

Estudio genómico de la Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): Técnicas de secuenciación e identificación genómica. Una revision.

Genomic study of Quinoa (Chenopodium quinoa Willd): Sequencing techniques and genomic identification. A review.

ABEL F. GUTIÉRREZ, PATRICIA MOLLINADO PORTUGAL

CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS, FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES,
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS. LA PAZ, BOLIVIA

*AUTOR PARA CORRESPONDENCIA: GABELFRANZ.AFGE@GMAIL.COM

ORCID: [HTTPS://ORCID.ORG/0000-0002-7474-8746](https://orcid.org/0000-0002-7474-8746)

ORCID: [HTTPS://ORCID.ORG/0000-0002-3808-2043](https://orcid.org/0000-0002-3808-2043)

FECHA DE RECEPCIÓN: 14 ABRIL 2022

FECHA DE ACEPTACIÓN: 9 JUNIO 2022

Resumen

Introducción. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), es considerado uno de los alimentos más completos debido a su alto contenido en ácidos grasos, oligoelementos y proteínas ricas en aminoácidos esenciales; sin embargo, también posee metabolitos con propiedades anti nutricionales (saponinas) que deben ser eliminados antes de su consumo. Algunos estudios realizados en el genoma de la quinua, se han basado en la identificación de genes involucrados en la producción de saponinas para inhibir su expresión y evitar los tratamientos de pos cosecha (escarificado).

Abstract

Introduction. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), is considered one of the most complete foods due to its high content of fatty acids, trace elements and proteins rich in essential amino acids; However, it also has metabolites with anti-nutritional properties (saponins) that must be eliminated before consumption. Some studies carried out on the quinoa genome have been based on the identification of genes involved in the production of saponins to inhibit their expression and avoid post-harvest treatments (scarification).

Objective. To establish, through bibliographic review, the molecular

Objetivo. Establecer, mediante revisión bibliográfica, las técnicas de biología molecular aplicadas a la expresión genómica de saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

Métodos. La revisión bibliográfica, se realizó tomando en cuenta varias fuentes de información, entre ellas: tesis doctorales, artículos científicos, libros y algunas plataformas WEB (www.bbc.com, www.fao.org, www.sidalc.net y <https://biología.laguía2000.com>) con principal interés en: genoma de la quinua, técnicas de secuenciación, genes identificados y su posterior expresión génica.

Conclusiones. El descubrimiento del genoma completo de la quinua en el año 2017, aplicando la técnica SMTR u otras técnicas como la pirosecuenciación, fue el punto de partida para el estudio de genes que le proporciona su adaptabilidad a varias condiciones bióticas y abióticas. De esta manera, en relación a los factores abióticos, se documentó en dos oportunidades que la expresión génica de saponinas, estaba relacionada con genes del citocromo P450 y enzimas como las glucosil transferasas. Ahora bien, aunque los genes involucrados en la respuesta a los agentes bióticos aún no están identificados, este se mantiene como hipótesis relacionándose con el contenido de saponinas.

biology techniques applied to the genomic expression of saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd).

Methods. The bibliographic review was carried out taking into account several sources of information, among them: doctoral theses, scientific articles, books and some WEB platforms (www.bbc.com, www.fao.org, www.sidalc.net and <https://biología.laguía2000.com>) with main interest in: quinoa genome, sequencing techniques, identified genes and their subsequent gene expression.

Conclusions. The discovery of the complete genome of quinoa in 2017, applying the SMTR technique or other techniques such as pyrosequencing, was the starting point for the study of genes that provide its adaptability to various biotic and abiotic conditions. Thus, in relation to abiotic factors, it was reported on two occasions that the gene expression of saponins was related to cytochrome P450 genes and enzymes such as glucosyl transferases. Although the genes involved in the response to biotic agents have not yet been identified, this remains a hypothesis related to the content of saponins.

PALABRAS CLAVE

quinua, saponinas, técnicas de secuenciación, expresión génica.

KEY WORDS

quinoa, saponins, sequencing techniques, gene expression.



INTRODUCCIÓN

La quinua es un pseudo cereal originario de América del Sur, principalmente de los andes de Bolivia y Perú, es considerado de alto valor nutricional debido al contenido de ácidos grasos, oligoelementos y proteínas (13.81-21.90% dependiendo la variedad) enriquecidas en aminoácidos esenciales superiores a otros cereales como el trigo, cebada y soya (Bojanic, 2011). Además de sus propiedades nutricionales, la quinua ha despertado su interés de estudio por su amplia adaptación a distintas condiciones agroecológicas y una diversidad en cuanto a sus características genéticas que influyen en la expresión de determinadas características morfológicas, fenológicas y principalmente metabólicas, que van en relación al tipo de estrés al cual está sometida la planta (biótico o abiótico) (Jarvis et al., 2017; Morales, Garcia et al., 2013; Mujica & Jacobsen, 2006; Rojas et al., 2016).

Estudios a la fecha (Garcia E. et al., 2018; Méndez Espinoza & Vallejo Reyna, 2019), han demostrado que los mecanismos de respuesta en las plantas a diferentes tipos de estrés abiótico (sequia, salinidad y frío) o bióticos (ataque de plagas, defensa de predadores, etc.), son tres y se clasifican como: *mecanismos constitutivos*, defensa pasiva a los agentes patógenos; *estructurales constitutivos*, acumulación de ceras, formación de vellosidades, etc. y *químicos constitutivos*, acumulación de metabolitos secundarios (Madriz O., 2002; Nakashima et al., 2009). Todas estas modificaciones en el organismo vegetal, facilitan una mejor captación de la señal de estrés (adaptación al medio) y estas llegan a modificar la expresión génica mediante la función reguladora de los factores de transcripción, donde existe la unión de proteínas específicas con elementos cis del ADN, que son fragmentos de nucleótidos no codificantes, contiguos a los genes blancos o de interés (Morales et al., 2013). Los estudios científicos de bio-prospección, quimio-taxonomía, y otros. han sido realizados con éxito y claridad haciendo uso de las técnicas de biología molecular y la bioinformática, que facilitan la identificación de genes involucrados en la expresión del metabolismo y/o regulación de la biosíntesis, a partir de material genético secuenciado o mediante una secuenciación de Novo y haciendo uso de una de sus técnicas más aplicadas denominado PCR (reacción en cadena de polimerasa) (Angarita et al., 2017; Jiménez et al., 2017; Palacios et al., 2004).

El 9 de febrero de 2017, fue hecha pública la noticia en la plataforma de la BBC NEWS, sobre la secuenciación completa del genoma de la quinua por un grupo de investigadores a la cabeza Mark Tester de la Universidad del Rey Abdullah de Ciencia y Tecnología (KAUST) en Arabia Saudita (McGrath, 2017). Así mismo, estimaron que el genoma de la quinua tiene alrededor de 44.776 genes que fueron determinados por la técnica SMRT (Single Molecule Real Time) (Rodríguez, 2017). El mismo año en la publicación de Jarvis et

al., 2017, se realizó el trabajo de la secuenciación y ensamblaje del genoma de una variedad de quinua chilena costera, aplicando la técnica de SMRT (figura 1). Donde se determinó que el ensamblaje total del genoma equivale a 1,39 giga-bases (Gb) y a su vez, se determinó que los genes involucrados en la expresión de las proteínas y los micro ARNs predichos corresponden de igual manera al reportado por el grupo de investigación de Mark Tester.

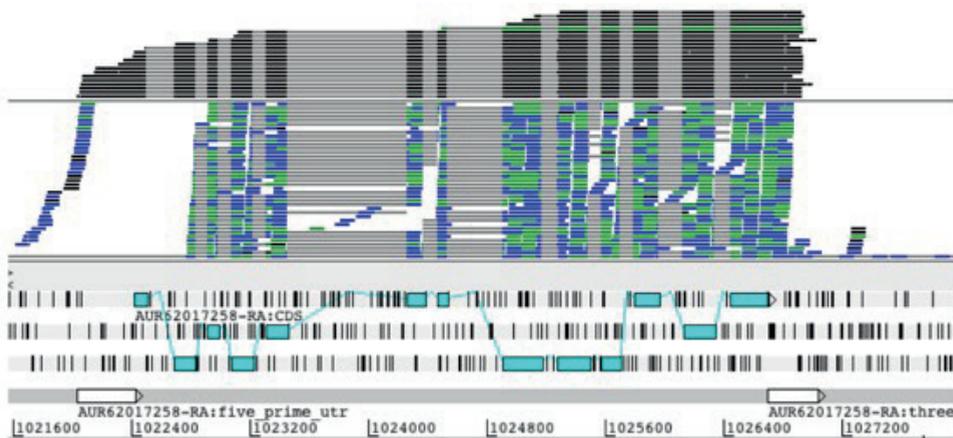


Figura 1. Secuenciación por isoformas (ARN-seq) del genoma de la quinua. Resultado del mapeo para el material genético de la quinua costera chilena, empleando la técnica de secuenciación por isoformas, donde se aprecia el ensamblaje total del material genético en estudio. Fuente: Jarvis et al., 2017.

La gran cantidad de variedades de quinuas entre dulces y amargas, resistentes a los agentes bióticos y abióticos, hacen también que exista una gran diversidad en cuanto al material genético (Serna *et al.*, 2020) razón por la cual se han desarrollado los bancos de germoplasma (Rojas *et al.*, 2013).

Un daño que ocasiona pérdidas en los cultivos, es un agente patógeno denominado Mildiu (*Peronospora variabilis*) (ver figura 2), una de las formas de control de este patógeno es la aplicación por riego de metalaxyl (fungicida). Sin embargo, existen algunas variedades que adquirieron inmunidad genética (Danielsen & Ames, 2007); y es así que en el trabajo realizado por (Colque-Little *et al.*, 2021), realizó la infección de 132 accesiones de quinua sudamericana con *P. variabilis* y se hizo un control del ambiente de contagio dentro un invernadero independiente. En el cual se evidenció que los niveles de contagio variaron entre 5 a un 86%, esta estimación permitió diferenciar entre las variedades susceptibles y las variedades con resistencia al patógeno. Por otro lado, el hecho de no haber descubierto aun los genes responsables para la resistencia a este patógeno, esta propiedad puede ser aplicada a otras variedades susceptibles por fito mejoramiento.

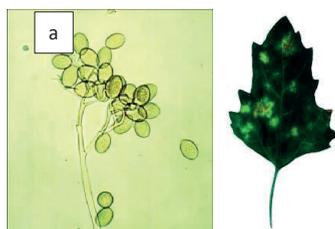


Figura 2. Agente patógeno de la quinua. a) Mildiu (*P. variabilis*) y b) hoja de quinua infectada. a. Fotografía en un microscopio electrónico del agente patógeno que afecta a la quinua y b) fotografía de la apariencia de una hoja infectada.

Fuente: Colque-Little *et al.*, 2021.

En cuanto al contenido de saponinas, varía de acuerdo a la etapa fenológica y en la quinua se han encontrado hasta el 2016 alrededor de 30 saponinas entre mono y bi-desmosídicas con siete tipos de anillos pentacíclicos derivados de la β -amirina (figura 3, Ahumada *et al.*, 2016).

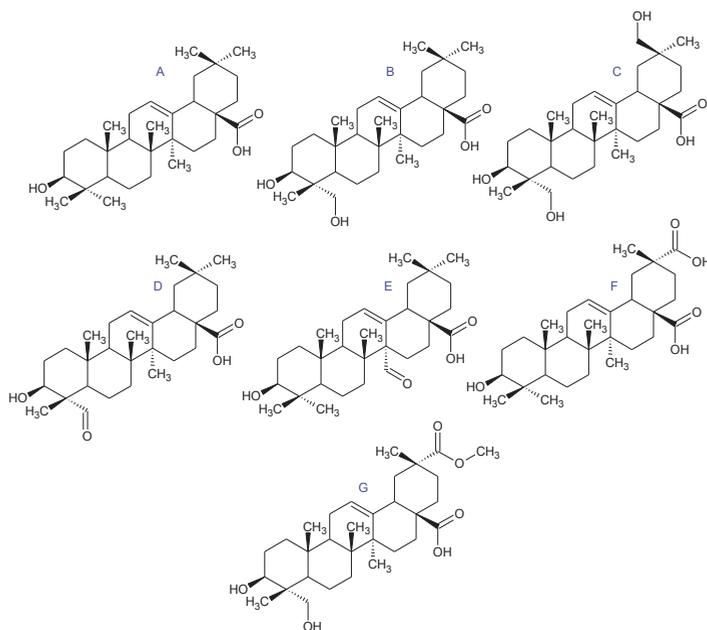


Figura 3. Saponinas de quinua encontradas en distintas partes de la planta. A) Ac. Oleanólico, B) Hederagenina, C) Acido 3 β , 23, 30-trihidroxi olean-12-eno-28-oico, D) Gipsogenina, E) Ac. 3 β -hidroxi-27-oxoolean-12-eno-28-oico, F) Ac. Espergulagénico, F) Ac. Serjánico y G) Ac. Fitolacagénico.

Nuevamente indicamos que el contenido de saponinas en quinua las clasificara entre variedades dulces y amargas. y al ser de naturaleza anti-nutricionales, estas deben ser eliminadas antes de su consumo (Fiallos-Jurado *et al.*, 2016; Serna *et al.*, 2020). En la actualidad, muchos trabajos de investigación aplican las técnicas de biología molecular para la identificación de genes involucrados en la biosíntesis de saponinas.

Es así que en el trabajo de James R. (2009), se realizó la secuenciación de la quinua empleando el método de Sanger y la pirosecuenciación (secuenciación 454). Por un lado, el método Sanger realizó 18.325 lecturas con un promedio de 693 nucleótidos por lectura. Mientras que con el método de pirosecuenciación se obtuvo 298.048 lecturas con un promedio de 202 nucleótidos por lectura, con estos resultados obtenidos se realizó un ensamblaje híbrido entre las dos técnicas aplicadas generando así un conjunto unigene del cual fueron identificados 291 nuevos marcadores de micro satélites al cual se aplicó la técnica de microarray para posteriormente realizar las comparaciones entre variedades dulces y amargas. Como resultado de su investigación, se identificaron genes que están involucrados en la expresión de compuestos triterpenoides; por otro lado, también fueron identificados genes que son homólogos al citocromo P450s, las monooxigenasas del citocromo P450 y las glicosiltransferasas (figura 4). Como recomendación final establece que estos genes identificados sean tomados en cuenta al momento del estudio de la biosíntesis de saponinas

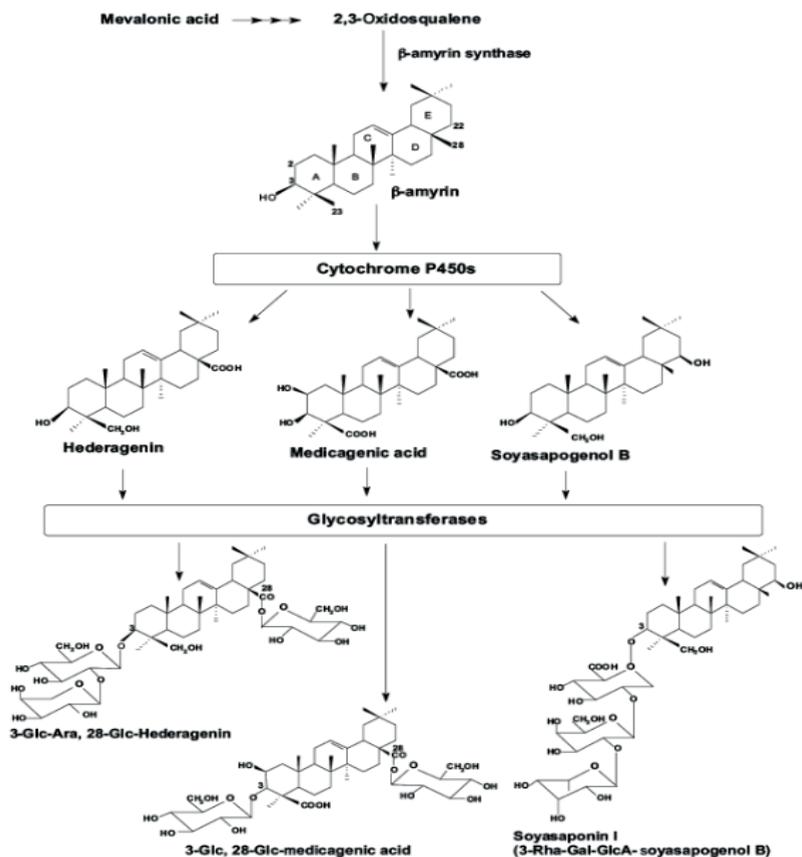


Figura 4. La ruta de biosíntesis de saponinas en quinua. Representación esquemática de la ruta de biosíntesis de saponinas de quinua bajo la influencia de genes homólogos del citocromo P450s y enzimas glucosil transferasas. Fuente: James R., 2009.



Por otro lado, en la investigación realizada por Fiallos-Jurado *et al.*, 2016, se evidenció que el contenido de saponinas en hojas de dos variedades de quinua (dulce y amarga) se encontraba regulada a través de una fitohormona, denominada MeJa (Metil jasmonato). El estudio consistió en el desarrollo de ambas variedades de quinua inmersas a distintos tiempos (2, 24 y 48 h) con la fitohormona y al momento de la cuantificación de saponinas se observó que existía una variación en la producción de este metabolito (figura 5).

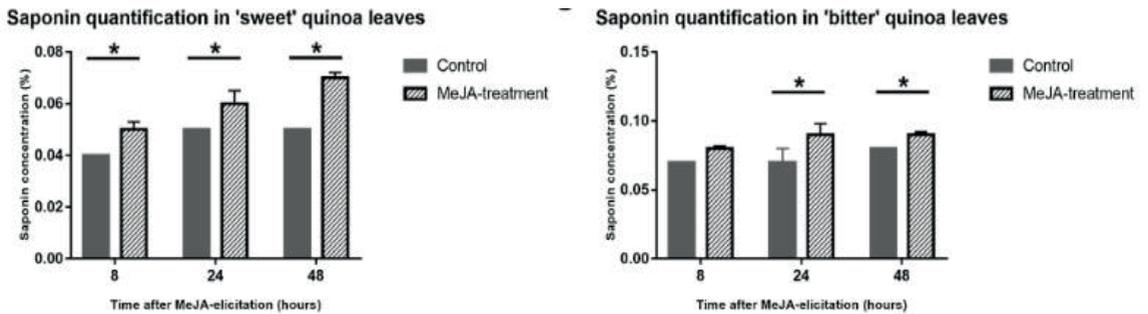


Figura 5. Cuantificación de saponinas en hojas de quinua tratadas con MeJa (jasmonato de metilo). Representación gráfica de la expresión de saponinas en quinuas dulces y amargas por el tratamiento con MeJa. En ambos casos se observa un incremento en el contenido de saponinas con el paso del tratamiento, sin embargo en la quinua dulce se aprecia un mayor incremento a las 48 horas de exposición mientras que la quinua amarga no tiene mayor cambio en su contenido de saponinas a las 24 y 48 horas respecto a los controles. Fuente: Fiallos-Jurado *et al.*, 2016.

Es en relación a la figura 5 la variedad de quinua dulce, tuvo una pronta respuesta al tratamiento con MeJa (8 horas). Sin embargo, la quinua amarga mostro una respuesta positiva pasadas las 24 horas. Así, con base en este análisis preliminar los autores tenían la idea que la biosíntesis de saponinas se encontraba regulada por la enzima bAS que es el marcador para la producción de ácido jasmónico en presencia de un agente estresor (Laredo Alcalá *et al.*, 2017; Tijet & Brash, 2002).

Posteriormente se realizó un análisis a nivel del transcriptoma para la identificación de genes que eran activados por MeJa, de manera inicial se vio el gen de la β -amirina sintasa caracterizada de *Maesa lanceolata*, determinando que para la quinua esta enzima es ortóloga; es decir, que la quinua presenta homología con otras especies vegetales (Contreras, 2015). La enzima bAS (figura 6), denominada como el gen CqbAS1, también fue evaluada dentro de las variedades de quinua mediante PCR-q, obteniendo los mismos resultados que en la cuantificación de saponinas. Pues la variedad de quinua dulce tiene una respuesta más rápida que la quinua amarga.

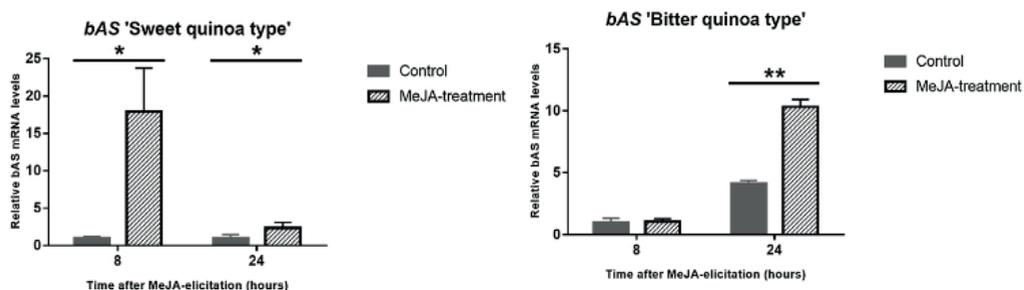


Figura 6. Aumento de los niveles de la enzima bAS en hojas tratadas con MeJa. Representación gráfica de los niveles de expresión de la enzima bAS bajo tratamiento con MeJa. En ambos casos se tiene variaciones durante el tratamiento, como resultado se aprecia que la expresión de la enzima bAS es más rápida en la quinua dulce tras las 8 horas de exposición, sin embargo esta disminuye drásticamente pasadas las 24 horas pero incrementa su contenido en la quinua amarga respecto a los controles. Fuente: Fiallos-Jurado et al., 2016.

Además para una mejor apreciación de las características del gen, este fue expresado mediante clonación, donde se vio que dicho gen es una proteína de 763 aminoácidos que se encarga del proceso de ciclación del escualeno a derivados de la -amirina. Posteriormente, para las modificaciones que se realizan en las geninas por la adición de mono u oligosacáridos se analizaron las enzimas del citocromo P450 a través de la codificación de la familia de proteínas CYP716A12 de *M. truncatula* dentro en el transcriptoma de la quinua, aplicando la plataforma TBLASTX se logró identificar 3 genes candidatos de la P450: CYP716A78, CYP716A79 y CYP716AB1. Estos al ser analizados por PCR-q (figura 7) se reportó el mismo comportamiento de los anteriores casos.

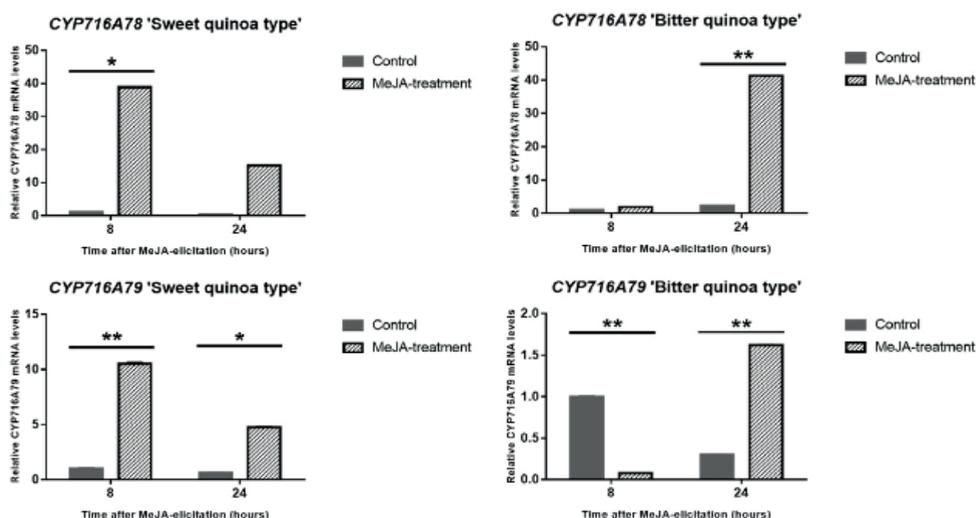


Figura 7. Aumento de los niveles de los genes candidatos en la expresión de saponinas en hojas tratadas con MeJa. Representación gráfica de los genes



candidatos responsables a la producción de saponinas de quinua bajo tratamiento con MeJa. Ambos genes *CYP716A78* y *CYP716A79* en variedades de quinua dulce y amarga presentan variaciones, pero como ya se vio en las anteriores gráficas la quinua dulce tiene pronta respuesta (8 horas) al tratamiento con MeJa pero disminuye con el pasar del tiempo (24 horas), mientras que la quinua amarga tiene una respuesta tardía produciendo mayores cantidades a las 24 horas del tratamiento. Fuente: Fiallos-Jurado et al., 2016.

METODOLOGIA

La metodología empleada para el presente artículo de revisión bibliográfica fue mediante el uso de: tesis de maestría desarrollado por Derrick James Reynolds (2009) (Department of Plant and Wildlife Sciences-Brigham Young University), artículos científicos (plataformas: Scielo, Redalyc, Elsevier, Springer, entre otras), libros y plataformas WEB (www.bbc.com, www.fao.org, www.sidalc.net y <https://biología.laguía2000.com>) con principal interés en: genoma de la quinua, técnicas de secuenciación, genes identificados y su posterior expresión génica.

PCR (Chain Reaction Polymerase)

Esta técnica es ampliamente utilizada para la amplificación de fragmentos o secuencias cortas de ADN (cebadores) que son de interés de estudio, en las revisiones realizadas la técnica es importancia para la amplificación de los genes de interés (*CYP716A78* y *CYP716A79*) identificados como responsables de la síntesis de saponinas en variedades de quinua dulce y amarga como lo realizó Fiallos-Jurado et al., 2016. El principio de la técnica se basa principalmente en la formación de secuencias complementarias al fragmento de ADN o molde que mediante una variación de temperatura las desnaturalizan y separan, este proceso ayuda a las enzimas involucradas con este proceso de replicación haciendo que en poco tiempo pueda generarse muchas copias (Rådström et al., 2004; Smith & Osborn, 2009).

SMRT (Single Molecule Real Time)

Esta técnica de secuenciación ha sido desarrollada principalmente por: Pacific Biociencias (PacBio) y además mediante la tecnología de nanoporos de Oxford Nanopore Technologies. La técnica tiene un interés de aplicación cuando se habla de una secuenciación de Novo, ya que esta técnica permite la secuenciación de material genético extenso con un nivel de confianza del 99.999% (Ardui et al., 2018), sin embargo también se ha reportado algunos errores que afectan a su sensibilidad pero este puede ser minimizado con la adaptación de otros métodos de secuenciación (Roberts et al., 2013). Su aplicación consiste básicamente en 8 pasos en los que se realiza la secuenciación del ADN (Ardui et al., 2018). Es así que la técnica fue tomada

como una opción para la secuenciación del genoma de la quinua, pues aún no se conocía el tamaño de su material genético y como resultado final se determinó que está compuesto por 44.776 genes (Rodríguez, 2017).

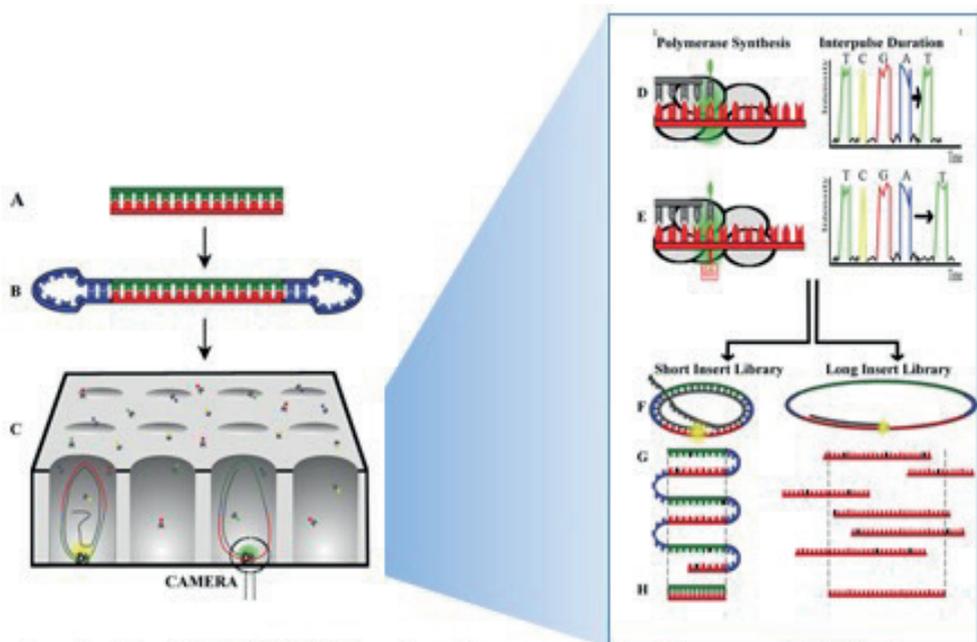


Figura 8: Técnica de secuenciación por SMRT desarrollado por PacBio y Oxford Nanopore Technologies. Esquema de la secuenciación SMRT aplicado al estudio genómico de la quinua desarrollado en la investigación de Rodríguez, 2017.

Fuente: Ardui *et al.*, 2018

Secuenciación RNA-seq

La técnica de RNA-seq o secuenciación de isoformas, nos indica los niveles de desarrollo, tratamientos y condiciones de distintos tejidos, órganos u organismos desde su estado del transcriptoma. es por tal motivo que los autores incluyen esta técnica de secuenciación a través del RNA pues a nivel del post transcriptoma se puede llegar a determinar la secuencia del material genético como lo hizo Jarvis *et al.*, 2017 en su publicación determinado que el material genético se encuentra compuesto por 1,39 giga bases. Así pues, esta técnica es un método de secuenciación cuantitativa que inicia desde la extracción de ARN-total que es una mezcla de ARN-m y ARN-r que se encuentra en mayor proporción. De esta manera, el análisis se realiza a nivel del ARN-m, donde debe ser purificado mediante técnicas establecidas, una de ellas es la purificación de ARN-m por la captura positiva con ARN



poliadenilado (PolyA capture) y la segunda técnica es la eliminación del ARN-r (ARN depletion). La aplicación de estas técnicas dependerá si se encuentra trabajando con organismos eucariontes o procariontes (Rodríguez A. & Shishkova, 2018).

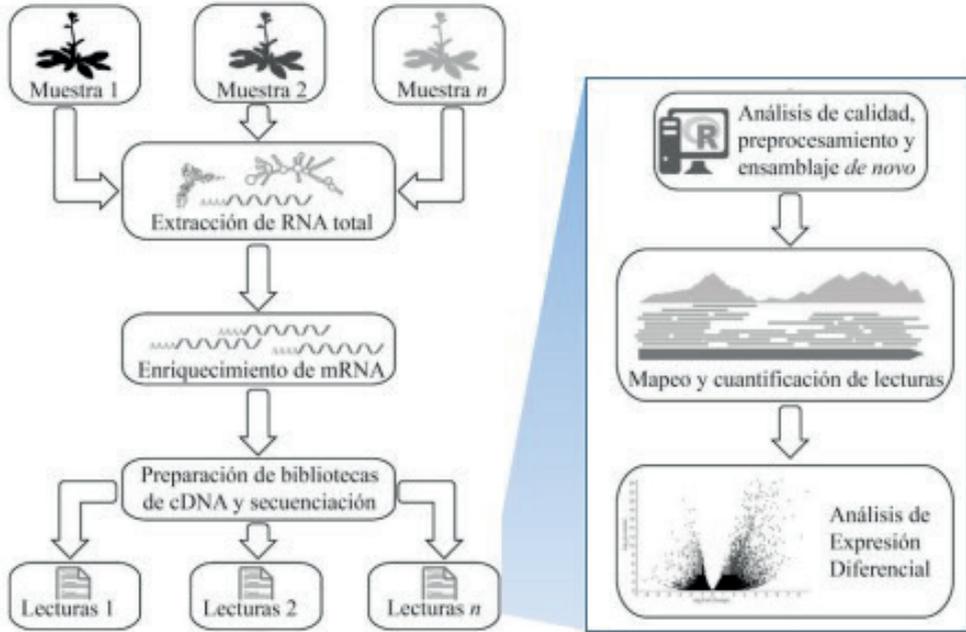


Figura 9. Principio de secuenciación por ARN-seq. Esquema de secuenciación por isoformas o ARN-seq para la identificación del genoma de la quinua aplicado por Jarvis *et al*, 2017 en su investigación. Fuente: Rodríguez A. & Shishkova, 2018.

Posteriormente el ARN-m se aplica para la creación de bibliotecas con el que se podrá dar inicio a la secuenciación del ADN completo o secuenciarlo por fragmentación (fragmentos de 200 a 1000 nucleótidos), este último es el más común por su bajo costo. Cada fragmento que ha sido secuenciado (reads) pasa a ser parte del mapeo y estos pasan a cuantificar la abundancia de cada transcrito (Rodríguez A. & Shishkova, 2018).

Secuenciación de Sanger

Esta técnica fue desarrollada por Frederik Sanger en 1977 y desde entonces muchas de las técnicas desarrolladas hasta la actualidad son modificaciones a su propuesta (Sanger *et al.*, 1977). El principio de la secuenciación de esta técnica consiste en siete pasos (Gauthier, 2007):

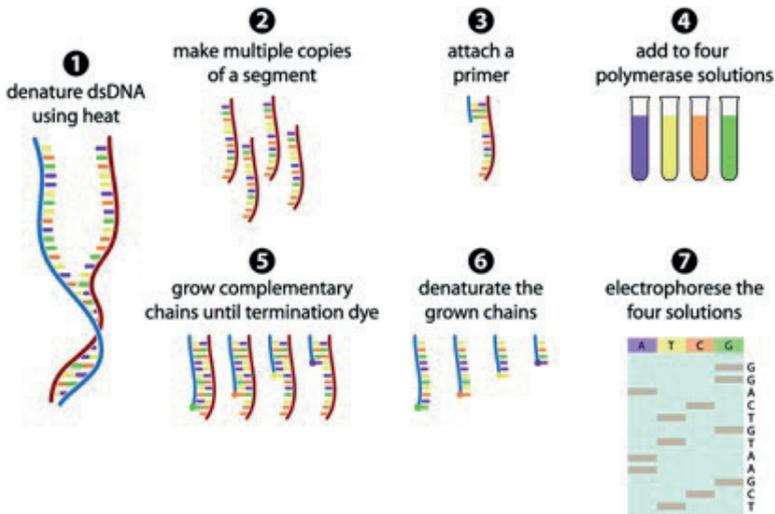


Figura 10. Fundamento de la secuenciación de Sanger. Esquema de la secuenciación de Sanger, aplicado en la investigación desarrollada por James R., 2009 para la obtención híbrida (técnica de secuenciación combinada con la técnica de pirosecuenciación) del material genético de la quinua donde obtuvo 693 nucleótidos. Fuente: Gauthier, 2007.

Sin embargo al ser esta una técnica desarrollada hace muchos años atrás, presenta algunas desventajas respecto a nuevos métodos desarrollados (Fakruddin & Abhiit, 2012). Es por tal motivo que durante la investigación el autor hace referencia a la combinación de la secuenciación de Sanger con la pirosecuenciación.

Pirosecuenciación

Es una novedosa técnica de secuenciación del ADN que ha sido desarrollada por Royal Institute Technology KTH y es un método alternativo al método de Sanger para la secuenciación de Novo por las ventajas que esta técnica ofrece, entre ellas tenemos: precisión, flexibilidad, fácil automatización y en muchos casos se han utilizado como técnica de confirmación para una secuenciación de Novo, es así que James R., 2009 aplica esta técnica con este fin, combinándola con la secuenciación de Sanger y obtener así una secuencia del material genético de la quinua completa e identificada. Si bien es una técnica lumínica, esta técnica no tiene la necesidad de usar marcadores fluorescentes en cebadores o nucleótidos (Fakruddin & Abhiit, 2012).

Esta técnica se basa en la secuenciación por síntesis (ver figura 11), partiendo de un ADN molde (monocatenario marcado con biotina) al cual se une un cebador y para que este de inicio a la síntesis debe unirse a cuatro enzimas: ADN polimerasa, ATP sulfurilasa, luciferasa y apirasa. Además



de estas enzimas, se debe adicionar desoxinucleotidos trifosfatos (dNTP), entonces se da inicio a la síntesis y con cada adición de nucleótido por la polimerasa se produce la liberación de una molécula de pirofosfato (PPi) inorgánico.

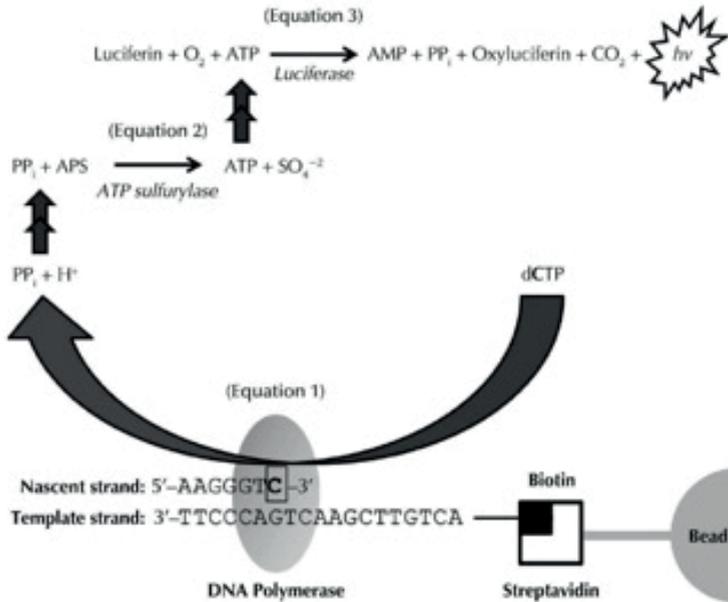


Figura 11. Esquema de la técnica de pirosecuenciación en base a la síntesis de Novo material genético. Esquema de la pirosecuenciación aplicada para la obtención de una secuencia híbrida del material genético de la quinua desarrollada por (James R., 2009) en su investigación donde obtuvo como promedio 202 nucleótidos por lectura realizada (298.048) Fuente: Harrington et al., 2013.

Una vez que el PPi es liberado, este se convierte cuantitativamente en ATP mediante la ATP-sulfurilasa en presencia de APS (Adenosina Fosfosulfato-sustrato), la cantidad de ATP generada es catalizada por la luciferasa produciendo una luz visible (560nm)(Iliyina et al., 1998) que es detectado por un fotomultiplicador o un CCD. Finalmente la luz generada y posteriormente detectada, genera una señal (pico) en el pirograma que es proporcional a la cantidad de nucleotidos incorporados en la síntesis (Fakruddin & Abhiit, 2012; Harrington et al., 2013).

CONCLUSIONES

La quinua al ser un alimento importante debido a su contenido de ácidos grasos, oligoelementos y proteínas con alto contenido en aminoácidos esenciales (Bojanic, 2011), además de su contenido de metabolitos secundarios como las saponinas que son producidas como mecanismo

de defensa ante los agentes patógenos (Ahumada et al., 2016; Bruneton, 1993). Sin embargo, este tipo de metabolitos son anti nutricionales para el organismo por lo que deben ser eliminados por un proceso adicional: el escarificado (Ahumada *et al.*, 2016; Candia D., 2016).

En la actualidad aún se desea emplear estas técnicas como alternativas genéticas para la eliminación de saponinas y evitar el paso adicional del escarificado (Fiallos-Jurado *et al.*, 2016). Así mismo, el año 2017 con el ensamblaje completo del genoma de la quinua por el método SMTR (Jarvis *et al.*, 2017), ha sido el punto de partida para el descubrimiento de genes involucrados en la biosíntesis de saponinas aplicando diferentes técnicas de biología molecular (ARN-seq, PCR-q, etc.) y el uso de plataformas como el TBLASTX.

En dos ocasiones se han establecido posibles rutas para la biosíntesis de saponinas en la quinua. El 2009, en el estudio de una tesis doctoral se ha concluido que la producción de saponinas están involucradas las enzimas análogas del citocromo P450 y enzimas de tipo glucosil transferasas (James R., 2009). y posteriormente en un estudio realizado el año 2016, se llegó a la misma conclusión; sin embargo, este sería expresado por los genes CYP716A78, CYP716A79 y CYP716AB1 (perteneciente al grupo del citocromo P450), además que su nivel de expresión varía en relación a la producción de enzimas marcadoras del ácido jasmonico (Fiallos-Jurado *et al.*, 2016)

Por otro lado, los niveles de expresión génica ante los factores bióticos como el mildiu, aún no han sido reportados pero en el estudio realizado por Danielsen & Ames, 2007 indica que esta propiedad (resistencia al mildiu) puede ser transmitida mediante técnicas de Fito mejoramiento convencional y además que los niveles en la producción de saponina no se encontrarían involucrados en la resistencia a este patógeno.

BIBLIOGRAFIA

Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438–469. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62043>

Angarita M., M., Torrez C., M. I., & Diaz T., A. K. (2017). Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. Revisión de la literatura. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*, 5(0), 1100–1111. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000500012



Ardui, S., Ameer, A., Vermeesch, J. R., & Hestand, M. S. (2018). Single molecule real-time (SMRT) sequencing comes of age: applications and utilities for medical diagnostics. *Nucleic Acids Research*, 46(5), 2159–2168. <https://doi.org/10.1093/nar/gky066>

Bojanic, A. (2011). La quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial (Proinpa & FAO (eds.)). <https://www.fao.org/3/aq287s/aq287s.pdf>

Bruneton, J. (1993). Saponosidos. In *Farmacognosia: Fitoquímica de plantas medicinales* 2da edición, pp. 664–709. Acribia S.A.

Candia D., L. (2016). Diseño y evaluación de una escarificadora para la extracción de saponina de la quinua - región puno. universidad nacional del altiplano.

Colque-Little, C., Abondano, M. C., Lund, O. S., Amby, D. B., Piepho, H.-P., Andreasen, C., Schmöckel, S., & Schmid, K. (2021). Genetic variation for tolerance to the downy mildew pathogen *Peronospora variabilis* in genetic resources of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *BMC Plant Biology*, 21(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02804-7>

Contreras, R. (2015). Genes paralogos y ortologos. *La Guia: Biología*. <https://biologia.laguia2000.com/genetica/genes-paralogos-y-ortologos>

Danielsen, S., & Ames, T. (2007). El mildiu de la quinua en la zona andina. *Manual Práctico para el estudio de la enfermedad y del patógeno*, 1(1), 38. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1962.9686>

Fakruddin, M., & Abhiit, C. (2012). Pyrosequencing-An Alternative to Traditional Sanger Sequencing. *Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(1), 14–20.

Fiallos-Jurado, J., Pollier, J., Moses, T., Arendt, P., Barriga-Medina, N., Morillo, E., Arahana, V., de Lourdes Torres, M., Goossens, A., & Leon-Reyes, A. (2016). Saponin determination, expression analysis and functional characterization of saponin biosynthetic genes in *Chenopodium quinoa* leaves. *Plant Science*, 250, 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.05.015>

García E., E. L., Robledo O., A., Benavides M., A., Solís G., S., & González M., S. (2018). Efecto de elicitores de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 20, 4211–4221.



Gauthier, M. G. (2007). Simulation of polymer translocation through small channels: A Molecular Dynamics study and a new Monte Carlo approach. University of Ottawa.

Harrington, C. T., Lin, E. I., Olson, M. T., & Eshleman, J. R. (2013). Fundamentals of pyrosequencing. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 137(9), 1296–1303. <https://doi.org/10.5858/arpa.2012-0463-RA>

Iliyina, A. D., Cerda, F. R., Estrada, B. C., Dukhovich, A. F., Gaona, L. G., Garza, G. Y., & Rodriguez, M. J. (1998). Sistema Bioluminiscente Luciferina-Luciferasa de las Luciérnagas. Parte I: Propiedades Bioquímicas y Catalíticas de la Enzima Luciferasa. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 42(3), 99–108.

James R., D. (2009). Genetic dissection of triterpenoid saponin production in *Chenopodium quinoa* using Microarray Analysis. Brigham Young University.

Jarvis, D. E., Ho, Y. S., Lightfoot, D. J., Schmöckel, S. M., Li, B., Borm, T. J. A., Ohyanagi, H., Mineta, K., Michell, C. T., Saber, N., Kharbatia, N. M., Rupper, R. R., Sharp, A. R., Dally, N., Boughton, B. A., Woo, Y. H., Gao, G., Schijlen, E. G. W. M., Guo, X., Tester, M. (2017). The genome of *Chenopodium quinoa*. *Nature*, 542(7641), 307–312. <https://doi.org/10.1038/nature21370>

Jiménez-Quesada, K., Álvarez-Figueroa, A., & Garro-Monge, G. (2017). Identificación de secuencias génicas relacionadas con la ruta metabólica de síntesis de glicósidos en *Stevia rebaudiana*. *Revista Tecnología en marcha*, 29(4), 67. <https://doi.org/10.18845/tm.v29i4.3038>

Laredo Alcalá, E. I., Martínez Hernández, J. L., Iliná, A., Guillen Cisneros, L., & Hernández Castillo, F. D. (2017). Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(3), 673–683. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.40>

Madriz O., K. (2002). Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patogeno. *Manejo Integrado de Plagas*, 63(0), 22–32. <http://www.sidalc.net/repdoc/a2097e/a2097e.pdf>

McGrath, M. (2017). El revolucionario descubrimiento genético que hará caer el precio de la quinua. *BBC NEWS/MUNDO*. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-38915242>

Méndez Espinoza, C., & Vallejo Reyna, M. Á. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales.



Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 10(56). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>

Morales, García, S., Gomes Merino, F. C., Trejo Tellez, L. I., & Herrera Cabrera, E. B. (2013). Factores de transcripción involucrados en respuestas moleculares de las plantas al estrés osmótico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(2), 105–115. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000200003

Mujica, A., & Jacobsen, S.-E. (2006). La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. *Botanica Economica de Los Andes Centrales*, 449–457. https://beisa.au.dk/Publications/BEISA_Book_pdf/Capitulo_27.pdf

Nakashima, K., Ito, Y., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2009). Transcriptional Regulatory Networks in Response to Abiotic Stresses in *Arabidopsis* and Grasses. *Plant Physiology*, 149(1), 88–95. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129791>

Palacios R., N., Burtin, D., & Leech, M. (2004). Biología molecular, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia: Ejemplo práctico en plantas colombianas de interés medicinal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(2), 67–77. <https://www.redalyc.org/pdf/776/77660210.pdf>

Rådström, P., Knutsson, R., Wolffs, P., Lövenklev, M., & Löfström, C. (2004). Pre-Pcr Processing. *Molecular Biotechnology*, 26, 133–146.

Roberts, R. J., Carneiro, M. O., & Schatz, M. C. (2013). The advantages of SMRT sequencing. *Genome Biology*, 14(6), 405. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-405>

Rodriguez, A. (2017). Desentrañando el genoma de la quinua: El cultivo del grano andino podrá ampliarse a diferentes regiones gracias al desarrollo del mapa genético. *El País*. https://elpais.com/internacional/2017/06/15/america/1497563762_144785.html

Rodriguez A., G., & Shishkova, S. (2018). Estudio del transcriptoma mediante rna-seq con énfasis en las especies vegetales no modelo*. *Revista de Educacion Bioquimica*, 37(3), 75–88.

Rojas, W., Pinto, M., Alanoca, C., Gomez P, L., Leon L., P., Alercia, A., Diulgheroff, S., Paludosi, S., & Bazile, D. (2013). Estado de la conservación



ex situ de los recursos genéticos de quinua. Libro ISBN: 978-92-5-308558-3 (FAO (ed.)).

Rojas, W., Vargas M., A., & Pinto P, M. (2016). La diversidad genética de la quinua: potenciales usos en el mejoramiento y agroindustria. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 3(2), 114-124. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182016000200001

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology*, 74(5463), 7.

Serna, F., Montenegro, J. D., Cruz, W., & Koc, G. (2020). Identification of genes related to drought tolerance in 41 varieties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Scientia Agropecuaria*, 11(1), 31–38. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.01.04>

Smith, C. J., & Osborn, A. M. (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 67(1), 6–20. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00629.x>

Tijet, N., & Brash, A. R. (2002). Allene oxide synthases and allene oxides. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 68–69, 423–431. [https://doi.org/10.1016/S0090-6980\(02\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0090-6980(02)00046-1)



NORMAS PARA LA PRESENTACIÓN DE ARTÍCULOS

La Revista *CON-CIENCIA* es una publicación periódica semestral indexada y arbitrada internacionalmente cuya idea original pertenece a la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor de San Andrés, la misma profundizará temáticas referentes a las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

Tipos de artículos

Artículos originales de investigación
Artículos de revisión
Artículos estudiantiles

Presentación de los trabajos:

Los trabajos deberán ser originales y versar sobre temas desarrollados en el marco de las Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

La extensión de los trabajos deberá ser entre 7-15 páginas, en formato Microsoft Word, tamaño carta, espacio y medio (1 y 1/5), márgenes de 2.5 cm, fuente Arial 11. Se acompañará un resumen de 250 a 350 palabras en español e inglés, así como las palabras clave en español e inglés, por una sola cara, en letra fuente Arial 11 ptos.

Los trabajos presentados deben contener las siguientes secciones:

Título
Autores y datos de afiliación
Resumen (Abstract)
Palabras claves (Keywords)
Introducción
Material y Métodos
Resultados y discusiones
Conclusiones
Agradecimientos
Referencias

Título: Debe ser corto, objetivo y reflejar de forma clara el contenido del trabajo. No debe estar en negrillas y respetar el tamaño y tipo de letra.

Autores: Debe anotarse nombre(s) y apellido(s), como utiliza el autor, en orden de aporten en el trabajo y no alfabéticamente; institución a la que pertenecen Departamento/Instituto, Facultad, Universidad, ciudad



y país. Autor correspondencia: Se indicará con un asterisco el autor de correspondencia con todos sus datos.

Resumen (Abstract): Debe ser redactado en español e inglés de forma breve precisa y clara, con un máximo de 250 a 350 palabras. El resumen debe contener los siguientes subtítulos: Introducción, Objetivos, Materiales y Métodos, Resultados y Conclusiones.

Palabras clave (Keywords): Se anotará entre 3 a 5 palabras clave, en español e inglés, que indiquen los tópicos más relevantes del trabajo, con el fin de servir de descriptores en la búsqueda bibliográfica

Introducción: Deberá explicar de forma concisa y clara los antecedentes, objetivos, originalidad, pertinencia y su relación con trabajos de materias afines.

Material y Métodos: Los materiales y métodos deberán ser descritos de forma precisa y clara para facilitar la réplica de los trabajos. Las técnicas y procedimientos ya publicados deberán ser citados.

Resultados y discusiones: Los resultados serán expuestos de forma clara y directa en una secuencia lógica, sustentado con tablas y figuras. No debe repetirse los materiales y métodos. Así mismo los resultados deben relacionarse con otros trabajos similares o que tengan relación.

Conclusiones: En esta sección se debe plantear la(s) conclusión(es) y deben ser claras. Deben expresar el balance final de la investigación o la aplicación del conocimiento.

Agradecimientos: Este apartado es opcional. Se reconoce a las personas, instituciones o financiadores (becas) que permitieron el desarrollo del trabajo. Deberá ser breve y directo.

Referencias: El estilo utilizado para citar las referencias bibliográficas es APA (American Psychological Association) 7ma edición, la que se puede consultar en el siguiente link: <https://normas-apa.org/wp-content/uploads/Guia-Normas-APA-7ma-edicion.pdf>

Envío del trabajo de investigación

Para poder enviar tu trabajo primero debes de contar con tu registro ORCID, para obtener el registro debes de ingresar al siguiente link <https://orcid.org/register> y seguir cada uno de los pasos de la plataforma



Los trabajos deben remitirse a la página oficial OJS Revista Conciencia digital <http://farbio.edu.bo/csegc/conciencia> y completar los requisitos solicitados en la página web. En la misma encontraras un tutorial para poder registrarte y subir tu trabajo a la plataforma.

Los documentos que deben subir a la plataforma son:

1. El documento inextenso del trabajo de investigación: este documento debe subir en la pestaña de **Artículo completo**
2. El documento del trabajo de investigación: este documento debe subir en la pestaña de **Artículo completo sin datos de autores ni filiación.**
3. La carta dirigida a la Comisión Editora-Científica, el cual debe subirse en el apartado: **Carta**
4. En un documento Word todas las tablas que tenga su trabajo: **Tablas**
5. En un documento Word todas las figuras que tenga su trabajo: **Figuras**

Un documento en Word que contenga: título del trabajo, un resumen de 250 a 350 palabras y de 3 a 5 palabras clave, todo escrito en idioma español e inglés. Este documento te ayudara a poder completar los diferentes apartados del portar web, de tal forma que simplemente puedas copiar y pegar, para evitar errores innecesarios. **Este documento no debe ser enviado.**

Además, debe ser enviado al correo electrónico conciencia@farbio.edu.bo, el documento inextenso (Artículo completo) y la carta dirigida a la Comisión Editora-Científica en la que mencione que el trabajo presentado es inédito o pertenece a una revisión o análisis documental, manifestando la voluntad del/la autor/a de publicarlo en la Revista CON- CIENCIA y se detallara explícitamente que no ha sido enviado a ninguna otra revista y que entre los autores no existe ningún conflicto de interés.

Evaluación.

Los trabajos recibidos para su publicación en la revista pasaran por un proceso de doble filtro. Primero la Comisión Editora-Científica revisara y verificara si cumple con el formato y contiene todos los componentes solicitados de un artículo, así como los documentos que se han subido a la plataforma. Posteriormente los trabajos serán enviados a un arbitraje a doble ciego. Las evaluaciones emitidas por los evaluadores serán notificadas. En caso de aceptación del trabajo, se comunicará al autor de correspondencia el volumen y número de la Revista en que aparecerá publicado.



La Comisión Editora-Científica, se reserva el derecho de corregir o modificar el manuscrito aceptado para su publicación final en la revista, previa comunicación al autor de correspondencia de tal forma que se adecue al estilo y objetivos de la revista.

Plazos de envío.

La Revista CON-CIENCIA, es de carácter semestral; los trabajos enviados hasta 30 de abril, serán incluidos en el primer número y los enviados hasta el 30 de septiembre serán incluidos en el segundo número. Las fechas establecidas son referenciales, pues la plataforma está disponible siempre.

CONFLICTO DE INTERESES

Existe un conflicto de interés cuando un autor (o la institución del autor), el revisor o el editor tiene relaciones financieras, académicas o personales que influyen impropiamente en sus acciones (sesgo).

Los autores están en el deber de informar por medio de un documento, el cual será adjuntado al manuscrito, la presencia de conflictos de intereses con su respectiva explicación para ser analizado por el comité de ética de la Revista Con-ciencia.

Los autores tienen el derecho de indicar que personas del comité y/o revisores externos no están de acuerdo que revisen su trabajo por conflicto de interés de tipo jerárquico o profesional.

En caso de que el manuscrito fuese financiado debe contener el nombre, dirección de la entidad financiera, los acuerdos y beneficios que acordaron ambas partes junto con la carta de permiso de la respectiva entidad financiera. Para evitar el conflicto de intereses con respecto a autores y comité revisor, La Revista Con-ciencia realiza las revisiones a doble ciego.

Los manuscritos y toda la correspondencia deben enviarse a la siguiente Dirección Postal: **Redacción: REVISTA CON-CIENCIA. Avenida Saavedra 2224 Miraflores.** Además, debe enviarse versión electrónica del manuscrito a E-mail: conciencia@farbio.edu.bo.