2025
Revisión y corrección de informe.	1 mes	17/06/2025	17/07/2025
Presentación y sustentación.		-----	

Nota: Fechas de cada etapa de duración del proyecto, desde el inicio hasta la finalización del proyecto de investigación.

6.4. Análisis de datos

Los datos recolectados correspondientes a las variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas serán sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), se aplicará la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad. Todos los análisis estadísticos serán realizados utilizando el software estadístico R.

Para explorar los patrones de variación fenotípica entre las accesiones, se realizará un análisis multivariado, incluyendo el análisis de componentes principales (PCA). Para identificar los principales ejes de variación y clasificar las accesiones en grupos según su similitud fenotípica se realizará el análisis de agrupamiento.

7. Referencias bibliográficas.

- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Alghamdi, B. A., Alshumrani, E. S., Saeed, M. S. B., Rawas, G. M., Alharthi, N. T., Baeshen, M. N., Helmi, N. M., Alam, M. Z., & Suhail, M. (2020). Analysis of sugar composition and pesticides using HPLC and GC–MS techniques in honey samples collected from Saudi Arabian markets. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3720–3726. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.018>
- Balcázar-Zumaeta, C. R., Fernández-Romero, E., Lopes, A. S., Ferreira, N. R., Chagas-Júnior, G. C. A., Yoplac, I., López-Trigoso, H. A., Tuesta-Occ, M. L., Maldonado-Ramirez, I., Maicelo-Quintana, J. L., Cayo-Colca, I. S., & Castro-Alayo, E. M. (2024). Amino acid profile behavior during the fermentation of Criollo cocoa beans. *Food Chemistry: X*, 22, 101486. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101486>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Can, H., Güven, L., Demirkaya Miloğlu, F., & Abd El-Aty, A. M. (2024). Development and validation of a UHPLC-ESI-MS/MS method for the simultaneous determination of organic acids and phenolic compounds in *Filipendula vulgaris*, *Polygonum divaricatum*, *Hypericum linarioides*, and *Rheum ribes*. *Microchemical Journal*, 201, 110683. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110683>
- Chirinos, R., Betalleluz-Pallardel, I., Huamán, A., Arbizu, C., Pedreschi, R., & Campos, D. (2009). HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean

- oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 113(4), 1243–1251.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.015>
- Chow, P. S., & Landhausser, S. M. (2004). A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. *Tree Physiology*, 24(10), 1129–1136. <https://doi.org/10.1093/treephys/24.10.1129>
- De Azkue, D., & Martínez, A. (1990). Chromosome number of the *Oxalis tuberosa* alliance (Oxalidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 169(1–2), 25–29.
<https://doi.org/10.1007/BF00935981>
- Emshwiller, E. (2002a). Biogeography of the *Oxalis tuberosa* Alliance. *The Botanical Review*, 68(1), 128–152. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2002\)068\[0128:BOTOTA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2002)068[0128:BOTOTA]2.0.CO;2)
- Emshwiller, E. (2002b). Ploidy Levels among Species in the “Oxalistuberosa Alliance” as Inferred by Flow Cytometry. *Annals of Botany*, 89(6), 741–753.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcf135>
- Emshwiller, E., Theim, T., Grau, A., Nina, V., & Terrazas, F. (2009). Origins of domestication and polyploidy in oca (*Oxalis tuberosa* ; Oxalidaceae). 3. AFLP data of oca and four wild, tuber-bearing taxa. *American Journal of Botany*, 96(10), 1839–1848. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800359>
- Genty, B., Briantais, J.-M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 990(1), 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- Gibbs, P. E. (1976). Studies on the Breeding System of *Oxalis tuberosa* Mol. *Flora*, 165(2), 129–138. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)31842-X](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)31842-X)

- IPGRI/CIP. (1997a). *Descriptores de OCA oxalis luberosa mol.* IPGRI.
- IPGRI/CIP. (1997b). *Descriptores de OCA oxalis luberosa mol.* IPGRI.
- Jimenez, M. E., Rossi, A., & Sammán, N. (2015). Health properties of oca (*Oxalis tuberosa*) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Food & Function*, 6(10), 3266–3274. <https://doi.org/10.1039/C5FO00174A>
- Kolmogorov, M., Yuan, J., Lin, Y., & Pevzner, P. A. (2019). Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology*, 37(5), 540–546. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8>
- Krzywinski, M., Schein, J., Birol, Í., Connors, J., Gascoyne, R., Horsman, D., Jones, S. J., & Marra, M. A. (2009). Circos: An information aesthetic for comparative genomics. *Genome Research*, 19(9), 1639–1645. <https://doi.org/10.1101/gr.092759.109>
- Li, H. (2018). Minimap2: Pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 34(18), 3094–3100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. En *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350–382). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Logan, B. A., Adams, W. W., & Demmig-Adams, B. (2007). Viewpoint: Avoiding common pitfalls of chlorophyll fluorescence analysis under field conditions. *Functional Plant Biology*, 34(9), 853. <https://doi.org/10.1071/FP07113>
- López-Hidalgo, C., Meijón, M., Lamelas, L., & Valledor, L. (2021). The rainbow protocol: A sequential method for quantifying pigments, sugars, free amino acids, phenolics, flavonoids and MDA from a small amount of sample. *Plant, Cell & Environment*, 44(6), 1977–1986. <https://doi.org/10.1111/pce.14007>

- Medeiros, D. B., Barros, K. A., Barros, J. A. S., Omena-Garcia, R. P., Arrivault, S., Sanglard, L. M. V. P., Detmann, K. C., Silva, W. B., Daloso, D. M., DaMatta, F. M., Nunes-Nesi, A., Fernie, A. R., & Araújo, W. L. (2017). Impaired Malate and Fumarate Accumulation Due to the Mutation of the Tonoplast Dicarboxylate Transporter Has Little Effects on Stomatal Behavior. *Plant Physiology*, 175(3), 1068–1081. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00971>
- Ross, A. B., Savage, G. P., Martin, R. J., & Vanhanen, L. (1999). Oxalates in Oca (New Zealand Yam) (*Oxalis tuberosa* Mol.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5019–5022. <https://doi.org/10.1021/jf990332r>
- Sangketkit, C., Savage, G. P., Martin, R. J., Searle, B. P., & Mason, S. L. (2000). Sensory evaluation of new lines of oca (*Oxalis tuberosa*) grown in New Zealand. *Food Quality and Preference*, 11(3), 189–199. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(99\)00050-6](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(99)00050-6)
- Siqueira, M. V. B. M., Do Nascimento, W. F., Pereira, D. A., Cruz, J. G., Vendrame, L. P. D. C., & Veasey, E. A. (2023). Origin, domestication, and evolution of underground starchy crops of South America. En *Starchy Crops Morphology, Extraction, Properties and Applications* (pp. 17–42). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90058-4.00011-6>
- Steffanny Sanchez-Portillo, Salazar Sánchez, M. D. R., Solanilla-Duque, J. F., & Rodríguez Herrera, R. (2023). Andean Tubers, Morphological Diversity, and Agronomic Management: A Review. *Plant Science Today*. <https://doi.org/10.14719/pst.2504>
- Suquilanda, F. (2012). *PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE CULTIVOS ANDINOS*.
- Torres, C. A. G. (2024). *VICEMINISTERIO DE POLÍTICAS Y SUPERVISIÓN DEL DESARROLLO AGRARIO Victor Hugo Parra Puente*.

- Tovar, H., & Ninoska, I. (2019). *Análisis del sector productivo en el cultivo de oca (Oxalis tuberosa Mol) y el manejo comercial para el incremento de oferta en el mercado local bajo las condiciones de marketing – mix en el Distrito de Comas-Concepción.*
- Valcárcel-Yamani, B., Rondán-Sanabria, G. G., & Finardi-Filho, F. (2013). The physical, chemical and functional characterization of starches from Andean tubers: Oca (*Oxalis tuberosa* Molina), olluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) and mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(3), 453–464. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000300007>
- Valdivia, G., Devaux, A., Gonzáles, S., Herbas, J., & Hijmans, R. J. (2016). Desarrollo y Producción de Oca (*Oxalis tuberosa*) e Isaño (*Tropaeolum tuberosum*) Bajo Dos Niveles de Fertilización. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 11(1), 121–135. <https://doi.org/10.37066/ralap.v11i1.99>
- Wang, W., & Lanfear, R. (2019). Long-reads reveal that the chloroplast genome exists in two distinct versions in most plants. *Genome Biology and Evolution*, evz256. <https://doi.org/10.1093/gbe/evz256>
- Yemm, E. W., Cocking, E. C., & Ricketts, R. E. (1955). The determination of amino-acids with ninhydrin. *The Analyst*, 80(948), 209. <https://doi.org/10.1039/an9558000209>
- Zhang, L., Dang, B., Lan, Y., Zheng, W., Kuang, J., Zhang, J., & Zhang, W. (2024). Metabolomics Characterization of Phenolic Compounds in Colored Quinoa and Their Relationship with In Vitro Antioxidant and Hypoglycemic Activities. *Molecules*, 29(7), 1509. <https://doi.org/10.3390/molecules29071509>

Zheng, Z., Li, S., Su, J., Leung, A. W.-S., Lam, T.-W., & Luo, R. (2022).

Symphonizing pileup and full-alignment for deep learning-based long-read variant calling. *Nature Computational Science*, 2(12), 797–803.

<https://doi.org/10.1038/s43588-022-00387-x>