

# DETERMINACIÓN DEL PARENTESCO Y DISTANCIAS GENÉTICAS EN VARIEDADES NATIVAS Y PARIENTES SILVESTRES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) POR MÉTODOS MOLECULARES

DETERMINATION OF THE KINSHIP AND GENETIC DISTANCES IN NATIVE VARIETIES AND WILD RELATIVES OF QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd.) BY MOLECULAR METHODS

E. Chura- Yupanqui<sup>1</sup>, Mujica, S. Angel<sup>1</sup>, Flores O. Ada Luz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

<sup>2</sup> Docente de la EA-Universidad Peruana Unión, Lima, Perú.

---

## RESUMEN

El presente estudio se centró en la determinación del parentesco y las distancias genéticas por métodos moleculares, en variedades nativas y sus parientes silvestres de quinua. Los objetivos fueron: 1. Determinar el parentesco entre las variedades nativas y parientes silvestres de quinua por métodos moleculares. 2. Determinar las distancias genéticas de las variedades nativas y parientes silvestres de quinua. La investigación comprendió dos fases 1) Fase de campo-recolección de muestras y 2) Fase de laboratorio, se ha realizado en los laboratorios del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria la Molina-Lima. Los resultados fueron: La determinación del parentesco de las variedades nativas y parientes silvestres de quinua se presenta en el dendograma obtenido del análisis de las 23 accesiones de quinua entre nativas y silvestres. Un coeficiente de similitud de 0,64 en base al cual se forman tres clúster; (I) formado por 10 accesiones, (II) constituido por 7 accesiones y el (III) constituido por 6 accesiones. Asimismo en la figura resultante se observa que muchas variedades nativas (cultivadas), poseen características genéticas similares en los tres clúster (I, II y III). Es así, que la variedad silvestre HAY1 (Ayara – Huatarequi) se encuentra dentro del clúster (I), lo cual indica que posee características genéticas coincidentes con las variedades cultivadas Chullpi, Choclito, Wariponcho, Toledo, Rosa Frutilla, Huallata, Negra Collona, Antahuara y Airampo.

**Palabras claves:** AFLP, quinua, genética, molecular, nativas, quinua, silvestres, variedad.

## ABSTRACT

Our study focused on the determination of kinship and genetic distances by molecular methods, in landraces and wild relatives of quinoa; The objectives were: 1. Determine relationships between native varieties and wild relatives of quinoa by molecular methods. 2. Determine genetic distances of the native varieties and wild relatives of quinoa. The work comprises two phases 1) Field phase-sample collection, and 2) Laboratory stage, which was carried out in the laboratories of the Institute of Biotechnology of the Universidad Nacional Agraria La Molina-Lima. The results were: The determination of the relationship of native varieties and wild relatives of quinoa included in the obtained dendrogram from the analysis of 23 accessions of quinoa between native and wild. A

---

1 Dr. Ernesto Javier Chura Yupanqui, Docente Principal Auxiliar a T.C. del Departamento de Agronomía y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú. Av. Sesquicentenario N° 1150 - Puno, (051) 599430, E-mail: ernestochuray@yahoo.com

- Mujica, A., M. Suquilanda, E. Chura, E. Ruiz, A. León, S. Cutipa & C. Ponce. (2013a). *Metodología de hibridación en quinua (Chenopodium quinoa Willd.)*. En: Producción orgánica de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*). Universidad Nacional del Altiplano, (pp.104-110). FINCAGRO. Puno, Perú.
- Mujica, A. C. Ponce, B. Haussmann, W. Schmidt, C. Lchthardt & Schmid, K. (2013b, august). *Comparison of different crossing and selection strategies in the genetic improvement of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) varieties*. In: International Quinoa Research Simposium. Washington State University, Pullman WA. USA.
- Elshire, R.J. *et al*, (2011). *A Robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for high diversity species*. PLOS One 6(5): e 19379. Disponible en: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0019379>. (Acceso 15 En 2014)

similarity coefficient of 0.64 comprising three clusters; (I) which is formed by 10 accessions, (II) comprising 7 accessions and (III) consisting of 6 accessions; which also shows, that many native cultivated varieties, have similar genetic characteristics in the three cluster (I, II and III). Thus, the wild variety HAY1 (Ayara - Huataraqui) located within the cluster (I) has genetic characteristics coincident with cultivars Chullpi, Choclito, Wariponcho, Toledo, Rosa Frutilla, Huallata, Negra Collona, Antahuara and Airampo.

**Keywords:** AFLP, quinoa, genetic, molecular, native, wild, variety.

## 1. INTRODUCCIÓN

La quinua es un recurso fitogenético de valor estratégico para las condiciones áridas del Altiplano, destacándose su resistencia a heladas, salinidad y sequía predominantes, que son factores adversos de tipo abiótico en las zonas altas de Los Andes (Mujica y Jacobsen 2006). La quinua tiene roles múltiples en el sistema de producción del Altiplano y valles interandinos donde juega papel importante en la seguridad alimentaria de la población rural, en la generación de ingresos económicos y en la producción de subproductos para la alimentación de animales domésticos de la zona. Finalmente, la quinua tiene una significación cultural y religiosa para los habitantes del altiplano y valles (Mujica y Jacobsen 2006). Estos roles han convertido a la quinua en un cultivo importante y multipropósito para las condiciones agroecológicas y socioeconómicas de las zonas altas.

Los trabajos de investigación en quinua conducidos en la zona andina y últimamente fuera de esta, han estado orientados a la obtención de mayor rendimiento del grano (Mujica, *et al.* 2006). El incremento del rendimiento es posible mediante el mejoramiento genético, el mejoramiento de las condiciones de manejo agronómico y la conjunción de ambos. En las últimas décadas, la quinua ha sido objeto de investigación en el campo de la genética y fitomejoramiento.

Debido a la importancia que actualmente tiene este cultivo a nivel mundial, esta investigación se ha planteado los siguientes objetivos a) Determinar el parentesco entre las variedades nativas y parientes silvestres de quinua por métodos moleculares. b) Deter-

minar las distancias genéticas de las variedades nativas y parientes silvestres de quinua.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Fase de campo

La colecta del material vegetal (semilla) de las variedades nativas y las accesiones de quinua para el banco de germoplasma del CIP-Camacani, UNA-Puno, se realizó en las diferentes localidades y provincias donde existe mayor población de esta especie; que son cultivadas en forma permanente en la región de Puno; mientras que el material vegetal de los parientes silvestres, fueron colectadas como hojas tiernas, conforme al protocolo de colecta del material vegetal, y enviados al laboratorio del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria La Molina - Lima.

### 2.2 Fase de laboratorio

La caracterización molecular se realizó en los laboratorios de la unidad de Biología Molecular del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina-Lima. El mismo que cuenta con una sala de extracción, sala de preparación de medios, sala de gases, sala de PCR (*polymerase chain reaction*-reacción en cadena de la polimerasa), sala de electroforesis vertical, sala de genotipaje y sala de autoclave.

### 2.3 Germinación de las semillas

Las accesiones debidamente identificadas, se sembraron en las macetas correspondientes con sustrato desinfectado (90% de compost y 10% de arena). Estas macetas permanecieron en el tinglado construido para esa ocasión, provistas con mallas antiáfidos.

**Tabla N° 1.** Variedades nativas de quinua, más cultivadas Región Puno

N°	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	PROVINCIA	LONGITUD	LATITUD
1	1001	Chullpi	Azángaro	14 51 01	70 17 43
2	1002	Toledo	Puno	15 57 90	69 49 91
3	1003	Huallata	Melgar	14 52 75	70 28 28
4	1004	Pasankalla	Puno	15 56 00	69 51 98
5	1005	Negro Collana	San Román	15 39 87	70 21 47
6	1006	Rosada Frutilla	Puno	15 56 77	69 51 25
7	1007	Salcedo INIA	Puno	15 52 16	70 00 46
8	1009	Choclito	Azángaro	14 52 65	70 06 98
9	1010	Wariponcho	Lampa	15 37 78	70 20 19
10	1011	Kancolla	Yunguyo	16 26 89	69 03 92
11	1012	Airampo	Chucuito - Juli	16 13 92	69 29 39
12	1013	Puca kello	Azángaro	14 48 75	70 21 34
13	1014	Antahuara	Puno	15 57 73	69 1 17

Fuente: Registro de germoplasma U.N.A.

## 2.4 Extracción de ADN

Para la extracción de ADN se utilizaron hojas jóvenes de las accesiones a estudiar. El ADN fue extraído por el método CTAB (*Cetyl trimethylammonium bromide*), según los protocolos (Doyle y Doyle 1990).

## 2.5 Análisis estadístico

El tipo de investigación corresponde a una investigación aplicada por tener propósitos prácticos inmediatos bien definidos, es decir se investiga para actuar, transformar, modificar o producir cambios en un determinado sector de la realidad. Así mismo corresponde a un diseño transversal descriptivo correlacional/causal toda vez que la investigación se realizó sin manipular deliberadamente las variables de la presente investigación: Universo, población y muestra.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Determinación del parentesco de las variedades nativas y parientes silvestres de quinua

Las variedades nativas de quinua caracterizadas mediante métodos moleculares, se muestran en la Tabla N° 1, clasificadas según su código, la provincia del cual procede y la ubicación de la longitud y la latitud.

En la actualidad las variedades nativas, las más utilizadas y más comerciales en la pro-

ducción de quinua por el poblador alto andino de la región, no han caracterizado genéticamente, sin embargo existe algún avance de los trabajos de caracterización morfológica y agronómica (Mujica y Jacobsen 2006); los resultados del presente trabajo reforzaran además a la caracterización bioquímica, lo cual permitirá identificar a plenitud las diferentes variedades existentes en la región de Puno; de ahí la importancia del presente trabajo de investigación.

En tanto, que los parientes silvestres de quinua caracterizadas mediante métodos moleculares utilizando el sistema AFLP (*Amplified fragment length polymorphism*), se muestran en la Tabla N° 2, clasificadas según su código, su descripción, la provincia del cual procede y la ubicación de la longitud y la latitud.

Los parientes silvestres de quinua, fueron colectados en las zonas de mayor población de estas que incluyen las riveras del lago Titicaca, áreas de descanso de los cultivos, pies de laderas, teniendo presente zonas de mayor cultivo de las variedades nativas en la región de Puno.

En la Figura 1, se presenta el dendograma obtenido del análisis de las 23 accesiones de quinua entre nativas y silvestres. A un coeficiente de similitud de 0,64 se forman tres clúster, el clúster (I) formado por 10 accesiones,

**Tabla N° 2** Parientes silvestres de quinua colectadas en Puno año 2012

N°	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	PROVINCIA	LONGITUD	LATITUD
1	HAY1	Ayara – Huataraqui	Puno	15 55 35	69 50 32
2	HCH1	Hirsinum – Huataraqui	Puno	15 55 35	69 50 32
3	HCP1	Pallidicaule – Huataraqui	Puno	15 56 86	69 50 85
4	HCC1	Carnosolum – Huataraqui	Puno	15 56 15	69 50 90
5	RCHA	Ambrosoide – Rinconada	Puno	15 57 01	69 50 99
6	UCC2	Carnosolum – Camacani	Puno	15 57 28	69 51 16
7	SAY2	Ayara – Salcedo	Puno	15 51 45	69 59 05
8	SCH2	Hirsinum – Salcedo Rinconada	Puno	15 52 26	70 00 63
9	SCH3	Hirsinum – Salcedo Lago	Puno	15 51 75	69 59 69
10	HCP2	Pallidicaule – Huataraqui Lago	Puno	15 55 83	69 50 38

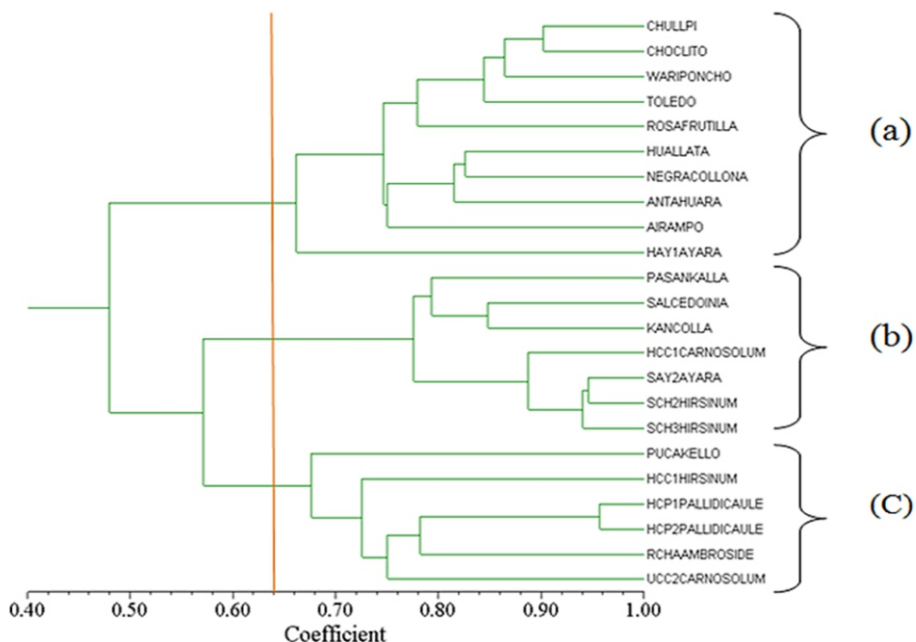
Fuente: Elaboración propia 2010 – 2011, mediante colecta en campo

el clúster (II) constituido por 7 accesiones y el clúster (III) constituido por 6 accesiones.

Asimismo en esta figura se observa que muchas variedades nativas (cultivadas), poseen características genéticas similares en los tres clúster (I, II y III). Es así que la variedad silvestre HAY1 (Ayara-Huataraqui) se encuentra formando parte del clúster (I), lo cual indica que posee características genéticas coincidentes con las variedades cultivadas Chullpi, Choclito, Wariponcho, Toledo, Rosa Frutilla, Huallata, Negra Collana, Antahuara y Airampo.

Pero a un coeficiente de similitud de 0,70 la variedad silvestre HAY1, se encuentra separado en otro clúster.

Para un coeficiente de similitud de 0,65, el cluster (II) está conformado por las variedades silvestres HCC1 (Carnosolum-Huataraqui), SAY2 (Ayara-Salcedo), SCH2 (Hirsinum-Salcedo Rinconada) y la SCH3 (Hirsinum-Salcedo-Lago), los cuales presen-



**Figura 1.** Dendrograma que agrupa las quinuas nativas (cultivadas) y sus Parientes silvestres por parentesco, derivado de métodos moleculares.

tan similitudes genéticas con las variedades cultivadas Pasankalla, Salcedo INIA y Kancolla.

Cuando el coeficiente de similitud se establece en 0,78, en éste mismo clúster, las variedades cultivadas se encuentran separadas del grupo de las variedades silvestres. Por otro lado a un coeficiente de similitud de 0,92, se observa diferencias genéticas entre las variedades silvestres, así se observa que poseen características genéticas en común las variedades SAY2, SCH2 y SH3 separadamente con la variedad silvestre HCC1.

En el tercer cluster (III), a un coeficiente de similitud de 0,65, la variedad cultivada de quinua Pucakello, se encuentra emparentada con las variedades silvestres HCC1, HCP1, HCP2, RCHA y UCC2. Mientras que para un coeficiente de similitud de 0,92, tan solamente las variedades silvestres HCP1 y HCP2 son las más emparentadas genéticamente, y estas dos variedades poseen características genéticas diferentes a la variedad cultivada Pucakello y las variedades silvestres HCC1, RCHA y UCC2.

Según el dendograma de la Figura 1, la variedad HAY1 (Ayara-Huataraqui) aparece como pariente silvestre de las variedades nativas cultivadas Chullpi, Choclito, Wariponcho, Toledo, Rosada Frutilla, Huallata, Negra Collana, Antahuara y Airampo.

Por otra parte, las silvestres HCC1 (Carnosolum-Huataraqui), SAY2 (Ayara-Salcedo), SCH2 (Hirsinum-Salcedo Rinconada) y SCH3 (Hirsinum-Salcedo Lago), serían parientes silvestres de las variedades nativas cultivadas Pasankalla, Salcedo INIA y Kancolla. Y finalmente las silvestres HCC1 (Carnosolum-Huataraqui), HCP1 (Pallidicaule-Huataraqui), HCP2 (Pallidicaule-Huataraqui Lago), RCHA (Ambrosoide-Rinconada) y UCC2 (Carnosolum-Camacani), todas serían parientes silvestres de la variedad cultivada Pucakello.

Una distancia estadística menor significa un número que expresa similitud o menor dis-

tancia genética es aquel que evalúa la cantidad de variación compartida entre diferentes grupos. Si la medida es de 0, generalmente significa que no existe diferencia genética alguna entre los grupos. Estas similitudes o diferencias en el tipo, cantidad y patrón de variación genética entre poblaciones puede ser resultado de factores tales como que dos poblaciones se hayan separado recientemente, o que haya flujo génico entre ellas, o que sean poblaciones muy grandes (con poca deriva génica) o que las presiones de selección que afectan a los mismos locus sean similares en ambas poblaciones. Por otra parte, si dos poblaciones son disimilares o diferentes se debe posiblemente a que esas poblaciones se aislaron mucho tiempo atrás y no hay flujo génico entre ellas o que la deriva génica ha generado grandes diferencias o que hay diferentes presiones selectivas en las dos poblaciones (Hedrick 2000).

#### 4. CONCLUSIONES

1. Del análisis de las 23 accesiones de quinua entre variedades nativas y parientes silvestres para un coeficiente de similitud calculada de 0,64 se muestra la existencia de distancia genética muy estrecha entre las variedades cultivadas y parientes silvestres; en cambio existe distancias genéticas muy distantes entre las variedades cultivadas y los parientes silvestres; entre estas forman tres clúster, el clúster (I) formado por 10 accesiones, el clúster (II) constituido por 7 accesiones y el clúster (III) constituido por 6 accesiones.
2. Algunas variedades nativas cultivadas, poseen características genéticas similares que aparecen en los tres clúster (I, II y III); la variedad silvestre HAY1 (Ayara-Huataraqui) se encuentra dentro del clúster (I), lo cual indica que posee características genéticas coincidentes con las variedades cultivares Chullpi, Choclito, Wariponcho, Toledo, Rosa Frutilla, Huallata, Negra Collana, Antahuara y Airampo. Pero a un coe-

ficiente de similitud de 0,70 la variedad silvestre HAY1, se encuentra separado en otro clúster.

3. La mayor variabilidad genética de los parientes silvestres de quinua según su procedencia se encuentra en las riberas del lago Titicaca y en los campos de cultivos de quinua en la zona media y muy poco en la zona alta, porque no existen cultivos. Sin embargo la característica molecular entre parientes silvestres se muestran que a un coeficiente estadística de similitud de 0,64 se forman dos grupos, el primer grupo formado por 5 accesiones: HAY1, HCC1, SAY2, SCH2, SCH3, y el segundo grupo constituido por 5 accesiones conformado por HCC1, HCP1, HCP2, RCHA y UCC2.
4. Se hace necesario complementar los estudios de caracterización del germoplasma de quinua con estudios de morfología, citogenética, adaptación, distribución geográfica, producción de semilleros, resistencia a plagas, enfermedades y composición química del grano, así como mediante cruzamientos verificar la compatibilidad y fertilidad sexual de las accesiones, que serán una ayuda importante en los programas de mejoramiento genético de la quinua.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen, W.R. & Fairbanks, D.J. (1990). *Molecular markers: Important tools for plant genetic resource characterization*. (pp. 51-53.)
- Becerra V. & M. Paredes. (2000). *Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética*. Agricultura técnica (pp 270-281).
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1990). *Isolation of plant DNA from fresh tissue*. Focus, (pp. 13-15).
- Hedrick, P. W. (2000) *Genetics of Populations* (Second Edition). Hedrick, P. W. 2004 Estimation of relative fitnesses from relative risk data and ...
- Mujica, A., Cutipa, R., Gomel, W. & Jacobsen, S. (2006). *Conservación in situ de parientes silvestres de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y Tarwi (Lupinus mutabilis Sweet) en el altiplano Peruano*. CICA- DOCE.. XII Congreso Internacional de Cultivos Andinos.
- Mujica A. & Jacobsen S. (2006). *La quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y sus parientes silvestres*. Botánica Económica de los Andes Centrales. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz – Bolivia. Pp 449-457
- Phillips-Mora, W.; H., Rodríguez; P., Fritz. (1995). *Marcadores de ADN: teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo, con ejemplos de investigaciones en cacao (Theobroma cacao)*. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Serie técnica. Informe técnico No. 252.
- Williams, JKG.; AR., Kubelik; KJ., Livak; JA., Rafalski; SV., Tingey. (1990). *DNA Polimorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers*. Nucleic Acid Research 18 (24). 6531-6535.