

CRUZAS SIMPLES Y DOBLES EN QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) USANDO MARCADORES MOLECULARES Y MAYORES DISTANCIAS GENÉTICAS

SINGLE AND DOUBLE CROSSES IN QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd.)
USING MOLECULAR MARKERS AND GREATER GENETIC DISTANCES

A. Mujica-Sanchez¹, K. Smith², W. Smidth³, B. Hausmann³, E. Chura¹, E. Mamani¹ y
A. Canahua¹

¹ Departamento de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

² Universidad de Hohenheim- Alemania.

³ KWS- Alemania.

RESUMEN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) considerada por FAO como un alimento nutraceutico y orthomolecular para la humanidad está alcanzando importancia mundial por su alto contenido proteico y balance ideal de aminoácidos esenciales. La investigación, busca mejorar las características deseadas de la quinua, mediante cruzas simples y dobles; y con ayuda de la genética molecular determinar las distancias genéticas entre progenitores para acortar y facilitar la hibridación de la especie, utilizando inicialmente dos ambientes para la autofecundación y selección (Puno y Arequipa); se propone desarrollar nuevas variedades por selección convencional, para las diferentes condiciones agroclimáticas del Perú; demostrar la utilidad de marcadores genéticos, pronosticar varianzas de segregación de poblaciones de quinua segregantes. Se utilizó ocho genitores (Salcedo INIA, Huariponcho, Choclito, Chullpi rojo, Pasankalla, Negra kollana, Kancolla, Pandela rosada), para determinar el valor de similitud genética y distancias genéticas en la Universidad Hohenheim-Alemania, utilizando la metodología GBS. Se efectuó 28 cruzas simples (setiembre 2011 a abril 2012), obteniendo semillas F1, siguiendo la metodología descrita para quinua. Las F1 de cruzas simples más distantes y más cercanas, fueron cruzadas, obteniendo seis cruzas dobles, luego autopolinizadas en Puno y Arequipa para acortar tiempo, estando actualmente en S2 las cruzas dobles y S4 las cruzas simples. Cada generación de autofecundación, fue caracterizada morfológicamente para determinar posibles genotipos disponibles y aumentar homocigosis. En las cruzas dobles se han polinizado 494 flores, obteniendo 397 semillas híbridas dobles (80.3%).

Palabras clave: Quinua, cruzas simples y dobles, marcadores moleculares, distancias genéticas.

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) considered by FAO as nutraceutical and orthomolecular food for humanity is reaching global significance for its high protein content and ideal balance of essential amino acids. The research seeks to improve the desired characteristics of quinoa by means of, simple and double crosses and the use of molecular genetics to determine the genetic

I PhD. Ángel M. Mujica Sánchez, Docente Principal a D.E. del Departamento de Agronomía y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional del Altiplano, Av. Sesquicentenario N° 1150, Tel. (051) 599430, Puno-Perú. E-mail amhmujica@yahoo.com

distances between parents to shorten and facilitate the hybridization of the species; utilizing initially two environments (Puno and Arequipa) for self breeding and selection; it is proposed to develop new varieties by conventional breeding for different agro-climatic conditions of Peru; demonstrate the utility of genetic markers to predict segregation variance in segregating populations of quinoa. Eight parents of quinoa (INIA Salcedo, Huariponcho, Choclito, Chullpi, Pasankalla, Negra kollana, Kancolla, Pandela rosada) were used to determine the value of genetic similarity and genetic distances at the Hohenheim University-Germany, using the GBS methodology. Following the methodology described for quinoa, 28 single crosses (September 2011 to April 2012) were performed, obtaining F1 seeds. The F1 more distant of single crosses and the closer ones were crossed, getting six double crosses, then self-pollinated in Puno and Arequipa to shorten the time, currently being in the S2 of double crosses and S4 of single crosses. Each generation of self fecundation was morphologically characterized for possible available genotypes and to increase homozygosity. In the double crosses 494 flowers were pollinated obtaining 397 (80.3 %) double hybrid seeds.

Key words: Quinoa, single double crosses, molecular markers, genetic distances.

1. INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), cultivo originario de los Andes, está alcanzando importancia mundial por su alto contenido de proteínas y balance ideal de aminoácidos esenciales, siendo calificado por FAO como el mejor alimento nutraceutico y orthomolecular para la humanidad. La diversidad genética disponible es amplia y requiere de una caracterización morfológica y molecular para su utilización adecuada en el mejoramiento genético, puesto que se necesita aumentar los rendimientos, encontrar genotipos de alta resistencia al Mildiu (*Peronospora variabilis*), resistencia a factores adversos del cambio climático y adaptación a diferentes condiciones agroclimáticas. El genetista moderno, busca mejorar las características agronómicas, de producción y arquitectura de planta, que le permita una cosecha más rápida, eficiente y con menores desperdicios y por ello, utiliza la agrobiodiversidad para seleccionar y recombinar caracteres hasta encontrar genotipos deseados con mejor adaptación, producción y resistencia a factores abióticos adversos. La investigación, busca mejorar las características deseadas de la quinua, mediante cruza simples y dobles y con ayuda de la genética molecular determinar distancias genéticas entre los progenitores para acortar y facilitar el proceso de

hibridación y mejoramiento de esta especie, utilizando diferentes ambientes (Puno y Arequipa) para los trabajos de autofecundación y selección, teniendo como meta desarrollar nuevas variedades por selección convencional, para las condiciones agroclimáticas del Perú, donde se efectúe las selecciones, demostrar la utilidad de marcadores genéticos para pronosticar varianzas de segregación de poblaciones de quinua segregantes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se inician en Puno, Universidad Nacional del Altiplano, sembrando 8 variedades de quinua utilizados como genitores: 1. Salcedo INIA (SAL), 2. Huariponcho (HUA), 3. Choclito (CHO3), 4. Chullpi rojo (CHU), 5. Pasankalla (PAS), 6. Negra Kollana (COL), 7. Kancolla (KCA) y 8. Pandela rosada (PAN), utilizando 4 repeticiones y 3 fechas de siembra, para obtener polen viable y ovario receptivo. De las plántulas al estado de 8 hojas verdaderas, se obtuvieron hojas tiernas, que fueron desecadas con gel, luego preparadas, identificadas y embolsadas siguiendo el protocolo para dicho fin y determinado el valor de similitud genética y distancias genéticas en la Universidad de Hohenheim-Alemania, utilizando la metodología GBS (Elshire, *et al*; 2011). Luego se efectuaron 28 cruza simples posi-

Tabla 1. Número de Semillas F1 obtenidas por repetición en cruzas simples. UNA-Puno. 2012.

CRUZAS	REPETICIONES				TOTAL
	I	II	III	IV	
1X2	2	7	0	10	19
1X3	2	2	0	2	6
1X4	0	5	0	0	5
1X5	4	1	2	1	8
1X6	0	5	2	0	7
1X7	5	1	0	1	7
1X8	3	0	0	1	4
2X3	7	8	10	7	32
2X4	2	6	2	0	10
2X5	5	12	0	1	18
2X6	7	9	7	8	31
2X7	10	4	7	8	29
2X8	2	13	8	4	27
3X4	0	1	0	0	1
3X5	2	0	2	3	7
3X6	0	1	3	1	5
3X7	1	0	5	6	12
3X8	0	5	6	2	13
4X5	5	3	4	8	20
4X6	2	3	4	0	9
4X7	0	1	2	6	9
4X8	0	0	3	8	11
5X6	0	0	0	2	2
5X7	0	0	0	1	1
5X8	0	2	2	0	4
6X7	3	3	7	10	23
6X8	0	6	1	6	13
7X8	10	9	8	2	29

bles ($8 \times 7 / 2 = 28$), de setiembre 2011 a abril 2012, obteniendo semilla F1 y siguiendo la metodología descrita por Mujica, *et al* (2013). Las F1 de cruzas simples más distantes y más cercanas, seleccionadas, tres en cada caso, fueron cruzadas, obteniendo cruza dobles, seguidamente se efectuó autopolinizaciones S0, S1, S2, S3 y S4, entre Puno y

Arequipa de las cruza simples, tanto en invernadero como en campo para ganar tiempo y las semillas F1 de las cruza dobles se han

en invernadero y campo en Puno y Arequipa, estando actualmente en la S2 las cruza dobles y S4 las cruza simples. En cada generación de autofecundación, se ha efectuado caracterizaciones morfológicas para determinar los posibles genotipos disponibles y aumento de homocigosis.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó 28 cruza simples posibles entre los 8 genitores, obteniendo semillas F1 en cada cruza, que se observa en la Tabla 1, demostrando que la metodología de hibridación utilizada es adecuada y permite obtener semillas híbridas en cada caso.

La determinación de las distancias genéticas se efectuaron en la Universidad de Hohenheim, Alemania, cuyos resultados indican que las accesiones más distantes son: Kcancolla con Huariponcho, Salcedo-INIA con Huariponcho y Pasankalla con Kcancolla y las emparentadas: Kcancolla con Negra Collana, Salcedo- INIA con Pandela y Salcedo INIA con Negra Collana. Los marcadores utilizados fueron obtenidos por el método de GBS (Genotyping-by Sequencing), debido a una alta proporción de datos por parejas y exclusión de otros, obteniendo el dendograma. Las semillas híbridas F1 distantes y cercanas seleccionadas, procedentes de cruza simples, fueron autofecundadas

Tabla 2. Cruza dobles de híbridos F1 distantes y cercanos genéticamente, flores polinizadas y semilla híbridas dobles obtenidas.

Cruza seleccionadas	Flores polinizadas	Semillas obtenidas	%	Distancias genéticas
1.(2x7) X (1x2)	98	69	70.4	Distante
2.(2x7) X (5x7)	77	70	90.9	Distante
3.(1x2)X (5x7)	113	97	85.84	Distante
1.(6x7) x (1x8)	44	29	65.9	Cercana
2.(6x7) x (1x6)	68	44	64.7	Cercana
3.(1x8)x (1x6)	94	88	93.61	Cercana
Total	494	397		
Promedio			80.36	

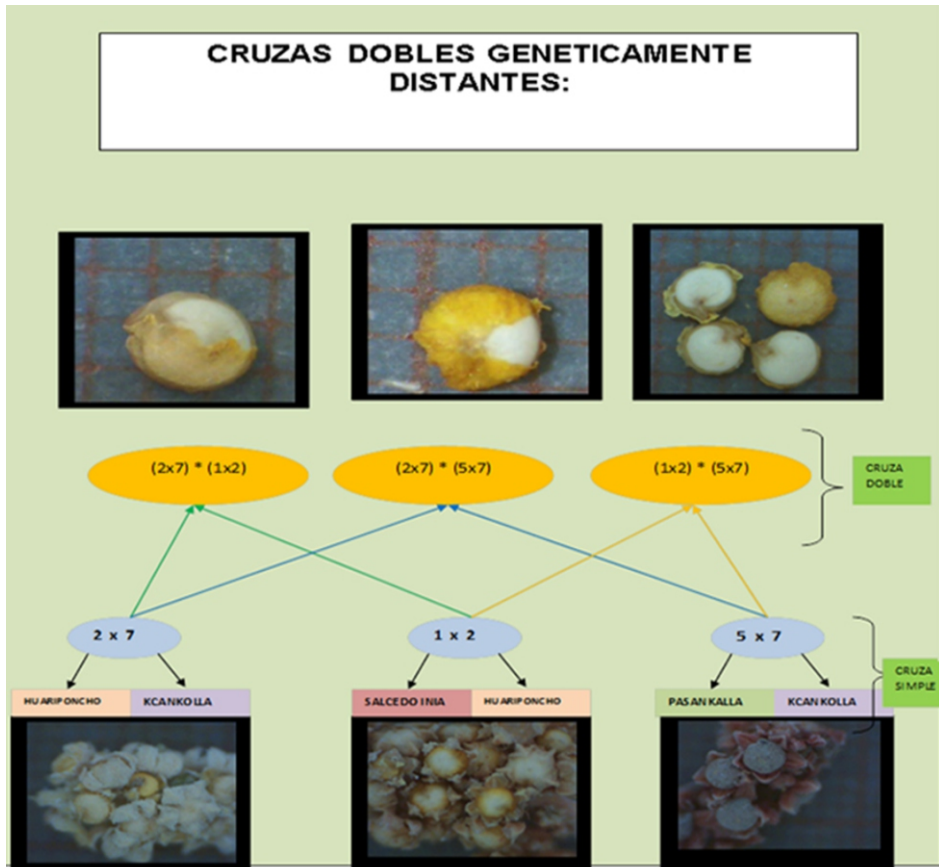


Figura 1. Semillas híbridas obtenidas de las cruzas dobles distantes y cercanas

tanto en invernadero y campo, en Puno y Arequipa, encontrándose actualmente en la S4; luego los 6 híbridos F1 procedentes de cruzas simples distantes (3) y cercanas (3), fueron sembradas en Puno, en 3 fechas de siembra del 30 noviembre al 16 diciembre del 2012, con 4 repeticiones y al llegar a floración fueron hibridadas en invernadero del 02 febrero al 10 abril del 2013, obteniendo cruzas dobles, para disponer de mayor variabilidad y posteriormente efectuar autofecundaciones para obtener homocigosis y luego selección, disponiendo de semillas híbridas de cruzas dobles en total 397 semillas (236 distantes y 161 cercanas) que se muestra en el Cuadro 2, incluido el número de flores polinizadas y semillas híbridas logradas, con un porcentaje promedio del 80.3% de semillas conseguidas después de la hibridación.

En la Figura 1, se muestra las cruzas dobles distantes genéticamente, con las semillas híbridas obtenidas (Mujica *et al*, 2013b). Los híbridos dobles de cruzas distantes y cercanas fueron autofecundados (S0) en Arequipa de octubre a enero 2012 y cosechadas en Junio 2013, luego la S1 sembradas en enero del 2014 en Characato- Arequipa, encontrándose actualmente en plena autofecundación.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Lchthardt, C. (2012). *Characterisation of different quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) accessions* by GBS. Bachelor Thesis. Institute of Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics. University Hohenheim. Stuttgart, Alemania.