Regeneración y evaluación germinativa de 938 accesiones del germoplasma de quinua administrado por INIAF

Carolina Alanoca[1], Armando Mamani[2], Noemí Enriquez[2] y Edwin Iquize Villca[2]

Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal INIAF, Centro Nacional de Innovación Toralapa; km 74 carretera antigua a Santa Cruz (Municipio de Tiraque), Cochabamba, Bolivia

e-mail: carol_aqc@hotmail.com

Resumen

El presente trabajo reporta el objetivo de la regeneracion y evaluación de 938 accesiones del Banco de Germoplasma de Quinua administrado por el INIAF. La regeneración de accesiones de quinua se realizó en cuatro periodos en el Centro Nacional de Innovación Toralapa - Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal INIAF (Tiraque) y Estación Experimental de Patacamaya de la Universidad Mayor de San Andrés, ubicado en la localidad de "Patacamaya" (Aroma). La evaluación germinativa de accesiones en laboratorio de semilla se realizó según las normas ISTA. Los resultados exponen la regenerado y multiplicado 1975 accesiones de quinua en cuatro periodos (2010 al 2014), 922 accesiones fueron acondicionadas en frascos y restos de las accesiones se encuentran en sobres inferiores a 60 g, por verificar accesiones con la semilla original y otras observadas. De 938 accesiones analizadas con la prueba de germinación en las gestiones 2014 y 2015, reportaron 877 que presentan germinación normal mayor al 85% para ser conservadas y 61 accesiones deben ser refrescadas.

Palabras claves: Germoplasma, accesión, quinua, regeneración, germinación

Introducción

La quinua (Chenopodium quinoa Willd.) es una especie nativa de la región andina de Bolivia, donde se encuentra la mayor diversidad de plantas cultivadas y silvestres. En la actualidad es un recurso natural de primera calidad y necesaria en la alimentación humana por su alto contenido de proteína (10.21 a 18.39 %), vitamina y minerales; es muy atractiva para el mercado internacional, cuya demanda se ha incrementado significativamente en los últimos años.

El Programa Nacional de Recursos Genéticos del Centro Nacional de Innovación de Toralapa del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF), cuenta con más de 3000 accesiones de quinua, las cuales en su mayor parte proceden de Bolivia, las mismas se conservan en el Banco de Germoplasma de Granos Altoandinos con fines de preservación y utilización.

La regeneracion y multiplicación son actividades que resultan del monitoreo de la cantidad y calidad de las semillas conservadas, procedimientos que se encuentran descritos en dichas normas. Según Jaramillo y Baena (2000), durante el tiempo que se mantiene conservado el germoplasma puede disminuir en cantidad y calidad.

Sin embargo, a partir del año 2010 hasta el 2012 se han realizado el análisis de germinación correspondiente a 2.675 accesiones, siguiendo los procedimientos establecidos por el ISTA (2010)

luego de ser transferidos al INIAF (2010), donde se encontró que el 71.6% de las accesiones evaluadas presentaron una germinación menor o igual al 80% y un 28.4% presentaron germinación mayor al 80%.

Por esta razón el presente trabajo reporta el objetivo de la regeneracion y evaluación de 938 accesiones del Banco de Germoplasma de Quinua administrado por el INIAF.

Materiales y métodos

Ubicación

La regeneración se realizó en el Centro Nacional de Innovación de Toralapa del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF) que se encuentra ubicado en la Provincia Tiraque, Primera Sección del departamento de Cochabamba a una Latitud 17° 28' 35.01" S, Longitud 65° 39' 9.88" O, Altitud 3526 msnm, a una distancia de 74 km de la ciudad de Cochabamba, sobre la carretera antigua a Santa Cruz, la temperatura promedio es de 12.5 °C y con una precipitación pluvial de 519.8 mm/Año SENAMHI (2012). Y en la Estación Experimental de Patacamaya de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), que se encuentra ubicada en la provincia Aroma del departamento de La Paz, a una Latitud 17º15'57" S, Longitud 67º57'7" O, Altitud 3.789 msnm., a una distancia de 5 km, de la ciudad intermedia de Patacamaya y 101 km de la ciudad de La Paz, la temperatura máxima de 21.2 ºC, una mínima de – 5.2 ºC y con una temperatura promedio de 9.7 ºC, las precipitaciones se presentan desde Septiembre a Marzo, con mayor intensidad en enero alcanzando los 10.2 mm promedio. Las de menor intensidad se encuentran en los meses de mayo a agosto.

Regeneración

La regeneración se inició partir de la revisión de datos de porcentaje de germinación de 2675 accesiones realizada durante las gestiones 2010 al 2012, con el propósito de identificar y seleccionar accesiones con cantidades de semillas inferiores a 60 gramos y porcentajes de germinación menores a 85%, que según Rojas y Bonifacio (2001) son los parámetros mínimos óptimos para conservar germoplasma de quinua. De acuerdo a los datos de germinación y la disponibilidad de 2 a 12 g de semilla por accesiones de quinua fueron priorizados para la regeneración (Figura 1a).

Durante cuatro campañas (2009-2010, 2011-2012, 2012-2013 y 2013-2014) se implementaron las accesiones de quinua en campo distribuidos en bloques que aglutinaba parcelas de 3 m de largo, cuatro surcos, las mismas distanciadas a 0.5 m, separados por pasillos de 100 cm. Las labores culturales efectuadas fueron raleo, aplicación de agroquímicos como ser fertilización foliar, fitosanitario con objetivo de reducir la población la enfermedad del mildiu (Peronospora farinosa), la presencia de plagas ticona (complejo de especies de los generos Felpia, Heliotis) y kona kona (Eurisacca melanocampta). Previa a la floración se realizó la purificación y marbeteo de plantas de 5 plantas por accesión (Figura 1b).

Figura 1. Preparación de semilla (a) y marbeteo plantas en la regeneración y/o multiplicación (b)

Análisis de germinación de semillas

Las pruebas de análisis germinativas fueron realizadas en el Laboratorio de Semilla del Centro Nacional de Innovación Toralapa en las gestiones 2014 -2015. Para el análisis de germinación se empleó semillas de las accesiones de quinua que contaban cantidades de 60 gramos como mínimo, procedentes de la regeneración y multiplicación de los cuatro periodos en Patacamaya y Toralapa. La mayor cantidad de accesiones tienen procedentes de Bolivia y Perú (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de accesiones de quinua por país, campaña de regeneración y analizadas con la prueba de germinación.

País	Periodo de regeneración				Total
	2009-2010	2011-2012	2012-2013	2013-2014	
Argentina	-	1	-	6	7
Bolivia	101	103	203	229	636
Chile	2	-	-	2	4
Dinamarca	-	-	1	-	1
Ecuador	4	5	2	1	12
Inglaterra	-	-	1	-	1
México	-	-	-	1	1
No identificado	1	8	-	-	9
OEA	1	3	-	9	13
Perú	32	172	98	17	319
Total	141	292	305	265	1003

Las pruebas fueron realizadas bajo normas de la International Seed Testing Association (ISTA, 2010) y recomendaciones para bancos de genes de FAO/IPGRI (1994), por el método sobre papel en placas Petri, donde las semillas son dispuestas sobre el papel filtro humedecido con agua destilada, previamente esterilizada para prevenir daños por hongos (Figura 3); se consideraron tres repeticiones de 100 semillas cada una, con previa identificación, fecha de siembra, posteriormente son incubadas al interior de una cámara de germinación a una temperatura de 20 °C, con disposición de 8 hr luz y 16 hr en oscuridad, con control de humedad y aireación (Figura 2). Posteriormente se realizaron dos lecturas, a los 5 y 7 días, registrando la germinación de: plántulas normales, anormales, semillas muertas, semillas duras (latentes) y semillas frescas.

Figura 2. Cámara germinadora y cajas Petri con semillas germinadas de accesiones de quinua

Análisis estadístico

Los factores considerados fueron:

Factor	Nivel	Descripción
Periodos de regeneración	4	2009-2010, 2011-2012, 2012-2013 y 2013-2014
Sitio	2	Patacamaya y Toralapa
País	10	Argentina, Bolivia, Chile, Dinamarca, Ecuador, Inglaterra, México, No identificado, OEA y Perú

Las variables de germinación fueron procesadas con estadística descriptiva, con el modelo lineal generalizado bajo la distribución gamma y la estructura del análisis de varianza de clasificación múltiple jerárquica (Steel y Torrie, 1992; Montgomery, 2003; SAS Institute Inc, 2016). Así mismo la relación de accesiones con valores mayor a 85 % de germinación normal fue procesada con el modelo lineal generalizado bajo la distribución binomial, también análisis de varianza de clasificación jerárquica.

Resultados y discusión

Accesiones regeneradas y multiplicadas

Según el Cuadro 2, las accesiones regeneradas y multiplicados suman 1975 accesiones en cuatro periodos, de los mismos 922 accesiones fueron almacenado en frascos y restos de las accesiones se encuentran en sobres con cantidades de semillas inferiores a 60 gramos, por verificar accesiones con la semilla original y otras observadas.

Cuadro 2. Cantidad de accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) regeneradas por periodo

Periodo de regeneración	Número de accesiones regeneradas y multiplicadas				Total
	Almacenado en frasco	Almacenado en sobre	Falta verificar	Observadas	
2009 -2010	162	13	-	-	175
2011 -2012	496	53	2	4	555
2012 -2013	106	262	141	18	527
2013 -2014	158	523	19	18	718
Total	922	851	162	40	1975

De las accesiones regeneradas se realizaron el análisis de germinación de 1003 accesiones en la gestión 2014 y 2015, de los cuales 65 de ellas fueron replicadas en las campañas de regeneración (Cuadro 1).

Accesiones a conservar

La ocurrencia de accesiones con mayor a 85% de germinación normal (Cuadro 3) presenta diferencias entre periodos de generación (P: 0.05) y entre sitios dentro de periodos de regeneración (P: 0.01). En la Figura 3, el periodo 2013-2014 presenta mayor valor respecto a otros periodos de regeneración. Mientras en el periodo 2012-2013 las accesiones regeneradas en Toralapa presentan mayor porcentaje de accesiones frente a las regeneradas en Patacamaya, esta diferencia posiblemente sea por las condiciones diferentes de sitio, Toralapa presenta mayor precipitación frente a Patacamaya.

Cuadro 3. Prueba de Wald para la ocurrencia de accesiones de quinua a ser conservadas

Fuente	Grados libertad	Chi cuadrado	Pr > Chi cuadrado
Periodos de regeneración	3	9.36 *	0.0249
Sitio(Regeneración)	1	13.93 **	0.0002

*: Significativo a P: 0.05

**: Significativo a P: 0.01

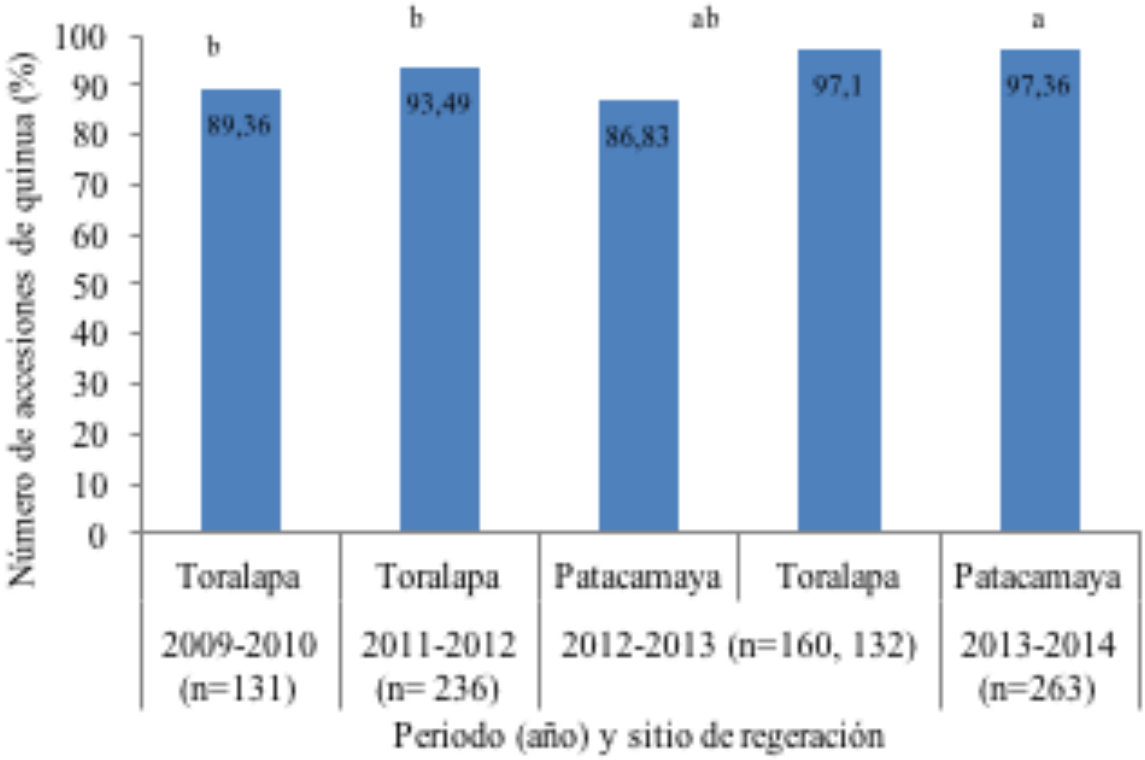

Figura 3. Número de accesiones (%) por tener una germinación normal mayor de 85 % debido al sitio y periodo de regeneración.

En general se observa una notable recuperación de la germinación de las semillas. De acuerdo a los resultados del análisis de germinación de 938 accesiones, 877 deben ser conservadas por presentar germinación normal mayor al 85% (valor promedio óptimo de germinación) recomendado en la norma de manejo de bancos de germoplasma (FAO. 2013).

Accesiones con mayor a 85 % de germinación

Las accesiones que presentaron mayor a 85% de germinación normal exponen diferencias significativas entre sitios dentro periodos de regeneración y accesiones con procedencia de países dentro periodos de regeneración a P: 0.01 (Cuadro 4). Entre periodos de regeneración presenta ausencia de significación estadística. Las diferencias entre el sitio de Patacamaya y Toralapa se observó en el periodo 2012-2013 a favor de Toralapa (Figura 4).

Cuadro 4. Prueba de Wald para la germinación normal de accesiones con mayor a 85 % de germinación

Fuente	Grados libertad	Chi cuadrado	Pr > Chi cuadrado
Periodo de regeneración	3	1.89 ns	0.5955
Sitio(Regeneración)	1	6.52 *	0.0107
País(Regeneración)	18	41.03 **	0.0015

ns: No significativo a P: 0.05
**: Significativo a P: 0.01

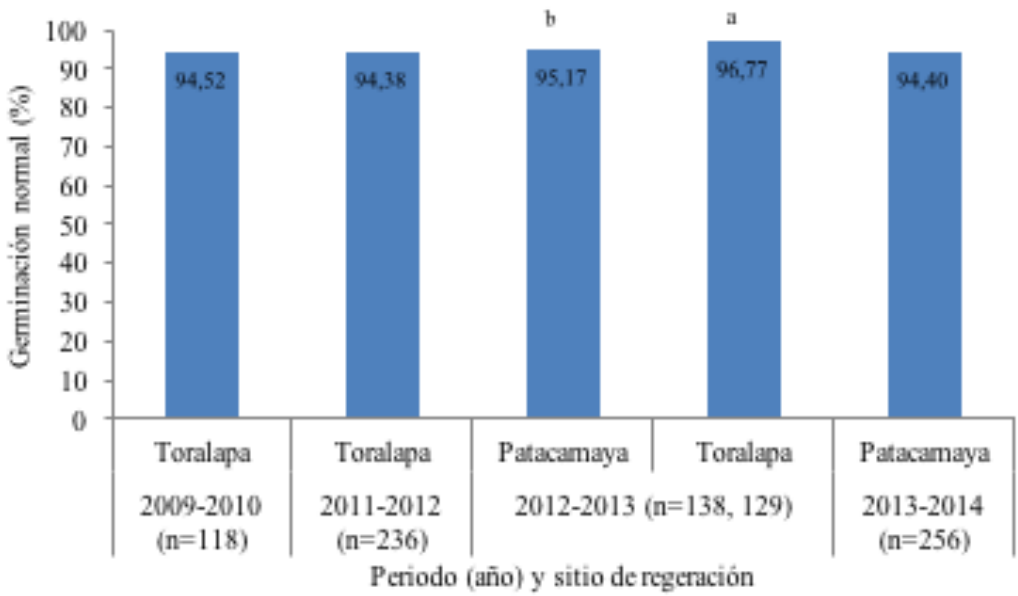

Figura 4. Porcentaje de germinación normal en accesiones de quinua con mayor a 85% de germinación.

Accesiones con menor o igual a 85 % de germinación

Las 61 accesiones con menor o igual a 85% de germinación normal no existen diferencias debido a periodos de regeneración, sitios y país dentro los periodos de regeneración (Cuadro 5). Obsérvese (Cuadro 6) las germinaciones presentan variaciones que inciden en la no significación estadística, por otra parte se visualiza valores considerables de germinación anormal, muerta, latente y fresca. Este resultado, probablemente se deba a que las accesiones no culminaron su madurez fisiológica afectada por la presencia de helada en la fase floración y grano lechoso.

Cuadro 5. Prueba de Wald para la germinación normal de accesiones con menor o igual a 85 % de germinación.

Fuente	Grados libertad	Chi cuadrado	Pr > Chi cuadrado
Periodos de regeneración	3	0.70 ns	0.8734
Sitio(Regeneración)	1	0.95 ns	0.3294
País(Regeneración)	8	3.83 ns	0.8725

ns: No significativo a P: 0.05

Cuadro 6. Estadística descriptiva de la prueba de germinación de accesiones con menor o igual a 85 % de germinación.

Germinación	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Normal	61	76.50	8.72	35	85.0
Anormal	61	8.48	5.82	0	24.7
Muerta	61	5.00	4.75	0	14.3
Latente	61	6.91	13.24	0	64.7
Fresca	61	3.10	5.69	0	31.3

Conclusiones

Se ha realizado la regeneración y multiplicación de 1975 accesiones de quinua en cuatro periodos, donde 922 accesiones fueron acondicionadas en frascos y el resto de las accesiones se encuentran en sobres, por verificar con semillas originales y observadas.

Se cuenta con información de porcentaje de germinación de 938 accesiones de quinua, mayor parte son procedentes de Bolivia y Perú, donde 877 accesiones se encuentran con germinación normal mayor al 85% y son susceptibles a ser conservadas.

Las 61 accesiones con menor a 85 % de germinación ameritan ser regeneradas para aumentar el porcentaje de germinación normal para ser conservadas.

Referencias citadas

Alanoca C., Guzman D., Lutino S., Iquize E. 2013. Evaluación de la Germinación de Accesiones del Banco de Germoplasma de Quinua (Chenopodium quinoa Willd.) de Bolivia. Revista Científica InfoINIAF, INIAF-MDRyT. Año 1 numero 2. Volumen 1.

FAO; IPGRI. 1994. Norma para banco de genes. Roma, I. p.1-10

Montgomery, D. 2003. Diseño y análisis de experimentos. Trad. Rodolfo Piña García. Limusa Wiley. México DF. p 686.

FAO. 2013. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia. 167 p.

Jaramillo, S., Baena, M. 2000).Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de Recursos Fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogeneticos(IPGRI). Cali. Colombia. 209 p.

SAS Institute Inc. 2016. SAS® STAT Guide 9.2. Help and documentation. www.sas.com.

Sevilla, P., Holle, O. 2004. Recurso Genéticos Vegetales. Lima. PE. Ed. Torre Azul SAC .p.186 – 212

Steel, R., Torrie, J. 1992. Bioestadística: principios y procedimientos. McGraw-Hill. México DF. p 622.

SENAMHI.2012. http://www.senamhi.gob.bo/ (Revisado: Diciembre 12, 2012).

Tapia, 1979. La Quinua y la Kañahua. Cultivos Andinos CIID/IIA Oficina Regional para América Latina. Serie de Libros y materiales educativos, N°40. Bogotá - Colombia. pp. 11-19.

ISTA. 2010. International rules for seed testing. The international Seed Testing association.

Jaramillo, S., Baena, M. 2000).Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de Recursos Fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogeneticos(IPGRI). Cali. Colombia. 209 p.