

El grano de quinua y las dehidrinas

Hernán P. Burrieza¹, Leandro Martínez-Tosar², María S. Avella Grillia¹, Ken Kobayashi² y Sara Maldonado^{1,2}

1-Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. C.A.B.A., Argentina. 2- IBBEA. CONICET.

Correo-e: saram@bg.fcen.uba.ar

El estrés hídrico que generan las condiciones de sequía, alta salinidad o bajas temperaturas, reduce tanto el crecimiento como el rendimiento de los cultivos, y representa un obstáculo agronómico significativo en grandes áreas del mundo (9). Sequía, salinidad y frío conducen a una merma en la disponibilidad de agua en tejidos y células, por lo que hay grandes similitudes en las características fisiológicas frente a estos tipos de estrés. Consistente con esto, la expresión de algunos genes varía tanto durante la aclimatación al frío y a la sal, como a la sequía (40). Frecuentemente, estos genes son expresados proporcionalmente en función de la tolerancia de la planta a cada tipo de estrés. Esto se puede demostrar de dos maneras: (i) cuando un único cultivar o genotipo es expuesto a diferentes intensidades de un factor ambiental y (ii) cuando genotipos o especies que difieren cuantitativamente en la aclimatación a un tipo de estrés son expuestos a un mismo factor estresante de idéntica intensidad (40).

Aun cuando los mecanismos genéticos y celulares involucrados en el estrés hídrico han sido ampliamente estudiados (18; 48) y un gran número de genes inducidos por deshidratación han sido identificados, sus funciones fisiológicas con respecto a la tolerancia al estrés son en su mayoría ignoradas (9; 21; 47).

Las dehidrinas (DHNs), proteínas pertenecientes al grupo II de las LEAs (*late embryogenesis abundant*) o RAB (*responsive to ABA*), fueron reportadas por primera vez hace poco más de 30 años en embriones de

semillas de algodón (14). Desde entonces, se han identificado proteínas homólogas en las semillas ortodoxas maduras de muchas otras especies (36). Las semillas ortodoxas son aquellas que se diseminan con bajos contenidos de agua, toleran una posterior desecación y son almacenables por largos períodos de tiempo; por el contrario, las semillas recalcitrantes se diseminan con altos contenidos de agua, pero se dañan por pequeñas pérdidas de agua, y no se pueden almacenar (7). Entre estos extremos existe una gradación (7). La presencia de DHNs en los embriones maduros se asocia con el proceso de deshidratación que sufren los tejidos durante la última etapa del desarrollo de las semillas ortodoxas y también de algunas semillas recalcitrantes (15; 16; 31).

Asimismo, las DHNs se detectan en casi todos los tejidos vegetativos, tanto bajo condiciones de crecimiento normal como en respuesta a la deshidratación celular; ya sea por frío, alta salinidad, o bien en tratamientos con ácido abscísico (compuesto involucrado en las vías de respuesta a estrés hídrico), entre otras (6; 36). Se trata de proteínas intrínsecamente no-estructuradas, termoestables y extremadamente hidrofílicas. Esta última característica está vinculada con la posibilidad de estas proteínas de asociarse a moléculas de agua y, de este modo, prevenir la agregación de macromoléculas manteniendo su estabilidad estructural durante el proceso de deshidratación (30), con lo cual podrían cumplir un importante rol como agentes de tolerancia al estrés hídrico. Todas las DHNs contienen una o más copias de una secuen-

cia altamente conservada de 15 aminoácidos (EKKGIMDKIKEKLP), rica en lisina, denominada segmento "K", usada extensivamente para la generación de anticuerpos capaces de reconocer proteínas inmunológicamente relacionadas a la familia de las DHNs. En adición al segmento K, otras secuencias frecuentes – aunque no siempre presentes– incluyen: un segmento consistente en múltiples residuos de serina (segmento "S"), un motivo consenso, T/VDEYGNP (segmento "Y") y otras regiones menos conservadas (segmentos "Φ") usualmente ricas en aminoácidos polares (13; 36). El número y orden de los segmentos Y, S y K definen diferentes subclases de DHNs: Y_nSK_n , Y_nK_n , SK_n , K_n y K_nS (36).

La sobre-expresión constitutiva de los genes de LEA/DHN en plantas transgénicas y la expresión heteróloga en levaduras han sido usadas para elucidar la contribución de las mismas a la tolerancia al estrés hídrico. La sobre-expresión de la dehidrina *HVA1* resultó en una mayor tolerancia al déficit de agua del suelo en plantas transgénicas de cebada, una mayor tolerancia al estrés salino en plantas transgénicas de arroz (5; 46) y aumentó la productividad de biomasa y la eficiencia en el uso de agua bajo condiciones de déficit de agua en plantas de trigo transgénico (38). Asimismo, plantas de *Arabidopsis thaliana* que sobre-expresan la dehidrina DHN-5 de trigo, exhibieron mejor crecimiento bajo condiciones de alta salinidad o de sequía, y mostraron una recuperación más rápida al tratamiento con manitol (reductor del potencial hídrico), en comparación con plantas silvestres (9). La expresión de un gen de DHN de *Opuntia streptacantha* (29) en *Arabidopsis thaliana* mejoró la tolerancia al congelamiento. Por último, células de *Saccharomyces cerevisiae* que sobre-expresan SaDHN, una DHN detectada en *Suaeda asparagoides* por Ayarpadikannan *et al.* (4), mejoran su tolerancia a diferentes tipos de estrés abiótico. La quinua (*Chenopodium quinoa*) es un cultivo básico de las regiones andinas de Suda-

mérica, reconocido por el alto valor nutricional de sus granos, particularmente por el excepcional balance de aminoácidos de sus proteínas y la cantidad de lípidos nutricionalmente relevantes (35). La especie está bien adaptada a las condiciones ambientales extremas y se han identificado numerosos genotipos de acuerdo a los patrones de interacción genotipo/ambiente (7; 10; 11; 42). De acuerdo a Jacobsen *et al.* (20), algunos genotipos pueden crecer en concentraciones salinas tan altas como la del agua de mar, por lo que su cultivo es posible en regiones áridas y semiáridas donde la deficiencia de agua y la salinidad constituyen los mayores problemas (32).

En síntesis, la capacidad de la quinua para producir proteínas de gran calidad nutricional, bajo condiciones ecológicamente extremas, la convierte en una planta importante no sólo para la alimentación de las comunidades andinas sino también para diversificación de los sistemas agrícolas futuros. Asimismo, la especie resulta interesante como fuente potencial de genes de aplicación biotecnológica.

1. El grano de quínoa

1.1. Estructura general

Similar a los cereales, la semilla se disemina dentro del fruto, de ahí, la denominación de grano (Figura 1). En este caso, el pericarpio es una estructura delgada y papirácea, fácilmente separable de la semilla. Está constituido por una única capa de células papilosas, que derivan de la pared externa del ovario (Figura 1 A y D); las capas subyacentes de la pared ovárica desaparecen durante el desarrollo.

La semilla está recubierta por la testa y el tegmen, cada uno de estos tegumentos está constituido por dos capas celulares de espesor. En la madurez, la capa externa de la testa (exotesta) constituye una capa impermeable que protege los tejidos internos de la semilla; sus células presentan la pared tangencial

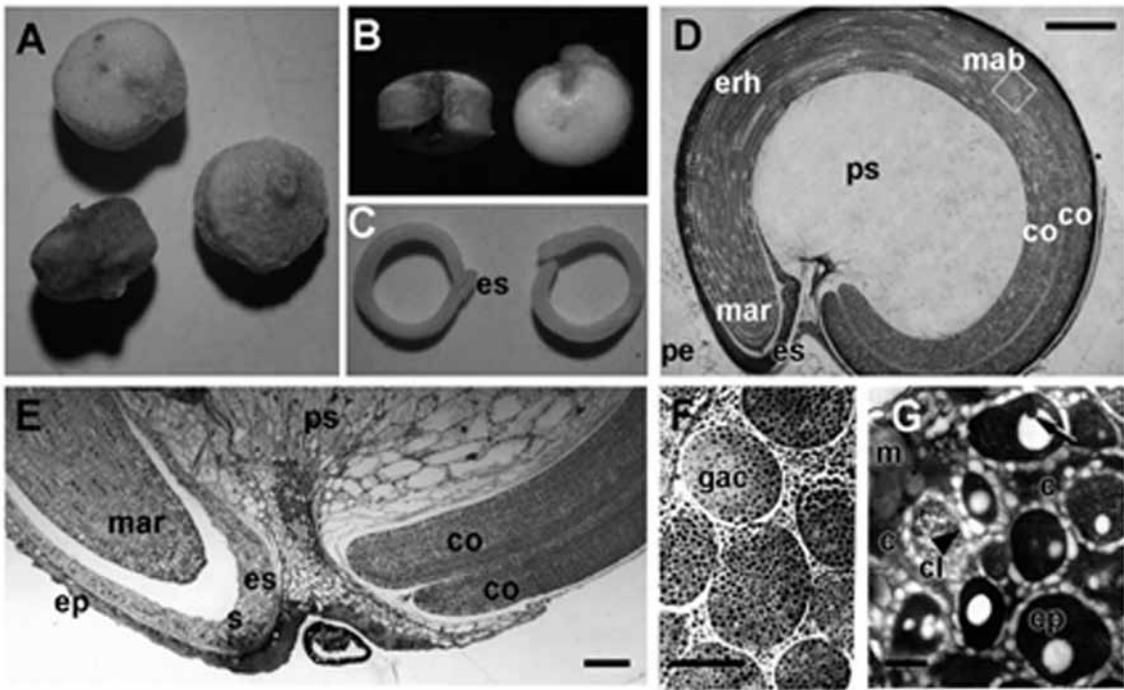


Figura 1. - Grano (utrículo) y semilla de *Chenopodium quinoa*. En A, grano con pericarpio adherido. En B, el pericarpio se ha extraído y se observan las semillas. En C, los embriones han sido separados de las semillas; en el embrión de la izquierda, el endosperma permanece cubriendo la radícula del embrión. D, Corte longitudinal medio de un grano mostrando el pericarpio (pe), el episperma (ep); el embrión, con sus cotiledones (co), el eje radícula-hipocótilo (erh), y los meristemas apicales del brote (mab) y de la raíz (mar), el endosperma (es) y el perisperma (ps). En E, detalle de la región micropilar de la semilla; co, cotiledón; es, endosperma; mar, meristema apical de la raíz; ps, perisperma; s, suspensor (López-Fernández & Maldonado, 2013); En G, granos de almidón simple y compuestos, almacenados en las células del perisperma; gac, granos de almidón compuestos (Prego *et al.*, 1998). H, cuerpos proteicos (cp) con globoides de fitina (flecha), y cuerpos lipídicos (cl) separados entre sí y de los cuerpos proteicos por el citoplasma (c) en el cual se observan mitocondrias (m). Los cuerpos lipídicos se observan como numerosas y pequeñas vesículas (Prego *et al.*, 1998). H Escalas: 1 mm (Fig. D); 100 μm (Fig. E); 10 μm (Fig. F); 1 μm (Fig. G).

externa fuertemente engrosada (Figura 1 E). La endotesta y el tegmen resultan totalmente colapsados durante el desarrollo.

Prego *et al.* (34), reconocen la existencia de tres áreas de reserva en las semillas de quinoa: un perisperma predominante y central, un embrión periférico medio y un endosperma (Figura 1 B-E). El embrión es el típico embrión de dicotiledóneas, y en él, se diferencian el eje radícula-hipocótilo en el que se insertan los dos cotiledones; entre los cotiledones, se distingue el ápice meristemático del brote, el cual, en este estado, carece de primordios foliares (Figura 1 D). Los primordios comienzan a desarrollarse con la germinación; en el extremo opuesto se diferencia el ápice meristemático de la raíz cubierto

por la caliptra radical y unido al suspensor (Figura 1 D-E). Todos los tejidos embrionarios se encuentran en estado parcialmente diferenciados: en los cotiledones se identifican protodermis, procambium y tejidos parenquimáticos de empalizada y esponjoso y en el eje se identifican protodermis, procambium y parénquima cortical (34).

El endosperma, constituido sólo por una a dos capas celulares, forma un cono que cubre el extremo radicular del embrión; el cono está atravesado por el suspensor (Figura 1 E) (26). De acuerdo a Prego *et al.* (34) se puede ver una firme cubierta del endosperma sobre la radícula (Figura 1 D-E), como un tejido de protección adicional del embrión que es desmantelado durante la germinación y que

parecería jugar un rol en este proceso.

El perisperma es un tejido de células uniformes, de paredes muy delgadas, muertas a la madurez (Figura 1 D-E). Los núcleos y orgánulos citoplásmicos están ausentes en este estado, y los lúmenes celulares están llenos de granos de almidón. Los granos de almidón son simples y compuestos (Figura 1 F). Los granos simples son uniformes, de forma poligonal y tienen un tamaño entre 0,4 y 3 μm ; los granos compuestos, que contienen hasta 14000 granos simples, alcanzan un tamaño de 18 a 20 μm de diámetro (3; 12; 23; 27; 34; 43).

Tanto el endosperma como el embrión están constituidos por células vivas. Ambos tejidos reservan proteínas en cuerpos proteicos, lípidos en cuerpos lipídicos, y minerales, específicamente fosfato, magnesio y potasio, como fitina en globoides localizados dentro de los cuerpos proteicos (Figura 1 G). El hierro se reserva como fitoferritina, dentro de los plástidos.

1.2. Composición química

El contenido de proteínas en el grano es aproximadamente entre un 12-23% de su peso seco, con un excelente balance en la composición de aminoácidos esenciales, especialmente en el contenido de lisina (5.1-6.4%) y metionina (0.4-1%) (1; 44).

El contenido de aceites (8%), duplica los valores del maíz, pero además los lípidos son ricos en ácidos grasos esenciales, como el linoleico (serie ω -6) y el linolénico (serie ω -3), y no esenciales como el ácido oleico (serie ω -9). Los valores de los ácidos grasos esenciales en el grano crudo de omega 3, omega 6, y omega 9 son en promedio de 6, 52, y 23%, respectivamente (23; 37).

Contiene grandes cantidades de calcio, hierro, zinc y magnesio, en comparación con los cereales más comunes.

El almidón reservado en el perisperma representa un porcentaje del peso seco entre 60 a 70% (2). El almidón está embebido en

una matriz proteica, la cual reduce la hidrólisis enzimática del almidón. En el almidón del perisperma de quinoa, se han reportado valores de amilosa que varían entre 7 y 27% (3; 45). De acuerdo a Varriano-Martson y De Francisco (43), tal amplio rango de valores de amilosa tal discrepancia refleja diferencias entre los genotipos. Los valores relativos de amilosa por debajo de 20%, son considerados muy bajos en general entre las plantas, ya que los valores comunes encontrados varían entre 20 y 30% (19; 27, 33, 41). Galwey *et al.* (17) reportan que el almidón de quinoa, por su pequeño tamaño, baja solubilidad y alta viscosidad, puede tener aplicación potencial en la industria farmacéutica y de cosméticos. Swinkels (39) reporta la propiedad de gelatinización a 56-58°C y el hinchamiento en el rango de temperatura de 65-95 °C, lo que unido a su naturaleza opaca y su resistencia a la retrogradación, lo hacen altamente apropiado para aplicaciones en la industria alimentaria como agente de emulsión y en productos congelados (2; 8; 25). La capacidad de retención de agua es de 49,5-93% siendo menor que la del almidón de maíz (117%).

2. Dehidrinas

Las detecciones de DHNs se hace usando un anticuerpo generado contra el segmento K arriba descrito. Con esta herramienta, Carjuzaá *et al.* (11) caracterizan el contenido de DHNs en embriones de dos genotipos de quinua procedentes de ambientes contrastantes: los cultivares Sajama y Baer La Unión, los cuales pertenecen a los grupos "Altiplano" y "de nivel del mar", respectivamente (7; 42). El análisis por *western blot* de los embriones formados en plantas crecidas bajo las condiciones controladas de cámaras de cultivo, reveló la presencia de cuatro bandas principales de DHNs (de 30, 32, 50 y 55 kDa), comunes a ambos cultivares (Figura 2 A). Cuando se analizaron los embriones de esos mismos genotipos, pero ya proceden-

tes de los respectivos lugares de origen, se revelaron nuevas bandas (Figura 2 B). Los autores concluyen que las cuatro bandas primero mencionadas son componentes del programa de desarrollo de las semillas de quínoa, mientras que las segundas (de 28, 34, 38, y 40 kDa), sólo aparecen en las semillas que proceden de los ambientes originales, lo cual permite inferir que estas bandas se inducen en respuesta a las condiciones ambientales en las que desarrollan estos cultivos. Por inmunolocalización *in situ* usando tanto microscopía de campo claro como electrónica de transmisión, se detectaron las DHNs en todos los tejidos del embrión; en el nivel subcelular las DHNs se detectaron en la membrana plasmática y también en las membranas de los diferentes orgánulos citoplásmicos (mitocondrias, retículo endoplasmático, proplástidos). En el núcleo, se aso-

ciaron claramente con la cromatina (10; 11). En dos estudios llevados a cabo sobre un cultivar peruano (cv. Hualhuas), se analizaron los efectos del estrés salino (10; 22). Dicho cultivar está adaptado a crecer a 3300 m.s.n.m., aproximadamente, con precipitaciones anuales que varían entre 500 a 800 mm distribuidas a lo largo de todo su ciclo vegetativo.

En ensayos realizados en nuestro laboratorio, las plantas fueron sometidas a condiciones experimentales de estrés salino entre 100 a 500 mM de NaCl. De acuerdo a Koyro y Eisa (22), el número, tamaño y peso de las semillas de quinua decrece significativamente con el incremento de la concentración salina del medio de crecimiento. El efecto estructural más evidente es la reducción del volumen del perisperma, lo que explica la reducción significativa de las reservas de al-

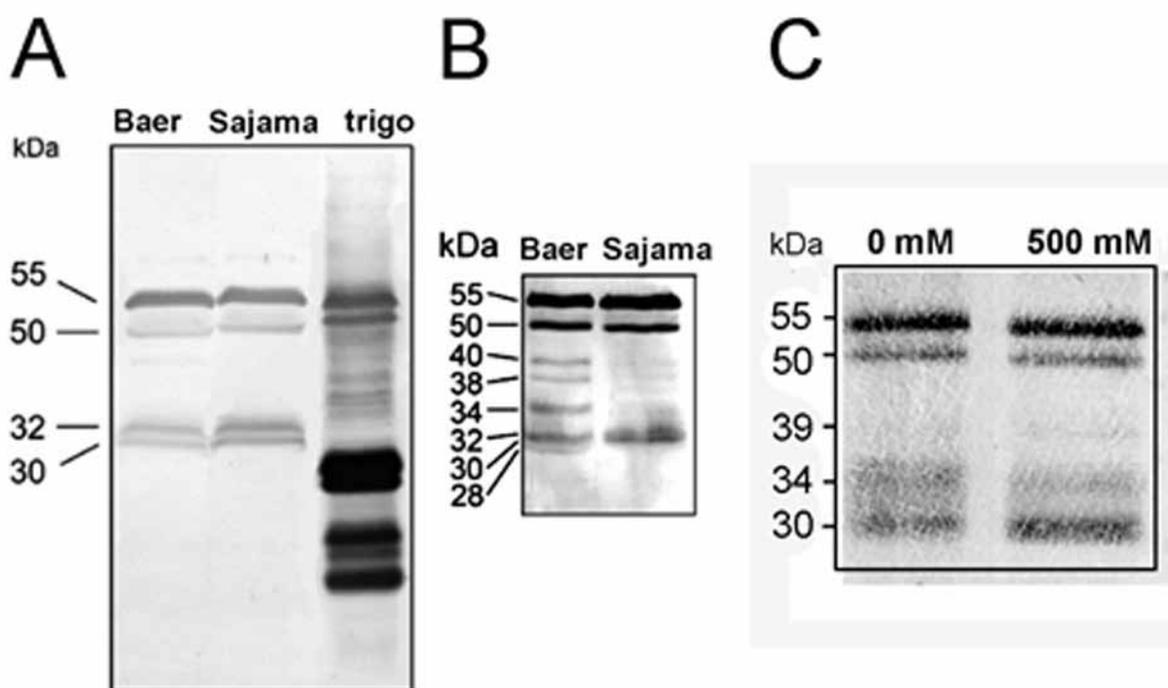


Figura 2. - DHNs en genotipos de *Chenopodium quinoa*. A-B, Análisis western blot de DHNs presentes en semillas maduras de dos cultivares de quínoa (cv. Sajama and cv. Baer La Unión) comparadas con semillas de trigo (cv. Chinese Spring) (de: Carjuzaá *et al.*, 2008). A, Semillas obtenidas de plantas crecidas bajo condiciones controladas en el laboratorio. B, Semillas obtenidas de plantas crecidas en los respectivos ambientes de origen. C, Análisis western blot de DHNs presentes en semillas del cultivar Hualhuas; las semillas fueron obtenidas de plantas crecidas en medios con 0 y 500 mM de NaCl. (de: Burrieza *et al.*, 2012).

midón y el incremento relativo del contenido de proteínas. Las semillas reducen su viabilidad pero esto se compensa, en parte, anticipando la germinación. El *western blot* de muestras del cv. Hualhuas reveló la presencia de las cuatro bandas que previamente se habían identificado en los cultivares Sajama y Baer La Unión, mencionados anteriormente. Cuando se aplicó un tratamiento de fosfatasa alcalina al extracto proteico, las bandas de 34 y 30 kDa se modificaron alcanzando pesos moleculares de 32 y 28 kDa respectivamente, lo que sugiere un putativo mecanismo de modulación proteica basado en la fosforilación. Con respecto a la respuesta del incremento de la concentración salina en el medio de cultivo de las cuatro bandas, la banda de 30 kDa incrementó significativamente su acumulación cuando la concentración de NaCl en el medio superó los 300 mM.

3. Genes inducidos por estrés hídrico causado por salinidad

En quínoa, el gen SOS1 es el único gen completo caracterizado a la fecha en esta especie (28).

En nuestro laboratorio, hemos aislado la secuencia completa de un gen de DHN que codifica una proteína de alrededor de 25 kDa y al que hemos denominado CqDHN-1. Esta secuencia fue obtenida a partir de plántulas estresadas (genotipo PRP) con concentraciones de NaCl de hasta 400 mM. Por alineamiento local de la secuencia de CqDHN-1, se pudo comprobar su alta similitud con DHNs de otras especies. Todo parece indicar que se trata de una DHN inducible frente a estrés hídrico producido por la salinidad.

4. Perspectivas

En la actualidad estamos llevando a cabo estudios específicos con el objeto de confirmar que esta DHN responde a estrés salino, correlacionando la expresión de la misma con un nivel más elevado de tolerancia a este tipo de estrés. En una segunda instan-

cia, se intentará localizar *in situ* (en los niveles tisular y celular) tanto los ARNm como la proteína. Asimismo, estamos generando plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que expresen constitutivamente CqDHN-1, para investigar la contribución de este gen a la tolerancia al estrés salino. Adicionalmente, hemos clonado otros genes expresados bajo las mismas condiciones de estrés salino, a saber: CMO (*choline monoxygenase*), BADH (*betaine-aldehydedehydrogenase*), PC5S (*1-pyrroline-5-carboxylate synthetase*), DOPA (*3,4-dihydroxyphenylalanine dioxygenase*), CAT (*catalase*), SOD (*Cu/Zn superoxide dismutase*) y LEA3 (*Late Embryogenesis Abundant 3*), todos ellos involucrados en vías metabólicas de respuesta a estrés abiótico. En la actualidad estamos analizando los mecanismos subcelulares subyacentes a la tolerancia a condiciones ambientales extremas. El objetivo final de nuestra investigación es evaluar su potencial utilización para aplicaciones agrobiotecnológicas, ya que la transferencia y/o sobre-expresión de este gen, en especies agroeconómicamente relevantes, podría mejorar sustancialmente la tolerancia de las plantas a la sequía, la salinidad del suelo y las bajas temperaturas.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- 1- Abugoch L.E., Romero N., Tapia C.A., Silva, J., and Rivera M. 2008. Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:4745–4750.
- 2- Ahamed N.T., Singhal R.S., Kulkarni P.R., and Pal M. 1996. Physicochemical and functional properties of *Chenopodium quinoa* starch. *Carbohydrate Polymers* 31: 99–103.
- 3- Atwell W.A., Patrick B.M., Johnson L.A., and Glass R.W. 1983. Characterization of quinoa starch. *Cereal Chemistry* 60: 9-11.
- 4- Ayarpadikannan S., Chung E., Cho C.W., So H.A., Kim S.O., Jeon J.M., Kwak M.H., Lee S.W., and Lee J.H. 2011. Exploration for the

- salt stress tolerance genes from a salt-treated halophyte *Suaedaasparagoides*. Plant Cell Reports 31:35-48.
- 5- Babu R.C., Zhang J., Blum A., Ho D.T.H., Wu R., and Nguyen H.T. 2004. HVA1, a LEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) via cell membrane protection. Plant Science 166:855–862.
 - 6- Battaglia M., Olivera-Carrillo Y., Garcarrubio A., Campos F., and Covarrubias A.A. 2008. The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. Plant Physiology 148:6-24.
 - 7- Berjak P. and Pammenter N.W. 2013. Implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. Frontiers Plant Science 4: 478.
 - 8- Bertero H.D., de la Vega A.J., Correa G., Jacobsen S.E., and Mujica A. 2004. Genotype and genotype-by-environment interaction effects for grain yield and grain size of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as revealed by pattern analysis of international multi-environment trials. Field Crop Research 89: 299-318.
 - 9- Bhargava A., Shukla S., and Ohri D. 2006. *Chenopodium quinoa* - An Indian perspective. Industrial Crops and Products 23: 73–87
 - 10- Brini F., Hanin M., Lumbreras V., Amara I., Khoudi H., Hassairi A., Pagès M., and Mas-moudi K. 2007. Over expression of wheat *dehydrin* DHN-5 enhances tolerance to salt and osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Reports 26:2017-2026.
 - 11- Burrieza H.P., Koyro H-W., Martínez Tosar L., Kobayashi K., and Maldonado S. (2011) High salinity induces dehydrin accumulation in *Chenopodium quinoa* cv. Hualhuas embryos. Plant and Soil 354: 69-79.
 - 12- Carjuzaá P., Castellió M., Distéfano A., Del Vas M. and Maldonado S. 2008. Detection and subcellular localization of dehydrin-like proteins in quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) embryos. Protoplasma 233: 149–156.
 - 13- Chauhan G.S., Eskin N.A.M., and Tkachuk R. 1992. Nutrients and antinutrients in quinoa seeds. Cereal Chemistry 69: 85-88.
 - 14- Close T.J. 1996. Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. Physiologia Plantarum 97: 795-803.
 - 15- Dure L. III, Greenway S.C., and Galau G.A. 1981. Developmental biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination: changing messenger ribonucleic acid populations as shown by in vitro and in vivo protein synthesis. Biochemistry 20: 4162-4168.
 - 16- Farrant J.M., Pammenter N.W., Berjak P., Farnsworth E.J., and Vertucci C.W. 1996. Presence of dehydrin-like proteins and levels of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat. Seed Science Research 6: 175–182.
 - 17- Finch-Savage W.E., Pramanik S.K., and Bewley J.D. 1994. The expression of dehydrin proteins in desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of temperate trees. Planta 193: 478–485.
 - 18- Galwey N.W., Leakey C.L.A., Price K.R., and Fenwick G.R. 1990. Chemical composition and nutritional characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Science and Nutrition. 42F: 245–261.
 - 19- Ingram J., and Bartels D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 47:377–403.
 - 20- Inouchi N., Nishi K., Tanaka S., Asai M., Kawase Y., Hata Y., Konishi Y., Shaoxian Y., and Fuwa H. 1999. Characterization of amaranth and quinoa starches. Journal of Applied Glycoscience 46: 233-240.
 - 21- Jacobsen S-E. 2003. The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Reviews International 19:167-177.
 - 22- Kawasaki S., Borchert C., Deyholos M., Wang H., Brazille S., Kawai K., Galbraith D., and Bohnert H.J. 2001. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. Plant Cell 13(4):889–905.
 - 23- Koyro H-W., and Eisa S.S. 2008. Effect of salinity on composition, viability and germination of seeds of *Chenopodium quinoa* Willd. Plant and Soil 302:79–90.
 - 24- Koziol M.J. 1992. Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Journal of Food Composition and Analysis 5: 35-68.
 - 25- Koziol M. 1993. Quinoa: A potential new oil crop. New Crops 328–336.
 - 26- Lindeboom N., Chang P.R., and Tyler R.T.

2004. Analytical, Biochemical and Physicochemical Aspects of Starch Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. *Starch* 56: 89–99.
- 27- López-Fernández M.P., and Maldonado S. 2013. Ricinosomes provide an early indicator of suspensor and endosperm cells destined to die during late seed development in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Annals of Botany* 112: 1253-1262.
- 28- Lorenz K. 1990. Quinoa (*Chenopodium quinoa*) starch: physicochemical properties and functional characteristics. *Starch/Staerke* 42: 81-86.
- 29- Maughan P.J., Turner T.B., Coleman C.E., Elzinga D.B., Jellen E.N., Morales J.A., Udall J.A., Fairbanks D.J., and Bonifacio A. 2009. Characterization of Salt Overly Sensitive 1 (SOS1) gene homoeologs in quinoa (Willd.). *Genome*. 52(7):647-57.
- 30- Ochoa-Alfaro A.E., Rodríguez-Kessler M., Pérez-Morales M.B., Delgado-Sánchez P., Cuevas-Velázquez C.L., Gómez-Anduro G., Jiménez-Bremont J.F. 2012. Functional characterization of an acidic SK(3) dehydrin isolated from an *Opuntia streptacanthac* DNA library. *Planta* 235: 565-78.
- 31- Pammenter N.W., and Berjak P. 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Science Research* 9: 13-37
- 32- Panza V., Distéfano A.J., Carjuzaa P., Láinez V., del Vas M., and Maldonado S. 2007. Detection of dehydrin-like proteins in embryos and endosperm of mature *Euterpe edulis* seeds. *Protoplasma* 231: 1–5.
- 33- Prado F.E., Boero C., Gallardo M., and Gonzalez J.A. 2000. Effect of NaCl on germination, growth, and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* (Willd.) seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41:27–34.
- 34- Praznik W., Mundigler N., Kogler A., Pelzl B., Huber A. 1999. Molecular background of technological properties of selected starches. *Starch* 51:197-211.
- 35- Prego I., Maldonado S., and Otegui M. 1998. Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany (UK)* 82: 481-488
- 36- Repo-Carrasco R., Espinoza C., and Jacobsen S-E. 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International* 19:179-189.
- 37- Rorat T. 2006. Plant dehydrins- Tissue location, structure and function. *Cellular and Molecular Biology Letters*. <http://www.cmbi.org.p>. DOI: 10.2478/s11658-006-0044-0
- 38- Ryan E., Galvin K., O'Connor T.P., Maguire A.R., and O'Brien N.M. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods for Human Nutrition* 62: 85–91.
- 39- Sivamani E., Bahieldin A., Wraith J.M., Al-Niem T., Dyer W.E., Ho T.H.D., and Wu R. 2000. Improved biomass productivity and water use efficiency under water-deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene. *Plant Science* 155:1–9.
- 40- Swinkels J.J.M. 1985. Sources of starch, its chemistry and physics. In: Van-Beynum, G.M.A., Roels, J.A. (Eds.), *Starch Conversion Technology*. Marcel Dekker, New York, pp. 15–46.
- 41- Tabaei-Aghdai S.R., Harrison P., and Pearce R.S. 2000. Expression of dehydration-stress-related genes in the crowns of wheat grasses species [*Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love and *Agropyron desertorum* (Fisch. Ex Link.) Schult. having contrasting acclimation to salt, cold and drought. *Plant Cell and Environment* 23: 561-571.
- 42- Tang H., Watanabe K., and Mitsunaga T. 2002. Characterization of storage starches from quinoa, barley and adzuki seeds. *Carbohydr. Polym.* 49: 13-21.
- 43- Tapia M., Alandia S., Cardozo A., Gandarillas H., Mujica A., Ortiz R., Otazu V., Rea K., Zanabria E. 1979. In: Tapia M (Ed.) *Quinoa y Canihua. Cultivos Andinos. Serie libros y materiales educativos* 49. IICA, Bogotá, Colombia, 227 pp.
- 44- Varriano Marston E., and De Francisco A. 1984. Ultrastructure of quinoa fruit. *Food Microstructure* 3:165-173.
- 45- Vega-Gálvez A., Miranda M., Vergara J., Uribe E., Puente L., and Martínez E.A. 2010. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient An-

- dean grain: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 2541–2547.
- 46- Wolf M.J., MacMasters M.M., and Rist C.E. 1950. Some characteristics of the starches of three South American seeds used for food. *Cereal Chemistry* 27:219.
- 47- Xu D., Duan X., Wang B., Hong B., Ho T.D., and Wu R. 1996. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiology* 110:249–257.
- 48- Yu L.X., and Setter T.L. 2003. Comparative transcriptional profiling of placenta and endosperm in developing maize kernels in response to water deficit. *Plant Physiology* 131:568–582.
- 49- Zhu J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53: 247- 273.