



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO  
AMBIENTE**



**TESIS**

**CONSTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE REDES BIOLÓGICAS DE GENES  
REGULADOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS POR FRÍO EN DOS GENOTIPOS  
CONTRASTANTES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)**

**PRESENTADA POR:**

**JOSE DAVID APAZA CALCINA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**

**PUNO, PERÚ**

**2024**

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**CONSTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE REDES BIOLÓGICAS DE GENES REGULADOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS POR FRÍO EN D OS GENOTIPOS CONTRASTANTES DE Q UINUA (Chenopodium quinoa)**

AUTOR

**JOSE DAVID APAZA CALCINA**

RECuento DE PALABRAS

**31634 Words**

RECuento DE CARACTERES

**183166 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**123 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**8.2MB**

FECHA DE ENTREGA

**Oct 15, 2024 4:30 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Oct 15, 2024 4:32 PM GMT-5**

● **12% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 10% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 7% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)



Gilmar Gamaliel Goyzuela Camacho  
COLBIOP N° 1142  
Dr. Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente



Resumen



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO**  
**AMBIENTE**

**TESIS**

**CONSTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE REDES BIOLÓGICAS DE GENES  
REGULADOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS POR FRÍO EN DOS GENOTIPOS  
CONTRASTANTES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)**



**PRESENTADA POR:**

**JOSE DAVID APAZA CALCINA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**

APROBADA POR EL JURADO SIGUIENTE:

PRESIDENTE

  
.....  
D.Sc. FELIX OLAGUIVEL LOZA

PRIMER MIEMBRO

  
.....  
D.Sc. ANTONIO WALTER SARMIENTO SARMIENTO

SEGUNDO MIEMBRO

  
.....  
D.Sc. LIDIA ENSUEÑO ROMERO IRURI

ASESOR DE TESIS

  
.....  
Dr. GILMAR GAMALIEL GOYZUETA CAMACHO

Puno, 03 de octubre de 2024.

**ÁREA:** Ciencias de la ingeniería.

**TEMA:** Construcción y análisis de redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua (*Chenopodium quinoa*).

**LÍNEA:** Recursos naturales y medio ambiente.



## DEDICATORIA

*A mis queridos padres, Hermelinda y Esteban, cuya presencia constante y orientación sabia, me han acompañado siempre, brindándome su apoyo incondicional y enseñándome a crecer como persona. A Rosan, mi compañera de vida, expreso mi más sincero agradecimiento por su amor, confianza y respaldo inquebrantable, que han sido fundamentales en mi desarrollo profesional. A mis hijos, Joseph y Arlet, les dedico mi más profunda gratitud, ya que son la fuente de mi inspiración y el motor que me impulsa a avanzar cada día.*

*Jose David Apaza Calcina.*



## AGRADECIMIENTOS

*Mi gratitud infinita a Dios, por las bendiciones diarias y por ser siempre mi guía en cada paso de mi vida.*

*A la Universidad Nacional del Altiplano, agradezco profundamente por brindarme la oportunidad de realizar el Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.*

*A los docentes del doctorado, por compartir su conocimiento y orientarme a lo largo de mi formación académica.*

*A mi asesor, Dr. Gilmar Gamaliel Goyzueta Camacho, mi sincero reconocimiento por su invaluable guía durante la realización de este trabajo de investigación.*

*A los miembros del jurado, cuyas observaciones y sugerencias fueron clave para la culminación exitosa de esta tesis.*

***Jose David Apaza Calcina.***



## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
ACRÓNIMOS	ix
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3

### CAPÍTULO I

#### REVISIÓN DE LITERATURA

1.1	Marco teórico	6
1.1.1	El cultivo de la quinua	6
1.1.2	Genética de la quinua	7
1.1.3	Estrés por frío en plantas	8
1.1.4	Expresión génica y redes biológicas	9
1.1.5	Herramientas bioinformáticas en biología molecular	9
1.1.6	Anotación funcional	11
1.1.7	Enriquecimiento en las vías metabólicas	11
1.1.8	Análisis de co-expresión	11
1.1.9	Predicción de interacciones proteína-proteína	12
1.1.10	Identificación de nodos centrales	13
1.1.11	Modularidad de las redes	14
1.1.12	Validación experimental	14
1.1.13	Revisión de literatura científica	14
1.1.14	Diferencias genéticas y adaptaciones al estrés	15
1.2	Antecedentes	16
1.2.1	Internacionales	16
1.2.2	Nacionales	23
1.2.3	Locales	26

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1	Identificación del problema	28
2.2	Enunciados del problema	29
2.2.1	Problema general	29
2.2.2	Problemas específicos	29
2.3	Justificación	30
2.4	Objetivos	32
2.4.1	Objetivo general	32
2.4.2	Objetivos específicos	32
2.5	Hipótesis	32
2.5.1	Hipótesis general	32
2.5.2	Hipótesis específicas	32

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Lugar de estudio	34
3.2	Población	34
3.3	Muestra	35
3.4	Método de investigación	35
3.5	Descripción detallada de métodos por objetivos específicos	36

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Resultados	43
4.1.1	Alineamiento local de los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante y susceptible al estrés por frío, con genes de <i>Arabidopsis thaliana</i>	43
4.1.2	Enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG, identificando las vías metabólicas más relevantes en la respuesta al frío en los genotipos tolerante y susceptible	60
4.1.3	Centralidad de los genes en las redes de interacción biológica asociadas a la respuesta al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes	69



4.1.4	Clústeres proteicos y sus respectivas categorías funcionales dentro de las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío	74
4.2	Discusión	83
	CONCLUSIONES	91
	RECOMENDACIONES	93
	BIBLIOGRAFÍA	94
	ANEXOS	104





## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
1. Alineamiento local de genes regulados positivamente en el genotipo tolerante al estrés por frío de quinua con genes de <i>Arabidopsis thaliana</i>	46
2. Alineamiento local de genes regulados negativamente en el genotipo tolerante al estrés por frío en quinua con genes de <i>Arabidopsis thaliana</i>	49
3. Alineamiento local de genes regulados positivamente en el genotipo susceptible al estrés por frío de quinua con genes de <i>Arabidopsis thaliana</i>	52
4. Alineamiento local de genes regulados negativamente en el genotipo susceptible al estrés por frío de quinua con genes de <i>Arabidopsis thaliana</i>	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
1. Diagrama de Venn de genes diferencialmente expresos en genotipos de quinua tolerante y susceptible frente al estrés por frío.	60
2. Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados positivamente del genotipo de quinua tolerante al estrés por frío	62
3. Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados negativamente del genotipo de quinua tolerante al estrés por frío	64
4. Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados positivamente del genotipo de quinua susceptible al estrés por frío	66
5. Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados negativamente del genotipo de quinua susceptible al estrés por frío	69
6. Centralidad de la red de interacción proteína-proteína de genes regulados en el genotipo de quinua tolerante al estrés por frío	71
7. Centralidad de la red de interacción proteína-proteína de genes regulados en el genotipo de quinua susceptible al estrés por frío	73
8. Conglomerado y clasificación funcional de genes positivamente regulados en el genotipo de quinua tolerante al estrés por frío	76
9. Conglomerado y clasificación funcional de genes negativamente regulados en el genotipo de quinua tolerante al estrés por frío	78
10. Conglomerado y clasificación funcional de genes positivamente regulados en el genotipo de quinua susceptible al estrés por frío	80
11. Conglomerado y clasificación funcional de genes negativamente regulados en el genotipo de quinua susceptible al estrés por frío	82



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
1. Matriz de consistencia	104
2. Base de datos	106
3. Ontología génica de los genes regulados positivamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante de quinua CRQ64	107
4. Ontología génica de los genes regulados negativamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante de quinua CRQ64	108
5. Ontología génica de los genes regulados positivamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo susceptible de quinua CSQ5	109
6. Ontología génica de los genes regulados negativamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo susceptible de quinua CSQ5	110
7. Genes compartidos entre genotipos de quinua tolerantes y susceptibles al estrés por frío.	111
8. Red de interacción de vías metabólicas enriquecidas de los genes regulados de genotipos de quinua tolerante y susceptible frente al estrés por frío.	112
9. Genes Co-ocurrentes frente al estrés por frío en Arabidopsis thaliana	112



## ACRÓNIMOS

APX	: Ascorbato Peroxidasa
ATP	: Trifosfato de Adenosina
BP	: Proceso Biológico
CC	: Componente Celular
DEG	: Expresión Genética Diferencial
DNA	: Ácido Desoxirribonucleico
DOWN	: Genes Regulados Negativamente
FAO	: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FC	: Cambio de Pliegue
GO	: Gene Ontology
GSH	: Glutation Peroxidasas
IPP	: Interacción de Proteína - Proteína
KEGG	: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
MB	: Biología Molecular
MF	: Función Molecular
MIDAGRI	: Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego
MINAM	: Ministerio del Ambiente
NCBI	: Centro Nacional de Información Biotecnológica
RNA	: Ácido Ribonucleico
ROS	: Especies Reactivas de Oxígeno
SOD	: Enzima Superóxido Dismutasa
SRA	: Archivo de lectura de secuencias
STRING	: Functional Protein Association Networks
TF	: Factor de Transcripción
TRX	: Tio redoxina Peroxidasa
UNIPROT	: Recurso Proteico Universal
UP	: Genes Regulados Positivamente

## RESUMEN


La limitada información sobre cómo interactúan y se regulan los genes en respuesta al estrés por frío en la quinua representa una limitación importante para comprender los mecanismos moleculares. El objetivo de la investigación es construir y analizar las redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). La investigación tiene como método un enfoque cuantitativo, alcance explicativo. Primero se ha recuperado 12 bibliotecas de RNA-Seq del SRA-NCBI. Posteriormente los genes diferencialmente expresos se han alineado con los genes de *Arabidopsis*. Así mismo se ha enriquecido en las vías metabólicas de KEGG y se ha construido las redes de interacción proteína-proteína. Como resultado se obtuvo que las rutas más enriquecidas fueron la "regulación positiva de la germinación de semillas" (97,21) y el "proceso biosintético de flavonoides" (42,42). La activación de genes IPS3, ABCI20 y CHS, asociados con el transporte de solutos, la biosíntesis de flavonoides y la señalización celular, lo que le hace tolerante al frío al genotipo CRQ64. Por otro lado, en el genotipo susceptible, los genes reprimidos se enriquecieron en la "oxidación de proteínas" (152,29), así como en la "actividad de transportador y canal de agua" (112,81), lo que lo hace más vulnerable al estrés por frío. En conclusión, CRQ64 activa, genes relacionados con el transporte de solutos, enzimas antioxidantes, la biosíntesis de flavonoides y la señalización celular. En contraste, CSQ5, reprime la expresión de genes que regula el equilibrio hídrico y el estrés oxidativo.

**Palabras clave:** Estrés abiótico, proteína, sistema biológico, susceptibilidad, tolerancia, vías metabólicas.

## ABSTRACT

The limited information on how genes interact and are regulated in response to cold stress in quinoa represents a major limitation to understanding the molecular mechanisms. The aim of the research is to build and analyze the biological networks of genes regulated in response to cold stress in two contrasting genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). The research has a quantitative approach, explanatory scope. First, 12 RNA-Seq libraries have been retrieved from the SRA-NCBI. Subsequently, the differentially expressed genes have been aligned with the *Arabidopsis* genes. Likewise, the KEGG metabolic pathways have been enriched and the protein-protein interaction networks have been built. As a result, it was obtained that the most enriched routes were the "positive regulation of seed germination" (97.21) and the "flavonoid biosynthetic process" (42.42). Activation of IPS3, ABCI20 and CHS genes associated with solute transport, flavonoid biosynthesis and cell signaling, makes the CRQ64 genotype cold tolerant. On the other hand, in the susceptible genotype, repressed genes were enriched in "protein oxidation" (152.29) as well as in "water transporter and channel activity" (112.81), making it more vulnerable to cold stress. In conclusion, CRQ64 activates genes related to solute transport, antioxidant enzymes, flavonoid biosynthesis and cell signaling. In contrast, CSQ5 represses the expression of genes that regulate water balance and oxidative stress.

**Keywords:** Abiotic stress, biological system, metabolic pathways, protein, susceptibility, tolerance.



.....  
Dr. Edmundo G. Moreno Terrazas  
PROFESOR PRINCIPAL  
UNA - PUNO

## INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) ha emergido como un cultivo de gran relevancia a nivel mundial, no solo por su valor nutricional, sino también por su capacidad de adaptación a diversas condiciones agroecológicas adversas, como la sequía, la salinidad y las bajas temperaturas (Jaikishun et al., 2019). Entre los factores abióticos que afectan su desarrollo, el estrés por frío es uno de los más desafiantes, ya que puede impactar negativamente en su crecimiento, rendimiento y supervivencia (Zhang et al., 2022). Las bajas temperaturas inducen cambios complejos en los sistemas biológicos de la planta, activando mecanismos moleculares y rutas metabólicas específicas que permiten a ciertos genotipos sobrevivir y adaptarse a estas condiciones (Adhikari et al., 2022). Sin embargo, la respuesta de la quinua al frío no es homogénea, y existen diferencias significativas entre los genotipos tolerantes y susceptibles, lo que subraya la importancia de estudiar estas variaciones a nivel genético y funcional (Ilhan et al., 2023; Zhang et al., 2022).

El análisis de redes biológicas y funcionales de genes regulados en respuesta al estrés por frío permite desentrañar los mecanismos de interacción genética que determinan la capacidad de una planta para enfrentar este tipo de estrés. Las redes de genes proporcionan una representación integral de cómo las proteínas y otros componentes moleculares interactúan dentro de las células en respuesta a estímulos externos, como las bajas temperaturas (Smita et al., 2020). Al identificar los genes que actúan como "nodos" centrales dentro de estas redes, es posible determinar cuáles desempeñan un papel crucial en la regulación de las respuestas adaptativas (Nithya et al., 2024). Estudios previos han demostrado que ciertos genes involucrados en la regulación de la fotosíntesis, el metabolismo secundario y el transporte de solutos juegan un papel clave en la tolerancia al frío, especialmente en especies relacionadas como *Arabidopsis thaliana*, lo que sugiere que los genotipos de quinua podrían compartir mecanismos de defensa similares (Adhikari et al., 2022; Konstantinov et al., 2021; Xu et al., 2023).

El presente estudio se centra en dos genotipos contrastantes de quinua: CRQ64, que ha mostrado una notable tolerancia al frío, y CSQ5, que es susceptible a bajas temperaturas (Zheng et al., 2022). El propósito fue analizar las redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en estos dos genotipos, con el fin de identificar

las diferencias clave que influyen en la eficiencia de las rutas metabólicas y en la funcionalidad proteica asociada con la tolerancia y susceptibilidad al frío.

Dentro de los objetivos específicos, se realizó un alineamiento local de los genes regulados en los genotipos de quinua con los genes homólogos de *Arabidopsis thaliana*. Este análisis comparativo permitió identificar similitudes y diferencias en los genes responsables de las respuestas al frío en ambas especies, lo que proporcionó información valiosa sobre los mecanismos moleculares conservados y divergentes entre ellas. Además, se analizó el enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), lo que permitió identificar las principales vías metabólicas implicadas en la respuesta al frío en los genotipos tolerante y susceptible.

Otro aspecto crucial de este trabajo fue la evaluación de la centralidad de los genes en las redes de interacción biológica. Los genes con alta centralidad suelen desempeñar funciones reguladoras críticas, y su identificación puede revelar los componentes más importantes en la respuesta al estrés por frío. Por último, se determinaron los clústeres proteicos y sus respectivas categorías funcionales dentro de las redes de interacción proteína-proteína, lo que permitió una comprensión más completa de cómo las proteínas reguladas por el frío colaboran para activar mecanismos de defensa y respuesta en cada genotipo.

Este tipo de estudios no solo es fundamental para avanzar en el conocimiento de la biología de la quinua, sino que también tiene importantes implicaciones prácticas. La identificación de redes genéticas y proteicas clave en la tolerancia al frío puede facilitar el desarrollo de nuevas estrategias de mejoramiento genético orientadas a producir variedades de quinua más resistentes a climas fríos, lo cual es especialmente relevante en el contexto actual de cambio climático, donde las fluctuaciones térmicas representan un desafío creciente para la agricultura global.

Este trabajo de investigación se organiza en una estructura detallada que abarca diversos aspectos fundamentales del estudio. El Capítulo I ofrece una visión concisa del marco teórico, recopilando y sintetizando las referencias relevantes de investigaciones previas que proporcionan el contexto y el fundamento teórico necesario para la comprensión del tema. El Capítulo II profundiza en el problema de investigación, delineando claramente los objetivos planteados y cómo estos orientan el enfoque del





estudio. En el Capítulo III, se proporciona una descripción exhaustiva del lugar de investigación, especificando tanto la población como la muestra seleccionada para el estudio. Este capítulo también detalla el proceso metodológico empleado para alcanzar los objetivos específicos, incluyendo una explicación de las variables dependientes e independientes, así como los equipos y técnicas utilizados en la recolección y análisis de datos. El Capítulo IV está dedicado a la presentación de los resultados y la discusión de los mismos, incorporando las tablas estadísticas generadas con el software R, versión 4.4.1, que ilustran los hallazgos del estudio. Finalmente, el trabajo concluye con conclusiones y recomendaciones derivadas del análisis, una lista exhaustiva de las bibliografías consultadas, y los anexos pertinentes que proporcionan material suplementario adicional para una comprensión completa de la investigación.

## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.1 Marco teórico

##### 1.1.1 El cultivo de la quinua

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) se ha convertido en un cultivo de creciente importancia a nivel global debido a su notable valor nutricional y su capacidad para adaptarse a una amplia gama de condiciones ambientales (Pathan y Siddiqui, 2022). Originaria de los Andes, la quinua ha sido cultivada por más de 7000 años y es reconocida por su excepcional perfil nutricional, que incluye un alto contenido de proteínas de calidad, con todos los aminoácidos esenciales, así como vitaminas (B, C y E), minerales (hierro, magnesio, zinc, y calcio) y compuestos antioxidantes como los flavonoides y las saponinas (Chaudhary et al., 2023; Pathan y Siddiqui, 2022). Esta composición hace de la quinua un alimento fundamental en la lucha contra la desnutrición y un recurso importante para mejorar la seguridad alimentaria en países en desarrollo (Bazile et al., 2016).

Un aspecto crucial de la quinua es su adaptabilidad a entornos difíciles. A diferencia de otros cultivos básicos, la quinua puede crecer en suelos pobres y tolera una variedad de factores abióticos adversos, como la salinidad, la sequía y las temperaturas extremas (Bazile et al., 2016). Esta capacidad de adaptación la ha hecho muy valiosa para su expansión en regiones que enfrentan problemas debido al cambio climático, permitiendo la producción de alimentos en zonas donde otros cultivos no prosperan (Jaikishun et al., 2019). La resistencia de la quinua a diversas condiciones ambientales la convierte en una opción viable para la agricultura sostenible y la diversificación de los sistemas agrícolas en todo el mundo (Jacobsen et al., 2003).

En términos económicos, la quinua ha ganado reconocimiento en mercados internacionales, donde su demanda ha crecido significativamente en las últimas décadas debido al interés por alimentos saludables y la búsqueda de productos alternativos sin gluten (Pathan y Siddiqui, 2022). Esto ha generado oportunidades para los pequeños agricultores andinos, quienes son los principales productores de quinua. Sin embargo, también ha planteado desafíos relacionados con la producción sostenible y el mantenimiento de la biodiversidad de las variedades locales, las cuales están adaptadas a las condiciones específicas de cada región (Bazile et al., 2016).

Además, desde una perspectiva de salud pública, la quinua es un cultivo que contribuye al desarrollo de dietas más equilibradas y nutritivas (Chaudhary et al., 2023). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) declaró 2013 como el "Año Internacional de la Quinua" en reconocimiento a su potencial para contribuir a la seguridad alimentaria mundial, destacando su relevancia no solo para las comunidades agrícolas de los Andes, sino para todo el mundo, en particular en un contexto donde se busca combatir el hambre y la malnutrición a nivel global (FAO et al., 2013).

Aellen y Just (1943) planteó las siguientes categorías taxonómicas para la quinua:

**Reino:** Plantae

**División:** Fanerógamas

**Clase:** Dicotyledoneae

**Orden:** Cariofilales

**Familia:** *Amaranthaceae*

**Género:** *Chenopodium*

**Especie:** *Chenopodium quinoa* Willd.

### 1.1.2 Genética de la Quinua

La genética de la quinua, más allá de su complejidad poliploide y diversidad genómica, también involucra la exploración de marcadores moleculares que pueden ser clave para la adaptabilidad de esta especie a condiciones de estrés por frío (Afzal et al., 2023a). Estudios genéticos avanzados, como la identificación de loci de características cuantitativas (QTL), permiten mapear regiones específicas en el genoma de la quinua asociadas con rasgos de interés, como la resistencia al frío. Esta aproximación proporciona información precisa sobre las bases genéticas de las variaciones fenotípicas y permite la identificación de genes candidatos responsables de respuestas climáticas específicas (Xie et al., 2023).

Además, la genómica funcional se convierte en una herramienta esencial al estudiar la expresión de genes durante el estrés por frío. La aplicación de técnicas como la secuenciación de ARN (ARN-Seq) permite analizar de manera exhaustiva los perfiles de expresión génica, identificando genes que se activan o desactivan en respuesta al estrés térmico (Zheng et al., 2022). Esto no solo revela los mecanismos moleculares específicos desencadenados por el frío, sino que también destaca

aquellos genes que podrían desempeñar un papel crucial en las adaptaciones de la quinua a condiciones ambientales desafiantes (Ilhan et al., 2023). La genética de la quinua, combinando enfoques moleculares, genómicos y de expresión génica, emerge como un campo de estudio integral y dinámico. A través de estas investigaciones, se espera no solo ampliar nuestra comprensión de los fundamentos genéticos de la resistencia al frío en la quinua, sino también proporcionar herramientas para el desarrollo de estrategias de mejora genética precisas y efectivas. La integración de estos conocimientos genéticos en prácticas agrícolas contribuirá significativamente a fortalecer la capacidad de la quinua para enfrentar los desafíos climáticos y garantizar su papel vital en la seguridad alimentaria global (Anuradha et al., 2023).

### 1.1.3 Estrés por frío en plantas

El estrés por frío es un fenómeno ambiental crítico que afecta el desarrollo, el rendimiento y la supervivencia de las plantas. Se manifiesta cuando las temperaturas descienden por debajo de los umbrales óptimos para el crecimiento, lo que conlleva a una serie de respuestas moleculares y fisiológicas adaptativas (Adhikari et al., 2022). A nivel molecular, las plantas desencadenan una serie de eventos que incluyen cambios en la expresión génica, alteraciones en la síntesis de proteínas y ajustes en la homeostasis celular (Y. Niu et al., 2023). La percepción del estrés por frío desencadena la activación de vías de señalización intracelular, como la vía de señalización de respuesta al frío (COR, por sus siglas en inglés) y la síntesis de proteínas conocidas como proteínas de respuesta a la escarcha (COR proteins) (Xu et al., 2023). Estos eventos buscan ajustar la fisiología de la planta para mitigar el daño causado por las bajas temperaturas. La expresión diferencial de genes clave, como aquellos que codifican factores de transcripción reguladores y proteínas protectoras, juega un papel central en las adaptaciones de las plantas al estrés térmico (Adhikari et al., 2022).

Investigaciones previas han documentado la complejidad de las respuestas moleculares al estrés por frío en diversas especies vegetales, resaltando la plasticidad genética que permite la adaptación a condiciones ambientales cambiantes (Adhikari et al., 2022; Ilhan et al., 2023; Xu et al., 2023). En el caso específico de la quinua (*Chenopodium quinoa*), a pesar de ser reconocida por su resistencia y adaptabilidad, se requiere una exploración más profunda de los mecanismos moleculares que

subyacen a sus respuestas al frío, con el fin de identificar elementos específicos que contribuyan a su robustez frente a este tipo de estrés (Ruiz, 2023).

#### **1.1.4 Expresión génica y redes biológicas**

La regulación de la expresión génica es un proceso central en la adaptación de las plantas al estrés por frío. Ante condiciones térmicas adversas, se desencadenan cambios en la expresión de un conjunto diverso de genes, lo que permite la reconfiguración de las respuestas biológicas para contrarrestar el impacto del estrés (Ding et al., 2024). La construcción de redes biológicas emerge como una herramienta esencial para entender la complejidad de estas respuestas a nivel sistémico. Las redes biológicas representan las interacciones entre genes y proteínas, proporcionando una visión integradora de cómo los componentes moleculares se coordinan para llevar a cabo funciones específicas. En el contexto del estrés por frío, estas redes reflejan la cascada de eventos moleculares, desde la percepción del estrés hasta las respuestas adaptativas (Nithya et al., 2024). La co-expresión génica, las interacciones proteína-proteína y otros enfoques permiten identificar patrones emergentes y conexiones funcionales entre genes, revelando módulos y nodos críticos en la red que pueden ser clave para la resistencia al estrés térmico (Yaschenko et al., 2022).

La construcción de redes biológicas en el marco de este estudio no solo proporcionará una representación gráfica de las interacciones génicas, sino que también permitirá la identificación de genes centrales dentro de estas redes (Ding et al., 2024; Nithya et al., 2024). El análisis de la centralidad de los genes destaca aquellos nodos cruciales que tienen un impacto significativo en la coordinación de las respuestas moleculares al estrés por frío. Este enfoque sistémico es esencial para comprender cómo las diversas piezas del rompecabezas genético interactúan de manera coordinada para conferir resistencia a la quinua en condiciones de bajas temperaturas (Fernandez-Pozo et al., 2022).

#### **1.1.5 Herramientas bioinformáticas en biología molecular**

La era de la genómica y la biotecnología ha impulsado el desarrollo de herramientas bioinformáticas que desempeñan un papel esencial en la interpretación de datos moleculares a gran escala. Estas herramientas permiten analizar enormes volúmenes de información, desde la secuenciación del genoma hasta la expresión

génica, facilitando así la identificación de patrones y relaciones complejas dentro de los sistemas biológicos (Kanehisa et al., 2016). En el contexto del estudio de las respuestas al estrés por frío en la quinua, la bioinformática ha revolucionado la manera en que se abordan estos fenómenos, proporcionando métodos avanzados para analizar y comprender la complejidad de las redes génicas involucradas (Xie et al., 2023).

Las herramientas bioinformáticas, como BLAST, Clustal Omega y sistemas de análisis de redes como Cytoscape, permiten comparar secuencias génicas entre especies, identificar genes homólogos y modelar las interacciones moleculares en redes biológicas complejas (Fernandez-Pozo et al., 2022). En el estudio de las respuestas al estrés abiótico, estas herramientas han permitido mapear las vías metabólicas afectadas, así como identificar genes clave en la respuesta al frío, como aquellos asociados con la biosíntesis de flavonoides y la regulación de la fotosíntesis (Adhikari et al., 2022). Estas rutas pueden ser analizadas mediante bases de datos como KEGG, que permite visualizar el enriquecimiento de genes en rutas específicas, ofreciendo una visión integral de los mecanismos biológicos subyacentes (Kanehisa et al., 2016).

Otro aspecto clave es la integración de datos ómicos, que incluye la combinación de datos transcriptómicos, proteómicos y metabolómicos. Plataformas como STRING y GeneMANIA permiten predecir interacciones proteína-proteína, proporcionando una comprensión más profunda de los complejos moleculares y las funciones proteicas que están involucradas en la respuesta al frío en los genotipos de quinua (Szklarczyk et al., 2023). Estas herramientas no solo ayudan a identificar genes regulados diferencialmente, sino que también permiten establecer redes funcionales que revelan cómo estos genes interactúan para regular procesos biológicos fundamentales en la tolerancia al estrés (Ge et al., 2020).

Las técnicas de análisis de expresión génica, como RNA-seq, han facilitado la cuantificación precisa de los niveles de expresión de miles de genes simultáneamente. Con el uso de algoritmos avanzados y plataformas de análisis, como DESeq2 o EdgeR, es posible identificar genes que se regulan diferencialmente bajo condiciones de frío, proporcionando información valiosa sobre las adaptaciones genéticas de la quinua frente a este tipo de estrés. Estas herramientas permiten que los investigadores no solo identifiquen genes específicos que responden al estrés por frío, sino también comprendan cómo se organiza la red de respuesta genética y qué

genes desempeñan roles centrales en la regulación de la adaptación (Fernandez-Pozo et al., 2022).

### **1.1.6 Anotación funcional**

Las herramientas de anotación funcional permiten asignar funciones biológicas específicas a los genes identificados en las redes biológicas (Kosová et al., 2015). La identificación de funciones como factores de transcripción, enzimas, o proteínas estructurales contribuye a esclarecer los roles individuales de los genes y su participación en las rutas metabólicas relacionadas con la resistencia al estrés por frío en la quinua (Zhao y Rhee, 2022).

### **1.1.7 Enriquecimiento en las vías metabólicas**

El enriquecimiento en las vías metabólicas es una técnica bioinformática utilizada para identificar qué rutas metabólicas específicas están sobrerrepresentadas en un conjunto de genes o proteínas que han sido previamente seleccionados, por ejemplo, por estar diferencialmente expresados bajo ciertas condiciones experimentales (Zhao y Rhee, 2022). Esta metodología permite detectar procesos biológicos clave, como el metabolismo de carbohidratos, la biosíntesis de lípidos o la fotosíntesis, que pueden estar implicados en la respuesta de un organismo a factores ambientales, enfermedades, o estrés abiótico como el frío. Herramientas como KEGG o Reactome se utilizan para asociar estos genes o proteínas a vías metabólicas específicas, proporcionando información sobre los mecanismos moleculares subyacentes (Kanehisa et al., 2016).

### **1.1.8 Análisis de Co-expresión**

El análisis de Co-expresión es fundamental para identificar genes que se expresan de manera coordinada en respuesta al estrés térmico. Estos genes co-expresados tienden a formar módulos funcionales dentro de las redes biológicas, revelando patrones de regulación y cooperación molecular. Este análisis proporciona una perspectiva más profunda sobre cómo los genes interactúan y se regulan mutuamente en contextos específicos, como el estrés por frío en la quinua (Zhao y Rhee, 2022).

### 1.1.9 Predicción de interacciones proteína-proteína

La predicción de interacciones proteína-proteína (PPI) es una herramienta esencial en la biología molecular y la bioinformática, ya que permite modelar las redes biológicas que subyacen a diversos procesos celulares. En el contexto de la respuesta al estrés por frío en la quinua, esta metodología resulta crucial para comprender cómo las proteínas, codificadas por genes regulados en estas condiciones, interactúan entre sí para mantener la homeostasis y activar mecanismos de defensa (Ding et al., 2024).

El análisis de PPI no solo predice las interacciones físicas entre proteínas, sino que también ayuda a identificar los "nodos" o puntos clave dentro de la red de interacción que pueden desempeñar un papel fundamental en la regulación de rutas metabólicas y mecanismos de señalización celular. Al identificar estas proteínas centrales, los investigadores pueden focalizarse en blancos específicos para mejorar la resistencia al estrés por frío mediante la ingeniería genética o la selección asistida por marcadores (Nithya et al., 2024).

Existen diversas bases de datos y algoritmos computacionales, como STRING, IntAct y BioGRID, que permiten prever y validar interacciones proteína-proteína basadas en datos experimentales o modelos computacionales (Szklarczyk et al., 2023). Estos enfoques permiten, determinar cómo ciertas proteínas clave regulan procesos como la protección de la membrana celular, la señalización hormonal o la reparación del daño oxidativo, los cuales son vitales para la supervivencia de plantas bajo condiciones de estrés abiótico. En la quinua, estas predicciones pueden proporcionar información valiosa sobre qué proteínas están involucradas en la respuesta al frío y cómo podrían ser manipuladas para mejorar la tolerancia de los cultivos a condiciones climáticas adversas (Zheng et al., 2022).

De esta manera, la predicción de PPI no solo contribuye a la comprensión de la biología molecular de la quinua, sino que también abre nuevas oportunidades para la mejora genética de cultivos. Esto es especialmente relevante en un contexto global de cambio climático, donde las herramientas bioinformáticas y la biotecnología son fundamentales para desarrollar variedades de plantas más resistentes a los factores ambientales extremos (Di Silvestre et al., 2022).



### 1.1.10 Identificación de nodos centrales

La identificación de nodos centrales en redes de interacción proteína-proteína (PPI) es un componente crítico para entender la arquitectura y la dinámica de las redes biológicas en organismos como la quinua, especialmente en contextos de estrés abiótico como el estrés por frío. Los nodos centrales son proteínas que, debido a su elevado número de interacciones con otras proteínas, juegan un papel crucial en la integración y regulación de múltiples procesos biológicos (Nithya et al., 2024).

Estos nodos centrales, a menudo denominados "hub proteins", son esenciales para la formación y estabilidad de la red de interacción. Actúan como puntos de conexión que orquestan la comunicación entre diferentes componentes de la red, facilitando la coordinación de respuestas moleculares complejas. En la respuesta al estrés por frío, los nodos centrales pueden incluir proteínas que regulan la señalización celular, la respuesta a hormonas y la reparación de proteínas dañadas, así como la protección de membranas celulares y la modificación de proteínas en respuesta al estrés ambiental (Ding et al., 2024; Nithya et al., 2024).

El análisis de nodos centrales proporciona una visión profunda sobre cuáles proteínas son fundamentales para mantener la homeostasis celular y adaptar el organismo a condiciones adversas. En la quinua, identificar estos nodos permite a los investigadores entender mejor cómo se coordinan las respuestas de las plantas al frío y qué proteínas son más relevantes para la mejora genética. Esta información puede ser utilizada para diseñar estrategias de ingeniería genética y selección asistida que optimicen la tolerancia al frío, mejorando así la resiliencia de los cultivos frente al cambio climático (Smita et al., 2020).

Además, el enfoque en nodos centrales ayuda a priorizar las proteínas para estudios adicionales, ya que su función central en la red implica que cualquier alteración en su actividad puede tener un impacto significativo en el funcionamiento global de la red. Por lo tanto, los nodos centrales no solo son cruciales para entender las respuestas moleculares en condiciones de estrés, sino que también representan objetivos estratégicos para intervenciones biotecnológicas destinadas a mejorar la resistencia de los cultivos a condiciones extremas (Kosová et al., 2015; Nithya et al., 2024).

### **1.1.11 Modularidad de las redes**

La predicción de interacciones proteína-proteína contribuye a la identificación de módulos funcionales dentro de las redes biológicas. Estos módulos representan conjuntos de proteínas que colaboran de manera estrecha en funciones específicas. En el contexto del estrés por frío, la modularidad de las redes destaca grupos de proteínas que trabajan de manera coordinada para llevar a cabo procesos biológicos esenciales para la respuesta y la adaptación de la quinua a las bajas temperaturas (S. Wang et al., 2022).

### **1.1.12 Validación experimental**

Aunque la predicción de interacciones proteína-proteína es un enfoque valioso, es crucial validar experimentalmente estas interacciones para garantizar su relevancia biológica. Experimentos como la Co-inmunoprecipitación y la técnica del sistema de doble híbrido pueden confirmar las interacciones predichas, brindando una capa adicional de confianza en los resultados obtenidos mediante herramientas bioinformáticas (Zhao y Rhee, 2022). La predicción de interacciones proteína-proteína, en conjunto con otras herramientas bioinformáticas, proporciona una visión detallada de la arquitectura molecular de las redes biológicas en respuesta al estrés por frío en la quinua. Estos enfoques permiten no solo identificar potenciales objetivos de investigación, sino también comprender cómo las proteínas interactúan para coordinar respuestas adaptativas y mejorar la resistencia de la quinua en ambientes fríos (Gao et al., 2023).

### **1.1.13 Revisión de literatura científica**

La revisión exhaustiva de la literatura científica relevante complementa las herramientas bioinformáticas al proporcionar contextos adicionales sobre las funciones y relaciones de los genes identificados. Integrar datos experimentales con información previamente documentada contribuye a una interpretación más completa de la función biológica de los genes clave en las redes biológicas (Fernandez-Pozo et al., 2022). La aplicación conjunta de estas herramientas bioinformáticas permitirá una caracterización detallada de las redes biológicas en respuesta al estrés por frío en la quinua, mejorando la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes. Este enfoque integrado proporcionará una visión más completa y precisa de las adaptaciones genéticas al frío en esta especie, facilitando la identificación de

objetivos para estrategias de mejora genética orientadas a fortalecer su resistencia a condiciones ambientales adversas (C. Zhang et al., 2023).

#### **1.1.14 Diferencias genéticas y adaptaciones al estrés**

La variabilidad genética en genotipos de quinua ofrece un terreno fértil para entender las adaptaciones al estrés por frío. Los polimorfismos genéticos, como los SNPs, establecen la diversidad genética, y la identificación de genes candidatos asociados con la resistencia al frío es fundamental (Ilhan et al., 2023). La expresión génica diferencial y la genómica comparativa entre genotipos revelan patrones adaptativos y regiones genómicas específicas relacionadas con la resistencia al estrés térmico. La selección artificial y la mejora genética basadas en estas diferencias genéticas pueden guiar el desarrollo de variedades mejoradas de quinua, aumentando su resiliencia frente a condiciones climáticas adversas y contribuyendo así a la seguridad alimentaria en entornos cambiantes (Afzal et al., 2023b). Este enfoque integrado proporciona una visión profunda de las estrategias genéticas que subyacen a la resistencia al frío en la quinua, un cultivo esencial en la lucha contra los desafíos climáticos. La variabilidad genética entre diferentes genotipos de una especie puede influir en la respuesta al estrés. Comprender las diferencias y similitudes en las redes génicas entre genotipos contrastantes proporciona información clave sobre las adaptaciones genéticas específicas que han evolucionado para enfrentar condiciones ambientales adversas, como el estrés por frío (Ruiz, 2023).

## 1.2 Antecedentes

### 1.2.1 Internacionales

Wang et al. (2022) identificaron que Wucai enfrenta desafíos en su crecimiento debido a las bajas temperaturas, lo que impacta negativamente en su rendimiento y calidad. Aunque los mecanismos moleculares que subyacen a la tolerancia al frío en Wucai no están completamente comprendidos. Durante el análisis transcriptómico posterior a un tratamiento de frío, se identificaron 3536 y 3887 genes expresados diferencialmente (DEG) en CT y CS, respectivamente, en comparación con los niveles de control. El análisis de ontología genética (GO) resaltó la activación de respuestas a cadmio, ácido jasmónico y herida en el genotipo tolerante al frío. Los DEG estuvieron asociados con procesos metabólicos como el metabolismo del almidón y sacarosa, metabolismo del glutatión y metabolismo del ácido  $\alpha$ -linolénico, siendo este último específico de CT. Se identificaron genes cruciales, incluyendo glutatión S-transferasas (GST), lipoxigenasa 13S (LOX) y factores de transcripción (TF) como ERF53, bHLH92, WRKY53 y WRKY54, sugiriendo su relevancia en la respuesta al estrés por frío.

Wang et al. (2021) mencionan que la baja temperatura sin congelación representa un desafío clave para el crecimiento y rendimiento del maní (*Arachis hypogaea* L.), pero los mecanismos moleculares de su resistencia al frío eran desconocidos. Un estudio abordó esta brecha mediante análisis metabolómico de dos variedades de maní sometidas a estrés por frío. Se identificaron metabolitos, como carbohidratos y poliaminas, con una acumulación más pronunciada en la variedad tolerante al frío (SLH) que en la susceptible (ZH12), indicando su papel protector contra el daño por frío. La secuenciación del transcriptoma reveló 3,620 genes de tolerancia al frío (CTG), enriquecidos especialmente en la vía de "biosíntesis de fenilpropanoides". El análisis de redes de coexpresión de genes identificó módulos vitales y genes clave, destacando la sobreexpresión más rápida de genes relacionados con azúcares solubles, poliaminas y lignina G en SLH en comparación con ZH12 a bajas temperaturas. Estos hallazgos no solo amplían la comprensión de la adaptación del maní a temperaturas bajas, sino que también ofrecen perspectivas valiosas para la mejora genética de la tolerancia al estrés en los cultivos.

Niu et al. (2023) indican que el conocimiento sobre los mecanismos de tolerancia al frío en las plántulas de arroz en la etapa reproductiva es limitado, a pesar de que el mecanismo de regulación en etapas anteriores es relativamente claro. En este estudio, se realizaron análisis de redes de expresión diferencial y coexpresión en tejidos de panícula y hoja bandera de dos cultivares de arroz: uno tolerante al frío (Huaidao5) y otro sensible (Huaidao9), sometidos a estrés por frío en la etapa reproductiva. Se encontró que en Huaidao5, los genes relacionados con el estrés, como la vía de señalización MAPK y el metabolismo del glutatión, se expresaron constitutivamente altos, especialmente en las panículas. La resistencia de Huaidao9, en cambio, se basó en la resistencia inducida al frío en hojas y panículas. La integración de la expresión diferencial con redes de coexpresión permitió prever 161 genes candidatos que afectan la respuesta/tolerancia al frío. Este estudio proporciona una estrategia para comprender los mecanismos de tolerancia al frío en el arroz, identificando genes clave y ofreciendo perspectivas para la mejora genética de la tolerancia al estrés.

Xu et al. (2023) mencionan que el daño por congelación en invierno representa un estrés significativo para las plantas, especialmente para los árboles frutales de hoja caduca, que resisten mediante la inducción de la latencia. Aunque diferentes cultivares de la misma especie tienen estrategias distintas de resistencia al frío, se sabe poco sobre el mecanismo molecular de los manzanos en respuesta a daños por congelación durante el letargo invernal. Este estudio utilizó ramas de dos cultivares de manzano, 'Hanfu' (HF, resistente al frío) y 'Changfuji No. 2' (CF, sensible al frío), para explorar su resistencia al frío a través de análisis fisiológicos, bioquímicos, transcriptómicos y metabolómicos. Los resultados revelaron que HF exhibió una mayor capacidad de regulación osmótica y actividad enzimática antioxidante, así como una mayor resistencia al frío en comparación con CF. El análisis de enriquecimiento funcional indicó que ambas variedades se enriquecieron en vías relacionadas con la transducción de señales, regulación hormonal y metabolismo del azúcar bajo estrés por congelación. La HF acumuló específicamente metabolitos como galactinol, rafinosa y estaquiosa, mientras que CF mostró una menor capacidad antioxidante y menor acumulación de estos compuestos. Estos hallazgos profundizan la comprensión del mecanismo de resistencia al frío en los manzanos durante la latencia invernal, destacando las

diferencias metabólicas clave como factores principales en la variabilidad de la resistencia al frío entre cultivares.

Wang et al. (2022) en su trabajo de investigación se basaron en los rasgos fenotípicos y los indicadores fisiológicos, eligieron el genotipo "W18" (designado como CT) tolerante al frío y el genotipo "Sw-1" (denominado CS) sensible al frío entre seis genotipos de wucaí. Se llevaron a cabo análisis transcriptómicos utilizando hojas de plántulas después de someterlas a un tratamiento de frío durante 24 horas. Se detectaron un total de 3536 y 3887 genes expresados diferencialmente (DEG) entre el transcriptoma comparativo de baja temperatura (LT) y el control (NT) en CT y CS, respectivamente, con 1690 DEG específicos de CT. El análisis de ontología genética (GO) reveló que la respuesta al ion cadmio (GO: 0,046686), la respuesta al ácido jasmónico (GO: 0,009753) y la respuesta a la herida (GO: 0,009611) se vieron enriquecidas en CT (LT vs NT). Los DEG también se enriquecieron en el metabolismo del almidón y la sacarosa y en el metabolismo del glutatión en ambos grupos, mientras que el metabolismo del ácido  $\alpha$ -linolénico se enriqueció solo en CT (LT vs NT). Estos procesos incluyeron genes como las glutatión S-transferasas (GST), la lipoxigenasa 13S (LOX) y el dominio ZIM del jasmonato (JAZ), así como factores de transcripción (TF) como el factor de transcripción 53 sensible al etileno (ERF53), hélice-bucle-hélice básica 92 (bHLH92), WRKY53 y WRKY54. Nuestra hipótesis es que estos genes desempeñan roles significativos en la respuesta al estrés por frío en esta especie.

En el estudio realizado por Luo et al. (2022) se llevaron a cabo análisis transcriptómicos en diferentes momentos utilizando tabaco Tai (TT, susceptible al frío) y tabaco Yan (YT, resistente al frío), los cuales exhiben respuestas al frío contrastantes. Se identificaron genes expresados diferencialmente (DEG) similares en ambos cultivares al compararlos con el control correspondiente (sin tratamiento de frío), los cuales estuvieron principalmente relacionados con la respuesta a estímulos abióticos, procesos metabólicos y actividades de quinasa. Al comparar los dos cultivares en cada momento, se observaron niveles de expresión más altos de genes responsables del estrés ambiental en YT en comparación con TT. Mediante el Análisis de red de coexpresión genética ponderada (WGCNA), se identificaron dos módulos principales: el módulo rosa

mostró similitudes mientras que el módulo marrón fue distinto entre los dos cultivares. Asimismo, se identificaron 100 genes centrales, que incluyeron 11 factores de transcripción (TF) importantes posiblemente implicados en el estrés por frío, 3 TF clave en el módulo marrón y 8 TF clave en el módulo rosa. Es destacable que, según las redes reguladoras genéticas (GRN) entre los TF y otros genes o TF mediante el uso de GENIE3, se identificaron 3 TF (ABI3/VP1, ARR-B y WRKY) que desempeñan un papel principal en las respuestas diferenciales al frío entre los dos cultivares, y 3 TF clave (GRAS, AP2-EREBP y C2H2) involucrados principalmente en las respuestas al frío.

En el estudio realizado por Sun et al. (2021) se llevaron a cabo ensamblajes de datos de secuenciación de ARN SMRT (Secuenciación de ARN de Molécula Única en Tiempo Real) utilizando el método de novo, lo que resultó en la producción de 24,306 unigenes con un valor N50 de 1834 pb. El análisis de enriquecimiento de genes expresados diferencialmente (DEG) de la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto (KEGG) reveló su implicación en diversas vías, como el metabolismo del almidón y la sacarosa, la vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), el sistema de señalización de fosfatidilinositol, el metabolismo del inositol fosfato y la transducción de señales de hormonas vegetales. Específicamente en el metabolismo del almidón y la sacarosa, se identificaron tres genes clave relacionados con la degradación de la celulosa, la síntesis de trehalosa y la degradación del almidón. Se observó que las actividades de beta-GC (beta-glucosidasa), TPS (trehalosa-6-fosfato sintasa) y BAM (beta-amilasa), codificadas por los tres genes clave mencionados anteriormente, se vieron aumentadas bajo estrés por frío. Tres factores de transcripción (TF) pertenecientes a las familias AP2/ERF, bHLH (hélice-bucle-hélice básica) y MYB estuvieron implicados en la respuesta a bajas temperaturas. Además, el análisis de la red de coexpresión genética ponderada (WGCNA) señaló que beta-GC, TPS5 y BAM3.1 eran genes clave involucrados en la respuesta al frío y estaban altamente coexpresados junto con los genes CBF3, MYC2 y MYB44.

Zhang et al. (2022) señalaron que la falta de comprensión del mecanismo molecular mediante el cual el maní se adapta al estrés por frío ha limitado el avance en el mejoramiento molecular para aumentar la tolerancia al frío en esta

planta. Para abordar esta brecha de conocimiento, se compararon las diferencias tanto fisiológicas como transcripcionales entre dos genotipos de maní con niveles contrastantes de tolerancia al estrés por frío. Se observó que la inhibición de la fotosíntesis, principalmente debido a factores estomáticos, fue una respuesta común de las plántulas de maní al estrés por frío. Se encontró que los genotipos con mayor tolerancia al frío tenían la capacidad de suprimir la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) para adaptarse al estrés frío, y se identificó que las actividades mejoradas de las enzimas catalasa (CAT) y ascorbato peroxidasa (APX) fueron las principales causas de la disminución en el contenido de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Los resultados de un análisis combinado de índices fisiológicos y datos de secuenciación de ARN (RNA-Seq), llevado a cabo mediante WGCNA, indicaron que los genes presentes en módulos clave estaban significativamente enriquecidos en vías relacionadas con el proceso de oxidación-reducción. Se sugiere que los genes centrales que codifican para receptores de cinasa tipo receptor de leucina (RLK), CAT, MYC4, AOS, GST, PP2C, UPL5 y ZFP8 regulan positivamente la tolerancia al frío del maní, mientras que los genes centrales que codifican para amilgaloide oxidasa (PAO), NAC2 y NAC72 podrían regular negativamente esta tolerancia.

Cheng et al. (2020) destacaron que los cotiledones jóvenes de las plántulas de algodón son particularmente vulnerables al estrés por frío. Con el objetivo de comprender mejor el posible mecanismo de tolerancia al frío en los cotiledones jóvenes del algodón, se llevaron a cabo análisis fisiológicos y comparativos del transcriptoma de dos variedades con fenotipos contrastantes. La evaluación del daño por frío en los cotiledones jóvenes de 74 variedades de algodón reveló que la variedad H559 mostraba una mayor tolerancia, mientras que YM21 era más sensible al estrés por frío. Los análisis fisiológicos indicaron una menor capacidad de eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y un mayor daño en la membrana celular en los cotiledones de YM21 en comparación con H559 bajo estrés por frío. El análisis de secuenciación de ARN identificó un total de 44,998 genes expresados, de los cuales 19,982 fueron expresados diferencialmente (DEG) en los cotiledones jóvenes de ambas variedades sometidas a estrés por frío. El análisis de redes de coexpresión genética ponderada (WGCNA) reveló cuatro módulos significativos con una estrecha correlación con muestras específicas.



Además, el análisis de enriquecimiento de términos GO encontró que muchos genes en los módulos específicos de la variedad H559 estaban involucrados en la resistencia de las plantas al estrés abiótico. Asimismo, el análisis de vías de la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto (KEGG) reveló que vías como la transducción de señales de hormonas vegetales, la señalización MAPK y la interacción entre plantas y patógenos estaban relacionadas con la respuesta al estrés por frío. Se identificaron un total de 574 factores de transcripción y 936 genes centrales en estos módulos. Veinte genes centrales fueron seleccionados para su verificación mediante qRT-PCR, lo que demostró la confiabilidad y precisión de los datos del transcriptoma. Estos hallazgos proporcionan una base sólida para futuras investigaciones sobre el mecanismo molecular de la tolerancia al frío en los cotiledones del algodón.

Vergata et al. (2022) destacan que los análisis transcriptómicos son herramientas esenciales para comprender a fondo los mecanismos moleculares involucrados en las respuestas de las plantas al estrés abiótico. En este estudio, se buscó identificar genes clave regulados de manera diferencial en respuesta al estrés por frío en varias especies vegetales con diversos niveles de tolerancia a las bajas temperaturas. Se llevó a cabo un metanálisis utilizando datos de RNA-Seq de estudios previamente publicados con condiciones experimentales comparables. Los hallazgos confirmaron la relevancia del etileno en la interacción hormonal que modula las respuestas defensivas ante el estrés por frío, especialmente en especies más susceptibles. Se observó una activación transcriptómica de cinco genes relacionados con factores de respuesta al etileno y un factor de transcripción sensible a REDOX 1, implicados en vías hormonales asociadas con el metabolismo del etileno y la transducción de señales. Además, se registró una mejora en la actividad de transcripción de dos genes que codifican factores de choque térmico, así como de varios genes asociados con procesos de desarrollo. Se identificó que varias familias de factores de transcripción se indujeron de manera común entre diferentes especies vegetales. Las redes de interacción proteína-proteína resaltaron la importancia de los fotosistemas I y II, así como de los genes que codifican los factores de transcripción HSF y WRKY. Además, se elaboró un modelo de red reguladora génica que subyace a las respuestas de las plantas al estrés por frío, lo que facilita la identificación de nuevos genes

candidatos para la mejora genética de cultivos en términos de tolerancia a las bajas temperaturas.

Xu et al. (2023) investigaron el impacto del daño por congelación en árboles frutales de hoja caduca, centrándose en dos cultivares de manzanos: 'Hanfu' (HF), resistente al frío, y 'Changfuji No. 2' (CF), sensible al frío. Observaron que la HF tenía una mejor capacidad de regulación osmótica y actividad enzimática antioxidante en comparación con CF, lo que se traduciría en una mayor resistencia al frío. Los análisis fisiológicos y bioquímicos revelaron una acumulación de metabolitos protectores en HF, como rafinosa y estaquiosa, y una mayor capacidad para eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante la acumulación de ácido 4-aminobutírico, espermidina y ácido ascórbico. Por otro lado, CF mostró una disminución en la capacidad para eliminar ROS y una reducción en los niveles de antioxidantes como glutatión oxidado, vitamina C, glutatión y espermidina bajo estrés por congelación. Además, identificaron una fuerte inducción de factores de transcripción AP2/ERF y WRKY en respuesta al estrés por congelación en ambos cultivares. En conjunto, estos hallazgos destacan las diferencias en los componentes metabólicos clave como el principal factor que afecta la resistencia al frío entre los dos cultivares. Este estudio proporciona una comprensión más profunda del mecanismo de resistencia al frío en los manzanos durante el período de latencia, lo que podría ser útil para mejorar la tolerancia al frío en la agricultura.

Mita et al. (2020) enfocaron la atención en la tolerancia al estrés abiótico en el arroz, un rasgo complejo influenciado por múltiples genes y redes genéticas. Utilizando la metatranscriptómica, identificaron genes y redes "tolerantes al estrés abiótico" (ASTR) expresados específicamente y diferencialmente en genotipos de arroz resistentes a diversas condiciones de estrés. Descubrieron 6,956 genes ASTR, incluyendo factores de transcripción y módulos funcionales asociados con el estrés abiótico. Alrededor del 65 % de estos genes mostraron expresión diferencial en genotipos tolerantes a diferentes tipos de estrés. Estos genes ASTR podrían ser utilizados para mejorar la tolerancia al estrés abiótico en el arroz y posiblemente en otros cultivos.

En el estudio de Wang et al. (2021) se investigó la resistencia al frío en el maní, un factor crucial para su crecimiento y rendimiento. Mediante análisis metabolómico y secuenciación del transcriptoma, se identificaron metabolitos y genes relacionados con la tolerancia al frío. Se encontró que la variedad tolerante al frío mostraba una acumulación más alta de ciertos metabolitos y una expresión más activa de genes de tolerancia al frío, especialmente aquellos involucrados en la biosíntesis de fenilpropanoides y vías metabólicas relacionadas con el azúcar soluble, poliaminas y lignina. Estos hallazgos no solo amplían nuestra comprensión de la resistencia al frío en el maní, sino que también podrían servir como base para mejorar la tolerancia al estrés en los cultivos mediante modificaciones genéticas.

Konstantinov et al. (2021) mencionan que el trigo harinero enfrenta desafíos significativos debido a estreses abióticos como la sequía y el frío, que afectan negativamente su productividad. Dado que la resistencia a estos factores es un rasgo complejo y multigénico, los métodos genómicos modernos, como el análisis completo del transcriptoma, son útiles para identificar genes relacionados con la respuesta al estrés y facilitar el mejoramiento genético. En este estudio, se examinó la respuesta transcriptómica de dos variedades de trigo con diferentes niveles de resistencia al estrés hídrico y por frío, utilizando la tecnología MACE de Illumina. Se identificaron grupos de genes asociados con la respuesta a estos estreses, algunos de los cuales podrían ser candidatos para genes de resistencia. Además, se observaron patrones comunes de cambio en la expresión génica en respuesta al estrés, tanto en las variedades estudiadas como en datos transcriptómicos anteriores. Se encontraron diferencias en los SNP a lo largo de los genomas de las variedades estudiadas, lo que proporciona información útil para el mejoramiento genético del trigo tolerante al estrés. Estos hallazgos contribuyen al avance del mejoramiento asistido por genómica en trigo.

### 1.2.2 Nacionales

Correa Guerrero (2018) indica que las bajas temperaturas extremas representan un desafío significativo para la producción global de cultivos, y la papa (*Solanum tuberosum*), un cultivo esencial para el consumo humano, es considerada susceptible a heladas. La papa nativa resistente a heladas, *Solanum*

*juzepczukii*, posee genes expresados en respuesta a bajas temperaturas que podrían ser valiosos en programas de mejora genética mediante técnicas biotecnológicas. Se implementó la metodología de hibridación sustractiva por supresión (SSH) para construir dos genotecas de ADNc recíprocas a partir de ARNm de hojas expuestas a temperaturas bajo cero y comparadas con las de condiciones normales. La secuenciación de los ADNc utilizando tecnología 454 reveló que aproximadamente el 80 % de los contigs obtenidos en ambas genotecas estaban significativamente asociados con términos de ontología de gen (GO). La anotación de estos genes identificó factores de transcripción de las familias WRKY, AP2/ERF y bHLH, vinculados a respuestas de resistencia frente a estrés abiótico. La validación futura de la función de estos genes podría establecer candidatos valiosos para la mejora genética de la papa.

Ponce Travezaño (2016) menciona que la sequía, es un desafío para la agricultura, ha motivado la investigación en cultivos cruciales como la papa (*Solanum tuberosum*). En este contexto, se centra en comprender la relación entre miRNAs (ARNs pequeños no codificantes) y el fenotipo de tolerancia a la sequía en la papa. Se utilizaron dos variedades de la subespecie andina, una resistente y otra susceptible a la sequía, para analizar la respuesta génica de sus miRNAs durante el estrés hídrico. La investigación, que empleó secuenciación masiva de ARNs pequeños y análisis bioinformáticos, identificó siete miRNAs expresados de manera opuesta en las variedades tolerante y susceptible. Estos miRNAs, como stu-miR172d-3p, stu-miR1886i-5p, stu-miR393-3p, stu-miR6025, stu-miR7992-5p, stu-miR8004 y stu-miR8009, se postulan como candidatos clave vinculados al fenotipo de tolerancia en la planta. Sus secuencias reguladas están asociadas con la producción de antioxidantes, respuesta al ABA, desarrollo de la planta, fijación de CO<sub>2</sub> y metabolismo de carbohidratos. Este estudio contribuye a la comprensión de los mecanismos moleculares que subyacen a la tolerancia a la sequía en la papa, ofreciendo perspectivas valiosas para mejorar la resistencia de los cultivos a condiciones de estrés hídrico.

Yousefi et al. (2022) investigaron la respuesta al estrés por frío en cultivos, especialmente en climas tropicales y subtropicales, donde las bajas temperaturas son un desafío para la productividad agrícola. Se realizó un análisis combinado de datos previamente publicados sobre cultivos tolerantes y sensibles al frío para

comprender mejor las redes de regulación génica y identificar genes clave asociados con la tolerancia al frío. Este análisis reveló un conjunto común de 236 y 242 genes regulados en genotipos sensibles y tolerantes, respectivamente, implicados en modificaciones de proteínas, metabolismo hormonal, pared celular y metabolismo secundario. Se observó una regulación positiva de genes relacionados con el estrés abiótico en genotipos sensibles, mientras que los genotipos tolerantes mostraron una regulación negativa. Además, se identificaron proteínas altamente interactivas relacionadas con la tolerancia al frío. Este estudio proporciona información valiosa para desarrollar marcadores moleculares y estrategias de mejora genética, incluyendo el uso de tecnologías como CRISPR/Cas9.

En su estudio, Toubiana et al. (2020) investigaron los efectos de la sequía intermitente en la morfología de las plantas y el metabolismo de los tubérculos de papas. Utilizaron un panel de asociación de 258 variedades y realizaron un estudio de campo en Ica, Perú, bajo diferentes condiciones de riego. Se observaron variaciones genotípicas y ambientales en los rasgos estudiados. Mediante análisis estadísticos y de redes, se identificaron vínculos entre rasgos morfológicos y metabolitos, destacando una correlación significativa entre el fumarato y el vigor de las plantas. Un estudio de asociación de todo el genoma reveló 11 marcadores asociados con fumarato, algunos de los cuales estaban ubicados dentro de genes relacionados con procesos metabólicos. Estos hallazgos son relevantes para futuras estrategias de mejora de la papa, especialmente en el contexto del cambio climático.

De la Cruz et al. (2023) se enfocaron en identificar nuevos genes de resistencia al tizón tardío en la papa, causado por *Phytophthora infestans*, utilizando cultivares diploides de *Solanum tuberosum* L. Andigenum Group (StAG). Se empleó un análisis de expresión génica diferencial para comparar dos accesiones con diferentes niveles de resistencia al tizón tardío. Se identificaron 303 genes candidatos relacionados con la resistencia, incluyendo genes R y proteínas asociadas con la resistencia a enfermedades. Este enfoque proporciona una manera efectiva de identificar rápidamente nuevos genes de resistencia a *Phytophthora infestans* en la papa.

Harms et al. (2021) muchos programas que buscan controlar biológicamente las malezas enfrentan desafíos debido a la variabilidad espacial en su efectividad, especialmente en climas templados, donde los agentes pueden estar restringidos en distribución o abundancia. En el caso de las malezas acuáticas, aunque se han establecido agentes, su supervivencia se ve limitada por condiciones de hibernación en áreas de latitudes o elevaciones más altas. Esto genera la necesidad de desarrollar herramientas de control biológico nuevas o mejoradas para áreas específicas. Se propone abordar este desafío focalizándose en las limitaciones de los agentes a bajas temperaturas y se sugiere una hoja de ruta para mejorar su éxito. Se consideran investigaciones a diferentes escalas espaciales, desde lo global (exploración extranjera) hasta lo local (cría selectiva) y lo individual (modificación molecular). Se sugiere que una combinación de métodos tradicionales y no tradicionales de exploración podría llevar al descubrimiento y desarrollo de agentes mejor adaptados. Un enfoque multivariado que utilice métricas ecológicamente relevantes podría ser necesario para evaluar y comparar la tolerancia al frío entre las poblaciones de agentes. Estos datos podrían ser útiles para predecir dónde y cuándo los agentes serán más abundantes, utilizando modelos de nichos ambientales y climáticos, así como las historias de vida de las especies. Además, se sugiere el uso de enfoques de biología sintética y de sistemas, junto con tecnologías de genómica avanzada, para identificar y modificar genes que mejoren la tolerancia al frío en los agentes. Sin embargo, se señala que estas tecnologías aún no se han explorado completamente en el contexto del control biológico de malezas.

### 1.2.3 Locales

Quintana Palacios (2018) menciona que, en las áreas agroecológicas de la sierra peruana, actualmente se enfrentan eventos climáticos que representan una amenaza para la producción agrícola, como heladas, sequías y granizadas, que han ocurrido de manera recurrente en los últimos años. A pesar de la existencia de técnicas agronómicas para mitigar los efectos del estrés causado por las bajas temperaturas, estas no son suficientes para reducir el riesgo de pérdidas en los cultivos. Por lo tanto, es crucial identificar variedades de papa nativas que sean tolerantes a estas condiciones climáticas adversas. El objetivo de la investigación fue precisamente identificar accesiones de papas nativas con tolerancia a bajas

temperaturas (heladas) en condiciones simuladas en La Molina. Se seleccionaron treinta accesiones de las regiones Cusco, Puno y Apurímac y se sometieron las plantas a temperaturas de 4°C, 0°C y -4°C durante 2,5 horas. Antes de la exposición a bajas temperaturas, se registró el estado fenológico y se caracterizaron diversas variables, como el color del tallo, grosor de la capa empalizada del parénquima foliar, número de estomas por área, contenido hídrico y contenido de clorofila. Todas las accesiones estudiadas demostraron tolerancia a temperaturas de 0°C y 4°C, y cuatro de ellas incluso a -4°C. Aquellas accesiones con mayor tolerancia presentaron características como una capa empalizada del parénquima foliar más gruesa, menor número de estomas por área, menor contenido hídrico, presencia de pigmentos antociánicos en el tallo y menor contenido de clorofila.

Quispe Mayta (2019) realizó este trabajo de investigación con el propósito de analizar el rendimiento de grano de tres variedades de quinua y un testigo con zona de frío, que incluían CICA-17, CICA-18, CICA-127, y la variedad local Amarilla Maranganí como control, provenientes del Centro de Investigación en Cultivos Andinos (CICA). Busco determinar el comportamiento fenológico, así como medir el contenido bromatológico de proteínas, aminoácidos y saponina en condiciones de frío. El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar (DBCA), con cuatro repeticiones, totalizando 16 unidades experimentales. Se aplicó el método de siembra en surco a chorro continuo, con distancias de 0.80 m entre surcos y 0.10 m entre plantas, y una densidad de siembra de 125,000 plantas por hectárea. En el estudio de variedades de quinua, la Amarilla Maranganí (testigo) mostró mayor contenido de saponina y menor contenido de proteínas y fibra en comparación con las variedades CICA-17, CICA-18 y CICA-127. La Amarilla Maranganí también presentó valores más altos de grasa, ceniza, carbohidratos y algunos aminoácidos. Las diferencias en estos componentes nutricionales sugieren variabilidad entre las variedades de quinua, destacando CICA-127 con un contenido más alto de proteínas y menor grado de saponina. Estos hallazgos son esenciales para seleccionar variedades con características nutricionales específicas en programas de mejora genética de la quinua.

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 2.1 Identificación del problema

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) se ha destacado como un cultivo versátil y nutritivo, pero su producción enfrenta desafíos significativos debido a factores ambientales adversos, siendo el estrés por frío uno de los más críticos (Xie et al., 2023). La variabilidad en las respuestas al frío entre genotipos contrastantes de quinua sugiere la existencia de mecanismos moleculares específicos que regulan estas respuestas (Ruiz, 2023). A pesar de los avances en la genómica y la biotecnología, la comprensión detallada de las redes biológicas subyacentes a la respuesta al frío en la quinua sigue siendo limitada (Anuradha et al., 2023; Nithya et al., 2024; S. Wang et al., 2022).

La falta de información sobre cómo los genes interactúan y se regulan en respuesta al estrés por frío impide el diseño de estrategias precisas para mejorar la resistencia al frío en este cultivo (Adhikari et al., 2022). La presente investigación se propone abordar esta laguna de conocimiento al enfocarse en la construcción detallada de redes biológicas que representen las complejas interacciones entre los genes regulados durante el estrés por frío. Además, se buscará entender la centralidad de los genes dentro de estas redes, evaluar la función biológica de los genes clave identificados y analizar las diferencias y similitudes entre genotipos contrastantes.

En este contexto, los genotipos contrastantes de quinua, como CRQ64 (tolerante) y CSQ5 (susceptible), presentan una oportunidad única para el análisis comparativo de redes biológicas y funcionales de genes regulados en respuesta al frío. Las diferencias en la regulación génica y las interacciones proteicas podrían ser claves para la comprensión de cómo estos genotipos activan y coordinan rutas metabólicas y mecanismos de defensa bajo condiciones de estrés por frío. Sin embargo, existe una brecha en el conocimiento acerca de cómo las redes de interacción génica y proteica difieren entre genotipos contrastantes de quinua. La identificación de genes clave, rutas metabólicas y clústeres proteicos asociados con la tolerancia o susceptibilidad al frío es esencial para mejorar la resiliencia de este cultivo frente a los cambios climáticos.

Este estudio no solo aborda una necesidad crítica en la investigación agrícola, sino que también tiene implicaciones directas para la seguridad alimentaria global al



proporcionar una base molecular para el mejoramiento genético de la quinua. La identificación de patrones de expresión génica y la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes permitirán el desarrollo de variedades más resistentes al estrés por frío, contribuyendo así a la sostenibilidad y la productividad de este cultivo esencial en diversas regiones del mundo. Al mejorar la resiliencia de la quinua frente a condiciones climáticas adversas, como las bajas temperaturas, no solo se garantiza la estabilidad del suministro de alimentos en zonas donde el cultivo es un pilar económico y nutricional, sino que también se potencia su expansión hacia nuevas áreas geográficas con climas más extremos. Esto es particularmente relevante en el contexto del cambio climático, donde los fenómenos meteorológicos impredecibles y los periodos de estrés abiótico son cada vez más frecuentes, afectando la producción agrícola mundial.

Además, al proporcionar una comprensión detallada de las redes biológicas que regulan la respuesta al frío en la quinua, se abre la posibilidad de aplicar estas estrategias de mejoramiento genético a otros cultivos, lo que podría tener un impacto transformador en la agricultura global. La quinua, conocida por su adaptabilidad y alto valor nutricional, podría servir como modelo para estudios en otros cultivos menos resistentes, fomentando prácticas agrícolas más resilientes y sostenibles.

## 2.2 Enunciados del problema

### 2.2.1 Problema general

- ¿Cuáles son las diferencias clave en las redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua (*Chenopodium quinoa*)?

### 2.2.2 Problemas específicos

- ¿Cómo se alinean los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante y susceptible al estrés por frío con los genes homólogos de *Arabidopsis thaliana*?
- ¿Cuáles son las principales vías metabólicas enriquecidas en las rutas de KEGG para los genes regulados en respuesta al frío en los genotipos CRQ64 y CSQ5?

- ¿Qué genes desempeñan un papel central en las redes de interacción biológica frente al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes, y cómo contribuyen estos genes a la regulación de la respuesta al frío?
- ¿Cuáles son los clústeres proteicos más importantes en las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío, y qué categorías funcionales están asociadas a estos clústeres en cada genotipo?

### 2.3 Justificación

La quinua ha emergido como un cultivo fundamental debido a su excepcional valor nutricional y adaptabilidad a diferentes entornos (Bazile et al., 2016). Sin embargo, la producción de quinua enfrenta desafíos considerables, especialmente en relación con el estrés por frío, que puede afectar negativamente su rendimiento y calidad (Ilhan et al., 2023). Comprender los mecanismos moleculares y las respuestas genéticas a este estrés térmico es esencial para desarrollar estrategias efectivas de mejoramiento genético que fortalezcan la resiliencia de la quinua en condiciones adversas (Afzal et al., 2023b).

La construcción de las redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en genotipos contrastantes de quinua representa un paso crucial hacia la identificación de genes clave y patrones de expresión génica asociados con la resistencia al frío (Luo et al., 2022). La construcción de redes biológicas permitirá visualizar las complejas interacciones entre los genes, proporcionando una comprensión más completa de los mecanismos moleculares subyacentes. Además, analizar la centralidad de los genes dentro de estas redes brindará información valiosa sobre las vías génicas centrales en la respuesta al frío, destacando posibles objetivos para estrategias de mejora (Di Silvestre et al., 2022; Nithya et al., 2024; Zeng et al., 2022).

La evaluación de la función biológica de los genes identificados mediante herramientas bioinformáticas y revisión de la literatura científica no solo contribuirá a la comprensión de los procesos biológicos involucrados, sino que también facilitará la identificación de genes candidatos para futuros estudios experimentales (Gusain et al., 2023; Nithya et al., 2024). Asimismo, el análisis de las diferencias y similitudes en las redes génicas entre genotipos contrastantes arrojará luz sobre las adaptaciones genéticas

específicas que han evolucionado en respuesta al estrés por frío (Fernandez-Pozo et al., 2022).

Este trabajo de investigación no solo aborda una necesidad crítica en la producción de quinua, sino que también contribuirá significativamente al avance del conocimiento en biología molecular vegetal y a la aplicación de enfoques bioinformáticos en la mejora genética de cultivos. Al investigar los mecanismos genéticos que subyacen a la tolerancia al estrés por frío en genotipos contrastantes de quinua, se generan nuevos conocimientos que tienen el potencial de transformar tanto la agricultura tradicional como la moderna, al integrar herramientas avanzadas de biotecnología y bioinformática. Estos enfoques permiten un análisis profundo de las redes de interacción génica y los perfiles de expresión, proporcionando una comprensión detallada de los factores que regulan la capacidad de las plantas para enfrentar condiciones adversas. Este conocimiento será fundamental no solo para la quinua, sino también para otras especies de plantas que enfrentan desafíos similares en entornos donde las bajas temperaturas limitan su rendimiento productivo.

Los resultados obtenidos de esta investigación tendrán aplicaciones prácticas directas en el desarrollo de variedades de quinua más resistentes al estrés por frío, lo que permitirá su cultivo en regiones que actualmente no son aptas debido a limitaciones climáticas. Esto, a su vez, fortalecerá la seguridad alimentaria en comunidades vulnerables al ofrecer un cultivo robusto y altamente nutritivo que puede prosperar en condiciones climáticas desfavorables. Además, el desarrollo de variedades tolerantes al frío contribuirá a la diversificación de las opciones agrícolas en regiones afectadas por el cambio climático, permitiendo a los agricultores adaptarse a nuevas realidades ambientales y mantener la productividad de sus tierras.

## 2.4 Objetivos

### 2.4.1 Objetivo general

- Construir y analizar las redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua (*Chenopodium quinoa*).

### 2.4.2 Objetivos específicos

- Realizar alineamiento local de los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante CRQ64 y susceptible CSQ5 al estrés por frío, con genes de *Arabidopsis thaliana*.
- Analizar el enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG, identificando las vías metabólicas más relevantes en la respuesta al frío en los genotipos tolerante y susceptible.
- Evaluar la centralidad de los genes en las redes de interacción biológica asociadas a la respuesta al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes.
- Determinar los clústeres proteicos y sus respectivas categorías funcionales dentro de las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío.

## 2.5 Hipótesis

### 2.5.1 Hipótesis general

- Existen diferencias significativas en las redes biológicas de genes regulados en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua (*Chenopodium quinoa*).

### 2.5.2 Hipótesis específicas

- Los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante (CRQ64) y susceptible (CSQ5) al estrés por frío presentan un alto grado de alineamiento con los genes homólogos de *Arabidopsis thaliana*.



- Las rutas metabólicas enriquecidas en las rutas de KEGG para los genes regulados en respuesta al frío son significativamente diferentes entre los genotipos CRQ64 y CSQ5, con una mayor activación de vías relacionadas con la protección celular en el genotipo tolerante.
- Los genes con mayor centralidad en las redes de interacción biológica frente al estrés por frío en los genotipos CRQ64 y CSQ5 son diferentes, desempeñando roles clave en la regulación de mecanismos específicos de tolerancia en el genotipo CRQ64 y de susceptibilidad en el genotipo CSQ5.
- Los clústeres proteicos identificados en las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío presentan diferencias funcionales entre los genotipos CRQ64 y CSQ5, con categorías proteicas más diversificadas y relacionadas con la defensa en el genotipo tolerante.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba, institución que dispone de los recursos necesarios, tanto en infraestructura como en equipo humano calificado, para desarrollar este tipo de estudio. La universidad se encuentra en el distrito de Santa Ana, provincia de La Convención, en la región de Cusco, con las coordenadas geográficas -12,856527931738885, -72,69179264156764.

Quillabamba, por su parte, es una ciudad conocida por su clima tropical, caracterizado por temperaturas cálidas y lluvias abundantes, lo que la convierte en un área ideal para el cultivo de productos como café, cacao, frutas tropicales y té. En términos socioeconómicos, es un importante centro agrícola cuya economía se sustenta principalmente en la producción y comercialización de estos productos. Su ubicación estratégica, cercana a la selva y los Andes, facilita su papel como eje de rutas comerciales. Culturalmente, Quillabamba fusiona tradiciones andinas y amazónicas, manifestadas en celebraciones como el Carnaval y la Fiesta de San Juan, que reflejan la rica herencia cultural de la región. Además, la ciudad está emergiendo como un destino turístico, destacando por su entorno natural y proximidad a atractivos como Machu Picchu.

#### 3.2 Población

Para llevar a cabo la investigación, se recuperaron 12 bibliotecas de RNA-Seq del archivo Sequence Read Archive (SRA) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), accesibles en el siguiente enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>, bajo el número de acceso BioProject PRJINA825645. Estas bibliotecas contienen datos valiosos sobre la expresión genética en respuesta al estrés por frío en genotipos contrastantes de quinua.

A partir de estas bibliotecas de RNA-Seq, se identificaron un total de 5244 genes diferencialmente expresados en el genotipo tolerante al frío. De estos, 2493 genes fueron regulados positivamente y 2751 genes fueron regulados negativamente, lo que refleja la respuesta adaptativa de este genotipo frente al estrés térmico. En contraste, en el genotipo

susceptible se identificaron 3844 genes diferencialmente expresados, de los cuales 2009 genes fueron regulados positivamente y 1835 genes regulados negativamente. Estos datos proporcionan una visión detallada de las diferencias en la expresión génica entre los genotipos de quinua tolerante y susceptible cuando se exponen a condiciones de frío.

### 3.3 Muestra

Para la investigación, se seleccionaron como muestras aquellos genes que cumplieron con criterios estrictos de significancia, utilizando un Fold change  $\log_2FC \geq 3$  o  $\leq -3$ , y un p-valor ajustado ( $p_{adj}$ )  $\leq 0.05$ . En el genotipo tolerante al frío, se identificaron 69 genes diferencialmente expresados, de los cuales 44 fueron regulados positivamente y 25 fueron regulados negativamente. En el genotipo susceptible, se encontraron 96 genes diferencialmente expresados, con 66 regulados positivamente y 30 regulados negativamente.

En total, se tomaron como muestra 165 genes diferencialmente expresados en respuesta al estrés por frío en ambos genotipos, lo que permitió analizar en detalle los mecanismos moleculares asociados con la tolerancia y susceptibilidad al frío en la quinua.

### 3.4 Método de investigación

Este estudio se llevó a cabo bajo un enfoque cuantitativo y un alcance explicativo, con el objetivo de comprender los mecanismos moleculares subyacentes a la tolerancia y susceptibilidad de genotipos de quinua frente al estrés por frío. Se recuperaron 12 bibliotecas de RNAseq de la base de datos Sequence Read Archive (SRA) del National Center for Biotechnology Information (NCBI), correspondientes a dos genotipos de quinua, uno tolerante (CRQ64) y otro susceptible (CSQ5) al frío, que fue realizado en un trabajo previo (Zheng et al., 2022). El propósito principal de este estudio fue ilustrar y explicar la interacción de los genes regulados en respuesta al estrés por frío en ambos genotipos.

En el estudio mencionado, los autores trabajaron con los genotipos CRQ64 y CSQ5. Las semillas esterilizadas se sembraron en placas de medio MS y se incubaron en un invernadero a 22 °C, bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. A los tres días de crecimiento, las plántulas fueron trasladadas a una cámara de tratamiento a 4 °C, con un ciclo continuo de 24 horas de oscuridad. Simultáneamente, las plántulas de control se mantuvieron en condiciones de oscuridad pero a 22 °C. Después de 24 horas

de tratamiento, se recolectaron tanto las plántulas sometidas al frío como las de control. Estas fueron inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para proceder con la extracción de ARN. Para la preparación de la biblioteca de ADNc, se utilizó  $1\text{ }\mu\text{g}$  de ARN total, siguiendo el protocolo proporcionado por ONT (Zheng et al., 2022).

### **3.5 Descripción detallada de métodos por objetivos específicos**

#### **3.5.1 Metodología para realizar alineamiento local de los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante y susceptible al estrés por frío, con genes de *Arabidopsis thaliana***

##### **A. Datos para análisis**

12 bibliotecas de RNAseq se recuperaron de la base de datos Sequence Read Archive (SRA) del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Los datos específicos están asociados con el BioProject PRJINA825645, accesible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>. Los datos incluyen secuencias de expresión génica obtenidas de dos genotipos de quinua contrastantes en condiciones de estrés por frío.

##### **B. Alineamiento local de los genes regulados frente al estrés por frío**

El alineamiento local de los genes regulados en respuesta al estrés por frío se llevó a cabo utilizando herramientas de análisis de secuencias en un entorno de Ubuntu. En primer lugar, se instaló el software BLAST+ en el terminal de Ubuntu para realizar comparaciones de secuencias. La instalación se efectuó con el comando:

```
sudo apt install ncbi-blast+
```

Este comando descarga e instala BLAST+, una herramienta esencial para el análisis de alineamientos de secuencias proteicas y nucleotídicas, asegurando que el software esté disponible y actualizado para el análisis posterior.



Una vez instalado BLAST+, se procedió a la preparación de la base de datos de secuencias de proteínas de *Arabidopsis thaliana*, obtenidas a través del recurso STRING (<https://string-db.org/>). Para que estas secuencias pudieran ser utilizadas en el alineamiento, se requirió convertirlas en un formato adecuado para BLAST. Esto se logró mediante la creación de una base de datos BLAST con el siguiente comando:

```
makeblastdb -in 3702.protein.sequences.v11.5.fa -dbtype prot
```

Este comando toma el archivo 3702.protein.sequences.v11.5.fa, que contiene las secuencias proteicas de *Arabidopsis thaliana*, y lo convierte en una base de datos de proteínas que puede ser utilizada para realizar alineamientos de secuencias. El parámetro -dbtype prot especifica que el archivo de entrada contiene secuencias proteicas y no nucleotídicas.

Con la base de datos preparada, se procedió a realizar el alineamiento local de las proteínas reguladas en los genotipos de quinua frente al estrés por frío. Este análisis se llevó a cabo mediante la herramienta BLAST+ con el comando blastp, que compara las secuencias proteicas de las proteínas reguladas con las de la base de datos de *Arabidopsis thaliana*. El comando utilizado para el alineamiento fue:

```
blastp -query fastaUpregulated.fa -db  
3702.protein.sequences.v11.5.fa -out blastXstring.out -evalue 1e-10 -  
outfmt 6 -max_target_seqs 1 -num_threads 7
```

En este comando, -query fastaUpregulated.fa especifica el archivo de entrada que contiene las secuencias de proteínas reguladas en quinua. -db 3702.protein.sequences.v11.5.fa indica la base de datos de proteínas de *Arabidopsis thaliana* utilizada para la comparación. La opción -out blastXstring.out define el archivo donde se guardarán los resultados del alineamiento. El parámetro -evalue 1e-10 establece un umbral extremadamente bajo para el valor e-value, asegurando que solo se consideren alineamientos con alta significancia. -outfmt 6 produce una salida en formato tabular, que es conveniente para el análisis, mientras que -max\_target\_seqs 1 limita la salida a un solo alineamiento por secuencia

de consulta, enfocándose en los mejores resultados. El uso de `-num_threads 7` permite que el proceso se ejecute en paralelo utilizando siete hilos, acelerando el análisis.

Después de completar el alineamiento, se extrajeron los identificadores de las proteínas homólogas a partir de los resultados obtenidos. Para ello, se utilizó el comando `awk` para seleccionar la segunda columna del archivo de salida, que contiene los identificadores de las proteínas de *Arabidopsis thaliana* que mostraron las mejores homologías con las proteínas de quinua. El comando utilizado fue:

```
awk '{print $2}' blastXstring.out > similar_rede_string.id
```

Este comando extrae los identificadores relevantes y los guarda en un archivo separado llamado `similar_rede_string.id`.

Finalmente, se generó un archivo que contiene las proteínas homólogas identificadas, que serán utilizadas en análisis posteriores para comparar y validar las respuestas al estrés por frío en los genotipos de quinua. Este archivo permite la identificación de proteínas similares en *Arabidopsis thaliana*, facilitando el entendimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la respuesta al estrés por frío en quinua.

### **3.5.2 Metodología para analizar el enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG, identificando las vías metabólicas más relevantes en la respuesta al frío en los genotipos tolerante y susceptible**

#### **A. Anotación funcional de proteínas**

La anotación funcional de las proteínas se llevó a cabo utilizando dos herramientas web especializadas: Egnog y Pannzer2. Estas plataformas proporcionan información detallada sobre la función biológica y los roles de las proteínas en diferentes contextos. Para acceder a Egnog, se utilizó el portal disponible en <http://eggnog5.embl.de/#/app/home>, y para Pannzer2, se empleó el sitio <http://ekhidna2.biocenter.helsinki.fi/sanspanz/>. Ambos servicios

permitieron la asignación de funciones a las proteínas basándose en diversas bases de datos y métodos de predicción.

Una vez obtenidas las anotaciones de ambas herramientas, se realizó un proceso de integración y depuración para consolidar la información. Esto implicó combinar las anotaciones de Egnog y Pannzer2 en un solo archivo, eliminando redundancias y asegurando que solo se mantuvieran las anotaciones más relevantes y precisas. Esta etapa es crucial para evitar la duplicación de datos y para simplificar el análisis posterior. El archivo consolidado de anotaciones funcionales fue luego importado a Cytoscape, una plataforma para la visualización y análisis de redes biomoleculares, disponible en <https://cytoscape.org/>. Cytoscape facilitó la visualización de las redes de interacción entre proteínas y la interpretación de sus funciones biológicas dentro del contexto del estrés por frío.

## **B. Ontología genética**

El análisis de ontología genética se realizó utilizando BiNGO, un complemento para Cytoscape que permite evaluar el grado de enriquecimiento funcional en grupos y categorías de genes. BiNGO emplea la distribución hipergeométrica para calcular el valor  $p$ , que mide la significancia estadística del enriquecimiento funcional en cada categoría ontológica. Este análisis ayuda a identificar las categorías genéticas que están sobrerrepresentadas en los datos, proporcionando información sobre las funciones biológicas y los procesos celulares que son particularmente relevantes en respuesta al estrés por frío.

## **C. Enriquecimiento funcional de las rutas metabólicas de KEGG**

El enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG se realizó para ambos genotipos de quinua (tolerante y susceptible). KEGG proporciona una base de datos exhaustiva sobre las vías metabólicas y los procesos biológicos a nivel de sistemas, utilizando información molecular para interpretar funciones biológicas a gran escala. El análisis de enriquecimiento funcional permite identificar

qué rutas metabólicas están significativamente representadas entre los genes regulados en respuesta al estrés por frío.

Se utilizó el Software R versión 4.4.1 para realizar los gráficos que ilustran el enriquecimiento en las rutas metabólicas de KEGG. Este software facilitó la visualización de las rutas metabólicas relevantes, permitiendo una evaluación detallada de cómo los genes regulados contribuyen a diferentes procesos metabólicos en respuesta al estrés. Los gráficos obtenidos proporcionaron una representación clara de las rutas metabólicas más afectadas y ayudaron a interpretar los cambios en la actividad metabólica en función de los genotipos de quinua.

### **3.5.3 Metodología para evaluar la centralidad de los genes en las redes de interacción biológica asociadas a la respuesta al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes**

Para llevar a cabo el análisis de centralidad, enfocado en los parámetros de Bottleneck y Hub, se utilizarán los archivos de conexión previamente extraídos mediante Cytoscape. El análisis se ejecuto utilizando un script específico diseñado para esta tarea, disponible en el siguiente enlace: <https://drive.google.com/file/d/1ls-rwl2wPEpbmfOnm7fdl9Gi1byDPm17/view?usp=sharing>. Este script se implementó en el entorno de RStudio, un entorno integrado de desarrollo para R, con el fin de procesar los datos de la red de genes homólogos regulados tanto positiva como negativamente en la quinua sometida a estrés por frío.

El script está diseñado para identificar los genes que actúan como Hub y Bottleneck dentro de la red de interacción proteína-proteína. Los genes Hub son aquellos que tienen una alta centralidad, es decir, que están altamente conectados con otros nodos en la red. Por otro lado, los genes Bottleneck son aquellos que actúan como puentes críticos entre diferentes secciones de la red, facilitando el flujo de información entre nodos no conectados directamente.

Una vez ejecutado el script, se generó un archivo de salida que contiene una lista de genes junto con sus valores de centralidad, especificando si son Hub o Bottleneck. Este archivo fue descargado y organizado en un formato Excel,

ordenando los genes de manera descendente según sus valores de centralidad. Este enfoque permitió una visualización clara de los genes más relevantes en la red, facilitando su análisis y la interpretación de su papel en la respuesta al estrés por frío.

El análisis de centralidad proporcionó una perspectiva detallada sobre la importancia relativa de los genes homólogos en la red reguladora de la quinua bajo estrés por frío. La identificación de genes Hub y Bottleneck permitió destacar los nodos críticos que juegan un papel esencial en la regulación genética y en la adaptación de la planta a las condiciones de estrés. La organización de los resultados en Excel no solo facilitó la interpretación de los datos, sino que también permitió una rápida identificación de los genes más influyentes, contribuyendo a un entendimiento más profundo de la regulación genética en respuesta al estrés por frío.

#### **3.5.4 Metodología para determinar los clústeres proteicos y sus respectivas categorías funcionales dentro de las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío**

El análisis de conglomerados proteicos se realizó con el objetivo de identificar agrupaciones de genes que participan en procesos biológicos específicos como respuesta al estrés por frío. Para llevar a cabo este análisis, se utilizó un script específico disponible en el siguiente enlace: <https://drive.google.com/file/d/1ls-rwl2wPEpbmfOnm7fdl9Gi1byDPm17/view?usp=sharing>. Este script fue implementado en el entorno de RStudio, facilitando el procesamiento y la clasificación de los genes regulados en función de su interacción dentro de la red de proteínas.

El análisis se centró en identificar grupos de genes que comparten funciones similares o que participan conjuntamente en rutas metabólicas o procesos biológicos relacionados con la respuesta al estrés por frío en quinua. Utilizando el script mencionado, se generó una lista de genes clasificados en diferentes clústeres, asignándoles un valor numérico que indica su pertenencia a un grupo específico.

Para facilitar la interpretación de los resultados, los genes clasificados se organizaron en un archivo Excel, ordenados de mayor a menor según su relevancia o su grado de participación dentro de cada clúster. Esta clasificación permitió una rápida identificación de los genes más influyentes en cada conglomerado y facilitó el análisis posterior.

Una vez identificados los clústeres de proteínas, se determinó sus respectivas categorías funcionales. Esto se logró mediante el análisis de enriquecimiento funcional, utilizando bases de datos como Gene Ontology (GO) o KEGG para asignar funciones biológicas a cada grupo de genes. Las clases funcionales afectadas de manera significativa por el tratamiento de frío se visualizaron en forma de diagramas que representan los procesos biológicos o desgloses metabólicos más relevantes. Estos diagramas permitieron una visualización clara de cómo los diferentes clústeres de proteínas contribuyen a la respuesta al estrés por frío en los genotipos contrastantes de quinua.

Este enfoque integrador proporcionó una comprensión detallada de las interacciones proteína-proteína en quinua y facilitó la identificación de los mecanismos moleculares clave implicados en la adaptación al frío, proporcionando una base sólida para futuros estudios de biotecnología y mejora genética.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Alineamiento local de los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante y susceptible al estrés por frío, con genes de *Arabidopsis thaliana*

Se ha llevado a cabo un alineamiento local entre los genes regulados positiva y negativamente en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua: el genotipo tolerante CRQ64 y el susceptible CSQ5. Este alineamiento se realizó utilizando como referencia los genes de *Arabidopsis thaliana*, que es una planta modelo ampliamente estudiada y cuyo genoma está completamente anotado. A diferencia de la quinua, *Arabidopsis* cuenta con una gran cantidad de información genética disponible, lo que permite utilizar sus genes como base para establecer comparaciones funcionales y estructurales.

El análisis se centró exclusivamente en aquellos genes que mostraron un Fold change (cambio de expresión génica) significativo, con un umbral de  $\geq 3$  para la regulación positiva y  $\leq -3$  para la regulación negativa. Este criterio asegura que solo se incluyan los genes con cambios de expresión más pronunciados, lo que refuerza la confianza en que estos genes desempeñan un papel relevante en la respuesta al estrés por frío.

Para determinar la significancia estadística de los resultados, se empleó la prueba exacta de Fisher ( $P \leq 0,05$ ), que es adecuada para estudios con tamaños de muestra relativamente pequeños y para análisis de datos categóricos, como el caso del alineamiento de secuencias génicas. Esta prueba permite evaluar si las diferencias observadas en la expresión génica entre los genotipos contrastantes son estadísticamente significativas, lo que refuerza la robustez de los hallazgos.

Un factor adicional importante en el análisis fue la similitud de secuencias. Se estableció un umbral de al menos 50 % de identidad para considerar una alineación válida entre los genes de quinua y *Arabidopsis*. Este criterio asegura que solo se incluyan genes con suficiente similitud para inferir una posible función

conservada entre ambas especies, evitando falsas comparaciones debidas a diferencias evolutivas o genéticas demasiado grandes. Una identidad del 50 % o más indica que las secuencias génicas probablemente compartan funciones similares, lo que permite extrapolar los resultados de *Arabidopsis* a la quinua con mayor confianza.

Este enfoque de alineamiento local tiene varias ventajas. En primer lugar, al comparar los genes de quinua con los de una planta modelo como *Arabidopsis thaliana*, es posible inferir la función de genes en quinua que no están completamente anotados o cuya función es desconocida. Además, al identificar genes con respuestas similares al estrés por frío en ambas especies, se puede mejorar la comprensión de los mecanismos de adaptación a condiciones abióticas extremas.

En la Tabla 1, se presentan los 44 genes regulados positivamente en el genotipo tolerante CRQ64 en respuesta al estrés por frío, los cuales fueron alineados con los genes de *Arabidopsis thaliana*. Este alineamiento permite evaluar el nivel de similitud entre las secuencias genéticas de quinua y *Arabidopsis*.

Entre los genes alineados, aquellos que mostraron un mayor porcentaje de identidad con sus homólogos en *Arabidopsis* fueron: IPS3 con un 90,60 %, seguido de ABCI20 con 86,40 %, CHS con 84,60 %, NMT2 con 80,00 %, ADO3 con 79,40 %, AAE3 con 77,50 %, ABCI19 con 77,10 % y PGR5 con 77,00 %. Estos altos niveles de identidad reflejan una conservación funcional considerable entre ambas especies, sugiriendo que estos genes podrían desempeñar papeles clave en la respuesta al estrés abiótico, específicamente al frío. IPS3, involucrado en el metabolismo de inositoles, es esencial en la señalización celular y la regulación del crecimiento, lo que puede ser crucial para la tolerancia al estrés por frío. Del mismo modo, los genes ABCI20 y ABCI19, pertenecientes a la familia de transportadores ABC, destacan por su importancia en el transporte de solutos, lo que podría facilitar la adaptación de las plantas a condiciones adversas mediante la regulación de procesos metabólicos esenciales.

Por otro lado, los genes con menor porcentaje de identidad fueron: Q1G3G9\_ARATH con un 52,60 %, F4JTL0\_ARATH con 52,00 %, EXL3 con



51,80 %, UGT74F2 con 51,60 %, PSBY con 51,30 %, F13I12.140 con 51,10 %, UGT75D1 con 50,90 %, DTX18 con 50,70 %, y finalmente ndhL y F2K13.150, ambos con un 50,00 % de identidad. Aunque estos genes presentan una menor similitud, todavía cumplen con el umbral del 50 %, lo que sugiere que mantienen cierta conservación funcional con *Arabidopsis*, aunque podrían haber divergido evolutivamente para adaptarse a las condiciones únicas del ambiente en el que crece la quinua.

La diversidad en los porcentajes de identidad entre los genes refleja tanto la conservación evolutiva como las posibles adaptaciones específicas que la quinua ha desarrollado para enfrentar condiciones ambientales extremas, como las bajas temperaturas en las regiones altoandinas. Esta variabilidad es indicativa de que algunos procesos metabólicos y mecanismos de defensa están altamente conservados entre especies, mientras que otros han sido modificados o adaptados para optimizar la respuesta al estrés por frío en quinua.

Este análisis también resalta la importancia de genes como CHS (chalcona sintasa), que juega un papel fundamental en la biosíntesis de flavonoides, un grupo de metabolitos secundarios que contribuyen a la protección de la planta frente a diversos factores de estrés, incluyendo el estrés abiótico como el frío. Además, genes como PGR5 están relacionados con la regulación del transporte de electrones en la fotosíntesis, un proceso que puede ser afectado por las bajas temperaturas.

En contraste, genes como ndhL y F2K13.150, que mostraron un 50 % de identidad, podrían estar involucrados en mecanismos más específicos de quinua o haber experimentado una divergencia evolutiva significativa en relación con *Arabidopsis*. Esto podría indicar que estos genes han desarrollado nuevas funciones o han sido modificados para adaptarse mejor a las condiciones extremas de las zonas altoandinas donde crece la quinua.

**Tabla 1**

*Alineamiento local de genes regulados positivamente en el genotipo tolerante al estrés por frío de quinua con genes de Arabidopsis thaliana*

ID	Gen_quinua	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
1	A0A803KSM3	3702.Q9LX12	IPS3	90,6
2	A0A803KXK8	3702.Q9LX12	IPS3	90,4
3	A0A803KN29	3702.Q9LZ98	ABCI20	86,4
4	A0A803L4J1	3702.Q9LZ98	ABCI20	86,2
5	A0A803MZG7	3702.P13114	CHS	84,6
6	A0A803NDL1	3702.Q944H0	NMT2	80
7	A0A803MBJ6	3702.Q9C9W9	ADO3	79,4
8	A0A803M0C5	3702.Q9SMT7	AAE3	77,5
9	A0A803N153	3702.Q3EDJ0	ABCI19	77,1
10	A0A803MTV4	3702.Q9SL05	PGR5	77
11	A0A803MEM7	3702.Q9SI61	ASE1	77
12	A0A803LSK5	3702.Q3EDJ0	ABCI19	76,4
13	A0A803LRP0	3702.Q94A68	F12K11.2	76
14	A0A803MK87	3702.Q94K66	ELIP2	74,8
15	A0A803NBM8	3702.P92979	Apr1	74
16	A0A803KUT9	3702.Q9ZU50	BAT1-2	73,6
17	A0A803N2W2	3702.Q9SSL0	F15H11.7	73,5
18	A0A803MD37	3702.Q9MAX3	SULTR1;2	73,4
19	A0A803LCK1	3702.P19036	HSP17.4A	73,2
20	A0A803LJP1	3702.Q9SSL0	F15H11.7	72,4
21	A0A803KXD4	3702.Q02972	CAD8	71,8
22	A0A803M4D4	3702.P10795	RBCS-1A	71,3

ID	Gen_quinoa	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
23	A0A803M3Y8	3702.Q9STY0	PEX11B	70,4
24	A0A803LYB8	3702.Q9SZ42	FAD4	69,9
25	A0A803KZG2	3702.Q3EBF7	SLD2	68,5
26	A0A803LQU9	3702.Q9LN94	EXPA7	67,8
27	A0A803M329	3702.Q3EBF7	SLD2	65,5
28	A0A803M777	3702.O22203	CYP98A3	63,9
29	A0A803N521	3702.Q9M2S1	T22E16.240	63,1
30	A0A803L695	3702.Q9LQ07	EXPA18	62,9
31	A0A803LTQ9	3702.Q9LQ07	EXPA18	62,8
32	A0A803KTH0	3702.Q9SID1	BBX25	62,3
33	A0A803M5Y6	3702.Q96288	BBX24	61,6
34	A0A803LRX9	3702.Q9FMX7	NIC2	61,5
35	A0A803MGP2	3702.Q9SHJ5	GPAT1	61,2
36	A0A803LMB3	3702.F4JTB3	DTX35	60,9
37	A0A803MDJ8	3702.Q9SAA9	CYP51G1	60,8
38	A0A803LN11	3702.Q949X0	ADS3	60,7
39	A0A803LZ32	3702.Q9LVY7	CYP716A1	59
40	A0A803M094	3702.Q9FF86	DCR	58,5
41	A0A803M5A9	3702.Q96330	FLS1	58
42	A0A803M503	3702.Q9C7G6	F28P5.8	56,9
43	A0A803KM26	3702.Q8RWR1	JMJ30	56,8
44	A0A803NC66	3702.Q8RWR1	JMJ30	56,8

*Nota.* Se seleccionaron los genes de quinua con un FC mayor a 3 o menor a -3, ya que estos son considerados diferencialmente expresados. Además, solo se incluyeron aquellos genes que presentaron un porcentaje de identidad superior al 50 % con los genes de *Arabidopsis*.

En la Tabla 2, se presentan los 25 genes regulados negativamente en el genotipo tolerante CRQ64 en respuesta al estrés por frío, alineados con sus homólogos en *Arabidopsis thaliana*.

Entre los genes alineados, aquellos con un mayor porcentaje de identidad incluyen a F22K18.20 con un 83,6 %, BXL1 con 78,6 %, TIP1-3 con 78,2 %, BGAL1 con 75,8 %, T4M8.22 con 72,2 %, BGAL12 con 71,6 %, XTH25 con 66,5 %, GH9B13 con 66 %, HLS1 con 66 %, GRXC11 con 65,7 % y MIF1 con 64,7 %. Estos altos porcentajes de similitud reflejan una conservación funcional significativa entre quinua y *Arabidopsis*, lo que sugiere que estos genes probablemente están involucrados en mecanismos esenciales de defensa frente al estrés por frío.

F22K18.20 y BXL1 son genes que participan en procesos relacionados con la modificación de la pared celular, un mecanismo importante que permite la reestructuración y endurecimiento de las células durante el estrés abiótico, mejorando la resistencia de la planta. TIP1-3, un miembro de la familia de las acuaporinas, regula el transporte de agua a través de las membranas celulares, un proceso vital en la respuesta al frío, ya que la disponibilidad y movilidad del agua en las células es crítica en condiciones de bajas temperaturas.

Los genes BGAL1 y BGAL12, que codifican beta-galactosidasas, juegan un papel en la degradación de polisacáridos de la pared celular, permitiendo ajustes rápidos en la estructura celular bajo estrés. La alta identidad de estos genes con sus contrapartes en *Arabidopsis* sugiere que estas funciones están conservadas en ambas especies, subrayando su importancia en la adaptación al estrés.

Por otro lado, los genes que mostraron menor porcentaje de identidad incluyen a F27G19.50 (63,2 %), GDU1 (63,2 %), BGAL12 (61,3 %), T07M07,11 (60,4 %), GH9B13 (60,3 %), F5D21,4 (57,6 %), CYP74A (52,7 %), ATL78 (52,5 %) y CPT4 (52,3 %). Estos genes, aunque con porcentajes de similitud más bajos, aún presentan una conservación funcional básica por encima del umbral del 50 %, lo que indica que mantienen funciones esenciales aunque podrían haber experimentado modificaciones evolutivas que les permiten desempeñar roles adaptativos únicos en quinua.

**Tabla 2**

*Alineamiento local de genes regulados negativamente en el genotipo tolerante al estrés por frío en quinua con genes de Arabidopsis thaliana*

ID	Gen_quinua	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
1	A0A803MA28	3702.Q9C5M8	F22K18.20	83,6
2	A0A803NAF8	3702.Q9FGY1	BXL1	78,6
3	A0A803KS33	3702.O82598	TIP1-3	78,2
4	A0A803LD80	3702.Q9SCW1	BGAL1	75,8
5	A0A803L9D4	3702.Q9ZQ71	T4M8.22	72,2
6	A0A803MRS6	3702.Q9SCV0	BGAL12	71,6
7	A0A803ME47	3702.Q38907	XTH25	66,5
8	A0A803LA09	3702.O81416	GH9B13	66
9	A0A803N4D9	3702.Q42381	HLS1	66
10	A0A803MUA6	3702.Q9LYC6	GRXC11	65,7
11	A0A803N3F6	3702.Q9CA51	MIF1	64,7
12	A0A803LPV2	3702.Q93V62	F27G19.50	64,4
13	A0A803N3B1	3702.Q9C5J9	LIP1-3	64,3
16	A0A803LLE8	3702.Q93V62	F27G19.50	63,2
17	A0A803LPV3	3702.Q93V62	F27G19.50	63,2
18	A0A803LXV3	3702.O81775	GDU1	63,2
19	A0A803MDG3	3702.Q9SCV0	BGAL12	61,3
20	A0A803M3W6	3702.Q9XEF2	T07M07.11	60,4
21	A0A803M9F7	3702.O81416	GH9B13	60,3
22	A0A803M9S7	3702.Q9C8K7	F5D21.4	57,6
23	A0A803LNY8	3702.Q96242	CYP74A	52,7
24	A0A803KX61	3702.Q6NQG7	ATL78	52,5
25	A0A803ML98	3702.Q56Y11	CPT4	52,3

*Nota.* Se seleccionaron los genes de quinua con un FC mayor a 3 o menor a -3, ya que estos son considerados diferencialmente expresados.

En la Tabla 3, se detallan los 66 genes regulados positivamente en el genotipo susceptible CSQ5 en respuesta al estrés por frío, los cuales fueron alineados con los genes de *Arabidopsis thaliana*.

De los genes alineados, aquellos que mostraron un mayor porcentaje de identidad incluyen a IPS3 con un 90,6 %, MYB80 con 90 %, CHLH con 87,1 %, ABCI20 con 86,4 %, CHS con 84,6 %, NMT2 con 80 %, ADO3 con 79,4 %, AAE3 con 77,5 %, PGR5 con 77 %, ABCI19 con 76,4 %, F12K11.2 con 76 % y ELIP2 con 74,8 %. Estos genes no solo son altamente similares a sus homólogos en *Arabidopsis*, sino que también están vinculados a procesos biológicos fundamentales en la respuesta al estrés abiótico.

Entre estos genes de alta identidad, se encuentran algunos implicados en funciones críticas como la regulación de la fotosíntesis y el metabolismo de aminoácidos y lípidos. Por ejemplo, MYB80, un factor de transcripción, desempeña un papel importante en la regulación del desarrollo floral y la muerte celular programada, procesos que podrían verse alterados en respuesta a condiciones de estrés. Asimismo, genes como CHLH y ABCI20, involucrados en la biosíntesis de clorofilas y el transporte de compuestos lipídicos, sugieren que, a pesar de su susceptibilidad, el genotipo CSQ5 activa mecanismos de adaptación para mitigar el daño causado por el frío.

El gen IPS3, que exhibe el mayor porcentaje de identidad (90,6 %), está relacionado con el transporte de fosfatos, un proceso crucial en la respuesta al estrés abiótico, dado que el estrés por frío puede alterar el equilibrio de nutrientes dentro de las células vegetales, afectando su crecimiento y desarrollo. La alta conservación de este gen entre quinua y *Arabidopsis* subraya la importancia de este mecanismo de adaptación en ambos organismos.

En contraposición, los genes que mostraron un menor porcentaje de identidad incluyen a LTP4 con 53,8 %, Q93ZE3\_ARATH con 53,8 %, DREB1A con 53,1 %, LSU1 con 52,9 %, Q1G3G9\_ARATH con 52,7 %, UGT74F2 con 51,6 %, PSBY con 51,3 %, DTX18 con 50,7 % y ndhL con 50 %. Estos genes, aunque aún por encima del umbral del 50 % de similitud, muestran una mayor divergencia evolutiva, lo que puede indicar que las versiones en quinua han

experimentado modificaciones adaptativas, posiblemente relacionadas con las condiciones extremas de las regiones altoandinas donde se cultiva este grano.

El gen DREB1A es un factor de transcripción clave en la respuesta a condiciones de frío, actuando como regulador en la expresión de otros genes involucrados en la resistencia al estrés abiótico. A pesar de su relativamente baja similitud (53,1 %), su presencia en CSQ5 indica que, aunque este genotipo es susceptible, activa mecanismos de respuesta similares a los observados en plantas más tolerantes, pero quizás con una eficiencia reducida, lo que podría explicar su susceptibilidad.

LTP4, un gen relacionado con la protección de membranas celulares bajo condiciones de estrés, también muestra una identidad relativamente baja con su homólogo en *Arabidopsis* (53,8 %). Esto sugiere que las variaciones en este gen pueden estar afectando la capacidad de CSQ5 para proteger sus membranas celulares del daño inducido por el frío, lo que podría ser una de las causas de su susceptibilidad.

A su vez, PSBY y ndhL, genes que codifican proteínas del complejo fotosintético en las plantas, también presentaron una identidad relativamente baja (51,3 % y 50 %, respectivamente). La divergencia en estos genes podría influir en la capacidad de CSQ5 para mantener la integridad del aparato fotosintético en condiciones de frío extremo, lo que comprometería su capacidad de fotosíntesis y, en última instancia, su crecimiento y rendimiento.

**Tabla 3**

*Alineamiento local de genes regulados positivamente en el genotipo susceptible al estrés por frío de quinua con genes de Arabidopsis thaliana*

ID	Gen_quinua	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
1	A0A803KSM3	3702.Q9LX12	IPS3	90,6
2	A0A803KXK8	3702.Q9LX12	IPS3	90,4
3	A0A803LQE2	3702.Q9XHV0	MYB80	90
4	A0A803MAC0	3702.Q9FNB0	CHLH	87,1
5	A0A803KN29	3702.Q9LZ98	ABCI20	86,4
6	A0A803L4J1	3702.Q9LZ98	ABCI20	86,2
7	A0A803MZG7	3702.P13114	CHS	84,6
8	A0A803NDL1	3702.Q944H0	NMT2	80
9	A0A803MBJ6	3702.Q9C9W9	ADO3	79,4
10	A0A803M0C5	3702.Q9SMT7	AAE3	77,5
11	A0A803MTV4	3702.Q9SL05	PGR5	77
12	A0A803LSK5	3702.Q3EDJ0	ABCI19	76,4
13	A0A803LRP0	3702.Q94A68	F12K11.2	76
14	A0A803MB08	3702.Q9C9W9	ADO3	75,9
15	A0A803MK87	3702.Q94K66	ELIP2	74,8
16	A0A803NBM8	3702.P92979	Apr1	74
17	A0A803KUT9	3702.Q9ZU50	BAT1-2	73,6
18	A0A803N2W2	3702.Q9SSL0	F15H11.7	73,5
19	A0A803LCK1	3702.P19036	HSP17.4A	73,2
20	A0A803LJP1	3702.Q9SSL0	F15H11.7	72,4
21	A0A803L231	3702.O24521	AHB2	72,2
22	A0A803KXD4	3702.Q02972	CAD8	71,8





ID	Gen_quinoa	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
23	A0A803LDT1	3702.Q9FWX7	ABCB11	71,4
24	A0A803M4D4	3702.P10795	RBCS-1A	71,3
25	A0A803M3Y8	3702.Q9STY0	PEX11B	70,4
26	A0A803LY32	3702.Q8RWE8	VTC2	69,6
27	A0A803KZG2	3702.Q3EBF7	SLD2	68,5
28	A0A803KVS8	3702.Q9ZQ78	T4M8.15	68,3
29	A0A803MCP8	3702.O64835	YCF37	66,1
30	A0A803LUY4	3702.F4IRX7	SOUL-1	65,6
31	A0A803M329	3702.Q3EBF7	SLD2	65,5
32	A0A803KZZ0	3702.F4HYC8	F12A4.4	63,9
33	A0A803M777	3702.O22203	CYP98A3	63,9
34	A0A803N521	3702.Q9M2S1	T22E16.240	63,1
35	A0A803MEH2	3702.F4IRX7	SOUL-1	61,9
36	A0A803M0J0	3702.Q9FJ89	MSG15.11	61,6
37	A0A803M5Y6	3702.Q96288	BBX24	61,6
38	A0A803LRX9	3702.Q9FMX7	NIC2	61,5
39	A0A803L021	3702.Q9SMS0	ndhT	61,4
40	A0A803M4E1	3702.Q9XF43	CUT1	61,2
41	A0A803LMB3	3702.F4JTB3	DTX35	60,9
42	A0A803KZX0	3702.Q9C7G6	F28P5.8	60,7
43	A0A803LN11	3702.Q949X0	ADS3	60,7
44	A0A803LI69	3702.Q8RW93	F6N15.21	59,5

ID	Gen_quinua	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
45	A0A803M5A9	3702.Q96330	FLS1	58
46	A0A803MJM9	3702.Q8VZW3	CHI3	57,4
47	A0A803KTG9	3702.Q9M1B6	T16L24.60	57,3
48	A0A803L496	3702.Q9LN59	WAKL11	57
49	A0A803M503	3702.Q9C7G6	F28P5.8	56,9
50	A0A803KM26	3702.Q8RWR1	JMJ30	56,8
51	A0A803NC66	3702.Q8RWR1	JMJ30	56,8
52	A0A803MK86	3702.Q94K66	ELIP2	56,6
53	A0A803KM17	3702.P38418	LOX2	55,9
54	A0A803KRK3	3702.O82380	PCMP-H33	55,6
55	A0A803LGZ4	3702.Q8W491	UGT73B3	54,4
56	A0A803L3E4	3702.Q9LLR6	LTP4	54
57	A0A803MHX0	3702.Q9LLR6	LTP4	53,8
58	A0A803MNH0	3702.Q93ZE3	Q93ZE3_ARATH	53,8
59	A0A803M0J1	3702.Q9M0L0	DREB1A	53,1
60	A0A803L257	3702.Q9SCK1	LSU1	52,9
61	A0A803KZJ3	3702.Q1G3G9	Q1G3G9_ARATH	52,7
62	A0A803M4X3	3702.Q1G3G9	Q1G3G9_ARATH	52,6
63	A0A803KTS5	3702.O22822	UGT74F2	51,6
64	A0A803KQF5	3702.O49347	PSBY	51,3
65	A0A803KY61	3702.Q9LUH3	DTX18	50,7
66	A0A803LJP7	3702.Q9CAC5	ndhL	50

*Nota.* Se seleccionaron los genes de quinua con un FC mayor a 3 o menor a -3, ya que estos son considerados diferencialmente expresados. Además, solo se incluyeron aquellos genes que presentaron un porcentaje de identidad superior al 50 % con los genes de *Arabidopsis*.

En la Tabla 4, se detallan los 30 genes regulados negativamente en el genotipo susceptible CSQ5 en respuesta al estrés por frío, alineados con genes de *Arabidopsis thaliana*.

Entre los genes alineados, aquellos con un mayor porcentaje de identidad incluyen a F22K18.20 con 83,6 %, BXL1 con 78,6 %, TIP1-3 con 78,2 %, RFS6 con 72,6 %, PER17 con 72,4 %, T4M8,22 con 72,2 %, BGAL12 con 71,6 %, TIP2-2 con 70,3 %, HRA1 con 69 %, PER52 con 68,1 %, y UGNT1 con 67,6 %. Estos genes presentan una alta conservación entre quinua y *Arabidopsis*, lo que sugiere que desempeñan funciones críticas en la respuesta al estrés por frío, aunque su represión en CSQ5 puede estar asociada con la susceptibilidad del genotipo.

BXL1 ( $\beta$ -xilosidasa) y BGAL12 ( $\beta$ -galactosidasa) están implicados en el metabolismo de la pared celular, un componente clave en la resistencia al estrés abiótico. La represión de estos genes podría afectar la integridad estructural de las paredes celulares en CSQ5, haciéndolo más vulnerable a los daños causados por el frío. La alta identidad con sus homólogos en *Arabidopsis* (78,6 % para BXL1 y 71,6 % para BGAL12) indica que estas funciones son conservadas, lo que refuerza su relevancia en la respuesta al estrés.

Otro gen de alta identidad es TIP1-3 (aquaporina de la vacuola), con un 78,2 % de similitud. Las aquaporinas son proteínas que regulan el transporte de agua a través de las membranas celulares, y su represión puede alterar el balance hídrico y la capacidad de las células para resistir la deshidratación inducida por el estrés por frío. RFS6 y PER17, que también muestran un alto grado de conservación (72,6 % y 72,4 %, respectivamente), están implicados en respuestas oxidativas y en la regulación de peroxidasas, componentes cruciales para la detoxificación celular bajo condiciones de estrés. La represión de estos genes puede comprometer la capacidad de CSQ5 para lidiar con el estrés oxidativo derivado del frío.

Por otro lado, los genes que mostraron un menor porcentaje de identidad incluyen a EP3 con 62,2 %, BGAL12 con 61,3 %, GH9B13 con 60,3 %, ALD1 con 58,9 %, PER52 con 57,3 %, UGT85A2 con 56,6 %, F17A22,10 con 55,6 %, CPT4 con 52,3 %, ATJ20 con 50,3 %, y F15K20.7 con 50,3 %. Aunque estos

genes muestran una menor similitud con sus contrapartes en *Arabidopsis*, su implicación en procesos metabólicos clave sugiere que su represión también podría estar afectando la capacidad de CSQ5 para adaptarse al frío.

GH9B13, codifica una glucanasa involucrada en el degradado de polisacáridos en la pared celular. Su represión (60,3 % de identidad) podría estar relacionada con una capacidad reducida para mantener la plasticidad y la resistencia estructural en condiciones adversas. ALD1 (ácido aminolevulínico deshidratasa), con una identidad del 58,9 %, participa en la biosíntesis de porfirinas, moléculas esenciales para la formación de clorofilas y hemoglobinas vegetales. La represión de este gen podría estar afectando negativamente la eficiencia fotosintética de CSQ5, reduciendo su capacidad de producir energía en condiciones de frío.

Finalmente, genes como CPT4 (ácido graso elongasa) y ATJ20 (chaperona molecular de la familia J), ambos con identidades cercanas al 50 %, están relacionados con la biosíntesis de lípidos y el plegamiento de proteínas respectivamente. La represión de CPT4 podría afectar la composición lipídica de las membranas celulares, alterando su fluidez y funcionalidad a bajas temperaturas, mientras que la represión de ATJ20 puede comprometer la capacidad de las células de CSQ5 para mantener la integridad de sus proteínas bajo estrés.

**Tabla 4**

*Alineamiento local de genes regulados negativamente en el genotipo susceptible al estrés por frío de quinua con genes de Arabidopsis thaliana*

ID	Gen_quinua	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
1	A0A803MA28	3702.Q9C5M8	F22K18.20	83,6
2	A0A803NAF8	3702.Q9FGY1	BXL1	78,6
3	A0A803KS33	3702.O82598	TIP1-3	78,2
4	A0A803LCN9	3702.O82598	TIP1-3	78,2
5	A0A803LH62	3702.Q8RX87	RFS6	72,6
6	A0A803MCM4	3702.Q9SJZ2	PER17	72,4
7	A0A803L9D4	3702.Q9ZQ71	T4M8.22	72,2
8	A0A803MRS6	3702.Q9SCV0	BGAL12	71,6
9	A0A803L5F5	3702.Q41975	TIP2-2	70,3
10	A0A803MZR1	3702.Q8RWY5	HRA1	69
11	A0A803M6H9	3702.Q9FLC0	PER52	68,1
12	A0A803LJV0	3702.A8MRY9	UGNT1	67,6
13	A0A803L8W3	3702.Q9LY84	F18O22.240	67
14	A0A803LA09	3702.O81416	GH9B13	66
15	A0A803N3F6	3702.Q9CA51	MIF1	64,7
16	A0A803LPV2	3702.Q93V62	F27G19.50	64,4
17	A0A803LLE7	3702.Q93V62	F27G19.50	64
18	A0A803MVI8	3702.Q9LYC6	GRXC11	63,8
19	A0A803MVI9	3702.Q9LYC6	GRXC11	63,7
20	A0A803LLE8	3702.Q93V62	F27G19.50	63,2

ID	Gen_quinoa	Gen_Arabidopsis	Gen	Identidad (%)
21	A0A803KTM0	3702.Q9M2U5	EP3	62,2
22	A0A803MDG3	3702.Q9SCV0	BGAL12	61,3
23	A0A803M9F7	3702.O81416	GH9B13	60,3
24	A0A803M285	3702.Q9ZQI7	ALD1	58,9
25	A0A803M6I1	3702.Q9FLC0	PER52	57,3
26	A0A803ME90	3702.Q9ZWJ3	UGT85A2	56,6
27	A0A803L9V6	3702.O82240	F17A22.10	55,6
28	A0A803ML98	3702.Q56Y11	CPT4	52,3
29	A0A803LTL8	3702.Q9SDN0	ATJ20	50,3
30	A0A803M669	3702.Q9ZUY4	F15K20.7	50,3

*Nota.* Se seleccionaron los genes de quinua con un FC mayor a 3 o menor a -3, ya que estos son considerados diferencialmente expresados. Además, solo se incluyeron aquellos genes que presentaron un porcentaje de identidad superior al 50 % con los genes de *Arabidopsis*.

En la Figura 1, se presenta los genes diferencialmente expresos en respuesta al estrés por frío en dos genotipos contrastantes de quinua: CRQ64 (tolerante) y CSQ5 (susceptible). En el genotipo tolerante CRQ64, se identificaron 44 genes regulados positivamente y 25 genes regulados negativamente en respuesta al estrés por frío. Esto indica una activación significativa de ciertos procesos moleculares que pueden estar involucrados en la adaptación y tolerancia al frío. En el genotipo susceptible CSQ5, se observó un número mayor de genes regulados en comparación con el genotipo tolerante, con 66 genes regulados positivamente y 30 genes regulados negativamente. Esto sugiere que la respuesta al frío en el genotipo susceptible es más amplia, lo cual podría deberse a una mayor sensibilidad al estrés o a una respuesta menos eficiente en comparación con el genotipo tolerante (Anexo 2).

De los genes identificados, se encontraron 37 genes regulados positivamente en común entre ambos genotipos. Estos genes incluyen importantes actores en procesos clave como la fotosíntesis, respuesta a estrés y mecanismos de reparación celular. Entre ellos destacan ABCI19, LOX2 (involucrado en la

biosíntesis de jasmonatos, que regulan la defensa ante el estrés), CAD8 (relacionado con la lignificación), PGR5 (asociado al transporte de electrones en la fotosíntesis), DREB1A (un regulador de la respuesta a estrés abiótico), y CHS (clave en la biosíntesis de flavonoides, que actúan como protectores ante el daño por estrés). La presencia de estos genes en ambos genotipos sugiere que comparten mecanismos de respuesta al frío, aunque con distinta eficiencia o intensidad.

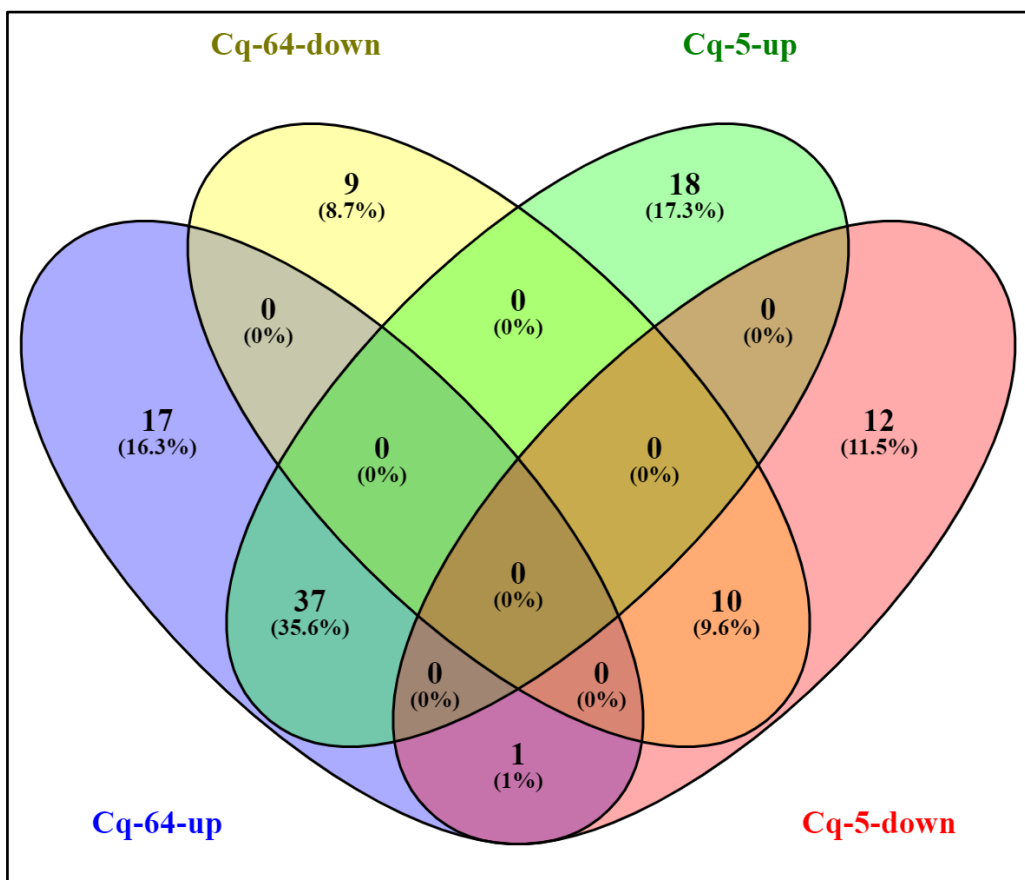
En cuanto a los genes regulados negativamente, se identificaron 10 genes en común entre los genotipos tolerante y susceptible. Entre ellos, se destacan BGAL12 y BXL1, ambos relacionados con la modificación de la pared celular, lo que sugiere que la respuesta a frío en ambos genotipos podría implicar la regulación de la estructura y función de la pared celular como un mecanismo de adaptación. Otros genes como TIP1-3 (transportador de agua) y F27G19.50 también podrían jugar un rol importante en la reorganización de procesos celulares bajo condiciones de estrés.

Un hecho interesante es que solo un gen en común (EP3) mostró una regulación tanto positiva como negativa en el genotipo tolerante CRQ64, lo que podría sugerir una función dual o contexto-dependiente de este gen en la respuesta al frío. La regulación de este gen en direcciones opuestas podría reflejar una compleja interacción con otros factores de respuesta a estrés, posiblemente implicando diferentes niveles de ajuste en la adaptación al frío en distintas etapas o condiciones.

Estos resultados permiten inferir que aunque ambos genotipos responden al estrés por frío a través de mecanismos compartidos, el genotipo tolerante CRQ64 parece tener una respuesta más específica y eficiente, mientras que el genotipo susceptible CSQ5 muestra una respuesta más generalizada pero posiblemente menos efectiva. Los genes identificados en común entre los genotipos pueden ser clave para comprender los mecanismos moleculares que permiten a ciertos genotipos de quinua tolerar mejor el estrés por frío.

**Figura 1**

*Diagrama de Venn de genes diferencialmente expresos en genotipos de quinua tolerante y susceptible frente al estrés por frío*



*Nota.* Cq-64-up: Genes regulados positivamente en el genotipo tolerante CRQ64 al estrés por frío, Cq-64-down: Genes regulados negativamente en el genotipo tolerante CRQ64 al estrés por frío, Cq-5-up: Genes regulados positivamente en el genotipo susceptible CSQ5 al estrés por frío, Cq-5-down: Genes regulados negativamente en el genotipo susceptible CSQ5 al estrés por frío.

#### **4.1.2 Enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG, identificando las vías metabólicas más relevantes en la respuesta al frío en los genotipos tolerante y susceptible**

En la Figura 2, se detalla el análisis de enriquecimiento funcional de los genes regulados positivamente asociados a la respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante CRQ64, resaltando las vías metabólicas más relevantes. Las rutas con mayor enriquecimiento fueron "regulación positiva de la germinación de semillas" (con un valor de enriquecimiento de 97,21), "proceso biosintético de



flavonoides" (42,42) y "respuesta a alta intensidad de luz" (39,54). Estas vías son clave para la adaptación de la planta a condiciones adversas, especialmente la germinación en ambientes hostiles y la protección frente al daño lumínico.

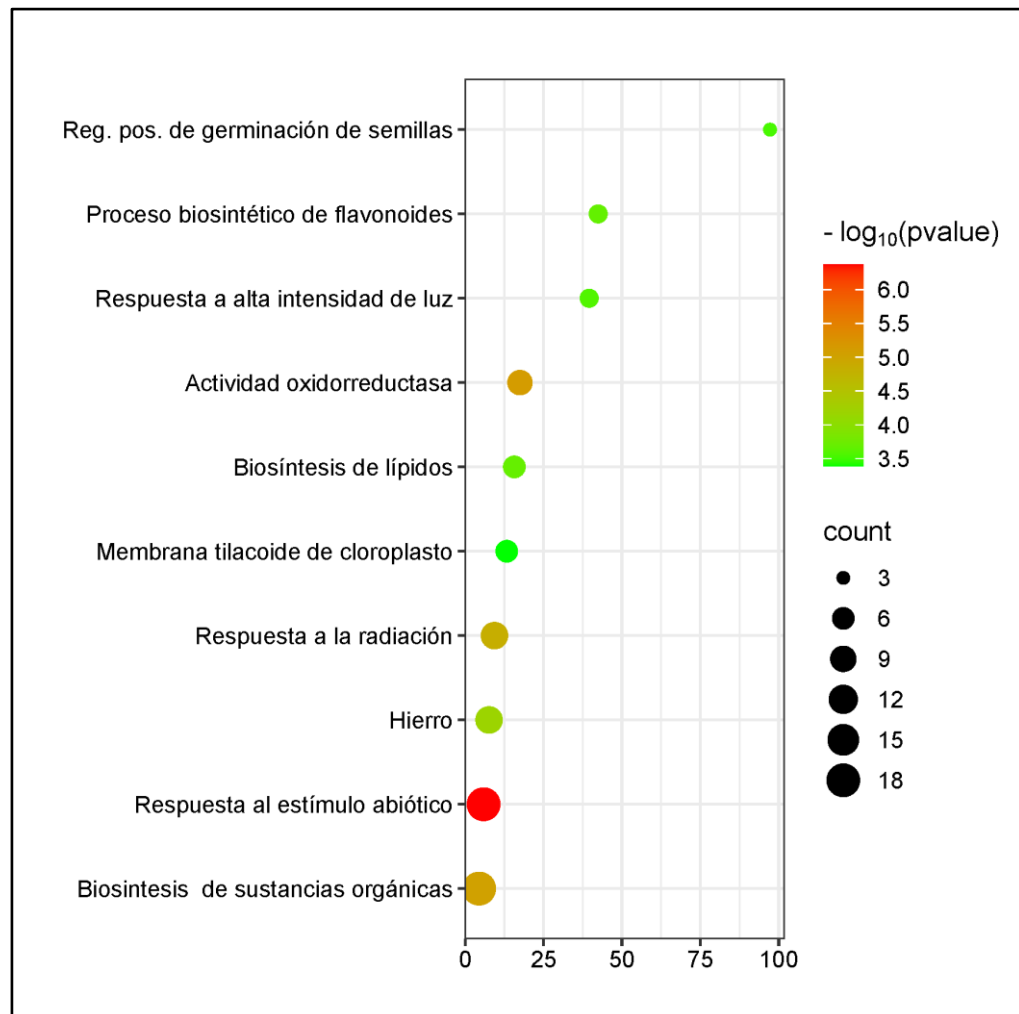
En contraste, las rutas con menor grado de enriquecimiento fueron "homeostasis del hierro" (7,61), "respuesta al estímulo abiótico" (5,88) y "proceso biosintético de sustancias orgánicas" (4,44). Aunque presentan un menor enriquecimiento, estas vías también son esenciales para la respuesta al estrés abiótico y el mantenimiento del equilibrio interno de nutrientes esenciales, como el hierro (Anexo 7).

Respecto al número de genes involucrados, las rutas metabólicas con mayor representación fueron "respuesta al estímulo abiótico", con 18 genes, entre los cuales destacan BBX24, GPAT1, RBCS-1A, PSBY, ADO3, PGR5, BBX25, SLD2, ADS3, HSP17.4A, LSU1, ELIP2, DREB1A, FAD4, FLS1, CHS, CP1 y LTP4. Esta alta representación refleja la importancia de esta ruta para la adaptación a factores ambientales adversos, como el frío. De manera similar, el "proceso biosintético de sustancias orgánicas" también contó con 18 genes, que incluyen GPAT1, CYP51G1, NMT2, RBCS-1A, ASE1, CYP98A3, SLD2, ADS3, LOX2, APR1, DTX35, FAD4, CAD8, FLS1, IPS3, CHS, NIC2 y DCR, los cuales desempeñan un papel crucial en la síntesis de compuestos que contribuyen a la estructura y función celular en condiciones de estrés.

Por otro lado, las vías con menor número de genes fueron "regulación positiva de la germinación de semillas", con solo 3 genes (UGT74F2, AAE3 y ELIP2), lo que indica un proceso más específico, pero igualmente vital en la fase inicial del desarrollo de la planta bajo estrés. El "proceso biosintético de flavonoides" también mostró una baja representación con 4 genes (CYP98A3, DTX35, FLS1 y CHS), lo que resalta la especialización de esta ruta en la producción de compuestos flavonoides, esenciales para la defensa antioxidante y la protección celular frente a condiciones adversas (Anexo 3).

## Figura 2

*Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados positivamente del genotipo de quinua tolerante al estrés por frío*



*Nota.* Se realizó enriquecimiento funcional en las 10 principales vías metabólicas de los genes diferencialmente expresados frente al estrés por frío, con una identidad superior al 50 %.  $-\log_{10}(\text{p-value})$ : Logaritmo negativo en base 10 del p-valor. Count: Número de genes por vía metabólica.

En la Figura 3, se presenta el análisis de enriquecimiento funcional de los genes regulados negativamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante CRQ64, resaltando las rutas metabólicas más afectadas por la supresión de su expresión. Las vías con mayor enriquecimiento fueron el "proceso biosintético del ácido jasmónico" (con un valor de 261,08), seguido por la "actividad de la beta-galactosidasa" (215,00) y la "glucósido hidrolasa de la familia 35 del sitio conservado" (215,00). La alta representación de estas rutas refleja la importancia del ácido jasmónico en la respuesta al estrés, un compuesto

involucrado en la regulación de procesos defensivos y la adaptación a condiciones adversas, mientras que la actividad de la beta-galactosidasa y la hidrolasa pueden estar relacionadas con la degradación de componentes celulares, lo cual se atenúa en condiciones de estrés por frío en este genotipo tolerante.

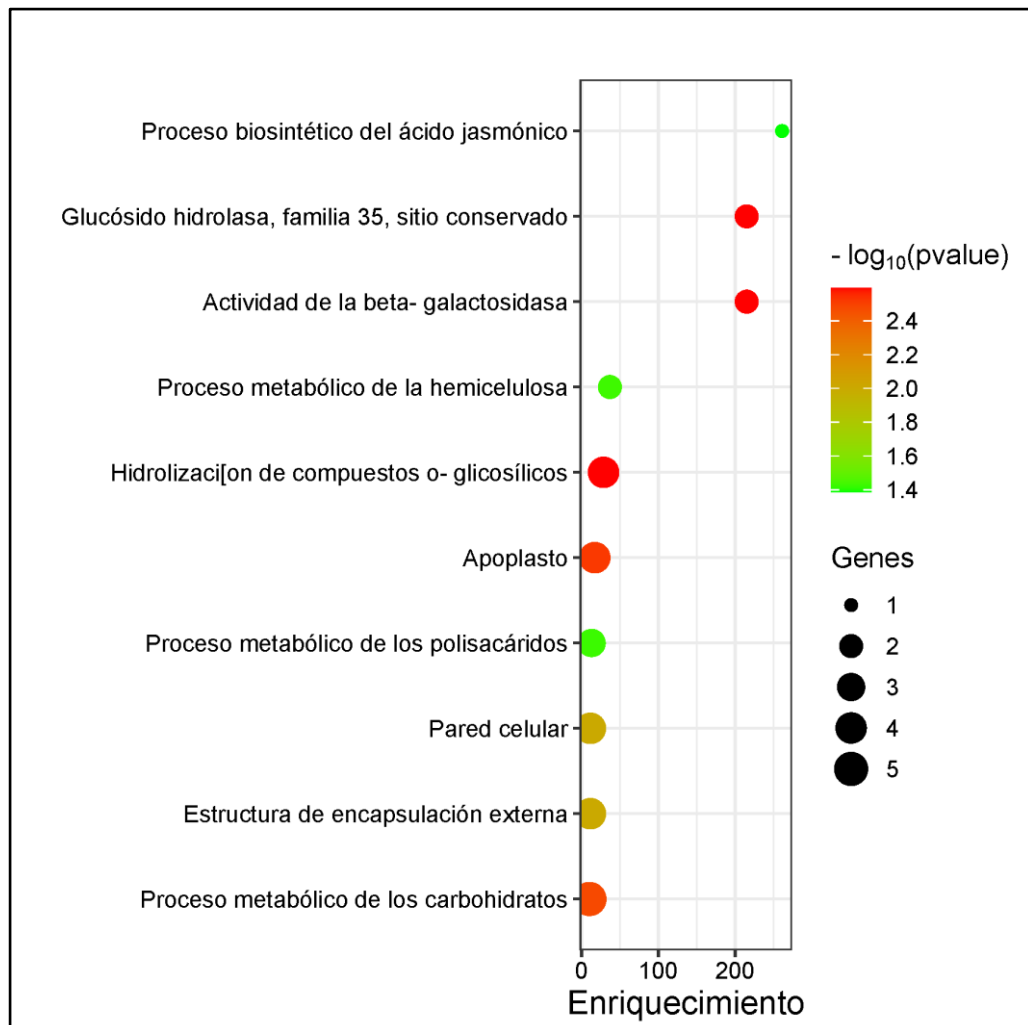
En contraposición, las rutas con menor grado de enriquecimiento fueron las asociadas a la "pared celular" (11,55), la "estructura de encapsulación externa" (11,53) y el "proceso metabólico de los carbohidratos" (10,30). Estas rutas, aunque con menor enriquecimiento, desempeñan un papel clave en la estructura celular y la respuesta adaptativa de la planta. La menor actividad en estas rutas podría estar relacionada con la necesidad de mantener la integridad celular en situaciones de estrés prolongado, lo que sugiere una modulación de la rigidez y flexibilidad de la pared celular como estrategia de tolerancia.

En cuanto al número de genes involucrados, el "proceso metabólico de los carbohidratos" fue la vía con mayor representación, involucrando a 5 genes: BGAL1, F22K18.20, BGAL12, BXL1 y XTH25. Esta vía es crucial para la regulación de los niveles de azúcares y otras moléculas relacionadas con la energía y la estructura celular, fundamentales en la respuesta adaptativa al frío. La "estructura de encapsulación externa" también mostró una alta representación con 4 genes (BGAL1, BGAL12, BXL1 y XTH25), sugiriendo que estos genes están implicados en la regulación de la matriz extracelular y las interacciones celulares, factores críticos para la defensa y la estabilidad celular bajo condiciones de estrés.

Por otro lado, las vías metabólicas con menor número de genes incluyeron el "proceso biosintético del ácido jasmónico", con un solo gen (CYP74A), y la "actividad de la beta-galactosidasa", con dos genes (BGAL1 y BGAL12). La menor cantidad de genes en estas rutas sugiere que son procesos más específicos, pero que juegan un rol importante en la regulación fina de la respuesta a estrés por frío. El ácido jasmónico, en particular, es conocido por su participación en la señalización de la defensa de las plantas, lo que indica que la modulación de esta vía en el genotipo tolerante CRQ64 podría ser una estrategia clave para ajustar las respuestas defensivas bajo estas condiciones (Anexo 4).

### Figura 3

*Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados negativamente del genotipo de quinua tolerante al estrés por frío*



*Nota.* Se realizó enriquecimiento funcional en las 10 principales vías metabólicas de los genes diferencialmente expresados frente al estrés por frío, con una identidad superior al 50 %.  $-\log_{10}(\text{p-value})$ : Logaritmo negativo en base 10 del p-valor. Count: Número de genes por vía metabólica.

En la Figura 4, se presenta el análisis de enriquecimiento funcional de los genes regulados positivamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo susceptible CSQ5, revelando los procesos metabólicos más destacados involucrados en la adaptación a condiciones de bajas temperaturas. Las vías metabólicas con mayor enriquecimiento incluyen la "biosíntesis de flavonoides" (99,32), la "regulación positiva de la germinación de semillas" (99,32) y la "respuesta a alta intensidad de luz" (40,40). El alto grado de enriquecimiento de

estas rutas refleja la activación de mecanismos clave que contribuyen a la defensa y el crecimiento de las plantas bajo estrés. La biosíntesis de flavonoides, por ejemplo, está relacionada con la producción de compuestos antioxidantes que protegen a la planta del daño causado por el frío, mientras que la regulación de la germinación de semillas y la respuesta a la luz intensa podrían indicar la activación de procesos para mantener la viabilidad de la planta en condiciones adversas.

Por otro lado, las vías metabólicas con menor grado de enriquecimiento fueron la "respuesta al estímulo abiótico" (6,01), la "actividad oxidorreductasa" (5,45) y el "proceso biosintético de sustancias orgánicas" (4,54). Aunque estas vías muestran un menor enriquecimiento, siguen desempeñando un papel crucial en la adaptación al frío. La respuesta al estímulo abiótico, que implica la activación de mecanismos de defensa ante condiciones ambientales desfavorables, y la actividad oxidorreductasa, que está vinculada con el equilibrio de reacciones de oxidación-reducción en la célula, sugieren que el genotipo susceptible activa vías de defensa que no están tan optimizadas como en el genotipo tolerante, lo que podría explicar su mayor vulnerabilidad al estrés por frío.

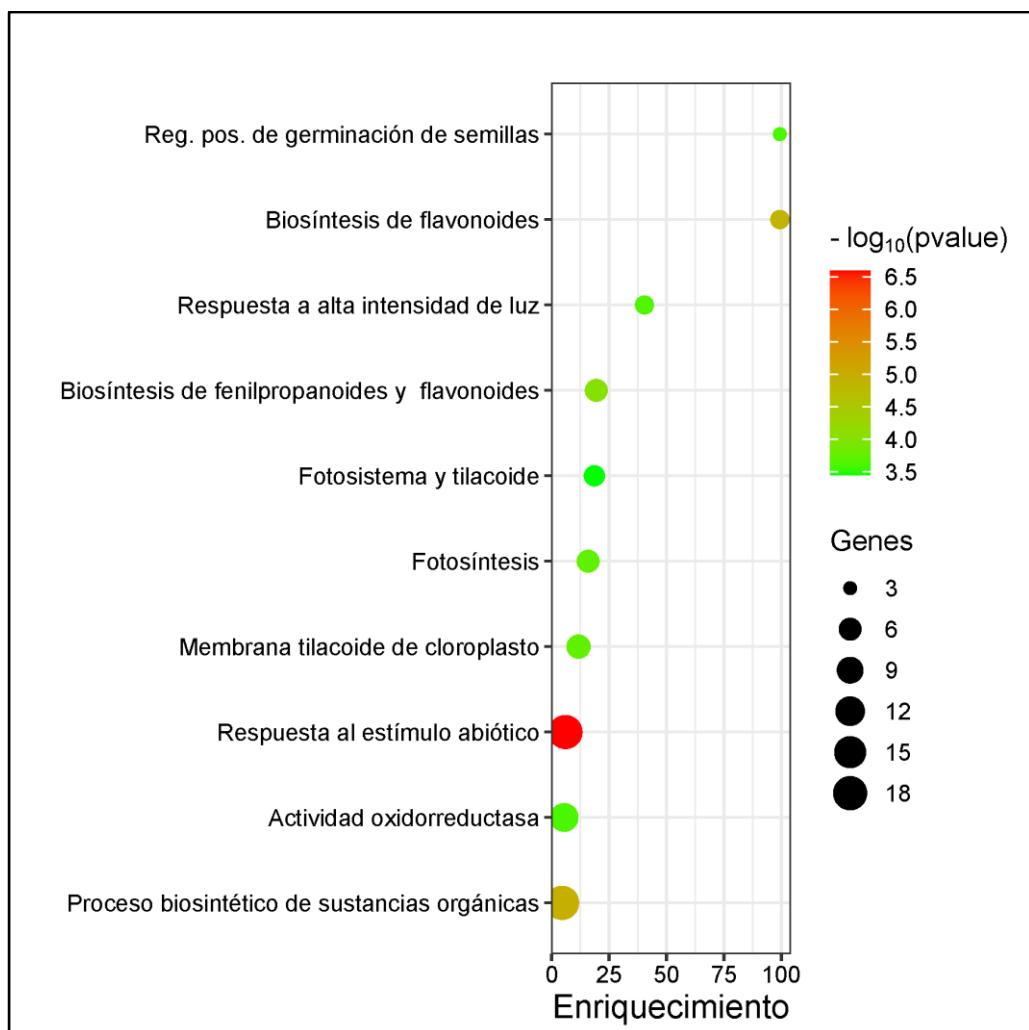
En cuanto al número de genes involucrados, las vías con mayor representación fueron el "proceso biosintético de sustancias orgánicas" y la "respuesta al estímulo abiótico", ambas con 18 genes. En la vía de síntesis de sustancias orgánicas, se identificaron genes como NMT2, RBCS-1A, CUT1, CYP98A3, SLD2, y otros, que participan en la producción de componentes esenciales para la estructura y función celular. La amplia representación de esta vía sugiere que la planta susceptible responde al frío activando mecanismos para mantener la biosíntesis celular básica. En la "respuesta al estímulo abiótico", los genes BBX24, RBCS-1A, PSBY, ADO3, y otros indicaron que la planta susceptible intenta activar mecanismos de protección contra el estrés, aunque de manera menos eficiente que el genotipo tolerante.

En contraste, las vías con menor representación de genes fueron la "regulación positiva de la germinación de semillas", con solo 3 genes (UGT74F2, AAE3 y ELIP2), y el "proceso biosintético de flavonoides", con 4 genes

(CYP98A3, DTX35, FLS1 y CHS). Aunque estas vías tienen menos genes asociados, su alto nivel de enriquecimiento sugiere que los pocos genes involucrados desempeñan roles altamente específicos y esenciales en la respuesta al frío en el genotipo susceptible. La activación de la biosíntesis de flavonoides, en particular, podría estar relacionada con la protección antioxidante y el mantenimiento de la integridad celular bajo condiciones de estrés (Anexo 5).

#### Figura 4

*Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados positivamente del genotipo de quinua susceptible al estrés por frío*



*Nota.* Se realizó enriquecimiento funcional en las 10 principales vías metabólicas de los genes diferencialmente expresados frente al estrés por frío, con una identidad superior al 50 %. -log<sub>10</sub>(p-value): Logaritmo negativo en base 10 del p-valor. Count: Número de genes por vía metabólica.

En la Figura 5, se ilustra el enriquecimiento funcional de los genes regulados negativamente en el genotipo susceptible CSQ5 frente al estrés por frío, revelando las vías metabólicas más afectadas en este contexto de respuesta. Las vías con mayor grado de enriquecimiento fueron la "oxidación de proteínas y respuesta a la anoxia" (152,29), la "actividad de transportador transmembrana de agua" (112,81) y la "actividad de canal de agua" (112,81). Estos resultados sugieren que la planta susceptible a bajas temperaturas experimenta una disminución en la eficiencia de los mecanismos asociados a la homeostasis hídrica y al manejo del estrés oxidativo. En particular, la oxidación de proteínas puede ser un indicativo de daño celular bajo condiciones de estrés, mientras que la actividad de los canales de agua sugiere alteraciones en la capacidad de la planta para mantener un equilibrio hídrico adecuado frente al frío.

Por otro lado, las vías metabólicas con menor grado de enriquecimiento fueron "sitio de unión del ligando-heme de peroxidasas" (43,51), "vacuola" (17,78) y "respuesta celular a hipoxia y latencia/auxina" (34,88). A pesar de su menor enriquecimiento, estas vías siguen siendo relevantes en la respuesta de la planta al estrés, ya que la regulación del ligando-heme de peroxidasas está asociada con la defensa antioxidante, y las funciones vacuolares y la respuesta a la hipoxia son cruciales para la adaptación de las células a condiciones de baja disponibilidad de oxígeno y otros factores estresantes.

En cuanto al número de genes involucrados, la "respuesta celular a hipoxia y latencia/auxina" y la "vacuola" fueron las vías con mayor representación, cada una con 3 genes. En la respuesta celular a la hipoxia y latencia/auxina, los genes HRA1, F27G19.50 y BXL1 reflejan la adaptación de la planta a entornos de bajo oxígeno, posiblemente debido a la alteración de los mecanismos respiratorios por el estrés frío. De manera similar, la vía de la vacuola incluye genes como PER17, TIP1-3 y TIP2-2, que juegan un papel en el transporte de agua y la regulación de la turgencia celular, sugiriendo que el manejo del agua intracelular se ve afectado negativamente en el genotipo susceptible.

En contraste, las vías con menor número de genes involucrados fueron "oxidación de proteínas y respuesta a la anoxia", con solo 2 genes (HRA1 y F27G19.50), y la "actividad de transportador transmembrana de agua", también

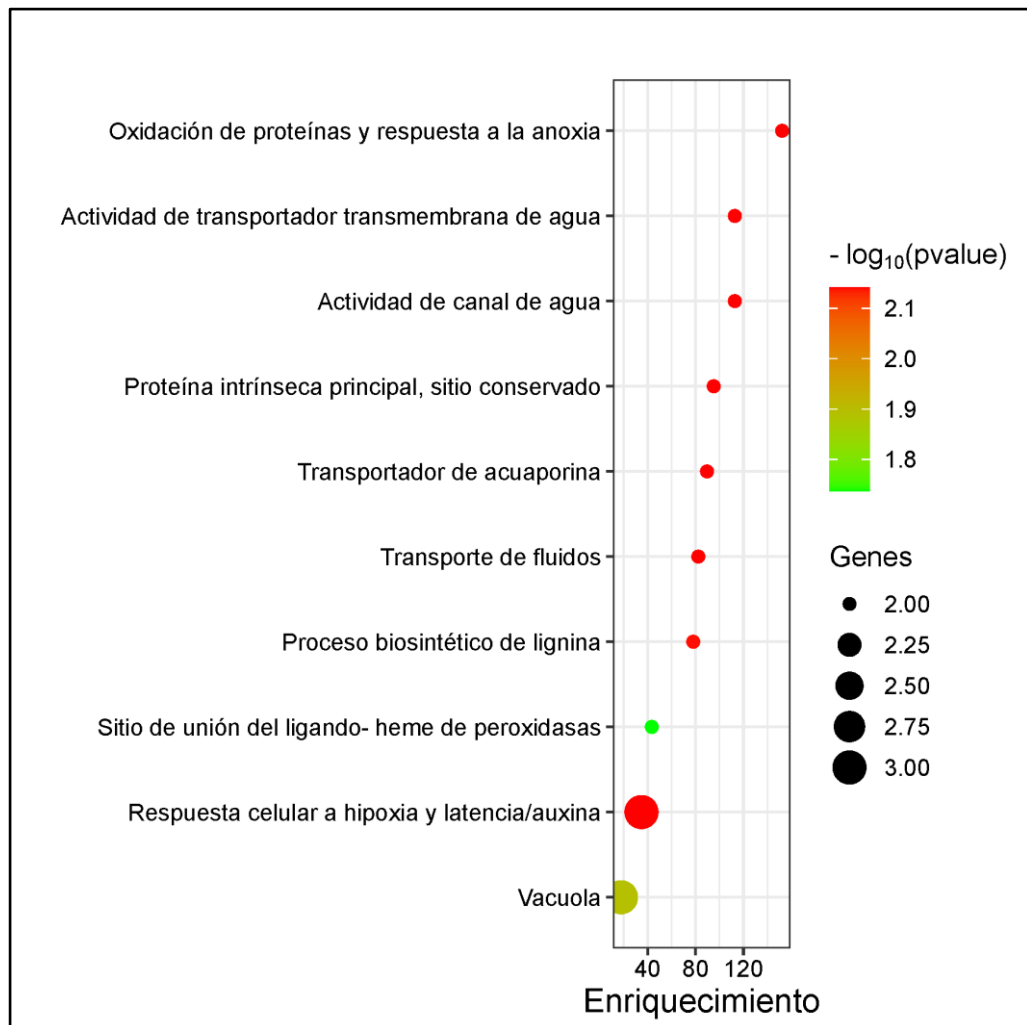
con 2 genes (TIP1-3 y TIP2-2). A pesar del reducido número de genes presentes en estas vías, su alto grado de enriquecimiento sugiere que estos genes desempeñan roles clave para garantizar la funcionalidad celular bajo condiciones de estrés. La "oxidación de proteínas" está relacionada con la acumulación de proteínas mal plegadas o dañadas, un proceso común bajo estrés oxidativo o condiciones adversas, como la falta de oxígeno (anoxia) generada por bajas temperaturas. Los genes HRA1 y F27G19.50 podrían ser esenciales en el mecanismo de respuesta rápida para mitigar el daño celular y mantener la homeostasis en estas situaciones, protegiendo así a las células de daños irreversibles. En cuanto a la "actividad de transportador transmembrana de agua", los genes TIP1-3 y TIP2-2, que codifican para proteínas de la familia de las acuaporinas, son de particular relevancia. Estas proteínas son fundamentales en la regulación del movimiento de agua a través de las membranas celulares, controlando así el equilibrio osmótico y la turgencia celular, procesos esenciales para la supervivencia en condiciones de estrés hídrico y frío. Aunque solo dos genes fueron identificados en esta vía, su presencia sugiere una regulación crítica y precisa de la actividad de las acuaporinas durante el estrés por frío. El hecho de que estas vías estén fuertemente reguladas de manera negativa en el genotipo susceptible podría implicar que la capacidad de transporte de agua esté comprometida, afectando el mantenimiento del equilibrio hídrico celular en este genotipo. Esto podría llevar a una mayor susceptibilidad al daño por congelación o deshidratación celular bajo temperaturas extremas.

Además, el mal funcionamiento o la insuficiencia de los canales de agua, como las acuaporinas, puede resultar en una respuesta ineficiente al estrés osmótico causado por la congelación y descongelación. Durante el estrés por frío, las células vegetales necesitan mantener un equilibrio adecuado de agua para evitar la formación de cristales de hielo intracelulares, que pueden causar daños severos en las membranas y estructuras celulares. En el genotipo susceptible, la inhibición o baja expresión de TIP1-3 y TIP2-2 podría ser un factor determinante en su incapacidad para gestionar adecuadamente este desafío, lo que explicaría en parte su menor tolerancia al frío en comparación con genotipos más resistentes (Anexo 6).



**Figura 5**

*Enriquecimiento funcional en vías metabólicas de genes regulados negativamente del genotipo de quinua susceptible al estrés por frío*



*Nota.* Se realizó enriquecimiento funcional en las 10 principales vías metabólicas de los genes diferencialmente expresados frente al estrés por frío, con una identidad superior al 50 %.  $-\log_{10}(\text{p-value})$ : Logaritmo negativo en base 10 del p-valor. Count: Número de genes por vía metabólica.

#### 4.1.3 Centralidad de los genes en las redes de interacción biológica asociadas a la respuesta al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes

En la figura 6, se presenta una compleja red de interacción proteína-proteína en el genotipo de quinua tolerante al frío CRQ64. Esta red consta de 102 nodos, que representan proteínas, y 251 conexiones o interacciones entre ellas. Cada nodo en la red tiene una forma específica que señala su tipo de regulación:

los nodos en forma de octágono representan las proteínas reguladas positivamente, mientras que los nodos en forma de cuadro corresponden a las proteínas reguladas negativamente en respuesta al estrés por frío.

El tamaño de los nodos es proporcional al nivel de expresión de cada proteína, de modo que los nodos más grandes indican una mayor expresión y los nodos más pequeños reflejan una menor expresión. Entre las proteínas más expresadas destacan UGT74F2 (6,49), RBCS-1A (5,33), PGR5 (5,01), PEX11B (4,99), NIC2 (4,92), F15H11.7 (4,41), EXPA (74,05), ELIP2 (3,96), DREB1A (3,83) y BBX24 (3,82). Estas proteínas podrían jugar un papel crucial en la respuesta adaptativa de la quinua al estrés por frío, especialmente las relacionadas con la fotosíntesis y el metabolismo secundario, como RBCS-1A y UGT74F2.

El análisis de centralidad de la red reveló tres grupos de proteínas fundamentales en la regulación de la respuesta al frío. En primer lugar, los nodos rojos representan las proteínas Hub-Bottleneck, las cuales tienen un papel clave tanto en la conectividad como en el control del flujo de información en la red. Estas incluyen proteínas como BBX25, CHS, CYP74A, FAD4, FLS1, LOX2 y SULTR, que podrían ser esenciales para coordinar una respuesta eficiente al estrés térmico.

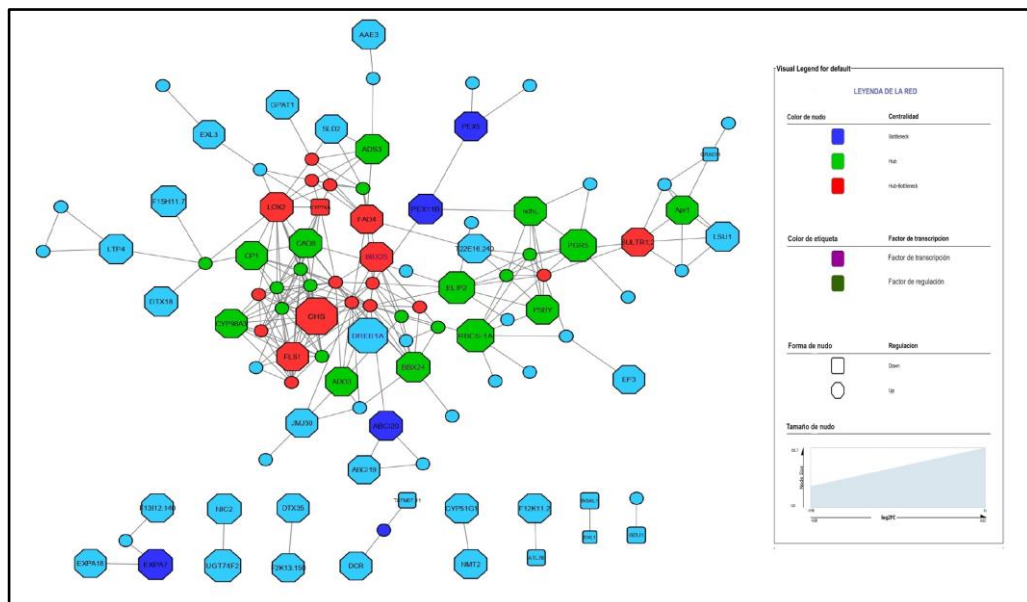
En segundo lugar, las proteínas altamente conectadas o Hub, representadas por nodos verdes, destacan por su capacidad para mantener la cohesión de la red. Este grupo incluye proteínas relevantes como ndhL, RBCS-1A, PSBY, PGR5, ELIP2, CYP98A3, CP1, CAD8, BBX24, Apr1, ADS3 y ADO3, muchas de las cuales están involucradas en la fotosíntesis y el metabolismo energético, procesos fundamentales para la adaptación al frío.

Por último, los nodos azules corresponden a las proteínas Bottleneck, que actúan como puntos de control en la red, facilitando el flujo de información entre las proteínas conectadas. En este grupo se encuentran proteínas como ABCI20, EXPA7, PEX11B y PEX5, las cuales podrían estar desempeñando roles esenciales en el transporte de moléculas y la regulación del ciclo celular bajo condiciones de estrés.

Adicionalmente, se identificaron factores de transcripción clave como DREB1A, BBX25 y BBX24, los cuales probablemente juegan un papel central en la activación de genes de respuesta al frío. Por otro lado, F28P5.8 y HLS1 fueron destacados como reguladores de transcripción, lo que indica su participación en la modulación de redes genéticas críticas para la tolerancia al estrés. Estas proteínas no solo están involucradas en la respuesta inmediata al frío, sino que también podrían influir en procesos más amplios de desarrollo y adaptación, lo que sugiere una red multifuncional altamente regulada.

### Figura 6

*Centralidad de la red de interacción proteína-proteína de genes regulados en el genotipo de quinua tolerante al estrés por frío*



*Nota.* Se analizó la interacción proteína-proteína de los genes de quinua diferencialmente expresados en respuesta al estrés por frío, utilizando como referencia los genes de *Arabidopsis*. Los nodos con forma de octágono representan genes regulados positivamente, mientras que los nodos cuadrados representan genes regulados negativamente. Los nodos de color azul indican genes Bottleneck, los verdes indican genes Hub, y los rojos representan genes Hub-Bottleneck.

En la figura 7, se muestra la red de interacción proteína-proteína del genotipo susceptible al frío CSQ5, la cual está compuesta por 115 nodos, que representan las proteínas, y 352 conexiones, que indican las interacciones entre estas proteínas en respuesta al estrés por frío. Los nodos están diferenciados por su forma: los octágonos representan proteínas reguladas positivamente, mientras

que los cuadros indican las proteínas reguladas negativamente. El tamaño de los nodos es proporcional al nivel de expresión de las proteínas, lo que permite observar que los nodos más grandes representan proteínas con mayor expresión, mientras que los más pequeños reflejan una expresión reducida.

Entre las proteínas con mayor nivel de expresión en esta red destacan CHS (6,63), ELIP2 (5,92), DREB1A (5,72), PGR5 (5,21), UGT85A3 (5,12), UGT74F2 (4,85), RBCS-1A (4,84), PSBY (4,57), ABCI19 (4,57), NIC2 (4,49) y LSU1 (4,43). Estas proteínas cumplen funciones cruciales en los procesos de defensa y adaptación de la quinua susceptible al frío, destacando varias de ellas como factores clave en la respuesta a este estrés, especialmente aquellas involucradas en la fotosíntesis y el metabolismo secundario.

El análisis de centralidad de la red ha permitido identificar tres categorías importantes de proteínas que juegan un papel clave en la organización y flujo de información dentro de la red:

**Proteínas Hub-Bottleneck (nodos rojos):** Estas proteínas no solo están altamente conectadas, sino que también son puntos críticos para la transmisión de señales dentro de la red, actuando como cuellos de botella en las interacciones. Entre ellas se encuentran CAD8, CHLH, CHS, ELIP2, FLS1, PGR5, PSBY y ndhL, todas ellas esenciales para coordinar la respuesta al frío. Proteínas como CHS y ELIP2, con altos niveles de expresión, sugieren su rol central en la respuesta al estrés, a través de la regulación de la síntesis de metabolitos secundarios y la protección de la fotosíntesis.

**Proteínas Hub (nodos verdes):** Estas son proteínas que destacan por estar altamente conectadas, lo que indica que son esenciales para la cohesión estructural de la red. Entre ellas se encuentran ndhT, RBCS-1A, LTP4, JMJ30, CYP98A3, CHI3, BBX24, APRR5 y ADO3, todas ellas potencialmente involucradas en procesos como la fotosíntesis, la regulación de la expresión génica y el metabolismo de lípidos, cruciales para la adaptación al estrés por frío.

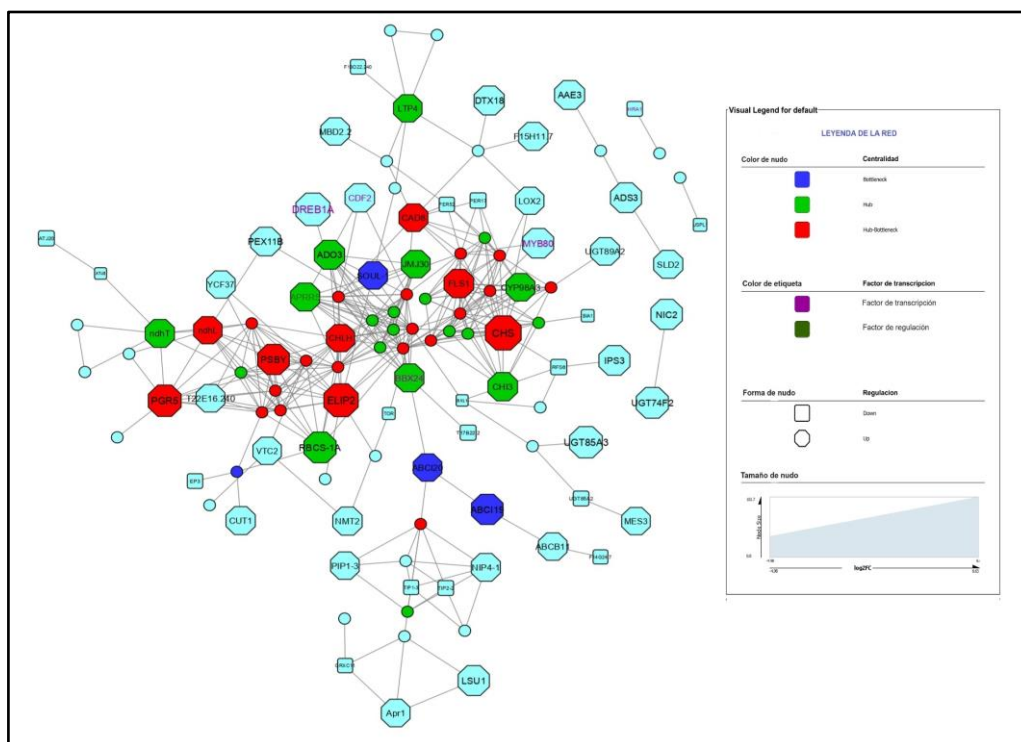
**Proteínas Bottleneck (nodos azules):** Estas proteínas son fundamentales para el flujo de información entre diferentes partes de la red, facilitando la transmisión de señales y regulando la interacción entre las proteínas. En esta

categoría se encuentran ABCI19, ABCI20 y SOUL-1, que desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta celular frente al frío, como transportadoras o moduladoras de señales moleculares.

Además, se identificaron varios factores de transcripción clave, los cuales regulan la expresión de numerosos genes implicados en la respuesta al frío. Entre ellos se destacan MYB80, HRA1, DREB1A, CDF2 y BBX24, todos involucrados en la activación de rutas genéticas asociadas a la tolerancia al estrés. APRR5 también fue identificado como un regulador de transcripción, indicando su papel crucial en la modulación de los ritmos circadianos y la adaptación de los procesos biológicos al estrés por frío.

### Figura 7

*Centralidad de la red de interacción proteína-proteína de genes regulados en el genotipo de quinua susceptible al estrés por frío*



*Nota.* Se analizó la interacción proteína-proteína de los genes de quinua diferencialmente expresados en respuesta al estrés por frío, utilizando como referencia los genes de *Arabidopsis*. Los nodos con forma de octágono representan genes regulados positivamente, mientras que los nodos cuadrados representan genes regulados negativamente. Los nodos de color azul indican genes Bottleneck, los verdes indican genes Hub, y los rojos representan genes Hub-Bottleneck.

#### 4.1.4 Clústeres proteicos y sus respectivas categorías funcionales dentro de las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío

En la figura 8, se presentan los clústeres y las categorías funcionales de los genes regulados positivamente en el genotipo tolerante CRQ64, en respuesta al estrés por frío dentro de la red de interacción proteína-proteína. Se identificaron tres clústeres principales, que agrupan proteínas con funciones biológicas relacionadas y afinidad en términos de interacción, lo que resalta su relevancia en la respuesta adaptativa al frío.

**Primer clúster:** Este clúster está compuesto por proteínas involucradas en procesos metabólicos cruciales, con una notable significancia estadística en sus respectivas funciones biológicas. Entre los procesos destacables se encuentran la actividad de oxidoreductasa ( $p$ -valor corregido = 0,0025), que está vinculada con el control del estrés oxidativo y la regulación de reacciones redox esenciales para la adaptación al frío. Además, el proceso metabólico de ácidos grasos ( $p$ -valor = 0,0093) juega un papel fundamental en la modificación de la fluidez de las membranas celulares bajo condiciones de baja temperatura. El proceso biosintético de ácidos grasos insaturados ( $p$ -valor = 7,34E-05) también es relevante, ya que los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales para mantener la integridad y funcionalidad de las membranas celulares durante el estrés por frío.

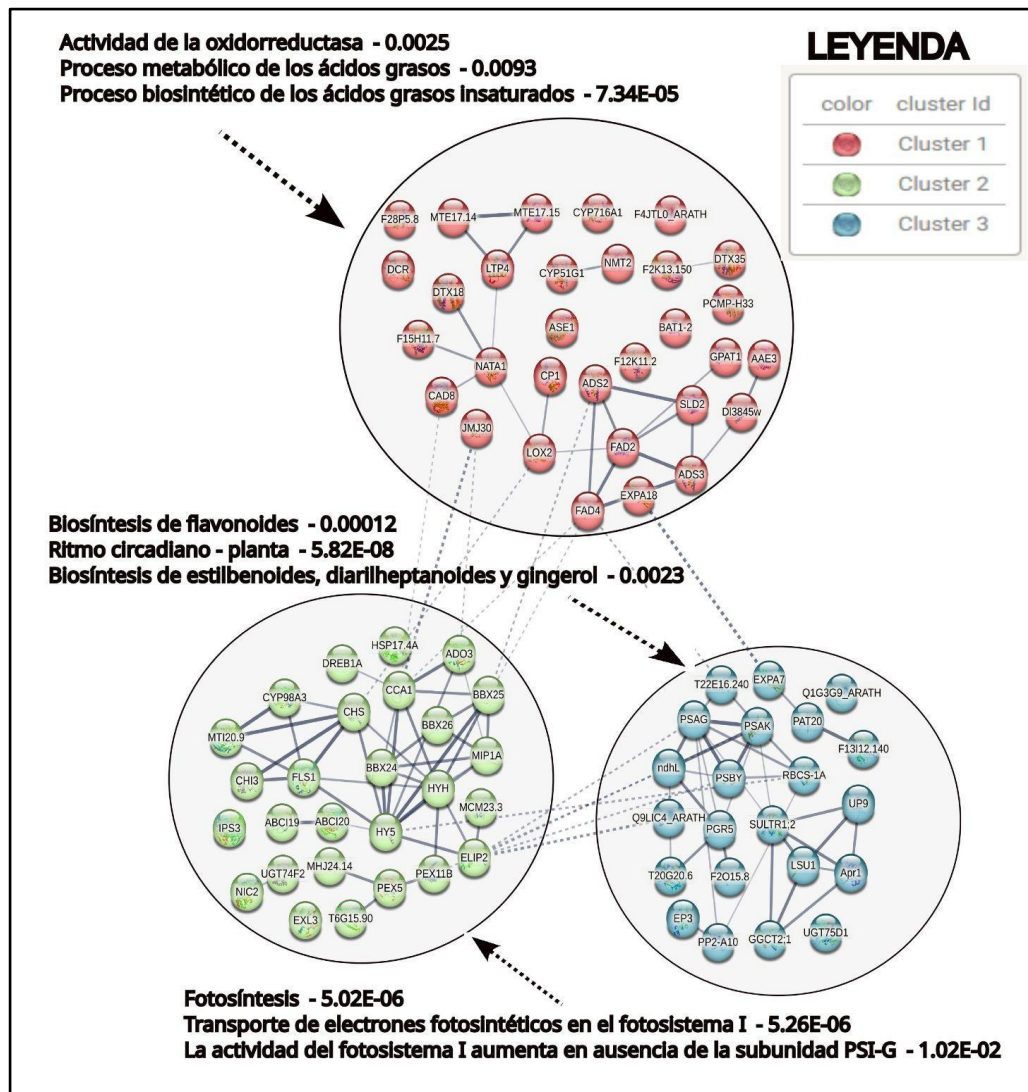
**Segundo clúster:** Este clúster está enriquecido en proteínas relacionadas con la biosíntesis de flavonoides ( $p$ -valor = 0,00012), compuestos que cumplen funciones protectoras contra el daño oxidativo causado por las bajas temperaturas. Además, se observó una fuerte asociación con el ritmo circadiano en plantas ( $p$ -valor = 5,82E-08), lo que sugiere una regulación temporal precisa de las respuestas al frío, en consonancia con los ciclos diarios de luz y oscuridad. La biosíntesis de estilbenoides, diarilheptanoides y gingerol ( $p$ -valor = 0,0023) también está presente, lo que indica la producción de compuestos con propiedades antioxidantes, cruciales para proteger a la planta del estrés abiótico.



**Tercer clúster:** Este clúster agrupa proteínas esenciales para la fotosíntesis ( $p\text{-valor} = 5,02\text{E-}06$ ), un proceso vital que se ve afectado por las bajas temperaturas. La capacidad de las plantas para mantener la eficiencia fotosintética durante el estrés por frío es un indicador clave de tolerancia. Dentro de este clúster también se observan proteínas implicadas en el transporte de electrones fotosintéticos en el fotosistema I ( $p\text{-valor} = 5,26\text{E-}06$ ), un proceso crítico para la conversión de energía lumínica en energía química bajo condiciones de estrés. Por último, la actividad del fotosistema I en ausencia de la subunidad PSI-G ( $p\text{-valor} = 1,02\text{E-}02$ ) refleja adaptaciones específicas que permiten la continuidad de la fotosíntesis en circunstancias adversas, como la ausencia de componentes típicos del fotosistema, demostrando la flexibilidad del genotipo CRQ64 para mantener la funcionalidad fotosintética frente al frío.

**Figura 8**

*Conglomerado y clasificación funcional de genes positivamente regulados en el genotipo de quinua tolerante al estrés por frío*



*Nota.* La red de interacción proteína-proteína se agrupó en clústeres de proteínas que participan en procesos biológicos similares, tomando como referencia los genes de *Arabidopsis*. Los tres círculos grandes representan tres clústeres dentro de la red, y en cada uno de ellos se realizó un enriquecimiento funcional de las proteínas, indicando sus respectivos p-valores corregidos. Además, se muestra la interacción entre los distintos clústeres.

En la figura 9, se presentan los clústeres y las categorías funcionales de los genes regulados negativamente en el genotipo tolerante al frío CRQ64, destacando cómo este genotipo modula su red de interacción proteína-proteína en respuesta al estrés por frío. Se identificaron tres clústeres principales de proteínas,



organizados según su interacción y afinidad dentro de distintas categorías funcionales, lo que permite comprender mejor los mecanismos de tolerancia.

**Primer clúster:** Este grupo incluye procesos biológicos esenciales que parecen estar regulados negativamente en el genotipo tolerante, lo que podría ser una estrategia adaptativa para conservar recursos durante el estrés por frío. Los procesos más representativos, con significancia estadística corregida, incluyen la actividad hidrolasa que hidroliza compuestos O-glicosilo ( $p$ -valor = 0,00053), lo cual indica una disminución en la descomposición de carbohidratos complejos. Esta regulación podría limitar la liberación de azúcares de reserva durante el frío, ayudando a mantener la integridad celular. Además, el proceso metabólico de polisacáridos ( $p$ -valor = 0,03000) y el apoplasto ( $p$ -valor = 0,00880), ambos vinculados con la estructura de la pared celular y el transporte extracelular, también se ven regulados negativamente, sugiriendo una reducción en la movilidad de solutos y en la remodelación de la pared celular, lo que puede ayudar a conservar la energía y los recursos de la planta.

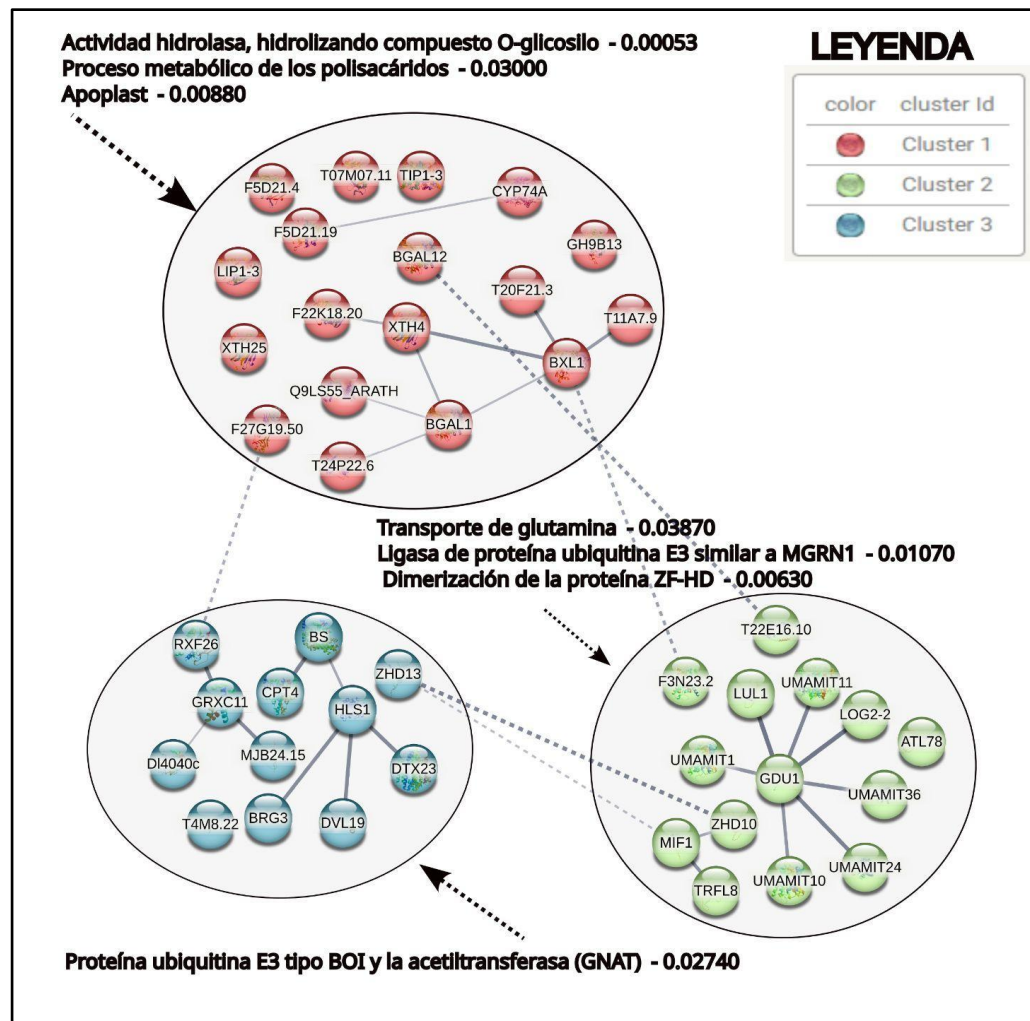
**Segundo clúster:** Este grupo está relacionado con funciones clave de transporte y regulación de proteínas, lo que sugiere una respuesta adaptativa al frío a través de la regulación de la homeostasis proteica. Entre los procesos más destacados se encuentra el transporte de glutamina ( $p$ -valor = 0,03870), un aminoácido vital en la síntesis de proteínas y la regulación del metabolismo del nitrógeno. Su disminución puede ser una estrategia para ralentizar el metabolismo durante el frío. Asimismo, la ligasa de proteína ubiquitina E3 similar a MGRN1 ( $p$ -valor = 0,01070) señala una posible reducción en la degradación selectiva de proteínas, un proceso clave para eliminar proteínas dañadas durante el estrés. Por último, la dimerización de la proteína ZF-HD ( $p$ -valor = 0,00630) implica una regulación negativa en la interacción de proteínas relacionadas con la transcripción, lo que puede indicar una modulación en la expresión de genes en respuesta al frío.

**Tercer clúster:** Este último grupo se enfoca en la regulación de la estabilidad y modificación de proteínas, destacándose la proteína ubiquitina E3 tipo BOI y la acetiltransferasa (GNAT) ( $p$ -valor = 0,02740), ambas involucradas en procesos de modificación postraducciona. La regulación negativa de estas

actividades puede estar relacionada con la necesidad de reducir la modificación de proteínas y el reciclaje de componentes durante el frío, lo que permite a la planta tolerante al frío concentrarse en procesos más críticos para la supervivencia bajo condiciones adversas.

### Figura 9

*Conglomerado y clasificación funcional de genes negativamente regulados en el genotipo de quinua tolerante al estrés por frío*



*Nota.* La red de interacción proteína-proteína se agrupó en clústeres de proteínas que participan en procesos biológicos similares, tomando como referencia los genes de *Arabidopsis*. Los tres círculos grandes representan tres clústeres dentro de la red, y en cada uno de ellos se realizó un enriquecimiento funcional de las proteínas, indicando sus respectivos p-valores corregidos. Además, se muestra la interacción entre los distintos clústeres.

En la figura 10, se muestran los clústeres y las categorías funcionales de los genes regulados positivamente en el genotipo susceptible al frío CSQ5:

**Primer clúster:** Este grupo de proteínas está fuertemente relacionado con procesos fotosintéticos y de desarrollo. Entre los procesos más significativos se destacan el transporte de electrones fotosintético en el fotosistema I (p-valor =  $3,5E-05$ ), lo cual sugiere que, bajo condiciones de frío, el genotipo susceptible CSQ5 aumenta su actividad fotosintética para maximizar la eficiencia en la captura de energía lumínica. Además, la regulación positiva de la germinación de semillas (p-valor =  $3,1E-03$ ) indica una respuesta activada hacia el inicio del desarrollo, lo cual podría ser una estrategia de la planta para sobrevivir al frío. La captación de luz en el fotosistema I (p-valor =  $3,2E-03$ ) refuerza este enfoque, señalando una optimización de la fotosíntesis para compensar las condiciones adversas.

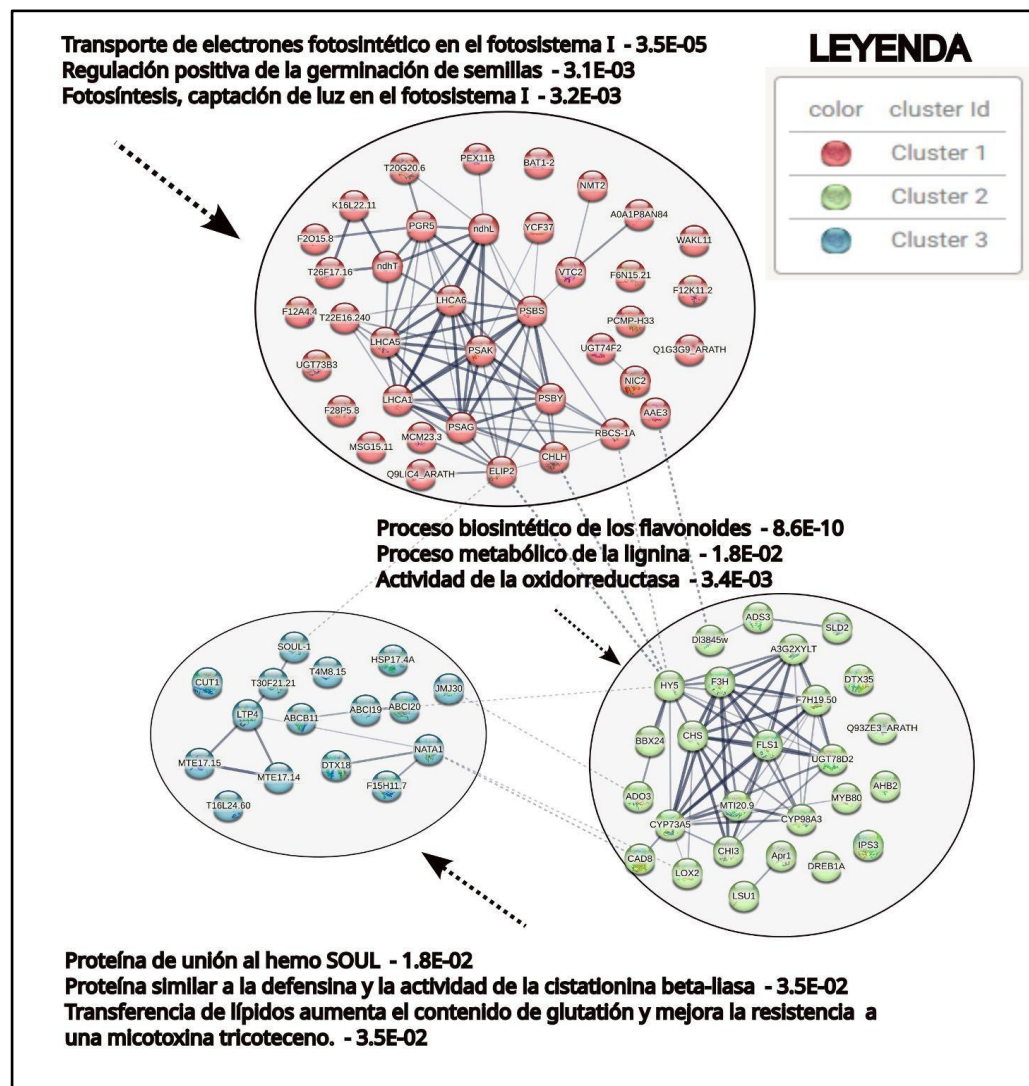
**Segundo clúster:** Este grupo está relacionado con la biosíntesis de compuestos protectores y estructurales en respuesta al frío. Los procesos biológicos más enriquecidos incluyen el proceso biosintético de los flavonoides (p-valor =  $8,6E-10$ ), compuestos que desempeñan un papel fundamental en la protección antioxidante de las plantas contra el daño causado por el estrés ambiental. También se observa el proceso metabólico de la lignina (p-valor =  $1,8E-02$ ), lo que sugiere un fortalecimiento de las paredes celulares mediante la acumulación de lignina, un componente clave para mejorar la rigidez y resistencia estructural en condiciones de estrés. Asimismo, se activa la actividad de la oxidoreductasa (p-valor =  $3,4E-03$ ), que indica un aumento en la respuesta redox de la planta para contrarrestar el daño oxidativo provocado por las bajas temperaturas.

**Tercer clúster:** Este grupo está enfocado en la regulación de respuestas defensivas y de resistencia celular, destacando proteínas vinculadas con la homeostasis celular y la protección contra toxinas. Entre los procesos más relevantes se encuentran la proteína de unión al hemo SOUL (p-valor =  $1,8E-02$ ), que juega un papel importante en la protección celular contra el daño por estrés oxidativo. También se identifican proteínas similares a las defensinas y la actividad de la cistationina beta-liasa (p-valor =  $3,5E-02$ ), implicadas en

mecanismos de defensa contra patógenos y en la regulación del metabolismo del azufre, respectivamente. Además, la transferencia de lípidos que aumenta el contenido de glutatión ( $p$ -valor =  $3,5E-02$ ) refleja una estrategia clave para mejorar la resistencia a toxinas, como las micotoxinas tricoteceno, que podrían ser más prevalentes bajo condiciones de frío y estrés.

**Figura 10**

*Conglomerado y clasificación funcional de genes positivamente regulados en el genotipo de quinua susceptible al estrés por frío*



*Nota.* La red de interacción proteína-proteína se agrupó en clústeres de proteínas que participan en procesos biológicos similares, tomando como referencia los genes de *Arabidopsis*. Los tres círculos grandes representan tres clústeres dentro de la red, y en cada uno de ellos se realizó un enriquecimiento funcional de las proteínas, indicando sus respectivos  $p$ -valores corregidos. Además, se muestra la interacción entre los distintos clústeres.

En la figura 11, se presentan los clústeres y categorías funcionales de los genes regulados negativamente en el genotipo susceptible CSQ5 en respuesta al estrés por frío, analizados a través de la red de interacción proteína-proteína. Se identificaron tres clústeres principales de proteínas, que se agrupan de acuerdo con su interacción y afinidad dentro de distintas categorías funcionales.

**Primer clúster:** Este clúster se asocia con procesos biológicos fundamentales para la homeostasis celular en situaciones de estrés. Destacan los siguientes procesos, con valores de significancia corregidos: Respuesta celular a la hipoxia (p-valor = 0,0182), lo que indica una reducción en la capacidad del genotipo CSQ5 para hacer frente a condiciones de bajo oxígeno, probablemente causadas por la baja eficiencia en el transporte de gases bajo temperaturas extremas. Además, se observa una disminución en el transporte mediado por acuaporinas (p-valor = 1,25E-07) y la actividad del canal de agua (p-valor = 1,85E-05), procesos que son esenciales para la regulación del flujo de agua y el mantenimiento de la turgencia celular. Esta regulación deficiente podría afectar la capacidad de las células para retener agua y mantener su estructura bajo condiciones de frío, contribuyendo a la susceptibilidad del genotipo.

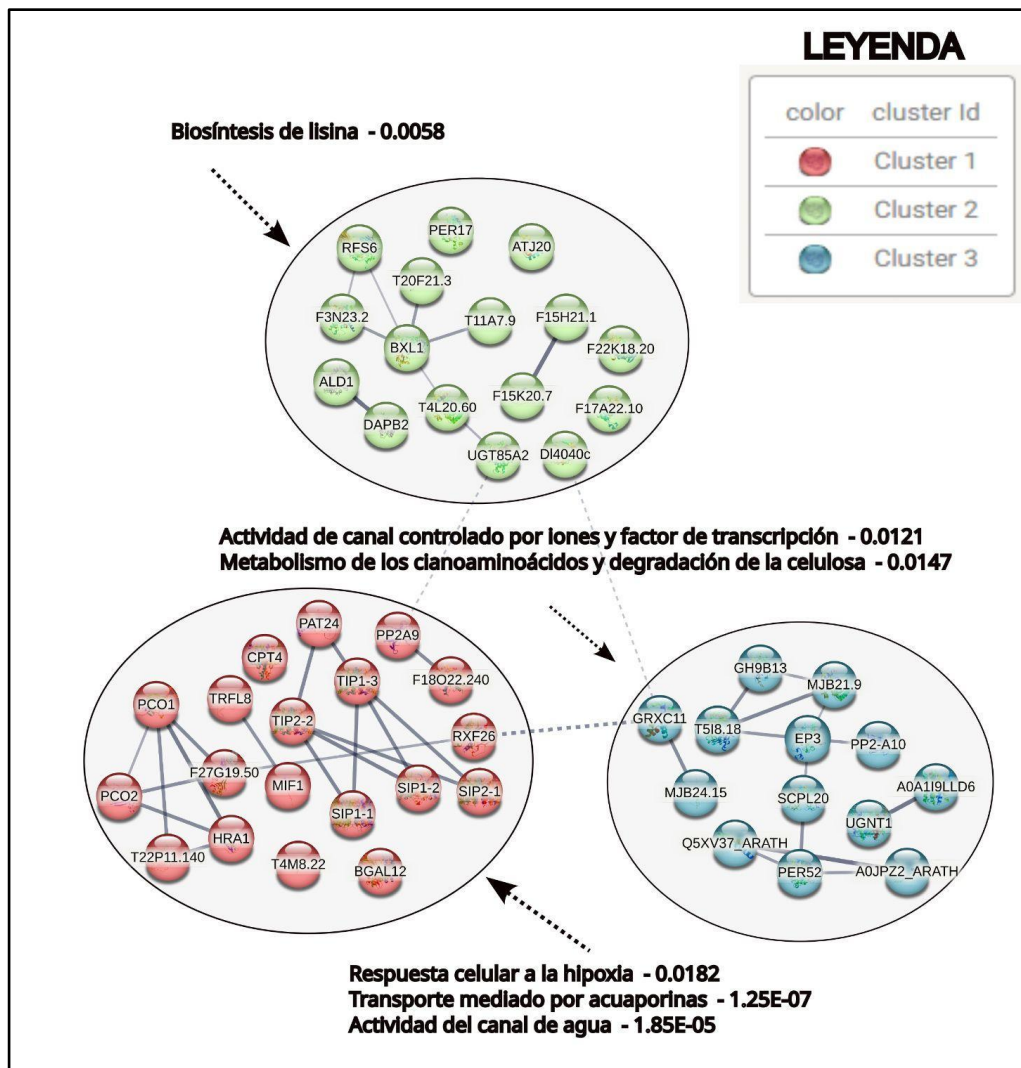
**Segundo clúster:** En este clúster, se destaca la reducción en la biosíntesis de lisina (p-valor = 0,0058), un aminoácido esencial que participa en diversas funciones metabólicas, incluyendo la síntesis de proteínas y la regulación de la acumulación de metabolitos secundarios defensivos. La disminución en la producción de lisina sugiere una limitación en la capacidad del genotipo CSQ5 para responder de manera adecuada al frío, afectando tanto la síntesis de proteínas como la capacidad de la planta para formar compuestos protectores.

**Tercer clúster:** Este grupo de proteínas está asociado principalmente con la actividad de canales controlados por iones y factores de transcripción (p-valor = 0,0121), lo que indica una posible alteración en la señalización celular y en la capacidad de respuesta regulada por factores de transcripción clave. La disminución en la funcionalidad de estos factores podría comprometer la activación de genes esenciales para la supervivencia frente a condiciones de frío. Asimismo, se destacan procesos relacionados con el metabolismo de los cianoaminoácidos y la degradación de la celulosa (p-valor = 0,0147), que sugiere

que las rutas catabólicas involucradas en la descomposición de compuestos celulares también están afectadas, lo que podría influir negativamente en la capacidad de CSQ5 para movilizar reservas energéticas y estructurales necesarias en situaciones de estrés por frío.

**Figura 11**

*Conglomerado y clasificación funcional de genes negativamente regulados en el genotipo de quinua susceptible al estrés por frío*



*Nota.* La red de interacción proteína-proteína se agrupó en clústeres de proteínas que participan en procesos biológicos similares, tomando como referencia los genes de *Arabidopsis*. Los tres círculos grandes representan tres clústeres dentro de la red, y en cada uno de ellos se realizó un enriquecimiento funcional de las proteínas, indicando sus respectivos p-valores corregidos. Además, se muestra la interacción entre los distintos clústeres.

## 4.2 Discusión

El análisis comparativo de genes regulados en respuesta al estrés por frío en los genotipos de quinua CRQ64 (tolerante) y CSQ5 (susceptible), como se presenta en la Figura 1, proporciona una visión detallada de las diferencias en la estrategia de respuesta al frío entre estos genotipos contrastantes. La identificación de 44 genes regulados positivamente y 25 genes regulados negativamente en CRQ64, en comparación con 66 genes regulados positivamente y 30 genes regulados negativamente en CSQ5, revela una diferencia significativa en la magnitud y posiblemente en la eficacia de la respuesta al frío. La mayor cantidad de genes regulados positivamente en CSQ5 en comparación con CRQ64 sugiere una respuesta más extensa al estrés por frío. Sin embargo, esta activación generalizada no necesariamente se traduce en una mayor resistencia al frío. En lugar de una activación eficaz de mecanismos específicos de adaptación, CSQ5 podría estar sufriendo una respuesta más difusa y menos coordinada, lo cual puede ser indicativo de una menor capacidad para manejar el estrés de manera eficiente (Kosová et al., 2015). Este fenómeno es conocido en plantas y otros organismos, donde la respuesta a estrés en genotipos susceptibles tiende a ser menos eficiente y a menudo involucra una activación redundante o ineficaz de genes relacionados con la defensa (Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2022). La presencia de 37 genes regulados positivamente en ambos genotipos subraya la existencia de una base común en los mecanismos de respuesta al frío. Entre estos genes, ABCI19, LOX2, CAD8, PGR5, DREB1A y CHS destacan por su papel en procesos críticos. ABCI19 pertenece a la familia de transportadores ABC, que están involucrados en la exportación de metabolitos secundarios y productos tóxicos de la célula, facilitando la resistencia al estrés (Dahuja et al., 2021). LOX2, involucrado en la biosíntesis de jasmonatos, juega un rol esencial en la regulación de la respuesta a estrés y defensa (Griffiths, 2020). CAD8 está implicado en la lignificación de la pared celular, un proceso clave para la fortaleza estructural de las células. PGR5 actúa en el transporte de electrones en la fotosíntesis, ayudando a mantener la estabilidad del sistema fotosintético bajo condiciones adversas. DREB1A es un regulador maestro en la respuesta a estrés abiótico, que coordina la expresión de genes involucrados en la tolerancia al frío y otras condiciones adversas (Kidokoro et al., 2022). CHS participa en la biosíntesis de flavonoides, que tienen propiedades antioxidantes y protegen a las células del daño oxidativo (Zulfiqar y Ashraf, 2022). La presencia de estos genes en ambos genotipos sugiere que ambos comparten una ruta básica de defensa, aunque con diferencias en la

intensidad y eficacia de la respuesta. En cuanto a los genes regulados negativamente, la identificación de 10 genes en común, incluidos BGAL12 y BXL1, resalta la importancia de la modificación de la pared celular en la adaptación al frío. La  $\beta$ -galactosidasa (BGAL12) y la  $\beta$ -xilosidasa (BXL1) están involucradas en la degradación de polisacáridos de la pared celular, procesos cruciales para ajustar la estructura celular en respuesta a condiciones adversas (Liu et al., 2021). La represión de estos genes en ambos genotipos sugiere una adaptación común que podría implicar una modificación en la estructura de la pared celular para mitigar el daño por frío. Otros genes, como TIP1-3, que codifica un transportador de agua, y F27G19.50, podrían estar involucrados en la regulación del equilibrio hídrico y la adaptación celular durante el estrés, facilitando la reorganización de procesos celulares necesarios para la supervivencia (Wang et al., 2020). El análisis sugiere que la respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante CRQ64 es más eficiente y especializada, mientras que el genotipo susceptible CSQ5 presenta una respuesta más generalizada y posiblemente menos coordinada. Este patrón es consistente con la literatura que describe cómo los genotipos tolerantes suelen tener respuestas más eficientes y dirigidas a condiciones adversas, mientras que los genotipos susceptibles tienden a activar una gama más amplia de respuestas que pueden ser menos efectivas en la mitigación del estrés (Storey y Storey, 2023). La identificación de genes comunes y diferenciados en ambos genotipos proporciona información valiosa sobre las vías moleculares involucradas en la tolerancia y susceptibilidad al frío, y podría ayudar a orientar estrategias de mejoramiento para aumentar la resistencia de la quinua a condiciones de estrés abiótico.

El análisis de enriquecimiento funcional de los genes regulados positivamente y negativamente en respuesta al estrés por frío en los genotipos CRQ64 (tolerante) y CSQ5 (susceptible) ofrece perspectivas valiosas sobre las estrategias moleculares empleadas por cada genotipo para enfrentar condiciones adversas. Este análisis destaca las diferencias clave en la respuesta al frío entre los dos genotipos, revelando tanto similitudes como contrastes significativos en los mecanismos de adaptación. En el genotipo tolerante CRQ64, las vías metabólicas con mayor enriquecimiento en los genes regulados positivamente incluyen "regulación positiva de la germinación de semillas", "proceso biosintético de flavonoides" y "respuesta a alta intensidad de luz". Estas vías son fundamentales para la adaptación al estrés por frío, ya que la regulación positiva de la germinación puede facilitar la supervivencia y el crecimiento inicial en condiciones



adversas, mientras que la biosíntesis de flavonoides contribuye a la defensa antioxidante y protección celular (Zulfiqar y Ashraf, 2022). La "respuesta a alta intensidad de luz" también sugiere una adaptación para manejar el daño potencial causado por el aumento de la radiación en condiciones frías (Manasa S et al., 2022). En contraste, las vías con menor enriquecimiento, como "homeostasis del hierro" y "respuesta al estímulo abiótico", aunque importantes para el equilibrio interno y la adaptación, tienen un papel menos destacado en el contexto de respuesta al frío, indicando que CRQ64 podría estar priorizando mecanismos específicos para enfrentar este estrés (Ding et al., 2024). En cuanto a los genes involucrados, la alta representación de 18 genes en la vía de "respuesta al estímulo abiótico" sugiere una respuesta robusta a factores ambientales adversos, con genes clave como BBX24, PGR5 y DREB1A implicados en la regulación y adaptación al estrés (Ma et al., 2021). De manera similar, el "proceso biosintético de sustancias orgánicas" también cuenta con 18 genes, indicando un esfuerzo significativo en la síntesis de compuestos esenciales para la estructura y función celular durante el estrés (Zhang et al., 2020). En el genotipo susceptible CSQ5, las vías metabólicas más enriquecidas en los genes regulados positivamente incluyen "biosíntesis de flavonoides" (99,32), "regulación positiva de la germinación de semillas" y "respuesta a alta intensidad de luz". Este perfil de enriquecimiento resalta la activación de mecanismos defensivos y protectores, con la biosíntesis de flavonoides jugando un papel crucial en la protección antioxidante bajo estrés (Zulfiqar y Ashraf, 2022). La similitud con CRQ64 en estas vías sugiere una respuesta común a las condiciones adversas, aunque la eficacia y la extensión de estas respuestas pueden diferir significativamente entre los genotipos (Storey y Storey, 2023). En contraste, las vías con menor enriquecimiento en CSQ5, como "respuesta al estímulo abiótico" y "actividad oxidorreductasa", reflejan una menor activación de mecanismos de defensa, lo que podría explicar la mayor susceptibilidad al estrés por frío en este genotipo (Adhikari et al., 2022). La menor representación de genes en estas vías también sugiere que, aunque CSQ5 intenta activar mecanismos de protección, estos no son tan efectivos o extensos como en CRQ64. El análisis de genes regulados negativamente en CRQ64 reveló un alto enriquecimiento en vías como "proceso biosintético del ácido jasmónico" y "actividad de beta-galactosidasa", indicando una regulación negativa en procesos que podrían involucrar la degradación de componentes celulares y la modulación de la respuesta defensiva (Ding et al., 2024). La menor actividad en rutas como "pared celular" y "estructura de encapsulación externa" puede estar asociada con la necesidad de mantener la integridad celular en condiciones

prolongadas de estrés (Singh et al., 2020). En el genotipo susceptible CSQ5, las vías con mayor enriquecimiento en genes regulados negativamente incluyen "oxidación de proteínas y respuesta a la anoxia" y "actividad de transportador transmembrana de agua". Estas vías reflejan problemas en la homeostasis hídrica y el manejo del estrés oxidativo, sugiriendo que el genotipo susceptible enfrenta dificultades en la regulación del equilibrio hídrico y la respuesta al daño celular (Mehrotra et al., 2020). La menor representación de genes en estas vías también indica que la capacidad de CSQ5 para gestionar estos aspectos bajo estrés frío es limitada. En síntesis, los perfiles de enriquecimiento funcional en respuesta al estrés por frío muestran que CRQ64 emplea estrategias más efectivas y específicas para manejar el estrés, mientras que CSQ5 presenta una activación de mecanismos defensivos que, aunque presentes, no son tan eficientes. Estas diferencias reflejan la capacidad de cada genotipo para adaptarse y sobrevivir en condiciones adversas.

El análisis de la red de interacción proteína-proteína (PPI) en quinua revela diferencias notables en la respuesta al estrés por frío entre los genotipos tolerantes y susceptibles. En el genotipo tolerante al frío CRQ64, la red de PPI, que incluye 102 nodos y 251 conexiones, muestra una estructura altamente especializada para la respuesta adaptativa al frío (Figura 6). Las proteínas más expresadas en este genotipo, como UGT74F2 (6,49) y RBCS-1A, están involucradas en procesos críticos como la fotosíntesis y el metabolismo secundario, los cuales son esenciales para la adaptación a condiciones adversas (Qing et al., 2024). El análisis de centralidad de la red identifica tres grupos principales de proteínas en CRQ64. Las proteínas Hub-Bottleneck, son esenciales para la regulación de la red y la coordinación de la respuesta al estrés. Entre estas, BBX25, CHS, y FLS1 destacan por su papel en la integración de señales y la modulación de la respuesta al frío. Estas proteínas actúan como puntos críticos de conectividad, facilitando la transferencia de información dentro de la red (Nithya et al., 2024). Por otro lado, las proteínas Hub, como ndhL y RBCS-1A, son cruciales para la cohesión de la red, participando en la fotosíntesis y el metabolismo energético, lo cual es fundamental para mantener la homeostasis celular bajo estrés (Han et al., 2024). Finalmente, las proteínas Bottleneck, como ABCI20 y EXPA7, son clave para el flujo de información entre las diferentes partes de la red, facilitando la regulación del ciclo celular y el transporte de moléculas bajo condiciones de estrés (L. Niu et al., 2021). En contraste, el análisis de la red de PPI en el genotipo susceptible al frío CSQ5, que consta de 115 nodos y 352

conexiones, revela diferencias en la estructura de la red y en la centralidad de las proteínas (Figura 7). Las proteínas con mayor expresión en este genotipo, como CHS y ELIP2, juegan un rol crucial en la defensa y adaptación al frío, aunque la red parece menos eficiente comparada con CRQ64. Las proteínas Hub-Bottleneck en CSQ5, como CAD8 y CHLH, son esenciales para la coordinación de la respuesta al estrés, pero la red muestra una capacidad de integración de señales menos optimizada (Zeng et al., 2022). Las proteínas Hub, como ndhT y RBCS-1A, son importantes para la cohesión estructural de la red, mientras que las proteínas Bottleneck, como ABCI19 y SOUL-1, facilitan la transmisión de señales y la regulación celular frente al frío (Chen et al., 2021). El hallazgo de factores de transcripción clave, como DREB1A y BBX24, en ambos genotipos subraya su papel central en la regulación de la respuesta al frío. En CRQ64, estos factores de transcripción son fundamentales para activar genes relacionados con la tolerancia al estrés, mientras que en CSQ5, aunque presentes, la red muestra una menor eficiencia en la regulación de la respuesta al frío (Zheng et al., 2022). Este contraste sugiere que, a pesar de la presencia de mecanismos defensivos en CSQ5, el genotipo susceptible tiene una capacidad de adaptación al frío menos eficaz en comparación con el genotipo tolerante. El análisis de centralidad en redes de PPI proporciona una visión detallada de cómo las quinua tolerante y susceptible al frío manejan el estrés térmico a nivel molecular. La identificación de proteínas clave y su papel en la red ofrece valiosas perspectivas para la mejora genética y la selección de variedades con mayor resistencia al frío, lo que puede tener aplicaciones significativas en la agricultura y la biotecnología.

El análisis de clústeres y categorías funcionales de genes en la red de interacción proteína-proteína (PPI) proporciona una visión detallada de las estrategias moleculares de adaptación al frío en el genotipo tolerante CRQ64 y el susceptible CSQ5. Esta comparación revela diferencias notables en la respuesta adaptativa de ambos genotipos y ofrece una comprensión más profunda de los mecanismos de tolerancia y susceptibilidad al frío. En el genotipo CRQ64, los clústeres de genes regulados positivamente destacan por su implicación en la adaptación eficaz al frío. El primer clúster, que incluye proteínas asociadas con procesos metabólicos críticos, muestra una regulación positiva en la actividad de oxidorreductasa y el metabolismo de ácidos grasos. Estas proteínas juegan un papel fundamental en la mitigación del estrés oxidativo y en la modificación de la fluidez de las membranas celulares. La actividad de oxidorreductasa es esencial para neutralizar los radicales libres generados durante el estrés frío, mientras que el

metabolismo de ácidos grasos insaturados contribuye a mantener la integridad de las membranas celulares, permitiendo a la planta preservar su funcionalidad bajo bajas temperaturas (Tezuka et al., 2021). El segundo clúster se centra en la biosíntesis de flavonoides y su relación con el ritmo circadiano en plantas. La regulación positiva en la biosíntesis de flavonoides destaca la importancia de estos compuestos antioxidantes en la protección contra el daño oxidativo inducido por el frío (Aslam et al., 2022). La asociación con el ritmo circadiano sugiere que CRQ64 ajusta temporalmente sus respuestas al frío, en sincronía con los ciclos diarios de luz y oscuridad, optimizando así su capacidad de adaptación (Gusain et al., 2023). El tercer clúster agrupa proteínas vinculadas a la fotosíntesis y al transporte de electrones en el fotosistema I. La capacidad del CRQ64 para mantener una alta eficiencia fotosintética a pesar del estrés por frío es crucial para su supervivencia. La presencia de proteínas involucradas en la función del fotosistema I, incluso en la ausencia de la subunidad PSI-G, resalta la habilidad del genotipo para adaptarse y mantener la fotosíntesis en condiciones adversas (Gaju et al., 2016). El análisis de los genes regulados negativamente en el genotipo CSQ5 revela importantes diferencias en su respuesta al frío. El primer clúster se asocia con la regulación negativa de procesos esenciales para la homeostasis celular, como la actividad hidrolasa y el metabolismo de polisacáridos. La disminución en la actividad hidrolasa y el metabolismo de polisacáridos sugiere una estrategia para conservar recursos durante el estrés por frío, posiblemente limitando la liberación de azúcares y reduciendo la movilidad de solutos, lo que puede afectar la estructura celular y la capacidad de la planta para enfrentar el estrés (Zhou et al., 2022). El segundo clúster incluye procesos relacionados con el transporte y regulación de proteínas, tales como el transporte de glutamina y la ligasa de proteína ubiquitina E3. La regulación negativa en estos procesos refleja una posible reducción en la degradación selectiva de proteínas y una ralentización del metabolismo, lo cual podría contribuir a una menor capacidad del CSQ5 para adaptarse al estrés frío (Lantzouni et al., 2020). El tercer clúster se enfoca en la regulación de la estabilidad y modificación de proteínas. La disminución en la actividad de proteínas como la ubiquitina E3 tipo BOI y la acetiltransferasa podría estar relacionada con la necesidad de conservar recursos durante el frío, limitando la modificación y reciclaje de proteínas (Matamoros y Becana, 2021). Esta estrategia puede reducir la capacidad del CSQ5 para mantener la funcionalidad celular bajo condiciones adversas.

La comparación entre los genotipos CRQ64 y CSQ5 resalta diferencias clave en sus estrategias de respuesta al frío. CRQ64 muestra una capacidad notable para mantener procesos críticos como la fotosíntesis y la biosíntesis de compuestos protectores, lo que refleja una mayor adaptabilidad al frío. En contraste, CSQ5 muestra una regulación negativa en procesos esenciales de homeostasis celular y metabolismo, lo que podría contribuir a su mayor susceptibilidad al frío. Estos hallazgos subrayan la importancia de identificar y comprender los mecanismos moleculares específicos en cada genotipo para desarrollar estrategias de mejora genética y manejo de cultivos más efectivas frente a condiciones climáticas extremas. Aunque el análisis de genes diferencialmente expresos en respuesta al estrés por frío en los genotipos de quinua CRQ64 (tolerante) y CSQ5 (susceptible) ha proporcionado información valiosa, se deben considerar algunas limitaciones. En primer lugar, este estudio se centró en la respuesta a corto plazo al frío, lo que podría no capturar completamente las dinámicas de regulación genética a largo plazo que ocurren en condiciones prolongadas de estrés térmico. Estudios futuros deberían abordar la expresión génica en diferentes etapas del estrés por frío y recuperación para obtener una visión más completa de la adaptación a largo plazo. En segundo lugar, aunque se identificaron genes clave relacionados con la tolerancia y susceptibilidad al frío, la funcionalidad exacta de algunos genes y sus interacciones en la red de proteínas no se ha validado experimentalmente.

Experimentos de validación funcional, como la edición génica mediante CRISPR/Cas9 o el silenciamiento de genes mediante RNAi, podrían confirmar el papel de estos genes en la tolerancia al frío, proporcionando evidencia directa sobre su función en los procesos de adaptación a bajas temperaturas. Estos enfoques permitirían no solo validar las redes de genes previamente identificadas en estudios de expresión, sino también generar líneas de quinua modificadas genéticamente que podrían ser evaluadas en condiciones de campo para determinar su rendimiento en escenarios de frío extremo. Además, estas técnicas de edición y silenciamiento ofrecen la oportunidad de identificar posibles efectos pleiotrópicos que pudieran afectar otras características agronómicas importantes.

Otra limitación del estudio es la falta de información detallada sobre la epigenética y la regulación postraducciona en la respuesta al frío. Las modificaciones epigenéticas, como la metilación del ADN, la acetilación de histonas y la regulación mediada por ARN no codificantes, son mecanismos clave que permiten una respuesta rápida y adaptativa al

estrés ambiental. En la quinua, es posible que estos procesos jueguen un papel fundamental en la regulación de la expresión génica durante la exposición a temperaturas bajas. Estudios futuros podrían investigar cómo estas modificaciones afectan la estabilidad y la accesibilidad de la cromatina, lo que a su vez influye en la transcripción de genes relacionados con la tolerancia al frío. Además, las modificaciones postraduccionales de proteínas, como la fosforilación, ubiquitinación, también podrían regular la actividad de proteínas clave involucradas en la respuesta al frío, como los factores de transcripción, chaperonas y proteínas de señalización.

Finalmente, una limitación importante en el estudio fue que la variabilidad genética dentro de cada genotipo no fue explorada exhaustivamente. Esto es relevante, ya que la diversidad genética intraespecífica puede desempeñar un papel crucial en la capacidad de las plantas para adaptarse a condiciones ambientales cambiantes. Los estudios de asociación genómica amplia (GWAS) o los análisis de loci de caracteres cuantitativos (QTL) podrían proporcionar una mayor resolución en la identificación de regiones genómicas asociadas con la tolerancia al frío. Estos enfoques permiten correlacionar variaciones genéticas específicas con fenotipos adaptativos, facilitando la identificación de marcadores genéticos útiles para programas de mejoramiento asistidos por marcadores (MAS, por sus siglas en inglés). El desarrollo de nuevas variedades de quinua con mayor resistencia al frío, utilizando una combinación de selección tradicional y técnicas moleculares avanzadas, podría ser fundamental para enfrentar los desafíos que plantea el cambio climático en regiones productoras de quinua donde las heladas son frecuentes.

## CONCLUSIONES

**PRIMERO:** En el genotipo tolerante CRQ64, se consideraron superior al 50 % de similitud en genes como IPS3, ABCI20 y CHS, que están asociados a mecanismos críticos de transporte de solutos, biosíntesis de flavonoides y señalización celular, sugiriendo su rol crucial en la tolerancia al frío. Por otro lado, el genotipo susceptible CSQ5 también mostró similitudes superiores al 50 % en genes como IPS3 y MYB80, indicando la activación de mecanismos de defensa similares, aunque probablemente con menor eficiencia.

**SEGUNDO:** El genotipo tolerante CRQ64 activa vías clave como la regulación de la germinación de semillas, la biosíntesis de flavonoides y la respuesta a alta intensidad de luz, optimizando mecanismos de adaptación al frío, mientras que el genotipo susceptible CSQ5 activa estas vías de manera menos eficiente, reflejando su mayor vulnerabilidad. Además, en CSQ5 se observa una regulación negativa en procesos relacionados con la homeostasis hídrica y el manejo del estrés oxidativo, lo que agrava su susceptibilidad al frío. Ambas plantas activan rutas importantes para la defensa y la estructura celular, pero con una eficacia diferenciada entre genotipos.

**TERCERO:** Se identificaron proteínas clave como BBX25, DREB1A y UGT74F2 que actúan como nodos centrales en la red, siendo esenciales para la regulación de la fotosíntesis y el metabolismo secundario, lo que sugiere una respuesta eficiente y coordinada al frío. En CSQ5, aunque presenta una red más extensa, su eficacia es menor, con proteínas como CHS y ELIP2 desempeñando roles cruciales en la defensa antioxidante y la protección de la fotosíntesis. Los factores de transcripción, como BBX24 y DREB1A, son fundamentales en ambos genotipos, pero la menor capacidad de CSQ5 para regular eficientemente el flujo de información en su red podría explicar su mayor susceptibilidad al estrés por frío.

**CUARTO:** En el genotipo tolerante CRQ64, se identificaron tres clústeres principales que destacan por su implicación en procesos metabólicos esenciales como la biosíntesis de ácidos grasos insaturados, la fotosíntesis y la regulación circadiana, subrayando su capacidad de adaptación eficiente al frío mediante



la protección de la fotosíntesis y la estabilidad de las membranas celulares. En contraste, el genotipo susceptible CSQ5 muestra una activación de clústeres relacionados con la fotosíntesis, la biosíntesis de flavonoides y defensas antioxidantes, aunque con limitaciones en procesos críticos como el transporte de agua y la homeostasis celular, lo que sugiere una respuesta menos eficiente.



## RECOMENDACIONES

- PRIMERO:** Se recomienda realizar estudios comparativos exhaustivos utilizando herramientas de bioinformática como BLAST para identificar regiones conservadas en los genes regulados por el frío en quinua y *Arabidopsis thaliana*. Este análisis podría resaltar genes candidatos clave que compartan funciones similares, lo que podría facilitar la identificación de genes asociados a la tolerancia al frío en especies de interés agronómico.
- SEGUNDO:** Para identificar las vías metabólicas más relevantes en la respuesta al frío, se recomienda aplicar un enfoque de análisis de enriquecimiento funcional utilizando datos transcriptómicos de ambos genotipos. Además, integrar herramientas como DAVID ayudará a destacar vías metabólicas específicas, como la biosíntesis de compuestos protectores o la regulación de procesos fotosintéticos, que pueden ser objetivos para futuros estudios de mejora genética.
- TERCERO:** Se sugiere priorizar el análisis de centralidad utilizando métricas como "betweenness" y "degree" en herramientas como Cytoscape para identificar los genes clave en la respuesta al frío. Estos genes con alta centralidad pueden ser moduladores importantes en la red de señalización y representar objetivos potenciales para modificar la respuesta al frío en ambos genotipos.
- CUARTO:** Para una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares de respuesta al frío, se recomienda combinar el análisis de clústeres con anotaciones funcionales de proteínas usando herramientas como STRING o MCL. Esto permitirá identificar grupos de proteínas con funciones complementarias que participan en rutas críticas de defensa y adaptación, optimizando estrategias de mejoramiento para incrementar la tolerancia al estrés abiótico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adhikari, L., Baral, R., Paudel, D., Min, D., Makaju, S. O., Poudel, H. P., Acharya, J. P., y Missaoui, A. M. (2022). Cold stress in plants: Strategies to improve cold tolerance in forage species. *Plant Stress*, 4, 100081. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100081>
- Aellen, P., y Just, T. (1943). Key and Synopsis of the American Species of the Genus *Chenopodium* L. *The American Midland Naturalist*, 30(1), 47-76. <https://doi.org/10.2307/2421263>
- Afzal, I., Haq, M. Z. U., Ahmed, S., Hirich, A., y Bazile, D. (2023a). Challenges and Perspectives for Integrating Quinoa into the Agri-Food System. *Plants*, 12(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/plants12193361>
- Afzal, I., Haq, M. Z. U., Ahmed, S., Hirich, A., y Bazile, D. (2023b). Challenges and Perspectives for Integrating Quinoa into the Agri-Food System. *Plants*, 12(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/plants12193361>
- Anuradha, Kumari, M., Zinta, G., Chauhan, R., Kumar, A., Singh, S., y Singh, S. (2023). Genetic resources and breeding approaches for improvement of amaranth (*Amaranthus* spp.) and quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Frontiers in Nutrition*, 10, 1129723. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1129723>
- Aslam, M., Fakher, B., Ashraf, M. A., Cheng, Y., Wang, B., y Qin, Y. (2022). Plant Low-Temperature Stress: Signaling and Response. *Agronomy*, 12(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030702>
- Bazile, D., Pulvento, C., Verniau, A., Al-Nusairi, M. S., Ba, D., Breidy, J., Hassan, L., Mohammed, M. I., Mambetov, O., Otambekova, M., Sepahvand, N. A., Shams, A., Souici, D., Miri, K., y Padulosi, S. (2016). Worldwide Evaluations of Quinoa: Preliminary Results from Post International Year of Quinoa FAO Projects in Nine Countries. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00850>
- Chaudhary, N., Walia, S., y Kumar, R. (2023). Functional composition, physiological effect and agronomy of future food quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 118, 105192. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105192>

- Chen, X., Ding, Y., Yang, Y., Song, C., Wang, B., Yang, S., Guo, Y., y Gong, Z. (2021). Protein kinases in plant responses to drought, salt, and cold stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(1), 53-78. <https://doi.org/10.1111/jipb.13061>
- Cheng, G., Zhang, L., Wang, H., Lu, J., Wei, H., y Yu, S. (2020). Transcriptomic Profiling of Young Cotyledons Response to Chilling Stress in Two Contrasting Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Genotypes at the Seedling Stage. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), Article 14. <https://doi.org/10.3390/ijms21145095>
- Correa Guerrero, M. C. (2018). *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.*
- Dahuja, A., Kumar, R. R., Sakhare, A., Watts, A., Singh, B., Goswami, S., Sachdev, A., y Praveen, S. (2021). Role of ATP-binding cassette transporters in maintaining plant homeostasis under abiotic and biotic stresses. *Physiologia Plantarum*, 171(4), 785-801. <https://doi.org/10.1111/ppl.13302>
- De la Cruz, G., Blas, R., Pérez, W., Neyra, E., y Ortiz, R. (2023). Foliar transcriptomes reveal candidate genes for late blight resistance in cultivars of diploid potato *Solanum tuberosum* L. Andigenum Group. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1210046. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1210046>
- Di Silvestre, D., Passignani, G., Rossi, R., Ciuffo, M., Turina, M., Vigani, G., y Mauri, P. L. (2022). Presence of a Mitovirus Is Associated with Alteration of the Mitochondrial Proteome, as Revealed by Protein-Protein Interaction (PPI) and Co-Expression Network Models in Chenopodium quinoa Plants. *Biology*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/biology11010095>
- Ding, Y., Shi, Y., y Yang, S. (2024). *Regulatory Networks Underlying Plant Responses and Adaptation to Cold Stress.* <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-111523-102226>
- FAO, Andinos, F. para la P. e I. de P., Forestal, I. N. de I. A. y, Development, I. F. for A., y Nations, F. and A. O. of the U. (2013). *Descriptors for quinoa (Chenopodium quinoa Willd) and wild relatives.* Bioversity International. <https://hdl.handle.net/10568/69165>

- Fernandez-Pozo, N., Haas, F. B., Gould, S. B., y Rensing, S. A. (2022). An overview of bioinformatics, genomics, and transcriptomics resources for bryophytes. *Journal of Experimental Botany*, 73(13), 4291-4305. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac052>
- Gaju, O., DeSilva, J., Carvalho, P., Hawkesford, M. J., Griffiths, S., Greenland, A., y Foulkes, M. J. (2016). Leaf photosynthesis and associations with grain yield, biomass and nitrogen-use efficiency in landraces, synthetic-derived lines and cultivars in wheat. *Field Crops Research*, 193, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.04.018>
- Gao, H., Chen, C., Li, S., Wang, C., Zhou, W., y Yu, B. (2023). Prediction of protein-protein interactions based on ensemble residual convolutional neural network. *Computers in Biology and Medicine*, 152, 106471. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2022.106471>
- Ge, S. X., Jung, D., y Yao, R. (2020). ShinyGO: A graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. *Bioinformatics*, 36(8), 2628-2629. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz931>
- Griffiths, G. (2020). Jasmonates: Biosynthesis, perception and signal transduction. *Essays in Biochemistry*, 64(3), 501-512. <https://doi.org/10.1042/EBC20190085>
- Gusain, S., Joshi, S., y Joshi, R. (2023). Sensing, signalling, and regulatory mechanism of cold-stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 197, 107646. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107646>
- Han, Y., Liang, A., Xu, D., Zhang, Y., Shi, J., Li, M., Liu, T., Qi, H., Han, Y., Liang, A., Xu, D., Zhang, Y., Shi, J., Li, M., Liu, T., y Qi, H. (2024). Versatile roles of trehalose in plant growth and development and responses to abiotic stress. *Vegetable Research*, 4(1). <https://doi.org/10.48130/vegres-0024-0007>
- Harms, N. E., Knight, I. A., Pratt, P. D., Reddy, A. M., Mukherjee, A., Gong, P., Coetzee, J., Raghu, S., y Diaz, R. (2021). Climate Mismatch between Introduced Biological Control Agents and Their Invasive Host Plants: Improving Biological Control of Tropical Weeds in Temperate Regions. *Insects*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/insects12060549>
- Ilhan, E., Kasapoglu, A. G., Turkoglu, A., Aygoren, A. S., Muslu, S., Aydin, M., Aldaif,

- M., y Haliloglu, K. (2023). Evaluation of Sodium Azide as a Chemical Mutagen in Developing Cold-Tolerant Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Lines. *Iranian Journal of Science*, 47(3), 663-671. <https://doi.org/10.1007/s40995-023-01452-4>
- Jacobsen, S.-E., Mujica, A., y Jensen, C. R. (2003). The Resistance of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to Adverse Abiotic Factors. *Food Reviews International*, 19(1-2), 99-109. <https://doi.org/10.1081/FRI-120018872>
- Jaikishun, S., Li, W., Yang, Z., y Song, S. (2019). Quinoa: In Perspective of Global Challenges. *Agronomy*, 9(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040176>
- Kanehisa, M., Sato, Y., Kawashima, M., Furumichi, M., y Tanabe, M. (2016). KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D457-D462. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1070>
- Kidokoro, S., Shinozaki, K., y Yamaguchi-Shinozaki, K. (2022). Transcriptional regulatory network of plant cold-stress responses. *Trends in Plant Science*, 27(9), 922-935. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.01.008>
- Konstantinov, D. K., Zubairova, U. S., Ermakov, A. A., y Doroshkov, A. V. (2021). Comparative transcriptome profiling of a resistant vs susceptible bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar in response to water deficit and cold stress. *PeerJ*, 9, e11428. <https://doi.org/10.7717/peerj.11428>
- Kosová, K., Vítámvás, P., Urban, M. O., Klíma, M., Roy, A., y Prášil, I. T. (2015). Biological Networks Underlying Abiotic Stress Tolerance in Temperate Crops—A Proteomic Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms160920913>
- Lantzouni, O., Alkofer, A., Falter-Braun, P., y Schwechheimer, C. (2020). GROWTH-REGULATING FACTORS Interact with DELLAs and Regulate Growth in Cold Stress. *The Plant Cell*, 32(4), 1018-1034. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00784>
- Liu, S., Zenda, T., Dong, A., Yang, Y., Wang, N., y Duan, H. (2021). Global Transcriptome and Weighted Gene Co-expression Network Analyses of Growth-Stage-Specific Drought Stress Responses in Maize. *Frontiers in Genetics*, 12.

<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.645443>

- Luo, Z., Zhou, Z., Li, Y., Tao, S., Hu, Z.-R., Yang, J.-S., Cheng, X., Hu, R., y Zhang, W. (2022). Transcriptome-based gene regulatory network analyses of differential cold tolerance of two tobacco cultivars. *BMC Plant Biology*, 22(1), 369. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03767-7>
- Ma, M., Liu, Y., Bai, C., Yang, Y., Sun, Z., Liu, X., Zhang, S., Han, X., y Yong, J. W. H. (2021). The Physiological Functionality of PGR5/PGRL1-Dependent Cyclic Electron Transport in Sustaining Photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.702196>
- Manasa S, L., Panigrahy, M., Panigrahi, K. C. S., y Rout, G. R. (2022). Overview of Cold Stress Regulation in Plants. *The Botanical Review*, 88(3), 359-387. <https://doi.org/10.1007/s12229-021-09267-x>
- Matamoros, M. A., y Becana, M. (2021). Molecular responses of legumes to abiotic stress: Post-translational modifications of proteins and redox signaling. *Journal of Experimental Botany*, 72(16), 5876-5892. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab008>
- Mehrotra, S., Verma, S., Kumar, S., Kumari, S., y Mishra, B. N. (2020). Transcriptional regulation and signalling of cold stress response in plants: An overview of current understanding. *Environmental and Experimental Botany*, 180, 104243. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104243>
- Nithya, C., Kiran, M., y Nagarajaram, H. A. (2024). Hubs and Bottlenecks in Protein-Protein Interaction Networks. En S. Mandal (Ed.), *Reverse Engineering of Regulatory Networks* (pp. 227-248). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3461-5\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3461-5_13)
- Niu, L., Li, H., Song, Z., Dong, B., Cao, H., Liu, T., Du, T., Yang, W., Amin, R., Wang, L., Yang, Q., Meng, D., y Fu, Y. (2021). The functional analysis of ABCG transporters in the adaptation of pigeon pea (*Cajanus cajan*) to abiotic stresses. *PeerJ*, 9, e10688. <https://doi.org/10.7717/peerj.10688>
- Niu, Y., Fan, S., Cheng, B., Li, H., Wu, J., Zhao, H., Huang, Z., Yan, F., Qi, B., Zhang, L., y Zhang, G. (2023). Comparative transcriptomics and co-expression networks reveal cultivar-specific molecular signatures associated with reproductive-stage

- cold stress in rice. *Plant Cell Reports*, 42(4), 707-722.  
<https://doi.org/10.1007/s00299-023-02984-0>
- Pathan, S., y Siddiqui, R. A. (2022). Nutritional Composition and Bioactive Components in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Greens: A Review. *Nutrients*, 14(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/nu14030558>
- Ponce Travezaño, O. P. (2016). *Identificación de microARNs (miRNAs) Asociados al estrés hídrico en Solanum tuberosum subsp andigena*.
- Qing, Y. a. O., Jiehua, W., Abudula, X., Tulahong, D., y Hongliang, C. U. I. (2024). Physiological responses of different quinoa varieties during seedling stage under low temperature stress. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 61(7), 1597.  
<https://doi.org/10.6048/j.issn.1001-4330.2024.07.005>
- Quintana Palacios, C. (2018). *Indicadores morfológicos y fisiológicos de la reacción a bajas temperaturas en plantas de Papas Nativas (Solanum spp.)*.
- Quispe Mayta, E. (2019). Comparativo de rendimiento de grano, fenología, análisis bromatológico, contenido de aminoácidos y contenido de saponina de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow) en San Salvador – Calca – Cusco. *Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco*.  
<https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4495>
- Ruiz, L. B.-G., María Reguera, Ángel Mujica, Néstor Fernández del Saz, Carolina Sanhueza, Catalina Castro, José Ortiz, Gabriel Barros, José Delatorre-Herrera, Karina B. (2023). Genotype and Environment as Key Factors Controlling Seed Quality in Latin-American Crops. En *Latin-American Seeds*. CRC Press.
- Shinozaki, K., y Yamaguchi-Shinozaki, K. (2022). Functional genomics in plant abiotic stress responses and tolerance: From gene discovery to complex regulatory networks and their application in breeding. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 98(8), 470-492. <https://doi.org/10.2183/pjab.98.024>
- Singh, R. K., Deshmukh, R., Muthamilarasan, M., Rani, R., y Prasad, M. (2020). Versatile roles of aquaporin in physiological processes and stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 178-189.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.009>

- Smita, S., Katiyar, A., Lenka, S. K., Dalal, M., Kumar, A., Mahtha, S. K., Yadav, G., Chinnusamy, V., Pandey, D. M., y Bansal, K. C. (2020). Gene network modules associated with abiotic stress response in tolerant rice genotypes identified by transcriptome meta-analysis. *Functional y Integrative Genomics*, 20(1), 29-49. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00697-w>
- Storey, J. M., y Storey, K. B. (2023). Chaperone proteins: Universal roles in surviving environmental stress. *Cell Stress and Chaperones*, 28(5), 455-466. <https://doi.org/10.1007/s12192-022-01312-x>
- Sun, S., Lin, M., Qi, X., Chen, J., Gu, H., Zhong, Y., Sun, L., Muhammad, A., Bai, D., Hu, C., y Fang, J. (2021). Full-length transcriptome profiling reveals insight into the cold response of two kiwifruit genotypes (*A. arguta*) with contrasting freezing tolerances. *BMC Plant Biology*, 21(1), 365. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03152-w>
- Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., Gable, A. L., Fang, T., Doncheva, N. T., Pyysalo, S., Bork, P., Jensen, L. J., y von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: Protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D638-D646. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1000>
- Tezuka, D., Matsuura, H., Saburi, W., Mori, H., y Imai, R. (2021). A Ubiquitously Expressed UDP-Glucosyltransferase, UGT74J1, Controls Basal Salicylic Acid Levels in Rice. *Plants*, 10(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/plants10091875>
- Toubiana, D., Cabrera, R., Salas, E., Maccera, C., Franco dos Santos, G., Cevallos, D., Lindqvist-Kreuze, H., Lopez, J. M., y Maruenda, H. (2020). Morphological and metabolic profiling of a tropical-adapted potato association panel subjected to water recovery treatment reveals new insights into plant vigor. *The Plant Journal*, 103(6), 2193-2210. <https://doi.org/10.1111/tpj.14892>
- Vergata, C., Yousefi, S., Buti, M., Vestrucci, F., Gholami, M., Sarikhani, H., Salami, S. A., y Martinelli, F. (2022). Meta-analysis of transcriptomic responses to cold stress in plants. *Functional Plant Biology*, 49(8), 704-724. <https://doi.org/10.1071/FP21230>



- Wang, C., Zhang, M., Zhou, J., Gao, X., Zhu, S., Yuan, L., Hou, X., Liu, T., Chen, G., Tang, X., Shan, G., y Hou, J. (2022). Transcriptome analysis and differential gene expression profiling of wucai (*Brassica campestris* L.) in response to cold stress. *BMC Genomics*, 23(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08311-3>
- Wang, S., Wu, R., Lu, J., Jiang, Y., Huang, T., y Cai, Y.-D. (2022). Protein-protein interaction networks as miners of biological discovery. *PROTEOMICS*, 22(15-16), 2100190. <https://doi.org/10.1002/pmic.202100190>
- Wang, X., Liu, Y., Han, Z., Chen, Y., Huai, D., Kang, Y., Wang, Z., Yan, L., Jiang, H., Lei, Y., y Liao, B. (2021). Integrated Transcriptomics and Metabolomics Analysis Reveal Key Metabolism Pathways Contributing to Cold Tolerance in Peanut. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.752474>
- Wang, Y., Zhao, Z., Liu, F., Sun, L., y Hao, F. (2020). Versatile Roles of Aquaporins in Plant Growth and Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), Article 24. <https://doi.org/10.3390/ijms21249485>
- Xie, H., Zhang, P., Jiang, C., Wang, Q., Guo, Y., Zhang, X., Huang, T., Liu, J., Li, L., Li, H., Wang, H., y Qin, P. (2023). Combined transcriptomic and metabolomic analyses of high temperature stress response of quinoa seedlings. *BMC Plant Biology*, 23(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04310-y>
- Xu, G., Li, L., Zhou, J., Lyu, D., Zhao, D., y Qin, S. (2023). Comparison of transcriptome and metabolome analysis revealed differences in cold resistant metabolic pathways in different apple cultivars under low temperature stress. *Horticultural Plant Journal*, 9(2), 183-198. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.09.002>
- Yaschenko, A. E., Fenech, M., Mazzoni-Putman, S., Alonso, J. M., y Stepanova, A. N. (2022). Deciphering the molecular basis of tissue-specific gene expression in plants: Can synthetic biology help? *Current Opinion in Plant Biology*, 68, 102241. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2022.102241>
- Yousefi, S., Marchese, A., Salami, S. A., Benny, J., Giovino, A., Perrone, A., Caruso, T., Gholami, M., Sarikhani, H., Buti, M., y Martinelli, F. (2022). Identifying conserved genes involved in crop tolerance to cold stress. *Functional Plant*

- Biology*, 49(10), 861-873. <https://doi.org/10.1071/FP21290>
- Zeng, Z., Zhang, S., Li, W., Chen, B., y Li, W. (2022). Gene-coexpression network analysis identifies specific modules and hub genes related to cold stress in rice. *BMC Genomics*, 23(1), 251. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08438-3>
- Zhang, C., Zhang, X., Freddolino, P. L., y Zhang, Y. (2023). BioLiP2: An updated structure database for biologically relevant ligand–protein interactions. *Nucleic Acids Research*, gkad630. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad630>
- Zhang, H., Jiang, C., Lei, J., Dong, J., Ren, J., Shi, X., Zhong, C., Wang, X., Zhao, X., y Yu, H. (2022). Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal key regulatory networks and potential hub genes controlling peanut chilling tolerance. *Genomics*, 114(2), 110285. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2022.110285>
- Zhang, L., Fang, Y., Lu, X., Xu, S., Cai, F., Yu, M., Li, X., y Zhong, S. (2020). Transcriptional response of zebrafish larvae exposed to lindane reveals two detoxification genes of ABC transporter family (*abcg5* and *abcg8*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology y Pharmacology*, 232, 108755. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108755>
- Zhang, Y., Zhang, M., Li, T., Zhang, X., y Wang, L. (2022). Enhance Production of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) and Improve the Function of Fermented Quinoa by Cold Stress. *Foods*, 11(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/foods11233908>
- Zhao, K., y Rhee, S. Y. (2022). Omics-guided metabolic pathway discovery in plants: Resources, approaches, and opportunities. *Current Opinion in Plant Biology*, 67, 102222. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2022.102222>
- Zheng, L., Zhao, Y., Gan, Y., Li, H., Luo, S., Liu, X., Li, Y., Shao, Q., Zhang, H., Zhao, Y., y Ma, C. (2022). Full-Length Transcriptome Sequencing Reveals the Impact of Cold Stress on Alternative Splicing in Quinoa. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/ijms23105724>
- Zhou, G., Li, K., Wang, R., Liu, X., Qin, X., Jian, Z., Lu, B., He, F., y Ren, M. (2022). *Genome-wide identification of the GST gene family and its expression pattern analysis under cold stress in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2309244/v1>



Zulfiqar, F., y Ashraf, M. (2022). Antioxidants as modulators of arsenic-induced oxidative stress tolerance in plants: An overview. *Journal of Hazardous Materials*, 427, 127891. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127891>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Preguntas	Hipótesis	Objetivos	Variables	Métodos
PE1: ¿Cómo se alinean los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante y susceptible al estrés por frío con los genes homólogos de <i>Arabidopsis thaliana</i> ?	HE1: Los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante (CRQ64) y susceptible (CSQ5) al estrés por frío presentan un alto grado de alineamiento con los genes homólogos de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	OE1: Realizar alineamiento local de los genes regulados en los genotipos de quinua tolerante CRQ64 y susceptible CSQ5 al estrés por frío, con genes de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	Identidad (%) Número de genes alineados	Alineamiento local de los genes regulados con sus genes homólogos en <i>Arabidopsis thaliana</i> , utilizando Ubuntu. El análisis de enriquecimiento funcional se llevó a cabo empleando los softwares Cytoscape y R (versión 4.4.1)
PE2: ¿Cuáles son las principales vías metabólicas enriquecidas en las rutas de KEGG para los genes regulados en respuesta al frío en los genotipos CRQ64 y CSQ5?	HE2: Las rutas metabólicas enriquecidas en las rutas de KEGG para los genes regulados en respuesta al frío son los genes regulados en las rutas de KEGG, significativamente diferentes entre los genotipos CRQ64 y CSQ5, con una mayor activación de vías relacionadas con la protección celular en el genotipo tolerante.	OE2: Analizar el enriquecimiento funcional de los genes regulados en las rutas metabólicas de KEGG, identificando las vías más relevantes en la respuesta al frío en los genotipos tolerante y susceptible.	Enriquecimiento funcional Número de genes por vías metabólicas	

Continuación de Anexo 1

Preguntas	Hipótesis	Objetivos	Variables	Métodos
PE3: ¿Qué genes desempeñan un papel central en las redes de interacción biológica frente al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes, y cómo contribuyen estos genes a la regulación de la respuesta al frío?	HE3: Los genes con mayor centralidad en las redes de interacción biológica frente al estrés por frío en los genotipos CRQ64 y CSQ5 son diferentes, desempeñando roles clave en la regulación de mecanismos específicos de tolerancia en el genotipo CRQ64 y de susceptibilidad en el genotipo CSQ5.	OE3: Evaluar la centralidad de los genes en las redes biológicas de interacción asociadas a la respuesta al estrés por frío en ambos genotipos contrastantes.	Centralidad de los genes Fold change de los genes	Construcción y análisis <i>in silico</i> de redes biológicas de genes regulados en dos genotipos contrastantes de quinua
PE4: ¿Cuáles son los clústeres proteicos más importantes en las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío, y qué categorías funcionales están asociadas a estos clústeres en cada genotipo?	HE4: Los clústeres proteicos identificados en las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío presentan diferencias funcionales entre los genotipos CRQ64 y CSQ5, con categorías proteicas más diversificadas y relacionadas con la defensa en el genotipo tolerante.	OE4: Determinar los clústeres proteicos y sus respectivas categorías funcionales dentro de las redes de interacción proteína-proteína de los genes regulados por el estrés por frío.	Número de clusters Categorías funcionales	estresados por frío. Con el propósito de entender los mecanismos de defensa a nivel molecular.

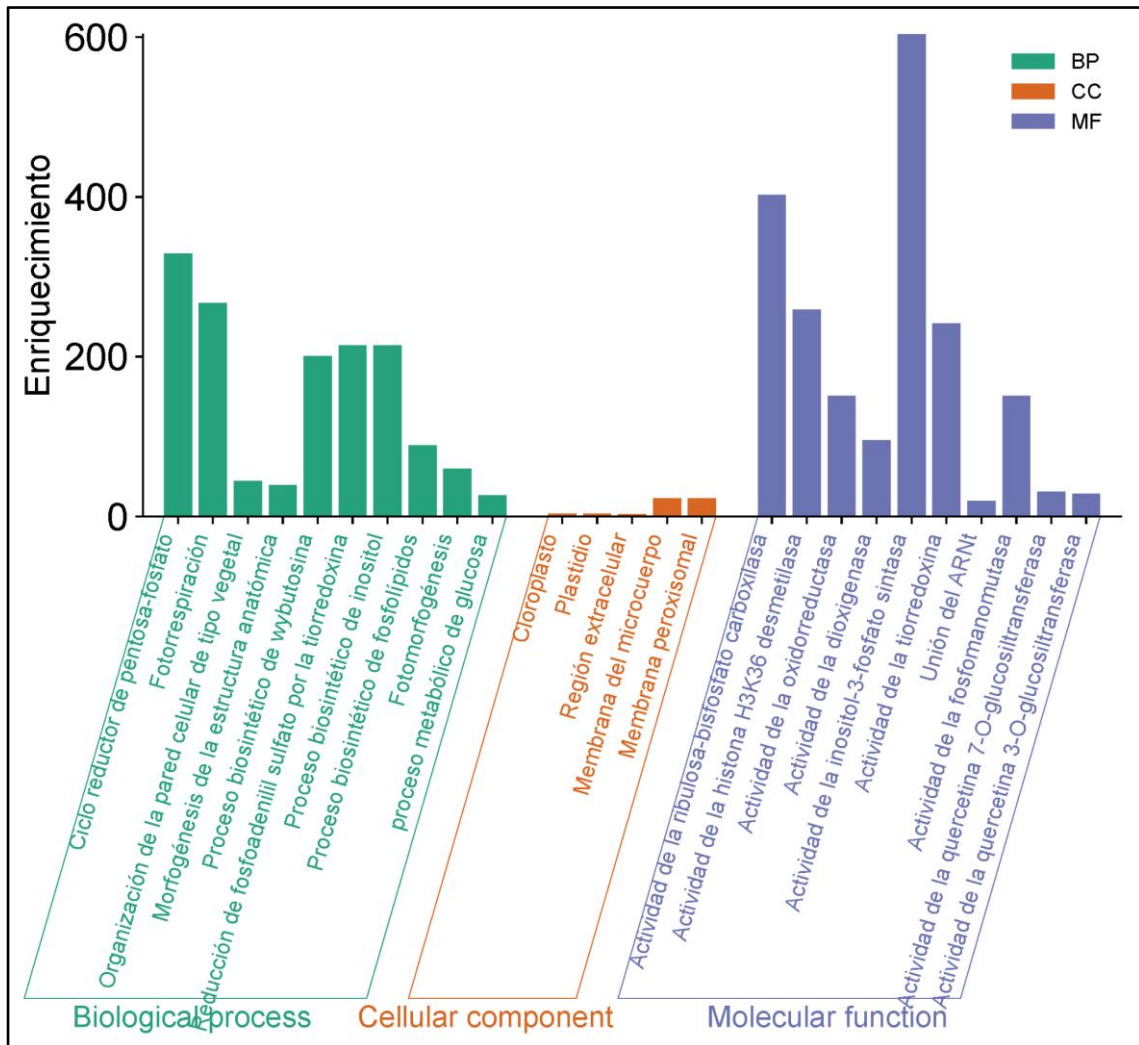
## Anexo 2. Base de datos

ID	Nombre de gen	Regulación	log2FC	FDR
AUR62037807	AUR62037807	up	7,414260346	1,57E-66
AUR62030476	AUR62030476	up	6,82261653	9,84E-298
AUR62042829	AUR62042829	up	6,542441464	3,92E-27
AUR62021242	AUR62021242	up	6,485232848	6,87E-27
AUR62014839	AUR62014839	up	6,353863557	2,23E-89
AUR62030819	AUR62030819	up	6,311678355	4,44E-131
AUR62032625	AUR62032625	up	5,977385556	1,50E-112
AUR62031740	AUR62031740	up	5,588421289	1,50E-93
AUR62017036	AUR62017036	up	5,473353914	1,38E-41
AUR62020681	AUR62020681	up	5,447179021	2,39E-20
AUR62023307	AUR62023307	up	5,326898557	6,85E-84
AUR62004453	AUR62004453	up	5,287538525	2,10E-101
AUR62016035	AUR62016035	up	5,236065771	4,21E-100
AUR62030478	AUR62030478	up	5,127337949	3,31E-117
AUR62016036	AUR62016036	up	5,050669239	2,16E-20
AUR62002031	AUR62002031	up	5,048209076	4,47E-121
AUR62002433	AUR62002433	up	5,012190864	4,44E-37
AUR62035095	AUR62035095	up	4,994066283	2,17E-67

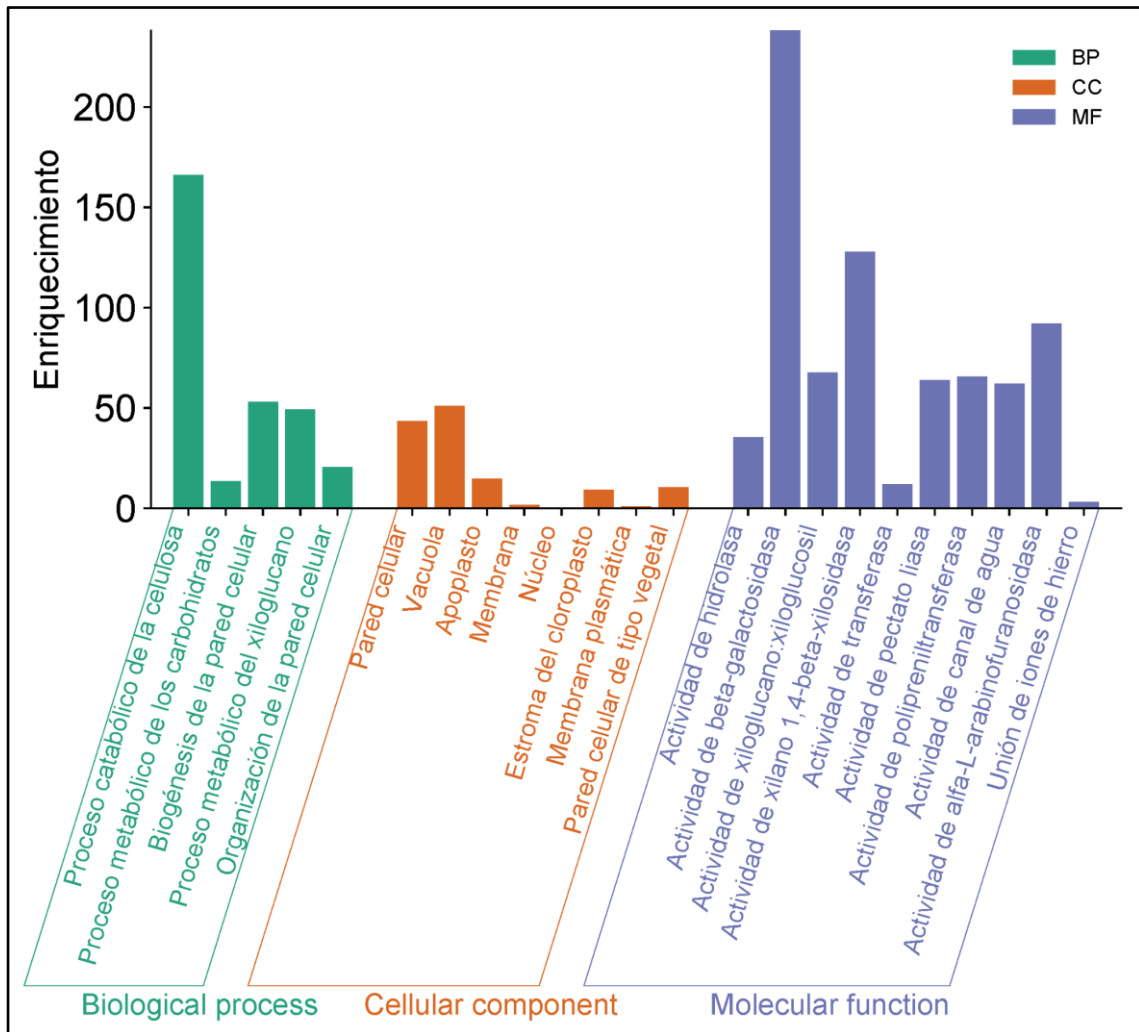
**Base de datos en:**

[https://docs.google.com/spreadsheets/d/1h5FIRERX-698DOWaTh9v6M02bPi5-gshYzO\\_wic\\_9Ek/edit?usp=sharing](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1h5FIRERX-698DOWaTh9v6M02bPi5-gshYzO_wic_9Ek/edit?usp=sharing)

### Anexo 3. Ontología génica de los genes regulados positivamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante de quinua CRQ64

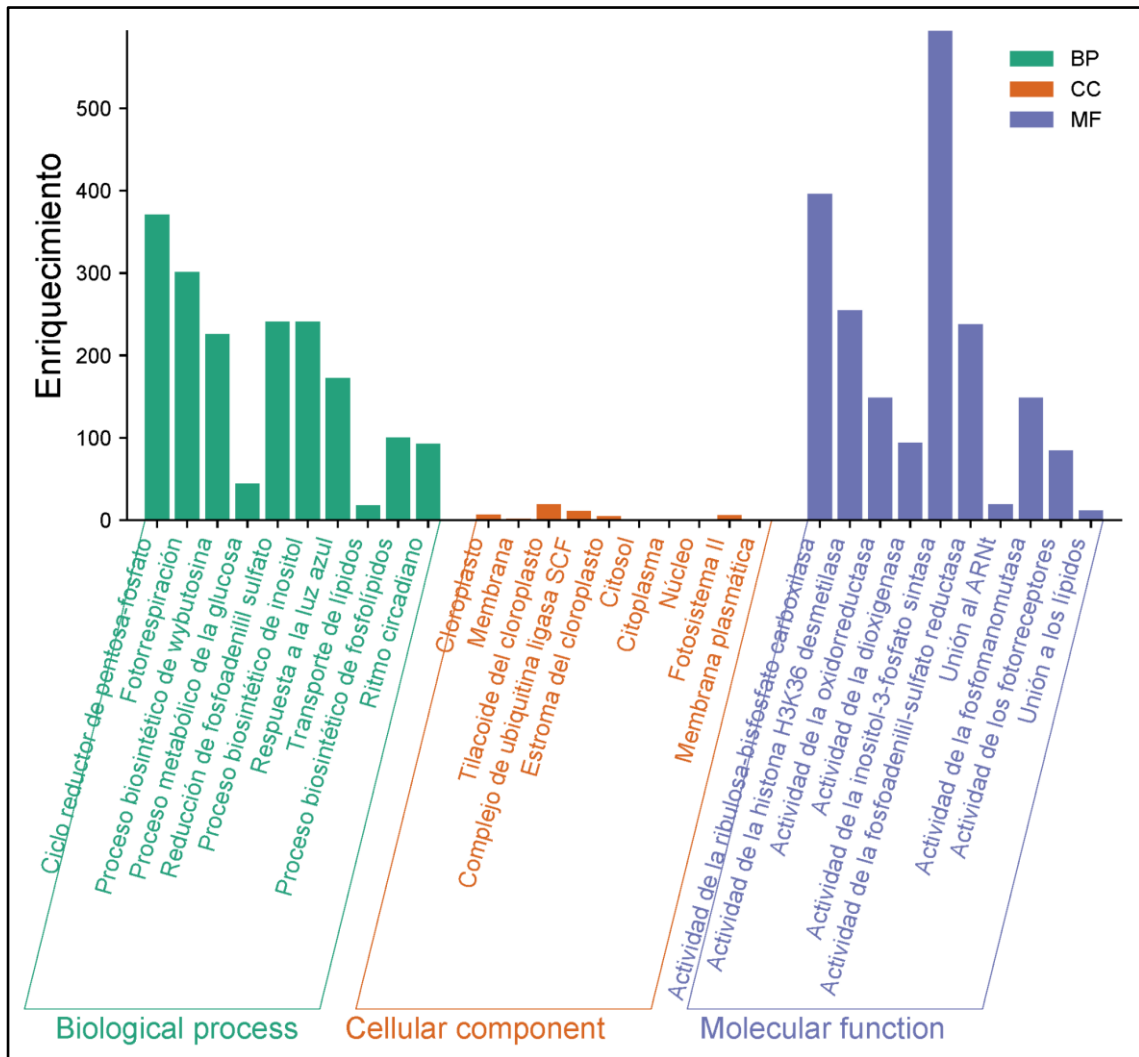


### Anexo 4. Ontología génica de los genes regulados negativamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo tolerante de quinua CRQ64

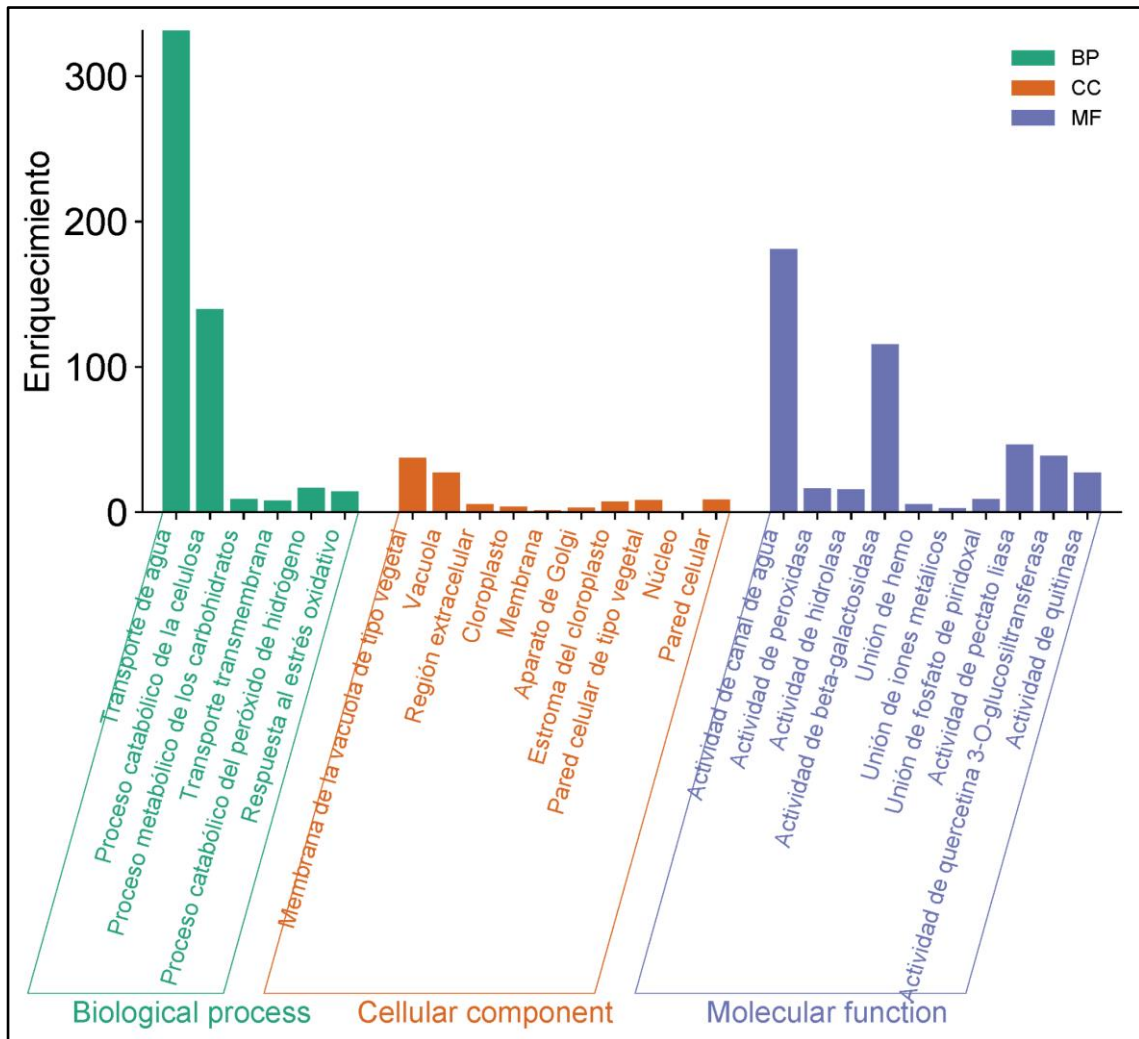




### Anexo 5. Ontología g3nica de los genes regulados positivamente en respuesta al estr3s por fr3o en el genotipo susceptible de quinua CSQ5



**Anexo 6. Ontología génica de los genes regulados negativamente en respuesta al estrés por frío en el genotipo susceptible de quinua CSQ5**

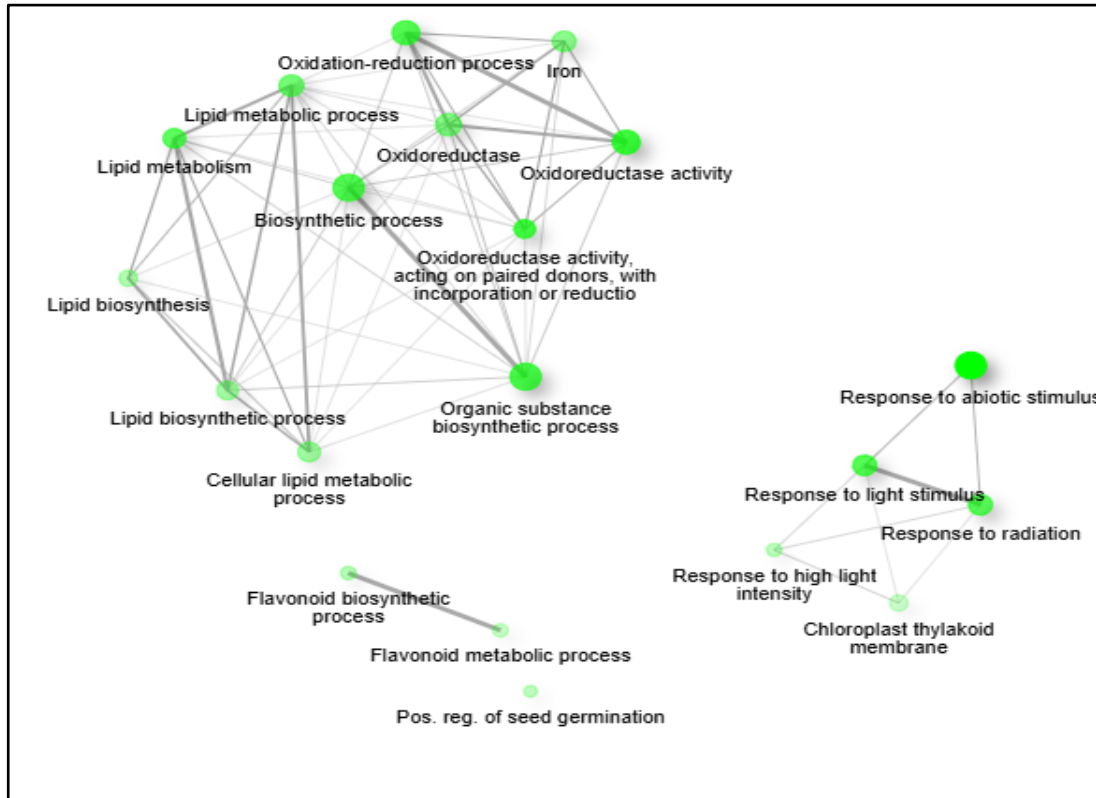


**Anexo 7. Genes compartidos entre genotipos de quinua tolerantes y susceptibles al estrés por frío.**

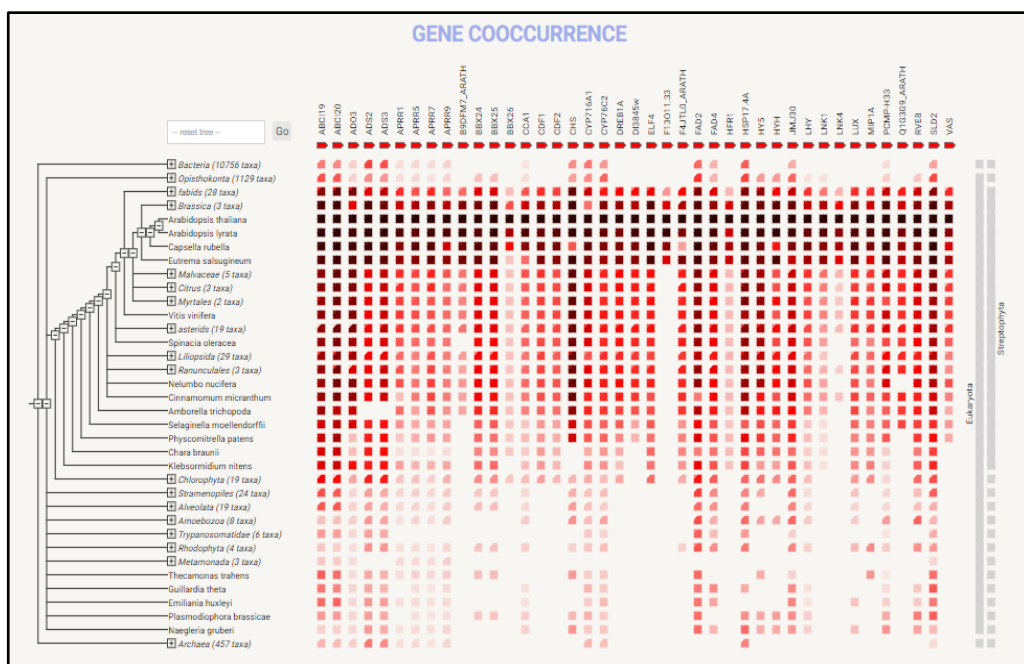
Grupo	Número de genes	Nombre de genes
Cq-5-up Cq-64-up	37	ABCI19 LOX2 ABCI20 CAD8 PGR5 RBCS-1A LSU1 ELIP2 Q1G3G9_ARATH F28P5.8 DTX35 PCMP-H33 NIC2 ADO3 CHS DTX18 DREB1A NMT2 LTP4 ADS3 UGT74F2 CYP98A3 PEX11B ndhL BBX24 BAT1-2 T22E16.240 F12K11.2 Apr1 SLD2 F15H11.7 HSP17.4A AAE3 JMJ30 IPS3 FLS1 PSBY
Cq-5-down Cq-64-up	1	EP3
Cq-5-down Cq-64-down	10	F27G19.50 BGAL12 GH9B13 GRXC11 F22K18.20 BXL1 MIF1 TIP1-3 CPT4 T4M8.22
Cq-64-up	17	EXPA18 ASE1 CP1 F4JTL0_ARATH F2K13.150 PEX5 FAD4 CYP716A1 BBX25 UGT75D1 GPAT1 CYP51G1 SULTR1;2 EXL3 EXPA7 DCR F13I12.140
Cq-64-down	9	BGAL1 CYP74A LIP1-3 GDU1 T07M07.11 XTH25 HLS1 F5D21.4 ATL78
Cq-5-up	18	MSG15.11 CHLH T16L24.60 WAKL11 MYB80 F6N15.21 ABCB11 UGT73B3 CUT1 VTC2 AHB2 Q93ZE3_ARATH T4M8.15 ndhT SOUL-1 CHI3 F12A4.4 YCF37
Cq-5-down	12	ALD1 ATJ20 UGT85A2 F15K20.7 F17A22.10 F18O22.240 UGNT1 TIP2-2 PER52 PER17 RFS6 HRA1

*Nota:* Cq-64-up: Genes regulados positivamente en el genotipo tolerante CRQ64 al estrés por frío, Cq-64-down: Genes regulados negativamente en el genotipo tolerante CRQ64 al estrés por frío, Cq-5-up: Genes regulados positivamente en el genotipo susceptible CSQ5 al estrés por frío, Cq-5-down: Genes regulados negativamente en el genotipo susceptible CSQ5 al estrés por frío.

### Anexo 8. Red de interacción de vías metabólicas enriquecidas de los genes regulados de genotipos de quinua tolerante y susceptible frente al estrés por frío.



### Anexo 9. Genes Co-ocurrentes frente al estrés por frío en Arabidopsis thaliana





Universidad Nacional del  
Altiplano Puno



Vicerrectorado de  
Investigación



Repositorio  
Institucional

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo **JOSE DAVID APAZA CALCINA** identificado(a) con N° DNI: **46517127** en mi condición de egresado(a) del:

**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**

con código de matrícula N° 172303, informo que he elaborado la tesis denominada:

**“CONSTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE REDES BIOLÓGICAS DE GENES REGULADOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS POR FRÍO EN DOS GENOTIPOS CONTRASTANTES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”.**

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y no existe plagio/copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno, 15 de Octubre del 2024.

FIRMA (Obligatorio)



Huella



Universidad Nacional del  
Altiplano Puno



Vicerrectorado de  
Investigación



Repositorio  
Institucional

## AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo **JOSE DAVID APAZA CALCINA** identificado(a) con N° DNI: **46517127**, en mi condición de egresado(a) del Programa de Maestría o Doctorado:

**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**,

informo que he elaborado la tesis denominada:

**“CONSTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE REDES BIOLÓGICAS DE GENES REGULADOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS POR FRÍO EN DOS GENOTIPOS CONTRASTANTES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”.**

para la obtención de  **Grado**.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno, 15 de Octubre del 2024.

FIRMA (Obligatorio)



Huella