



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

**EVALUACIÓN DE GERMÓPLASMA DE CHENOPODIUM
(*Chenopodium quinoa* Willd y *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*)
A CONDICIONES ADVERSAS Y SU CARACTERIZACIÓN
MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PRESENTA:

JUAN MANUEL GARCÍA ANDRADE

COMITÉ TUTORIAL:

Dr. Eulogio De la Cruz Torres
Dr. Martín Rubí Arriaga
Dr. Antonio Laguna Cerda

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Abril 2025.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

EVALUACIÓN DE GERMOPLASMA DE CHENOPODIUM
(Chenopodium quinoa Willd y Chenopodium berlandieri subsp. nuttalliae)
A CONDICIONES ADVERSAS Y SU CARACTERIZACIÓN
MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PRESENTA:

JUAN MANUEL GARCÍA ANDRADE

COMITÉ TUTORIAL:

Dr. Eulogio De la Cruz Torres

Dr. Martín Rubí Arriaga

Dr. Antonio Laguna Cerda

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, abril 2025.

RESUMEN

EVALUACIÓN DE GERMOPLASMA DE CHENOPODIUM (*Chenopodium quinoa* Willd y *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) A CONDICIONES ADVERSAS Y SU CARACTERIZACIÓN MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES.

Juan Manuel García Andrade¹, Eulogio de la Cruz Torres², Martín Rubí Arriaga³ y Antonio Laguna Cerda³.

¹Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.

²Departamento de Biología. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750.

³Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.

El género *Chenopodium*, tiene una amplia distribución mundial, aloja a especies que constituyen cultivos subutilizados, que, ante los desafíos del cambio climático, poseen gran potencial para convertirse en alimentos del siglo XXI, por su alto valor nutritivo y tolerancia a condiciones adversas. En la actualidad los *Chenopodium* son cultivos subutilizados, pero tienen gran potencial para convertirse en cultivos muy importantes en el futuro inmediato. El objetivo fue caracterizar molecularmente germoplasma de chíá roja, huauzontle (*Chenopodium, berlandieri* subsp *nuttalliae*) y quinua (*Chenopodium quínoa* Willd)

colectado en zonas productoras del Estado de México y silvestres de USA, para determinar la variabilidad genética de 48 genotipos de los Bancos de Germoplasma, del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares y el del Laboratorio de Recursos Genéticos Vegetales de Brigham Young University (BYU). Se utilizaron 14 marcadores microsatélites (SSR), específicos para *Chenopodium* para determinar la variabilidad genética. Los resultados indican que, dentro de la población se produjeron 175 alelos, que van de 8 (KGA16, QCA88) a 16 (QCA37, QAAT74, QCA57) siendo estos últimos los que más alelos por locus se obtuvieron. En el dendrograma se pudo apreciar que a un coeficiente de 0.90 y 0.51 se formaron 4 y 3 grupos principales respectivamente. En los grupos 1 y 2 se unen líneas avanzadas de quinua con chíá roja, mutantes de chíá roja y huauzontle y en los grupos 3 y 4 todo el germoplasma del laboratorio de Recursos Genéticos Vegetales de BYU. Los grupos 1 y 2 mostraron gran variación genética y dentro de estos se formaron subgrupos donde se combinaron líneas avanzadas de quinua con chíá roja y quinuas mutantes con chíá roja y huauzontle. Esto nos da una idea del parentesco que existe entre estos pseudocereales andinos, mexicanos, americanos y silvestres y nos ayudará a continuar en el proceso de mejoramiento de éste género.

ABSTRACT

EVALUATION OF CHENOPODIUM GERMPLASM (*Chenopodium quinoa* Willd and *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) UNDER ADVERSE CONDITIONS AND ITS CHARACTERIZATION USING MOLECULAR MARKERS.

Juan Manuel García Andrade¹, Eulogio de la Cruz Torres², Martín Rubí Arriaga³ y Antonio Laguna Cerda³.

¹Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.

²Departamento de Biología. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750.

³Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.

The genus *Chenopodium*, has a wide global distribution, hosts species that constitute underutilized crops, which, in the face of the challenges of climate change, have great potential to become foods on the 21st century, due to their high nutritional value and tolerance to adverse conditions. Currently *Chenopodium* are underutilized crops, but they have great potential to become very important crops in the immediate future. The objective was to molecularly characterize germplasm of chía roja, huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp *nuttalliae*) and quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) collected in producing areas of de State of Mexico and wild in the USA, to determine the genetic variability of 48 genotypes from de Germplasm Bank of the National Institute for Nuclear Research and the Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young University. 14 microsatellite markers

(SSR) specific for *Chenopodium*, were used to determine genetic variability. The results indicate that, within the population, 175 alleles were produced, ranging from 8(KGA16, QCA88) to 16 (QCA37, QAAT74, QCA57) being these the ones with the most alleles per locus obtained. In the dendrogram it was observed that at a coefficient of 0.90 and 0.51, 4 and 3 main groups were formed respectively. In group 1 and 2, advanced lines of quinoa with chía roja, mutants of chía roja and huauzontle are joined, and in group 3 and 4 all the germplasm of Plant Genetic Resources Laboratory of BYU. Groups 1 and 2 showed great genetic variation and subgroups were formed with advance lines of quinoa with chía roja, and mutant quinoas with chía roja and huauzontle were combined. This gives us an idea of the relationship that exist between these Andean, Mexican, American and wild pseudocereal and will help us continue in the process of improving the cultivated *Chenopodium*.

CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	viii
CONTENIDO.....	x
LISTA DE TABLAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
II. ANTECEDENTES.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
3.1. Los Pseudocereales.....	7
Características generales del cultivo	8
3.1.1. <i>Chenopodium berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i> var. Chía roja	8
3.1.2. Descripción Botánica	8
3.1.3. Clasificación taxonómica.....	9
3.1.4. Origen	10
3.2. <i>Chenopodium berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i> var. Huauzontle.....	10
3.2.1. Descripción Botánica	10
3.2.2. Clasificación taxonómica.....	11
3.2.3. Origen	12
3.3. <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	12
3.3.1. Descripción Botánica	12
3.3.2. Clasificación taxonómica.....	13
3.3.3. Origen	14
3.4.1. <i>Chenopodium berlandieri</i> ssp.....	14
3.4.2. Descripción Botánica	14
3.4.3. Clasificación taxonómica.....	15
3.4.4. Origen	15

3.5. Genética y Citotaxonomía	16
3.5.1. <i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i> (Chía Roja y Huauzontle y Quelite cenizo)	16
3.5.2. <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. Quinoa	16
3.5.3. Caracterización y conservación de la variabilidad genética	17
3.6. Salinidad	18
3.7. Caracterización Molecular	19
3.7.1. Marcadores Moleculares	19
3.7.2. Usos de los marcadores moleculares	20
3.7.3. Marcadores moleculares microsatélites (SSR)	21
3.7.4. Marcadores Moleculares en el estudio de la diversidad genética	23
3.7.5. Ventajas y desventajas	23
3.7.6. Aplicaciones de los microsatélites	25
3.7.7. Reacción en cadena de polimerasa (PCR)	26
3.7.8. Electroforesis	28
3.7.9. Diversidad, variación genética	28
3.7.10. Riqueza Alélica (A)	29
IV. JUSTIFICACIÓN	30
V. HIPÓTESIS	33
VI. OBJETIVOS	34
6.1. General	34
6.2. Específicos	34
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	35
7.1. Ubicación del trabajo de campo	35
7.2. Análisis Molecular	36
7.2.1. Material Biológico	37
7.2.2. Germinación	39
7.2.3. Colecta del material vegetal	39
7.2.4. Molido de muestras	39
7.2.5. Extracción de ADN	39
7.2.6. Iniciadores SSR utilizados	40
7.2.7. Determinación de la calidad y concentración de ADN	40

7.2.8. Amplificación de SSR mediante PCR	41
7.2.9. Electroforesis de productos amplificados	41
7.2.10. Análisis estadístico	42
VIII. RESULTADOS	43
8.1. Caracterización Molecular de 17 genotipos de <i>Chenopodium</i> mediante SSR. ...	45
8.2. Caracterización Molecular de <i>Chenopodium berlandieri</i> (CHENOPODIACEAE) Silvestres y Cultivados del Centro de México	56
IX, DISCUSIÓN GENERAL	81
X. CONCLUSIONES GENERALES	83
XI. RECOMEDACIONES	85
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
XIII. ANEXOS	107

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Material genético y procedencia de <i>Chenopodium</i> utilizados para la evaluación de diversidad genética, mediante repeticiones de secuencias simples (SSR) (Parte 1)	39
Tabla 2. Material genético y procedencia de <i>Chenopodium</i> utilizados para la evaluación de diversidad genética, mediante repeticiones de secuencias simples (SSR) (Parte 2)	40
Tabla 3. Lista de Primers y secuencias utilizados en PCR para SSR	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Taxonomía de Chía roja (<i>Chenopodium berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>) (Saff.) ...	11
Figura 2. Taxonomía de Huauzontle (<i>Chenopodium berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>) (Saff.).	13
Figura 3. Taxonomía de Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) (Willdenov)	15
Figura 4. Taxonomía de <i>Chenopodium</i> (<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp.) (Moq.)	17
Figura 5. Distribución geográfica del cultivo del género <i>Chenopodium</i>	19
Figura 6. Esquema representando una región microsatélite como marcador molecular ...	24
Figura 7. Descripción del proceso de PCR	29

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La producción de alimentos enfrenta una problemática muy compleja, el aumento de la población impone nuevos retos para la producción. El cambio climático y la disposición del agua causa un importante impacto en la agricultura y consecuentemente en la salud humana (Zingaretti *et al.*, 2012). En años recientes, ha crecido el interés en recuperar y valorar cultivos de alto contenido proteínico y valor nutricional, que tienen un prometedor potencial de explotación, un ejemplo de éstos es la chía roja, el huauzontle y la quinua pseudocereales de grano comestible (García, 2005; Bournof-Radosevich y Paupardin, 1985).

Estos pseudocereales, constituyeron la base de la alimentación de antiguas civilizaciones de Meso y Sudamérica, así mientras el imperio incaico domesticó y desarrolló el cultivo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en México el huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) tenía gran relevancia en la vida socioeconómica de las culturas prehispánicas (Hunziker, 1952) y que fueron marginados por el uso religioso, prohibidos y reemplazados por cereales por los españoles a su llegada al nuevo mundo (Tamayo, 2010).

El huauzontle, la chía roja (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* razas locales ‘huauzontle’ y ‘chía roja’ respectivamente) así como la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) poseen un excelente valor nutritivo (12,5 a 16,7 aunque puede contener hasta 23% de proteína, 5% de lípidos y 58 al 76.2 % de carbohidratos) (Medina, 2006; Romo, *et al.*, 2006), y presentan de acuerdo a estudios fisiológicos gran adaptabilidad en virtud de su gran tolerancia a condiciones adversas de estrés ambiental como sequía y salinidad factores que limitan la productividad (Geerts *et al.*, 2006; Morales y Zurita, 2009; Eisa *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2012).

Características tales como resistencia a sequía, heladas y salinidad han sido reportadas en diversos estudios donde mencionan que debido a su variabilidad genética especies del género *Chenopodium* son capaces de tolerar condiciones adversas por lo tanto pueden prosperar en regiones extremadamente frías en las regiones desérticas y salinas, a niveles intermedios de temperatura, humedad y tipo de suelo debido a su rusticidad (Basset y Crompton, 1982; Tanaka y Tanaka, 1980; Uotila, 1972 y Mújica y Jacobsen, 1999). Sin embargo, es preciso documentar mediante datos experimentales el comportamiento a condiciones adversas como sequía y salinidad de diversos genotipos (quinua, chía roja y huauzontle) de interés, obtenidos por mutagénesis radioinducida y metodologías convencionales.

Actualmente la biotecnología provee de herramientas para la caracterización de la diversidad de genotipos dentro de un cultivo. Mediante un conjunto de técnicas bioquímicas y moleculares, proporciona métodos para evaluar y caracterizar germoplasma y líneas mejoradas a través de proteínas, isoenzimas y marcadores moleculares (RFLPs, RAPDs, Minisatélites, AFLPs, etc.) (Ramírez, 2003; Costa *et al.*, 2009).

El presente trabajo de investigación pretende evaluar el comportamiento agronómico de líneas avanzadas de pseudocereales a condiciones adversas de sequía y salinidad y caracterizar a los materiales sobresalientes mediante marcadores moleculares con la finalidad de tipificar sus características morfológicas y de resistencia y seleccionar a los más sobresalientes respecto a adaptabilidad para su utilización en trabajos posteriores de mejoramiento.

II. ANTECEDENTES

Especies del género *Chenopodium* han jugado un papel importante en las culturas de Meso y Sudamérica y aunque han sido subutilizadas, presentan aptitudes para transformarse en cultivos promisorios de nuestras zonas marginadas (Mujica y Jacobsen, 1999) ya que son consideradas de las especies de mayor potencial a nivel Mundial (González, 2009).

En México diversas instituciones han realizado investigaciones sobre quinua destacando entre ellas el Colegio de Postgraduados, que generó varios estudios relativos a la adaptabilidad a salinidad y sequía (Pérez, 1988), respuestas morfológicas y fisiológicas al déficit hídrico que indican que la tolerancia a condiciones de humedad escasa (con solo 200 a 300 mm de lluvia al año) y resistencia tanto al frío (5-10 °C) como a la salinidad (pH = 0.5), ubican a la quinua como un cultivo de gran importancia para condiciones marginales de humedad (Espíndola, 1986). También se han establecido índices de selección mediante 6 variables morfológicas y el rendimiento (Mujica, 1988), El Colegio de Postgraduados (CP) ha obtenido líneas de quinua con mayor adaptabilidad mediante selección (Mujica *et al.*, 1998; Mujica & Jacobsen, 2006), generando también diversidad de formas, tamaños, colores y variabilidad en precocidad, tamaño de grano, formas de inflorescencia, así como en rendimiento.

El Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) ha generado, mediante mutagénesis radioinducida líneas con bajo contenido de saponinas (Hernández, 1992) y continúa la investigación, avanzando en la caracterización de mutantes de quinua e incluyendo actividades de exploración y colecta de germoplasma nativo de México de *Chenopodium* (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* (chía roja y huauzontle) (De la Cruz *et al.*, 2004).

Asimismo, la caracterización agronómica y la determinación de índices de selección ha sido un proceso continuo que ha permitido depurar los materiales y establecer las líneas óptimas para las condiciones del Valle de Toluca (García y De la Cruz, 2004).

En los años (2006-2012), se concluyeron las actividades sobre el diagnóstico de los sistemas de producción (García *et al.*, 2006), los análisis relacionados con el valor nutritivo (De la Cruz *et al.*, 2006a; De la Cruz *et al.*, 2006b), elaborándose un mapa agroecológico de la zona productora de pseudocereales (López *et al.*, 2005) y se continúa con los estudios de caracterización agronómica y molecular de mutantes obtenidos por el ININ, así como caracterización de germoplasma nativo a nivel fenológico de Chía roja y amaranto (Ibáñez, 2011; Ibáñez *et al.*, 2011) y a nivel morfológico (García *et al.*, 2012), tipificando también su resistencia a condiciones adversas (De la Cruz *et al.*, 2006c).

Dado que con la quinua (*C. quinoa Willd*) se continúa con el proceso de introducción en nuestro país y la especie afín *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* vars. chía roja y huauzontle están en proceso de mejoramiento y en virtud de que se han realizado pocos experimentos involucrando diversos genotipos y localidades, en su caracterización agronómica respecto a variables como productividad, adaptabilidad y calidad entre otras, son importantes los trabajos relativos a la evaluación de tolerancia a condiciones adversas.

Entre los factores abióticos adversos que afectan al cultivo de estas especies están la sequía, heladas, salinidad del suelo, granizadas, nevadas, vientos, inundaciones y exceso de calor; siendo las más importantes la sequía, la salinidad y las heladas, a cuyos fenómenos los pseudocereales presentan una gran adaptabilidad debido a su resistencia a condiciones adversas (Mujica *et al.*, 2005; Razzaghi, 2011).

Debido al déficit de humedad las plantas reaccionan de diferente forma para contrarrestar estos efectos, normalmente ocurre la disminución de la producción (Geerts *et al.*, 2006) y si este déficit es demasiado severo y la planta no cuenta con mecanismos de defensa o tolerancia, resistencia o evasión puede ocurrir la muerte paulatina e irreversible (Mujica *et al.*, 2000; Razzaghi, 2011).

En general, se produce sequía o escasez de agua cuando el suministro es restringido por falta de lluvias o deficiencias, o bien porque la capacidad de almacenamiento del suelo no es buena. También puede haber pérdida de agua por demanda evaporativa de aire (Jacobsen y Mujica, 1999).

Molecularmente, las respuestas de las plantas frente a la sequía contemplan mecanismos comunes para la mayoría de ellas, los que consisten en lo siguiente:

Frente a la falta de agua lo primero que sucede en una planta es un rápido cierre estomático, el cual es inducido por el aumento en las hojas de la hormona Ácido Abscísico (ABA). Esta hormona desencadena una respuesta que incluye movimiento de iones en las células estomáticas, que inducen a un pronto cierre por pérdida de la turgencia de las células (Morales y Zurita, 2009).

Hay que destacar que el estrés hídrico se debe no sólo a la falta de agua sino también a las bajas temperaturas o alta salinidad (Pérez, 1988; Razzaghi, 2011).

Según Vázquez (1995), las etapas más susceptibles al déficit hídrico son en la floración y en el llenado de grano que es la etapa de panojamiento, los niveles de deficiencia hídrica resultan favorables para el desarrollo del grano, debido a que se observa una tendencia al incremento de la producción de grano a mayor severidad de la sequía.

En México debido a sus condiciones climáticas se favorece la formación natural de suelos salinos, proceso que se ve acelerado por el mal manejo de los suelos y aguas, afectando una superficie que supera el 30% del área bajo riego (Aceves, 1979; De la Cruz *et al.*, 2007) este fenómeno se ha venido observando en diferentes estados como: Puebla, Sinaloa, Guanajuato, Tamaulipas y Morelos; mientras que para el Estado de México este problema se presenta en los suelos del ex Lago de Texcoco (Coras, 1992) y en la parte sur como en la región de Ixtapan de la Sal (López, 1994).

Las plantas que crecen en ambientes salinos también pueden afectarse por el estrés de sequía, debido a la escasa disponibilidad en el suelo cuando aumenta el potencial osmótico, a la reducción en el crecimiento de la raíz y a la demora de la exploración del suelo a mayor profundidad (Jacobsen *et al.*, 1997).

La utilización de marcadores moleculares requiere del cumplimiento de por lo menos cuatro criterios: variación inter-varietal, mínima variación intra-varietal, estabilidad ambiental y que los experimentos sean reproducibles. El empleo de marcadores de alta eficacia permite la diferenciación e identificación rápida de variedades, aun cuando se trata de variedades estrechamente relacionadas entre sí. Los marcadores permiten además detectar diferencias entre clones pertenecientes a la misma variedad. (Tamayo, 2010).

Las isoenzimas y los marcadores moleculares ofrecen un gran potencial para generar herramientas de selección y más eficientes que los descriptores morfológicos ya que su variación puede ser asociada, en gran medida, con diferencias genéticas (Scandalios, 1974; Ramirez, 2003; Costa *et al.*, 2009). Son de fácil detección y han sido utilizadas eficientemente para brindar resultados confiables y reproducibles para estimar la estabilidad o variación genética.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Los Pseudocereales

Desde hace miles de años, los cereales son una de las principales fuentes de alimentación del ser humano. El trigo, el arroz, el maíz o el centeno son algunos de los alimentos más demandados del mundo. Desde un punto de vista botánico los cereales pertenecen a la familia de las gramíneas y todos tienen algún aspecto fisiológico en común: sus hojas y flores forman inflorescencias que luego se transforman en las espigas que dan como fruto los granos que conocemos como cereales (Nutripediatría, 2019).

Los pseudocereales, por el contrario, no pertenecen a las monocotiledóneas, sino a las dicotiledóneas que poseen hojas muy anchas. Sin embargo, producen granos y semillas en gran cantidad de endospermo amiláceo similares a las de las gramíneas, por eso, desde la antigüedad, constituyeron la base de la alimentación de civilizaciones de Meso y Sudamérica (García y De la Cruz, 2011; Allende, 2014). Este grupo comprende varias familias botánicas, principalmente *Amarantaceae* y *Chenopodiaceae*, destacando especies como la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. Huauzontle) y la Chía roja (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. Chía roja) (De la Cruz, 2012; Allende, 2014).

Características generales del cultivo

3.1.1. *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. Chía roja

3.1.2. Descripción Botánica.

La raza local chía roja se caracteriza morfológicamente por ser una planta anual, dicotiledónea, está dentro de los llamados pseudocereales cuyos granos son considerados uno de los alimentos más completos nutricionalmente, proveyendo una alta calidad alimenticia. Está adaptado a suelos salinos, por lo que suele encontrarse en las regiones de los antiguos lagos salobres de la cuenca de México. Tiene tres diferentes fenotipos como rojo, anaranjado y verde (García *et al.*, 2013; De la Cruz *et al.*, 2013; López y McClung, 2015).

Es de raíz pivotante y vigorosa, a partir de unos pocos centímetros del cuello empieza a ramificarse. De tallo cilíndrico con estrías coloreadas de púrpura o rojo desde la base, de 2.3 cm de diámetro, erecto y ramificado sin axilas pigmentadas llegando a medir hasta 3.80 m de altura. Las hojas son alternas polimórficas en la misma planta de color púrpura en diferentes grados de coloración, las superiores son ovaladas de borde liso, con una longitud máxima de 8.8 cm y ancho de 2.8 cm; las hojas inferiores son rómbicas, ligeramente dentadas, de 4.5 cm de longitud y 2 cm de ancho. Las flores son unisexuales y hermafroditas de aproximadamente 1.5 mm de longitud, perianto quillado con 5 a 8 lóbulos, estambres de 5 a 7, pericarpio adherente, óvalo súpero. La inflorescencia es racimosa considerada una panoja glomerulada compacta, de color rojo oscuro, de 1.20 m de longitud y un diámetro de 36 cm. La semilla es de color rojo y tiene un promedio de 1.6 mm de diámetro. El periodo vegetativo es de 186 días dependiendo del clima y variedad. Respecto a biología floral, la chía roja es una planta gimnomonoica de flores unisexuales y hermafroditas con un cierto

grado de polinización cruzada. *C. berlandieri* subsp. *nutalliae* con $2n= 36$ cromosomas, el número básico para el género es de $n=9$, es una especie tetraploide (García *et al.* 2013; De la Cruz *et al.* 2013; López y McClung, 2015).

3.1.3. Clasificación taxonómica

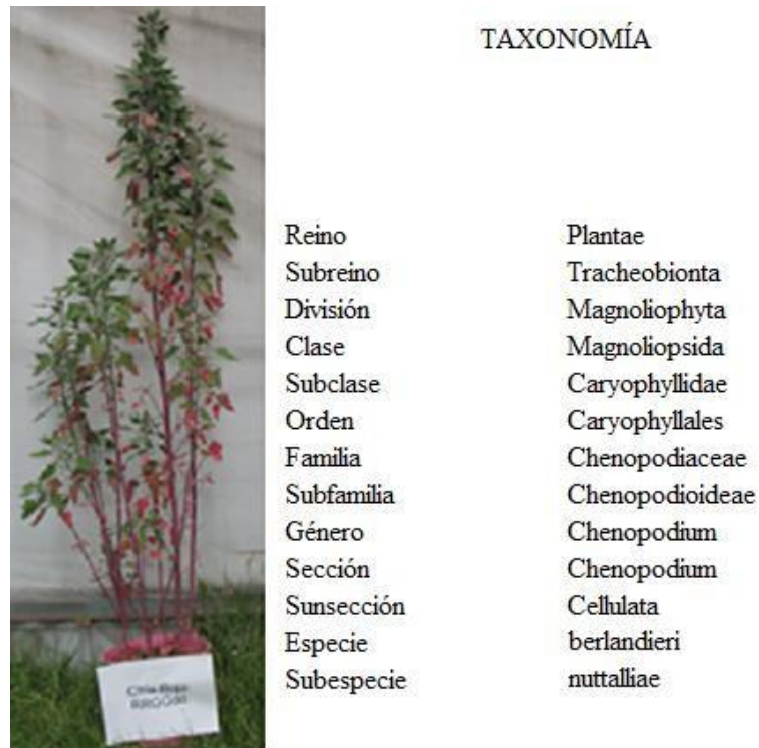


Figura 1. Taxonomía de Chía roja (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nutalliae*) (Saff.) Wilson & Heiser, 1979, De La Cruz, 2002; García, 2002; Trejo, 2003; García, 2005 e Ibáñez, 2011, Flores, 2012, Allende, 2014 y Xingú, 2015.

3.1.4. Origen

La distribución de la raza local chíá roja (*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*) se localiza únicamente en el estado de Michoacán en los municipios de Salvador Escalante y Pátzcuaro. De acuerdo a la investigación de López (2006), su cultivo se encuentra distribuido en los ejidos o comunidades: Ixtaro, Las Charandas, Santa Rosa y La Tzitzamba, Opopeo, Casas Blancas y Santa Maria Huiramangaro. Siendo en la actualidad estos últimos dos los que aun la cultivan, mientras que para las demás localidades ya se han dejado de sembrar (López, M. A., 2006; Allende, C. L., 2014; López y McClung, 2015, Xingú, L. A., 2015 y Merino, 2019).

3.2. *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. *Huauzontle*

3.2.1. Descripción Botánica.

El huauzontle es una planta anual herbácea de 2 m de altura, está dentro de los llamados pseudocereales porque no pertenece a los cereales verdaderos como lo es el maíz, trigo, cebada. es un cultivo de traspatio, con alto valor nutricional para la población de bajos ingresos. Tiene diferentes colores como rojo, anaranjado y verde. Se distribuye ampliamente en Norteamérica y Centroamérica.

De raíz pivotante con ramificaciones. El tallo principal, recto ligeramente estriado y harinoso, cilíndrico y ramificado y termina en inflorescencia, altura que va de 42.2 a 197.3 cm. De hojas alternas de forma variable, ovalada, triangular o romboidal, ligeramente ondulada y dentada, de ápice obtuso. Las flores nacen sobre pequeñas ramas amontonadas y encerradas formando una panícula terminal compacta en racimo. sépalos escasamente espolvoreados o harinosos y verdes, margen blanco, ovalado y aquillado, convexo cuando

madura y aparentemente cubriendo el fruto. La inflorescencia es lanceolada o romboidal, las ramas de la inflorescencia escasamente espolvoreada o casposa. De semilla lenticular o discoideo, cerca de 2 mm en diámetro, con pericarpio encerrado de color amarillo pálido, rosa o anaranjado en algún tiempo castaño oscuro y pequeño (1.4 mm en diámetro) con aro marginal distinto, semilla horizontal. El periodo vegetativo es cercano a 218 días dependiendo del clima. La biología floral del huauzontle es una planta gimnomoica, con los estigmas descubiertos dándose un cierto grado de polinización cruzada. También se señala que para huauzontle $2n=36$, el número básico para el género es de $n=9$, es una especie tetraploide (García *et al.* 2013; De la Cruz *et al.* 2013; López y McClung, 2015).

3.2.2. Clasificación taxonómica



TAXONOMÍA

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Caryophyllidae
Orden	Caryophyllales
Familia	Chenopodiaceae
Subfamilia	Chenopodioideae
Género	Chenopodium
Sección	Chenopodium
Sunsección	Cellulata
Especie	berlandieri
Subespecie	nuttalliae

Figura 2. Taxonomía de Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) (Saff.) Wilson & Heiser, 1979, Ibáñez, 2011, Allende, 2014 y Xingú, 2015.

3.2.3. Origen

Chenopodium berlandieri ssp. *nuttalliae* raza local huauzontle y quelite cenizo, es una planta cuyo origen es norte américa. Se distribuye desde el sur de Canadá hasta Guatemala, en México. Es una planta nativa común en los estados de Baja California Norte, Campeche, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Nuevo León, Oaxaca, Sonora, Estado de México, Michoacán, Tamaulipas, Guerrero, Tlaxcala y Veracruz. Se considera al centro y Norte de México como los lugares de origen de la domesticación. El estado de Puebla es el principal productor de huauzontle (López, M. A., 2006; Allende, C. L., 2014; López, M. L., McClung, H.E.S., 2015 y Xingú, L. A., 2015; Merino, 2019).

3.3. *Chenopodium quinoa* Willd. Quinoa

3.3.1. Descripción Botánica.

Es una planta anual herbácea de hasta 2 metros de altura, de amplia distribución geográfica ya que se puede hallar en zonas áridas y semiáridas. La característica principal es su resistencia a condiciones climáticas adversas. Se le denomina pseudocereal, porque botánicamente no pertenece a los cereales verdaderos como lo es el trigo, la cebada, maíz y arroz, más posee un contenido alto en almidón. Según la variedad presenta gran variación en formas, diversidad de genotipos, puede tener diferentes colores que van desde el amarillo al anaranjado, rojo vivo, rojo oscuro y verde (Tamayo, 2010; Flores, 2012). Por su alto valor nutritivo se convierte en un cultivo esencial para la seguridad y soberanía alimentaria (Allende, 2017).

La raíz es pivotante con muchas ramificaciones y alcanza una profundidad de hasta 60 cm. El tallo es posee un tallo principal con o sin ramas secundarias. Es de forma cilíndrica,

a partir de las primeras ramas y termina en una inflorescencia. Alcanza una altura entre 50 y 250 cm. Las hojas son de forma variable, verdes, rojas o moradas. Son poliformes, es decir poseen diferentes formas de hojas en una misma planta. Las flores son pequeñas y carecen de pétalos; pueden ser hermafroditas o postiladas. La inflorescencia es terminal encima de una gran variedad de tipos de semillas. De semilla pequeña, aproximadamente de 2 mm de diámetro y 1 mm de espesor. El color puede ser amarillo, café, crema, blanco o translucido. Su periodo vegetativo es entre 90 y 220 días, dependiendo de las variedades. La Biología floral de la quinua es una planta gimnomonoica, ya que en la misma inflorescencia se encuentran las cuatro modalidades florales: hermafrodita, pistiladas, estaminadas y androestériles. La polinización cruzada varía de 2.5 a 9.9 %. *Ch. quinoa* con $2n=4x=36$ cromosomas, siendo una especie tetraploide (García, 2005; Flores, 2012; Allende, 2017).

3.3.2. Clasificación taxonómica



TAXONOMIA

Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
División	Tracheophyta
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Angiospermas
Orden	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Género	Chenopodium
Sección	Chenopodia
Subsección	Cellulata
Especie	Chenopodium quinoa Willdenow

Figura 3. Taxonomía de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Willdenov) Wilson & Heiser, 1979, García, 2005 y Via y Rada, 2015; Mayta, 2021).

3.3.3. Origen

Respecto al origen de la quínoa existen hipótesis que sostienen que se desarrolló en el cordón montañoso de los Andes hace más de 7000 años. Sin embargo, la evidencia más reciente apunta a que se habría originado en los alrededores del Lago Titicaca en lo que hoy corresponde al altiplano de Perú y Bolivia. Otro antecedente que destaca respecto al origen de la planta, es que podría ser un híbrido resultante de dos ancestros diploides del género *Chenopodium* de los que aún no se tiene certeza a qué especies corresponden (Arenas, 2018; Orgaz, 2020; Mayta, 2021).

3.4.1. *Chenopodium berlandieri*

3.4.2. Descripción Botánica.

Chenopodium berlandieri es hierba erecta anual, a veces perennizada, de 40 cm a 2 m de alto. Tallos simples o ramificados, con rayas longitudinales, de color verde claro o amarillento, a veces rojizo con ramas extendidas o ascendentes. Hojas alternas, oblongo romboidales, margen entero o irregularmente dentado, de 1 a 13.5 cm por 0.5 a 8.5 cm de ancho, de color verde amarillento y más o menos de textura harinosa sobre todo en el envés; peciolo delgado, de 0.6 a 13.5 cm de largo. Inflorescencia paniculiforme de glomérulos compactos o laxos. Flores hermafroditas o a veces unisexuales, agrupadas en glomérulos compactos, dispuestos en espigas paniculadas, con frecuencia provistas de algunas hojas reducidas; perianto con textura harinosa, con los lóbulos más o menos carinados y el borde membranoso y seco. Fruto encerrado total o parcialmente por el perianto; pericarpio

membranáceo, más o menos adherente a la semilla, regularmente reticulado-alveolado (semejando un panal de abejas); semilla horizontal, de 1 a 1.5 mm de diámetro, con el margen obtuso, brillante, negra o anaranjada a roja, diminuta y alveolada o verrugosa.

3.4.3. Clasificación taxonómica.



TAXONOMÍA

Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Carvophyllales
Familia	Chenopodiaceae
Género	Chenopodium
Sección	Chenopodium
Subfamilia	Chenopodioideae
Especie	berlandieri
Nombre científico	Chenopodium berlandieri

Figura 4. Taxonomía de *Chenopodium* (*Chenopodium berlandieri* ssp. Moq.)

(IBUNAM. 2019; Jiménez., O. P. A., 2022; Torres, 2025.).

3.4.4. Origen.

La especie está muy extendida en América del Norte, donde su área de distribución se extiende desde Canadá hasta Guatemala, se encuentra en todos los estados de

EE. UU . excepto Hawái. La distribución en México, de Baja California Norte, Campeche, Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Nuevo León, Oaxaca, Sonora, Veracruz. (IBUNAM. 2019; Jiménez., O. P. A., 2022; Torres, 2025.).

3.5. Genética y Citotaxonomía.

Dentro del género *Chenopodium* existen cuatro especies cultivadas como plantas alimenticias: como verdura una de ellas es *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* (huauzontle) en México y como productoras de grano es *Chenopodium quinoa* Willd. en Sudamérica. El número cromosómico básico del género *Chenopodium* es $x=9$, siendo plantas alotetraploides con 36 cromosomas somáticos. (Ormeño, 2015; Mayta, 2021).

3.5.1 *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. Chía Roja y Huauzontle y *Chenopodium berlandieri* var. Quelite Cenizo.

La especie *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* tiene un número cromosómico $2n= 36$ y de acuerdo a estudios citogenéticos realizados por De la Cruz y Palomino (2010) donde se determinó que el su cariotipo está formado por cuatro grupos de nueve cromosomas metacéntricos, incluyendo dos pares de cromosomas con satélite, siendo homogéneos en el tamaño (1- 3.3 μm). (Allende, 2014).

3.5.2 *Chenopodium quinoa* Willd (Quinua)

A nivel taxonómico, la quinua es una planta de la familia *Chenopodiaceae*, género *Chenopodium*, sección *Chenopodia* y subsección *Cellulata*. El número cromosómico básico del género es nueve, siendo una planta alotetraploide con 36 cromosomas somáticos $2n=36$, está constituido por 4 genomios, con un número básico de 9 cromosomas ($4n = 4 \times 9 = 36$). Su genoma haploide consta de aproximadamente 967 millones de pares de bases siendo

relativamente pequeño en comparación con otras especies vegetales (Ormeño, 2015; Mayta, 2021).

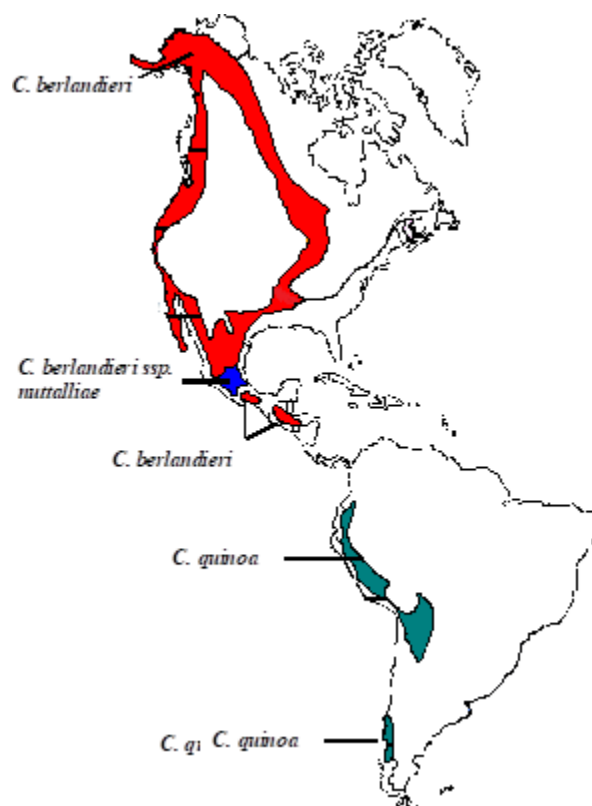


Figura 5. Distribución geográfica de la subsección *Cellulata* y **Leiosperma* del género *Chenopodium* en América (Xingú, 2010; Merino, 2019)

3.5.3. Caracterización y conservación de la variabilidad genética

La conservación y caracterización de los recursos fitogenéticos, definido por la FAO como cualquier material genético de origen vegetal con valor real o potencial para la alimentación y la agricultura, tiene una importancia central ya que son fuente de caracteres necesarios para llevar adelante cualquier proceso de fitomejoramiento. Una evaluación precisa de la magnitud y el patrón de organización de la diversidad genética de los individuos, grupo de individuos o poblaciones conservadas es fundamental para entender la estructura

genética e identificar de manera confiable cada genotipo, facilitando: (i) el conocimiento de la variabilidad de los cultivares, (ii) la identificación de genotipos parentales que resulten en progenies con el máximo nivel de variabilidad para continuar con la selección y (iii) la introgresión de genes deseables en un genotipo o en un fondo genético de interés (Costa, 2014).

La caracterización y evaluación de germoplasma puede realizarse utilizando diferentes metodologías. La evaluación de caracteres morfológicos o caracteres agronómicos de tipo cuantitativo y/o cualitativo visualizada a través del fenotipo es una de las técnicas más utilizadas. En este proceso se debe tener en cuenta la influencia del ambiente en la expresión fenotípica, por lo que muchos caracteres se expresan recién en el estadio de planta adulta prolongando los tiempos de evaluación; además, no toda la variación genética está expresada en el fenotipo en el momento en que se mide el carácter de interés. Estos caracteres pueden ser limitados en número y en algunos casos presentar bajos niveles de polimorfismo. Es por ello que la caracterización molecular es un complemento a la caracterización tradicional del fenotipo, de mayor sensibilidad para detectar cambios en el genotipo (Costa, 2014).

3.6. Salinidad

Las sales tienen la capacidad de acumularse en el suelo de diferentes cultivos, como consecuencia del agua y los fertilizantes utilizados. La salinidad se refiere a la presencia de los principales solutos inorgánicos disueltos (Na, Cl, etc.) y la salinidad del suelo se mide por la conductancia eléctrica (CE) de un extracto de suelo saturado. Los suelos se consideran salinos cuando la CE es mayor a 4 dS m^{-1} (Martín, 2022).

Químicamente el concepto relacionado con la salinidad incluye el efecto de todas las sales solubles, tanto las necesarias para la alimentación de las plantas, como las que son perjudiciales. Un suelo es considerado salino cuando tiene un exceso de sales solubles, entendiéndose como sales los diferentes componentes químicos que forman parte de los nutrientes y de los requerimientos de las plantas, bien sea porque se encuentran en la solución o precipitadas en el suelo (Golldack *et al.*, 2014; Huaranga *et al.*, 2020; Martín, 2022).

3.7. Caracterización Molecular

Se refiere a la identificación de genotipos utilizando técnicas para detectar polimorfismos tanto en proteínas como en ADN. Estas técnicas permiten identificar marcadores moleculares, con los cuales se reconocen directamente las diferencias genéticas entre individuos. (Mayta, 2021)

3.7.1. Marcadores Moleculares

El mejoramiento clásico de plantas ha logrado grandes avances en la obtención de variedades mejoradas para garantizar la producción de alimentos para el hombre y las materias primas para la industria. Sin embargo, en los últimos años, los requerimientos de los productores y consumidores se han vuelto cada vez más demandantes, lo que implica la adopción de nuevas técnicas para el mejoramiento con apoyo de la tecnología desarrollada en el campo de la biología y la genética (Mayta, 2021). A partir de este panorama, se puede conocer mejor el sentido de los marcadores moleculares que en la actualidad se han convertido en una herramienta complementaria a los marcadores morfológicos, mostrando aspectos de variabilidad genética como de clasificación en poblaciones vegetales (Mayta, 2021; Sánchez, 2022).

Se define como marcador molecular a cualquier fenotipo molecular proveniente de la expresión de un gen o de un segmento específico de ADN correspondiente a regiones codificantes o no codificantes del genoma, cuya secuencia puede ser conocida o no, que presenta diferencias entre individuos y un patrón de heredabilidad (Ferreira y Grattapaglia, 1998). A diferencia de los marcadores morfológicos, los moleculares pueden ser utilizados para la detección y caracterización de genotipos a partir de células o tejidos en cualquier estadio fisiológico, facilitándose así la aplicación de métodos tempranos de selección y recombinación de los individuos de interés para el mejoramiento genético (Funes, 2017).

Los principales marcadores moleculares son los siguientes: RFLP (Restriction Fragments length polymorphism), RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment length polymorphism), SCAR (Sequence Characterised Amplified Region), SST (Sequence Tagged Sites), microsatélites: STMS (Sequence Tagged Microsatellite Sites) y SSR (Short sequence Repeats) (Tenorio, 2018).

Dentro de los marcadores de DNA más utilizados para análisis de diversidad genética se encuentran los microsatélites o SSR (del inglés “Simple Sequence Repeat”), que corresponden a pequeñas secuencias de DNA generalmente no codificante compuestos por motivos de 1 a 6 nucleótidos repetidos en tándem que se encuentran flanqueadas por regiones conservadas en el genoma. Los SSR fueron clasificados por Weber (1990) de acuerdo al tipo de repeticiones que presentan. (Funes, 2017; Arenas, 2018 y Tenorio, 2018).

3.7.2. Usos de los marcadores moleculares

La actual perspectiva global del mundo, en la necesidad de incrementar la producción de alimentos, es imprescindible tener herramientas destinadas a optimizar los diferentes

recursos agronómicos. El papel de los marcadores moleculares como RFLP, RAPD y AFLP, ha sido observar, identificar, conocer y manipular los genes que determinan ciertas características como la de maximizar el rendimiento de los cultivos agrícolas (Azhar *et al.*, 2018)

3.7.3. Marcadores moleculares microsatélites (SSR)

Uno de los marcadores moleculares más robustos y polimórficos son los SSR o microsatélites; son regiones del genoma constituidas por repeticiones en tándem de 1 a 6 pares de bases (pb) de un motivo de ADN, flanqueadas por secuencias de copia única. Su polimorfismo se basa en el número de repeticiones presentes que se traducen en diferencia de tamaño (pb) entre los fragmentos (alelos) amplificados (Figura 6). Los SSR se distribuyen a través del todo el genoma de un organismo tanto en regiones codificantes como no codificantes. Se amplifican mediante la técnica de PCR utilizando *primers* o cebadores específicos de 18 a 25 pb que resultan complementarios a las regiones flanqueantes del *loci* microsatélite. Se clasifican de acuerdo a la composición del motivo como Simples [Ej. (TA)_n, (CGA)_n, etc.] ó Compuestos [Ej. (TA)_n(AGT)_n]; Perfectos (sin interrupciones en el motivo) ó Imperfectos [con alguna interrupción, por ejemplo: (TA)_nC(TA)_n, (CGA)_nT(CGA)_n, etc.] (Oliveira *et al.*, 2006; Costa, 2014; Xingú, 2019).

Los SSR se caracterizan por ser altamente polimórficos, codominantes (permite conocer si el locus es homocigoto o heterocigoto) y permiten analizar un único locus del conjunto de homeoloci de una especie poliploide; son muy abundantes y se encuentran uniformemente distribuidos en el genoma, brindando una amplia cobertura (Oliveira *et al.*, 2006; Costa, 2014).

Los SSR genómicos se desarrollan a partir de la construcción de genotecas, utilizando el aislamiento y secuenciación de clones de ADN conteniendo posibles SSR, y se diseñan *primers* o cebadores flanqueantes a éstas regiones. Requieren baja cantidad de ADN como molde y, al amplificarse la secuencia de un locus conocido utilizando *primers* específicos, es posible trabajar con temperaturas elevadas generando resultados reproducibles. La inversión inicial de recursos económicos para su desarrollo y la experiencia técnica requerida para el clonado y secuenciación de los *loci* SSR de la especie en estudio puede representar un limitante (Costa, 2014). Sin embargo, una vez desarrollada la herramienta es posible su automatización y reproducibilidad entre distintos laboratorios.

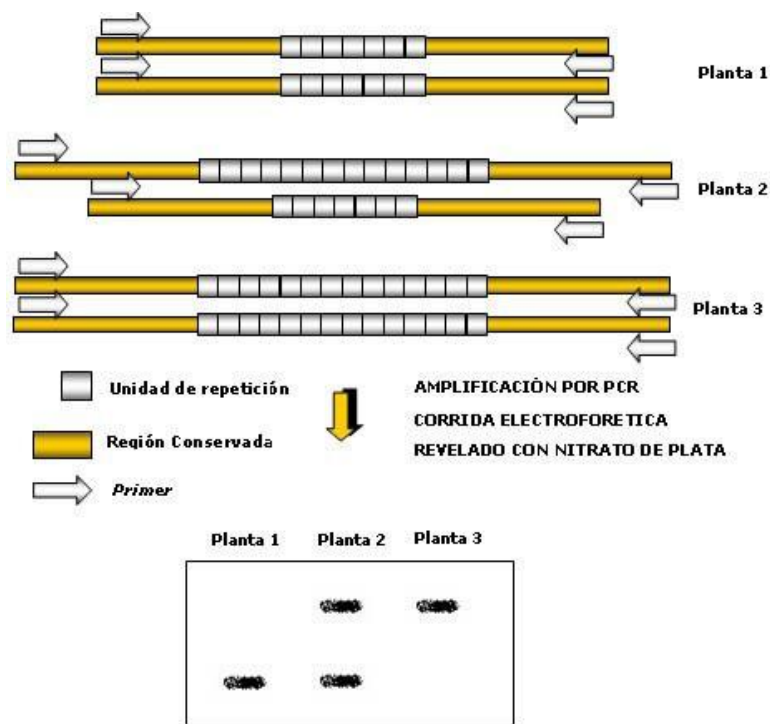


Figura. 6: Esquema representando una región microsatélite como marcador molecular (Costa, 2014)

3.7.4. Marcadores Moleculares en el estudio de la diversidad genética

Se define marcador molecular a todo polimorfismo detectable en un grupo de individuos que se hereda de manera mendeliana. Los marcadores moleculares a nivel de DNA poseen ciertas ventajas por sobre otros tipos como los morfológicos o los bioquímicos. Los marcadores basados en DNA poseen una gran cobertura a nivel de genoma, se pueden analizar en estadios tempranos de desarrollo con muestras de tamaño mínimo y su disponibilidad es prácticamente ilimitada (Arenas, 2018). Dentro de los marcadores de DNA más utilizados para análisis de diversidad genética se encuentran los microsatélites o SSR (del inglés “Simple Sequence Repeat”), que corresponden a pequeñas secuencias de DNA generalmente no codificante compuestas por motivos de 1 a 6 nucleótidos repetidos en tándem que se encuentran flanqueadas por regiones conservadas en el genoma. Los SSR fueron clasificados por Weber (1990) de acuerdo al tipo de repeticiones que presentan. Posteriormente, Smith y Devey (1994) observaron en muestras de *Pinus radiata* la presencia de estas repeticiones y además vieron regiones que tenían más de un tipo de repetición como ‘perfectas-compuestas’.

3.7.5. Ventajas y desventajas

Los microsatélites han tomado ventaja sobre otros marcadores genéticos como los AFLPs, RAPDs, RFLPs, debido a que: i) tienen el más alto grado de polimorfismo, pudiendo revelar entre 2 a 25 alelos; ii) se segregan de manera mendeliana y son codominantes, lo que permite discriminar fácilmente los estados homocigotes de los heterocigotes, lo que permite identificar heterocigotes en la F1 facilitando los análisis de flujo génico, hibridación y paternidad. Además, incrementan la agudeza y eficiencia de las medidas genético poblacionales en comparación de los AFLP y RAPD que son marcadores dominantes; iii) la

presencia de un solo locus genético por microsatélite hace que la lectura de las bandas sea clara y fácil de interpretar y iv) son selectivamente neutros (Ormeño, Z. J., 2017; Tenorio, 2018).

Las principales ventajas de este tipo de marcadores son la gran cantidad existente y su herencia co-dominante, que proporciona, en contraste con los marcadores dominantes, la información genética completa; por eso probablemente son los marcadores moleculares más utilizados (Adal *et al.* 2015).

Una ventaja muy atractiva para análisis de diversidad es que los microsatélites son específicos para ciertos grupos de especies y/o especies medianamente relacionadas, lo que permite hacer estudios comparativos entre especies o géneros de un mismo grupo. Por otra parte, se han realizado estimaciones de las tasas de mutación de estas regiones y se ha llegado a la conclusión de que los microsatélite del ADN nuclear tienen tasas de mutación de 1×10^{-3} a 1×10^{-6} , más altas que las que se presentan en el ADN de cloroplasto. Es importante para realizar análisis robustos de la genealogía de las poblaciones que nos hablen acerca de la historia evolutiva de las especies, ventaja muy importante sobre otros marcadores genéticos (Ormeño, Z. J., 2017).

Otra ventaja que presenta el uso de microsatélites con relación al uso de secuencias, es que la mutación es homogénea, lo que posibilita identificar no solo las tasas de mutación sino también, el tipo de mutación. En la mayoría de los SSR las mutaciones son de un paso (una unidad repetitiva) siguiendo el modelo mutacional. Sin embargo, hay autores que mencionan que las mutaciones de repeticiones formadas por dinucleótidos o trinucleótidos son de dos pasos o incluso de múltiples pasos, lo que ha sido confirmado por estudios en

trinucleótidos. Sin embargo, este comportamiento asimétrico del tamaño de las mutaciones de SSR ha sido raramente reportado (Ormeño, 2017).

La principal desventaja radica en el elevado costo dado que se requieren equipos de laboratorio complejos y reactivos costosos.

Una de las limitaciones para la utilización de los SSR es la necesidad de conocer las regiones que flanquean a las repeticiones para poder desarrollar los iniciadores específicos (Funes, F. N., 2017).

Otra de las desventajas de la variación de los SSRs en el ADN nuclear es que debe analizarse con precaución, ya que estas variaciones pueden haberse generado por duplicaciones o por la presencia de familias multigénicas, que generan un alto grado de homogeneidad dentro y entre especies, proceso conocido como evolución concertada. Estos fenómenos pueden distorsionar la historia evolutiva de los organismos en estudio y confundir las relaciones filogenéticas. Es decir, se pueden presentar aparentes reticulaciones o escenarios de hibridización introgresiva (Ormeño, 2017).

3.7.6. Aplicaciones de los microsatélites

Los SSR son regiones genómicas hipervariables que consisten en repeticiones en tándem de 1 a 6 nucleótidos flanqueadas por secuencias de copia única, donde el origen del polimorfismo se basa en el diferente número de repeticiones de la secuencia motivo. Debido a que son especie-específicos, deben ser desarrollados para cada especie en estudio. Estos marcadores han sido ampliamente utilizados en estudios genéticos en plantas debido a que se ha demostrado su alta versatilidad y utilidad para la caracterización de germoplasma (Funes, 2017).

Para amplificar un SSR determinado se utilizan 2 oligonucleótidos que funcionan como “iniciadores”, los cuales son moléculas de ADN de cadena individual y longitud corta entre 10 y 30 nucleótidos. Estos iniciadores flanquean las repeticiones de un microsatélite específico, donde se hibridan complementariamente a las partes terminales. Posteriormente se efectúa la amplificación (extensión) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). El resultado es la síntesis de nuevas cadenas de ADN complementarias a las cadenas iniciales. El microsatélite amplificado por PCR es analizado por electroforesis en geles de alta resolución que permiten detectar diferencias de entre 2 y 3 nucleótidos que corresponden al mínimo polimorfismo de longitud en un microsatélite (Funes, 2017).

3.7.7. Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de laboratorio que permite la producción (amplificación) rápida de millones a miles de millones de un segmento específico de ADN, que así se podrá estudiar en mayor detalle. La PCR implica el uso de fragmentos cortos de ADN sintético, denominados cebadores, para seleccionar un segmento del genoma que se amplificará, y luego múltiples sesiones de síntesis de ADN para amplificar ese segmento.

PCR, o la reacción en cadena de la polimerasa, es una reacción química que los biólogos moleculares utilizan para amplificar (crear copias) fragmentos de ADN. Esta reacción permite que unos pocos fragmentos de ADN se repliquen en millones o miles de millones de copias. La amplificación del ADN nos permite estudiar la molécula del ADN en detalle en el laboratorio (NIH,2022).

Para realizar ésta técnica es necesario un molde de ADN, moléculas iniciadoras llamadas “primers o cebadores”, una enzima ADN polimerasa termoestable, una mezcla de desoxirribonucleótidos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP, y dTTP), un amortiguador 10X y un Termociclador

Proceso que consiste en tres pasos esenciales:

1) Desnaturalización: durante la cual las cadenas de ADN se separan quedando en cadenas sencillas, proceso que se realiza a 94°C.

2) Alineamiento: es el reconocimiento de las moléculas iniciadoras a la secuencia blanco, en esta reacción la temperatura puede variar de 25°C a 65°C.

3) Alargamiento: es la extensión de la molécula iniciadora mediante la enzima ADN polimerasa a una temperatura de 72°C, proceso en el que se estabiliza la molécula del ADN con los oligonucleótidos unidos a través de la formación de los puentes de hidrógeno (estos tres pasos a los que comúnmente se les llama ciclos de reacción se repetirán de 30 a 35 veces, obteniendo los fragmentos discretos de manera exponencial) (Figura 8) (NIH,2022).

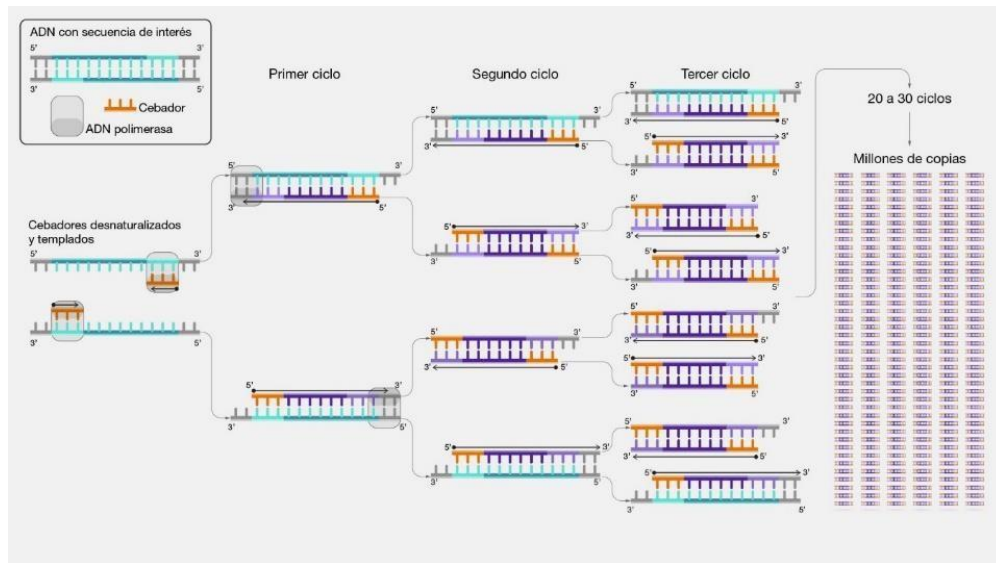


Figura 7. Descripción del proceso de PCR

3.7.8. Electroforesis.

La concentración e integridad del ADN extraído, así como el tamaño de distintos fragmentos de ADN (por ejemplo, productos de PCR) pueden ser verificadas mediante electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida. La electroforesis consiste en la separación de moléculas (proteínas, isoenzimas, ácidos nucleicos) a través de una matriz tamponada (agarosa, acrilamida, almidón). La matriz funciona como un filtro, separando las moléculas en un campo eléctrico, de acuerdo al tamaño y la carga neta que poseen. En el caso de los ácidos nucleicos, el grupo fosfato es el responsable por la fuerte carga negativa en condiciones de pH neutro, haciendo que los fragmentos migren hacia el polo positivo (ánodo) durante la electroforesis (Tenorio, 2018).

3.7.9. Diversidad y variación genética.

Es la suma de todos los individuos con sus respectivas variantes individuales en una especie. Permite a la especie adaptarse a los cambios presentados en su entorno. Posee

fuentes de variabilidad evolutiva y geográfica. La primera es producida por procesos evolutivos de especiación durante etapas de aislamiento reproductivo y por la dinámica que la especie posee en condiciones naturales. Sin embargo, se debe considerar que los patrones de diversidad genética en las plantas cultivadas resultan de la interacción de adicionales factores, como la mutación, migración, recombinación, la selección (natural y artificial) y deriva génica (Donaire, 2018).

3.7.10. Riqueza Alélica (A)

Estimador de la diversidad genética medido por el número total de alelos distintos que pueden pertenecer a diferentes locus de una muestra poblacional. Este estimador está influenciado por la cantidad de individuos en la muestra (Donaire, 2018).

IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el mundo afronta problemas graves como la desnutrición que afecta a sectores marginados de escasos recursos y el deterioro de los recursos naturales como el suelo, el agua y la biodiversidad en los que se basa la producción de alimentos (García, 2005).

La producción de alimentos es uno de los grandes problemas para los países en vías de desarrollo, la escasez de alimentos se hace más grave debido al aumento de la tasa de población, que generalmente alcanza índices muy altos imponiendo nuevos retos para la producción. Los recursos genéticos encierran la clave para aumentar la seguridad alimentaria o incrementar el rendimiento en zonas geográficas marginales o pobres y, en definitiva, mejorar la condición humana abriendo oportunidades económicas (Marín, 2008; González, 2009). En años recientes, ha crecido el interés en recuperar y valorar cultivos de alto contenido proteínico y valor nutricional, que tienen un prometedor potencial de explotación (García, 2005), un ejemplo de éstos es la chía roja (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* raza local chía roja) que se ha cultivado desde tiempos prehispánicos en los pueblos aledaños a la ribera de Pátzcuaro, México (Mapes, 1987), el huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* cv. 'huauzontle'), especie a la que se le conocía como huautli y tuvo gran importancia en el contexto socioeconómico y religioso en Mesoamérica y junto con el amaranto consistía el cuarto cultivo en importancia después del maíz, el frijol y la chía ('*Salvia hispánica*') como tributo que se pagaba al imperio Azteca, (Hunziker, 1943) y la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) planta de grano comestible de origen andino; en ella los Incas basaban su alimentación (Bournof-Radosevich y Paupardin, 1985).

La relevancia de *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* cv. chía roja, radica en que su consumo se efectúa sin tratamiento previo, dado que esta raza local carece de

saponinas a diferencia del huauzontle y de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), cuya abundancia de saponinas en la semilla limita su consumo.

En la actualidad el huauzontle ha sido revalorizado como cultivo de gran potencial, por su valor nutritivo y amplia rusticidad que le permite tolerar condiciones adversas (Mora *et al.*, 2006).

Chenopodium quinoa además de poseer alto valor proteínico es un cultivo muy eficiente que puede prosperar en condiciones agroclimáticas adversas como la sequía, altas y bajas temperaturas ya que en trabajos preliminares de resistencia a heladas la quinua tolera temperaturas de 2 °C y algunos cultivares tolerantes pueden sobrevivir dos horas expuestos a – 8 °C (Jacobsen y Mujica, 2000) y adaptable a diferentes latitudes y altitudes, esto puede atribuirse básicamente a su rusticidad y a caracteres morfológicos, como una raíz ramificada y características de la hoja que reducen la transpiración (Gómez *et al.*, 2009; Jacobsen y Mujica, 2000; Canahua, 1997; Espíndola, 1986) pero la presencia de saponinas, productos que confieren un sabor amargo, propicia la formación de espuma y que en concentraciones altas son tóxicos ya que inducen hemólisis, han sido un inconveniente en la expansión del cultivo (Peñañiel, 1988; Jonson y Ward, 1993).

En estudios recientes han demostrado que el valor nutritivo de estos pseudocereales (12.5% de proteína y 5% de grasas) es, de acuerdo a los estándares de la FAO, muy similar o superior al de la leche (3.2 % de proteínas, 3.6 % de grasa) (Medina, 2006; Romo *et al.*, 2006; De la Cruz, 2006a).

La agricultura está expuesta a diversos factores climáticos adversos como la sequía, las heladas, el viento, el granizo, el alto contenido de sal y la erosión del suelo, estos mismos

complican el desarrollo de los cultivos. Algunas especies de pseudocereales presentan una gran adaptabilidad a dichos fenómenos pues se ha documentado ampliamente su resistencia a condiciones adversas. Por lo tanto, estas plantas significan una alternativa importante para aprovechar más eficientemente suelos marginales con problemas de abastecimiento de agua o exceso de sales y para proveer a la población de un alimento con un valor nutritivo comparable al de la leche (Jacobsen y Mujíca, 1999; Morales *et al.*, 2011).

Considerando que más de dos terceras partes del territorio mexicano se encuentran en condiciones marginales de salinidad y sequía resulta de gran relevancia evaluar el comportamiento y caracterizar morfológicamente mediante marcadores moleculares diversos genotipos que pueden considerarse como una gran alternativa para este tipo de regiones.

V. HIPÓTESIS

Mediante la evaluación de diferentes cultivares del género *Chenopodium* respecto a tolerancia a factores adversos como sequía y salinidad y su caracterización morfológica es posible seleccionar materiales tolerantes a suelos marginales y proceder a su tipificación mediante marcadores moleculares.

VI. OBJETIVOS

6.1. General

Caracterizar molecularmente genotipos del género *Chenopodium* considerados tolerantes a condiciones de salinidad y sequía y detectar su diversidad y afinidad genética.

6.2. Específicos

1. Estandarizar el proceso de extracción de ADN y amplificación mediante SSR de genotipos de quinua (*Chenopodium quinua* Willd.) a *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* raza local chía roja y var. Huauzontle.
2. Determinar el grado de diversidad genética entre las especies *quinoa* y *berlandieri* dentro del género *Chenopodium*
3. Establecer la afinidad inter e interespecífica de los genotipos estudiados con fines de mejoramiento.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

Uno de los aspectos estructurales de todo estudio es el plano metodológico, el cual se articula como la base funcional del trabajo exploratorio. De ese modo, esta investigación, cuyo tópico central fue la determinación y el análisis de las particularidades agronómicas, morfológicas y genéticas de la chíá roja, huauzontle y la quinua, se desarrolló a partir de la exploración e indagación de sus cultivos, mediante el soporte del método evaluativo, estadístico y molecular.

7.1. Ubicación del trabajo de campo

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el invernadero y laboratorio de biotecnología molecular, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Ubicado en Carretera México-Toluca S/N, La marquesa, Ocoyoacac, Estado de México, como también en el Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young University, Provo, Utah, USA

Las coordenadas del lugar son: Entre los paralelos 19° 12' y 19° 19' de latitud norte; los meridianos 99° 18' y 99° 30' de longitud oeste; altitud entre 2 500 y 3 900 m. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad (45.46%), semifrío subhúmedo con lluvias en verano, de mayor humedad (41.34%) y semifrío húmedo con abundantes lluvias en verano (13.2%). Con rangos de temperatura entre los 6 y 14°C; la temperatura promedio es de 18 °C. El rango de precipitación oscila entre los 800 y los 2,000 mm. (Santibáñez; 2012INEGI, 2020).

7.2. Análisis Molecular

Todas las plantas se cultivaron en el invernadero del Plant Genetic Resources Laboratory de Brigham Young University en Provo (Utah, USA) en macetas de 15 cm, utilizando peat moss como sustrato y se mantuvieron a 25°C bajo lámparas halógenas de amplio espectro con un fotoperiodo de 12 h.

7.2.1. Material Biológico

Tabla 2. Material genético y procedencia de *Chenopodium* utilizados para la evaluación de diversidad genética, mediante repeticiones de secuencias simples (SSR) (Parte 1).

No.	Genotipo	Especie	Var.	Localidad	Cuidad	Estado	País
1	H-3	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	huauzontle	Atacomulco	Toluca	Edo. Méx.	México
2	H-16	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	huauzontle	San Andrés Cuexcontitlán	Toluca	Edo. Méx.	México
3	H-18	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	huauzontle	Valle de Toluca	Toluca	Edo. Méx.	México
4	J.Silva	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	Chía roja	Opopeo	S. Escalante	Mich. Méx.	México
5	D.Oros	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	Chía roja	Opopeo	S. Escalante	Mich. Méx.	México
6	R.Rguez	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	Chía roja	Sta. Ma. Huir.	Pátzcuaro	Mich. Méx.	México
7	P.Bravo	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	Chía roja	Opopeo	S. Escalante	Mich. Méx.	México
8	Zumbaro	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp nuttalliae</i>	Chía roja	Sta. Ma. Huir.	Pátzcuaro	Mich. Méx.	México
9	640304	<i>C. quinoa</i>	quinoa	C.P.	Texcoco	Edo. Méx.	México
10	11L240	<i>C. quinoa</i>	quinoa	C.P.	Texcoco	Edo. Méx.	México
11	ININ136	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
12	ININ240	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
13	42AdeM x CR	<i>C. quinoa</i> x <i>C.</i> <i>berlandieri subsp.</i> <i>nuttalliae</i>	Cruza F1	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
14	ININ311	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
15	ININ333	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
16	HBYUM EX	<i>C. berlandieri</i>	huauzontle	Provo	BYU	UT	USA
17	BYU 14108	<i>C. berlandieri</i>	Sinuatum	AZ Hwy 181	Cochise	UT	USA

Tabla 3. Material genético y procedencia de *Chenopodium* utilizados para la evaluación de diversidad genética, mediante repeticiones de secuencias simples (SSR) (Parte 2).

No.	Genotipo	Especie	Var.	Localidad	Cuidad	Estado	País
18	402	<i>C. berlandieri</i>	-----	Torrey Pines	San Diego	CA	USA
19	423	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	L. Á.	CA	USA
20	447	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Orem	Utah	UT	USA
21	457	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	Dúchense	UT	USA
22	505	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	Garfield	UT	USA
23	544	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	Yavapai	AZ	USA
24	629	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	S of Lusk	Niobrara	WY	USA
25	641	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Pine Creek Ranch	Sanpete	UT	USA
26	642	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	1 mi S of Ephraim	Sanpete	UT	USA
27	880	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Ramah	McKinley	NM	USA
28	881	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Provo	Utah	UT	USA
29	882	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Spanish Fork Cyn	Utah	UT	USA
30	902	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Laguna Mts	San Diego	CA	USA
31	922	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	BYU	Provo	UT	USA
32	937	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Galveston, Virginia Point	Brazoria	TX	USA
33	1007	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Kyle Cyn. Rd., Spring Mts	Clark	NV	USA
34	1301	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Eagle Point Marina, St. Leon	Galveston	TX	USA
35	1303	<i>C. berlandieri</i>	-----	Kamas Valley	Summit	UT	USA
36	1306	<i>C. berlandieri</i>	-----	N Armstrong Rd	Clark	NV	USA
37	1312	<i>C. berlandieri</i>	-----	Cty Rd C	St. Charles	MO	USA
38	1316	<i>C. berlandieri</i>	-----	N P. I-15 Frontage RD	Iron	UT	USA
39	1448	<i>C. berlandieri</i>	Zschacke	Sherman Oaks	L. Á.	CA	USA
40	1449	<i>C. berlandieri</i> + <i>C. boscianum</i>	-----	Sherman Oaks	L. Á.	CA	USA
41	1452	<i>C. berlandieri</i>	Zschacke	Big Tujunga Cyn.	L. Á.	CA	USA
42	1454	<i>C. album</i>	-----	Big Tujunga Cyn.	L. Á.	CA	USA
43	1455	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Cypremort Point	St. Mary	LA	USA
44	1456	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Cypremort Point	St. Mary	LA	USA
45	1457	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Golden Meadow	Lafourche	LA	USA
46	1458	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Golden Meadow	Lafourche	LA	USA
47	1459	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Point Fourchon	Lafourche	LA	USA
48	1460	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Grand Isle	Jefferson	LA	USA

7.2.2. Germinación

La germinación de la semilla se realizó en siembra directa y después de 8 días las semillas que no germinaron se colocaron en un medio nutritivo en cajas Petri en el laboratorio.

7.2.3. Colecta del material vegetal

Una vez emergidas las plántulas con seis hojas verdaderas, se colectaron 4 hojas a los 30 días después de la siembra. Se tuvo la precaución de colectar las hojas utilizando tijeras desinfectadas con alcohol de 70% por cada individuo. Una vez extraído las hojas correspondientes a cada planta se procedieron liofilizarlas en una cámara de vacío Thermo savant (24 hrs.).

7.2.4. Molido de muestras

Se tomaron las muestras de hojas liofilizadas y se colocaron en tubos eppendorf de 2.2ml conteniendo bolitas de cristal estériles, que posteriormente fueron molidas utilizando un molino Retsch – Mill 200.

7.2.5. Extracción de ADN

Para la extracción del ADN se utilizó tejido foliar de plantas de 30 d de antigüedad de cada accesión, se cosechó, se liofilizó, posteriormente se molieron en molino para obtener un polvo fino. Se realizó la extracción el ADN de acuerdo con los procedimientos descritos Por Maughan, *et al.*, 2013. El ADN extraído se cuantificó con un espectrofotómetro y se diluyó a aproximadamente 30 ng Δ L β 1 en TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,5).

7.2.6. Iniciadores SSR utilizados.

Se utilizaron 13 iniciadores microsatélites, específicos para *Chenopodium*: QCA 37, KGA 20, QAAT 24, QAAT 74, QAAT 50, KGA 16, QAAT 74, QCA 57, QAAT 78, QCA 48, QCA 88 QAAT 76 y QCA 14, éstos se obtuvieron para caracterizar molecularmente variedades de quinua y fueron desarrollados por Mason *et al*, en el 2005 (Fuentes, 2009; Ormeño, 2015).

Tabla 4. Lista de Primers y secuencias utilizados en PCR para SSR.

No.	Primer	Secuencia forward (5'-3')	Secuencia reverse (5'-3')
1	QCA 37	5'-agagttcttacataaggggaagagt-3'	5'-tttcctttggtagtttctgtt-3'
2	KGA 20	5'-gcttctcacctacctcgtaaaggaaa-3'	5'-ggagcagatgatgaacatgg-3'
3	QAAT 24	5'-gcttctaccataacagcaccacctt-3'	5'-agggatcaatctgttcattca-3'
4	QAAT 74	5'-atggaacacccatccgataa-3'	5'-atgcctatcctcatcctcca-3'
5	QAAT 50	5'-ggcacgtgctgctactcata-3'	5'-tggcgaatggtaatttgc-3'
6	KGA 16	5'-ccctgctaatctccgtgaa-3'	5'-gcttcccgaaccaagactacgaaaca-3'
7	QAAT 74	5'-atggaacacccatccgataa-3'	5'-atgcctatcctcatcctcca-3'
8	QCA 57	5'-tgcaaggaaaccatctttgg-3'	5'-tgccctcacagtcacacctaca-3'
9	QAAT 78	5'-agcgaaggaaatttggact-3'	5'-gcttctaacgatacgctccaaggaa-3'
10	QCA 48	5'-acaatacatacataaccaatattcaa-3'	5'-tggaaatgtcactatgattgga-3'
11	QCA 88	5'-gcttctctggctgctccaccta-3'	5'-cagtcccggaatcgtaactc-3'
12	QAAT 76	5'-gcttcatgtgtataaaatgccaat-3'	5'-tctcggctcccactaattt-3'
13	QCA 14	5'-gcttctcctgagctgattatcaaaggac-3'	5'-cctctgagagatttctgct-3'

7.2.7. Determinación de la calidad y concentración de ADN

La determinación de la pureza y concentración del ADN se cuantificó mediante el uso del espectrofotómetro (NanoDrop ND-1000). La relación de la lectura de absorbancia de A260/A280 proporcionó un estimado de pureza. Dicha relación en una muestra pura de ADN registraría un valor de entre 1.91 a 2.29. Un valor inferior a 1.7 indica que pueden existir proteínas y/u otros elementos absorbentes de luz ultravioleta en la muestra. En cambio, un

valor superior a 1.9 indica que las muestras de ADN purificadas pueden estar contaminadas con fenol o cloroformo. (Clark, 1996; Ormeño, 2015).

En cuanto a la calidad del ADN purificado, esta determinación se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa para cada una de las accesiones obtenidas. una muestra de ADN con buena calidad presenta una excelente resolución, es decir que no presenta manchas o barridos, de presentarlo indicaría una degradación mecánica o química del ADN.

7.3.8. Amplificación de SSR mediante PCR.

Las amplificaciones por PCR, se realizaron en 12 μ l reacciones consistentes en 3,0 μ L (30 ng / μ L) de ADN, 0,5 μ l de cada 10 μ M Cebador directo e inverso, 6,0 μ L de MyTaq HS Red Master Mix (Bioline, Taunton, Massachusetts, EE.UU.), y 2,0 μ L de ddH₂O. Se realizaron reacciones de PCR Usando un termociclador C1000 o T100 (Bio-Rad, Applied Biosystems, Foster City, California, EE.UU.) con los siguientes parámetros: 95°C durante 60 s; 35 ciclos de 95 °C durante 15 s, 60 °C durante 15 s, y 72 °C durante 10 s; y una sola final ciclo de extensión de 72 °C durante 60 s

7.3.9. Electroforesis de productos amplificados.

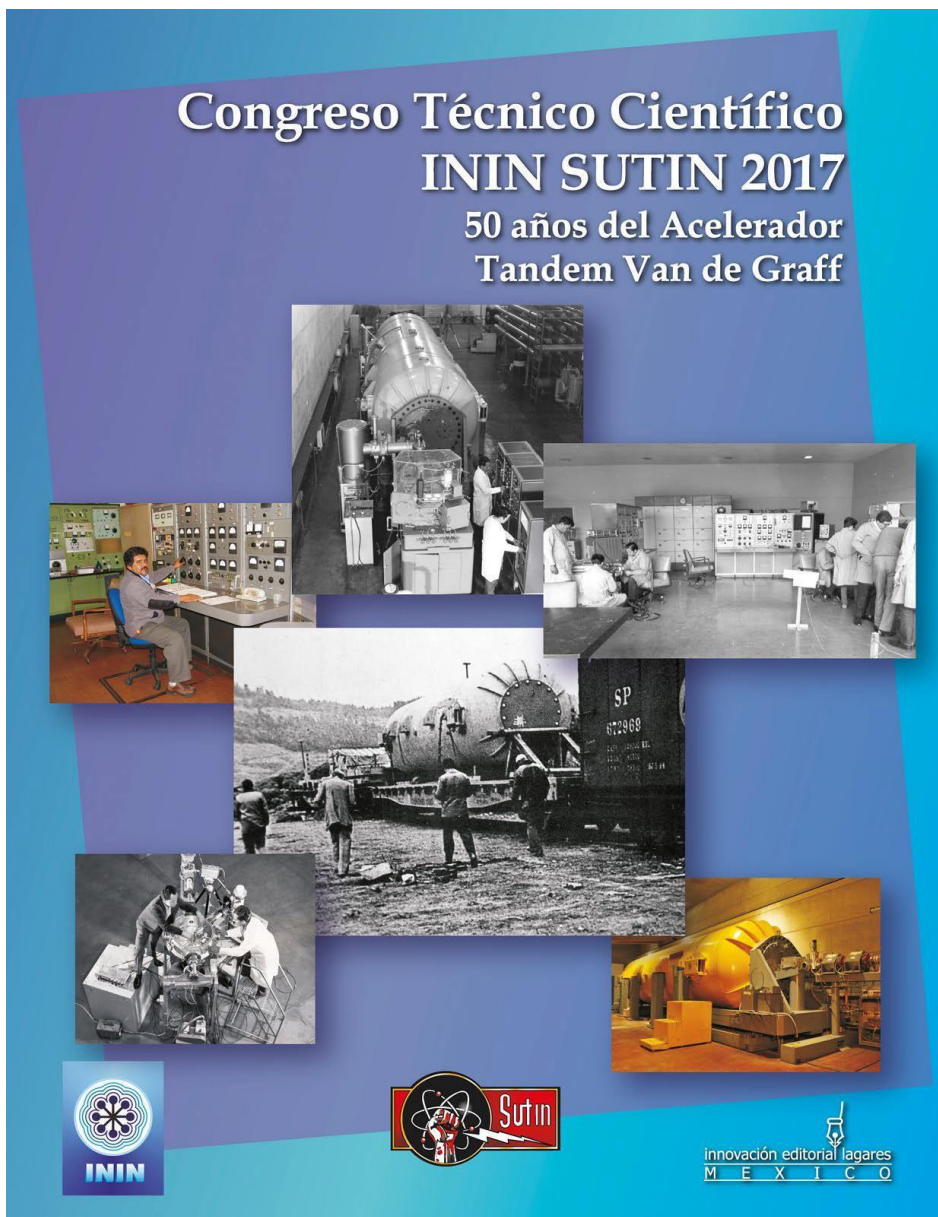
La electroforesis de los productos amplificados, se hizo en una cámara de electroforesis horizontal, con gel de agarosa al 1.5% (250 ml de TBE, 7.5 g de agarosa y 12.5 μ l de midori green). Las muestras de ADN fueron colocadas en el Gel, el cual se cubrió con amortiguador TBE y se conectó a la fuente de poder BIO-RAD (Power-PAC 300) durante 30 min. Al termino del tiempo, el gel se lavó con agua destilada y se colocó en un transiluminador de luz ultravioleta (UV) BIO-RAD Modelo Universal Hood II y por medio del programa Quantity one los geles se registraron y guardaron en una base de datos.

7.3.10. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico se generó una matriz binaria de ausencia (0) y presente (1). Las bandas difusas no se consideraron, la similitud genética entre individuos se evaluó utilizando el coeficiente de similitud de Jaccard. El análisis de conglomerados fue Realizado por el método UPGMA. El dendrograma correspondiente, fue generado utilizando el paquete estadístico NTSYS (Numerical Sistema Taxonomía para Ordenador Personal, versión PC 2.02). Para determinar las similitudes entre los genotipos en cuestión.

VIII. RESULTADOS

8.1. Caracterización Morfológica y de Rendimiento de 44 Líneas del Genero *Chenopodium*



CONGRESO TÉCNICO CIENTÍFICO
ININ-SUTIN 2017

50 AÑOS DEL ACELERADOR
TANDEM VAN DE GRAAFF

Caracterización Molecular de 17 genotipos de *Chenopodium* mediante SSR

J. M. García Andrade^{1, *}, E. De la Cruz Torres¹, M. Rubi Arriaga², A. Laguna Cerda²,
C. D. Anderson³, J. O'brien³, N. J. Ricks³, E. N. Jellen³, M. R. Stevens³ y
P. J. Maughan³

1. Depto de Biología, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Carretera México-Toluca s/n, La Marquesa, Ocoyoacac, 52750, México,

2. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México,

3. Department of Plant and Wildlife Sciences, Brigham Young University, 4105 LSB, Provo, UT 84602, USA,

*jmanuel.garcia@inin.gob.mx Tel. 7223507353.

RESUMEN

En la actualidad los *Chenopodium* son cultivos subutilizados, pero tienen el gran potencial para convertirse en cultivos muy importantes en el futuro inmediato. El objetivo de esta investigación fue caracterizar molecularmente a 17 materiales de *chenopodium* utilizando 14 primers o iniciadores de tipo microsatélites (SSR) para determinar la variabilidad genética en el germoplasma de Chía roja, Huauzontle y quinua (*Chenopodium, berlandieri* subsp *nuttalliae* y *Chenopodium quinoa*) colectado en zonas productoras de México. La extracción de ADN se realizó de acuerdo con lo descrito por Maughan [15]. El análisis de los marcadores microsatélites agrupó a los genotipos en 3 grupos principales a un coeficiente de 0.51, mostrando gran variación genética y dentro de estos se formaron subgrupos donde se combinaron líneas avanzadas de quinua con Chía Roja y quinuas mutantes con Chía roja y Huauzontle. Esto nos da una idea del parentesco que existe entre estos pseudocereales andinos, mexicanos, americanos y silvestres y nos ayudará a continuar en el proceso de mejoramiento de nuestra colección.

Palabras clave: Caracterización Molecular, *Chenopodium*, Microsatélites (SSR).

ABSTRACT

At present the *Chenopodium* are underutilized crops, but they have the great potential to

become very important crops in the immediate future. The objective of this research was to molecularly characterize 17 chenopodium materials using 14 primers or microsatellite primers (SSR) to determine the genetic variability in the germplasm of Chía roja, Huauzontle and quinoa (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* and *Chenopodium quinoa*) collected in producing areas of Mexico. DNA extraction was performed according to what was described by Maughan [15]. The analysis of the microsatellite markers grouped the genotypes into 3 main groups at a coefficient of 0.51, showing great genetic variation and within these subgroups were formed where advanced Quinoa lines were combined with Chia Roja and mutant quinoa with Chia roja and Huauzontle. This gives us an idea of the kinship that exists between these Andean, Mexican, American and wild pseudocereals and will help us to continue in the process of improving our collection.

Key words: Molecular Characterization, *Chenopodium*, Microsatellites (SSR)

INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos enfrenta una problemática muy compleja, el aumento de la población impone nuevos retos para suplir sus necesidades. El cambio climático y la disposición del agua causa un importante impacto en la agricultura y consecuentemente en la salud humana [21], acentuando problemas de desnutrición que según el Banco Mundial afecta a 45 millones de habitantes en toda Latinoamérica [6]. En años recientes, ha crecido el interés en recuperar y valorar cultivos de alto contenido proteínico y valor nutricional, que tienen un prometedor potencial de explotación y que contribuyan a reducir la desnutrición, un ejemplo de éstos es la chia roja, el huauzontle y la quinua pseudocereales de grano comestible [8, 3].

La chia roja, el huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* razas locales 'chia roja' y 'huauzontle' respectivamente) así como la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) poseen un excelente valor nutritivo (12,5 a 16,7 aunque puede contener hasta 23% de proteína, 5% de lípidos y 58 al 76.2 % de carbohidratos) [11, 15], y presentan de acuerdo a

estudios fisiológicos gran adaptabilidad en virtud de su gran tolerancia a condiciones adversas de estrés ambiental como sequía y salinidad factores que limitan la productividad [9, 12, 5, 19].

Algunas ventajas de estos cultivos es su rusticidad al ser adaptables a diversos ambientes de sequía, salinidad, bajas temperaturas y suelos poco fértiles, características por las que constituyen una alternativa de cultivo para las regiones marginales del país, presentan un alto valor nutritivo y una alta valoración dentro de la clasificación de los alimentos establecidos por la FAO, por lo que su importancia reside en que pueden constituir una alternativa de cultivo sustentable para solventar la escasez de alimentos [2, 4].

En el presente trabajo se presenta la caracterización molecular de 17 colectas de chíá roja, huauzontle y quinua, utilizando 13 iniciadores para microsátélites desarrollados específicamente para *Chenopodium* por Maughan, [15], con el objetivo determinar la variabilidad genética en el germoplasma de Chíá roja, Huauzontle (*Chenopodium, berlandieri* subsp. *nutalliae*) colectado en zonas productoras del estado de México y mutantes de quinua (*Chenopodium quinua* Willd) desarrolladas en el ININ.

METODOLOGÍA

Se utilizó semilla del género *Chenopodium*: 3 colectas de *Chenopodium berlandieri* subsp. *nutalliae* var. Huauzontle (H3, H16 y H18 del Valle de Toluca); 5 colectas de *Chenopodium berlandieri* subsp. *nutalliae* var. Chíá Roja (J.Silva, D.Oros, R.Rguez, P.Bravo y Zumbaro de la rivera del Lago de Pátzcuaro, Michoacán); 2 líneas sobresalientes de *Chenopodium quinoa* donadas por el Banco Nacional de Germoplasma del C.P. (640304 y 11L240); 4 líneas de *Chenopodium quinoa* obtenidas por mutagénesis radioinducida (ININ136, ININ240, ININ311 y ININ333); una línea F1 procedente de la cruza (42AdeM X Chíá roja) y dos colectas de *Chenopodium berlandieri* ssp. donadas del Banco de Germoplasma del Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young University (HBYUMEX y BYU14108).

Tabla 1. Lista del Material biológico utilizado para la evaluación (Nombre común, especie, variedad y procedencia).

No.	Nombre Común	Especie	Variedad	Localidad	País
1	H-3	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Atlaconulco	México
2	H-16	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	S.A. Cuexcontitán	México
3	H-18	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Valle de Toluca	México
4	J. Silva	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Opopeo	México
5	D. Oros	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Opopeo	México
6	R. Rguez	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Sta. Ma. Huira	México
7	P. Bravo	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Opopeo	México
8	Zumbaro	<i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>	Huauzontle	Sta. Ma. Huira	México
9	640304	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	C.P.	México
10	11L240	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	C.P.	México
11	ININ136	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	ININ	México
12	ININ240	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	ININ	México
13	42AdeMXCR	<i>C. quinoa</i> X <i>C. berlandieri</i> subsp. <i>nuttalliae</i>		ININ	México
14	ININ311	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	ININ	México
15	ININ333	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	ININ	México
16	HBYUMEX	<i>C. berlandieri</i>	Huauzontle	BYU	México
17	BYU14108	<i>C. berlandieri</i>	Simatam	BYU	USA

Todas las plantas se cultivaron en el invernadero del Plant Genetic Resources Laboratory de Brigham Young University en Provo (Utah, USA) en macetas de 15 cm, utilizando peat moss como sustrato y se mantuvieron a 25°C bajo lámparas halógenas de amplio espectro con un fotoperiodo de 12 h.

Colección de material vegetal

Una vez emergidas las plántulas con seis hojas verdaderas, se colectaron 4 hojas a los 30 días después de la siembra. Se tuvo la precaución de colectar las hojas utilizando tijeras desinfectadas con alcohol de 70% por cada individuo. Una vez extraído las hojas correspondientes a cada planta se procedieron liofilizarlas en una cámara de vacío Thermo savant (24 hrs.).

Extracción de ADN

Para la extracción del ADN se utilizó tejido foliar de plantas de 30 d de antigüedad se cosechó, se liofilizó y se realizó la extracción el ADN de acuerdo con los procedimientos descritos Por Maughan, [15]. El ADN extraído se cuantificó con un espectrofotómetro y se

diluyó a aproximadamente 30 ng \Delta L \beta 1 en TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,5).

Iniciadores SSR utilizados

Se utilizaron 14 iniciadores microsatélites, específicos para *Chenopodium*: QCA37, KGA20, QAAT74, QAAT50, QAAT70, QGA02, QCA14, KGA16, QCA57, QCA88, QAAT76, QAAT78, QCA38 y QAAT24 éstos se obtuvieron para caracterizar molecularmente variedades de quinua y fueron desarrollados por Mason [13] [7, 17].

Tabla 2. Lista de Primers y secuencias utilizados en PCR para SSR.

No.	Primer	Secuencia forward 5'-3'	Secuencia Reverse (5'-3')	Temp.
1	QCA37	gcttcctcgttctccagaccaattc	tcatgagccacttcatacacg	66
2	KGA20	gcttcctcacctacctcgtaaagaaaa	ggagcagatgatgaacatgg	64
3	QAAT74	gcttcctatggaacacccatccgataa	atgccctatctcatcctcca	66
4	QAAT50	ggcacgtgctgctactcata	gcttcctatggcgaatggttaattgc	68
5	QAAT70	tgaacaggatcgtcatagtcaa	gcttcctgttcacatctgaccaat	64
6	QGA02	gcttcctgaaccttaataggctgtaccaaatc	aaagaatgtcacaagcaagca	64
7	QCA14	gcttcctctgagctgattatcaaggac	cctctgctgagattctgct	66
8	KGA16	ccctgcttaatctcctgtgaa	gcttcctcgaaccaagactacgaaaca	65
9	QCA57	gcttcctgcaaggaaacctctttgg	tgcctcacagtcacacctaca	69
10	QCA88	gcttcctctgctgcttccacctaat	cagtcctcgaactcgttaact	66
11	QAAT76	gcttcctatgtgtataaaaatgccaat	gcttcctctcggcttcacctaat	63
12	QAAT78	agcgaaggaaattggaaact	gcttcctaacgatacgtcccaaggaa	63
13	QCA38	gcttcctattcccaactgcatgaat	atgtgtgttcggtgtgagtg	67
14	QAAT24	gcttcctaccataacagcaccacctt	agggatcaatctgttcattca	62

RESULTADOS

Evaluación de la calidad y cantidad de ADN

La determinación de la pureza y concentración del ADN se cuantificó mediante el uso del espectrofotómetro (NanoDrop ND-1000). La relación de la lectura de absorbancia de A260/A280 proporcionó un estimado de pureza. Dicha relación en una muestra pura de ADN registraría un valor de entre 1.91 a 2.29. Un valor inferior a 1.7 indica que pueden existir proteínas y/u otros elementos absorbentes de luz ultravioleta en la muestra. En cambio, un valor superior a 1.9 indica que las muestras de ADN purificadas pueden estar contaminadas

con fenol o cloroformo. [18].

En cuanto a la calidad del ADN purificado, esta determinación se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa para cada una de las accesiones obtenidas. una muestra de ADN con buena calidad presenta una excelente resolución, es decir que no presenta manchas o barridos, de presentarlo indicaría una degradación mecánica o química del ADN.

Tabla 3. Concentraciones de ADN de los 17 genotipos utilizados.

No.	Genotipo	Concentración (ng/ μ L)	No.	Genotipo	Concentración (ng/ μ L)
1	H3	379.9	10	11L240	397.6
2	H16	334.1	11	INDN136	599.0
3	H18	434.6	12	INDN240	603.1
4	J.Silva	425.4	13	42AdeMXCR	494.7
5	D.Oros	387.9	14	INDN311	301.0
6	R.R.guéz	507.8	15	INDN333	322.6
7	P.Bravo	525.1	16	HBVUMEX	296.5
8	Zumbaro	321.1	17	BYU14108	354.3
9	640304	192.8			

Amplificación por PCR

En la amplificación de las muestras de ADN se realizó en un termociclador Perkin Elmer modelo Cetus, programado con ciclos de desnaturalización, alineamiento y extensión a temperaturas y tiempos variables y por último almacenamiento a 4°C. Los productos amplificados se separaron por electroforesis en Geles de poliacrilamida 37: 1 (acrilamida: bisacrilamida) al 7% y 150 V durante 1 h. Se empleó la técnica de SSR (Single Sequence Repeat) o microsatélites diseñados específicamente para *Chenopodium*, que fueron desarrollados por Mason [13]. [7, 16, 17].

Prueba de amplificación

	Columnas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	447	880	1	447	880	1	447	880	1	447	880
B	6	457	1306	6	457	1306	6	457	1306	6	457	1306
C	447	880	1	447	880	1	447	880	1	447	880	
D	457	1306	6	457	1306	6	457	1306	6	457	1306	
E	880	1	447	880	1	447	880	1	447	880	1	
F	1306	6	457	1306	6	457	1306	6	457	1306	6	
G	1	447	880	1	447	880	1	447	880	1	447	880

Figura 1. Plato de amplificación del ADN y Primers.

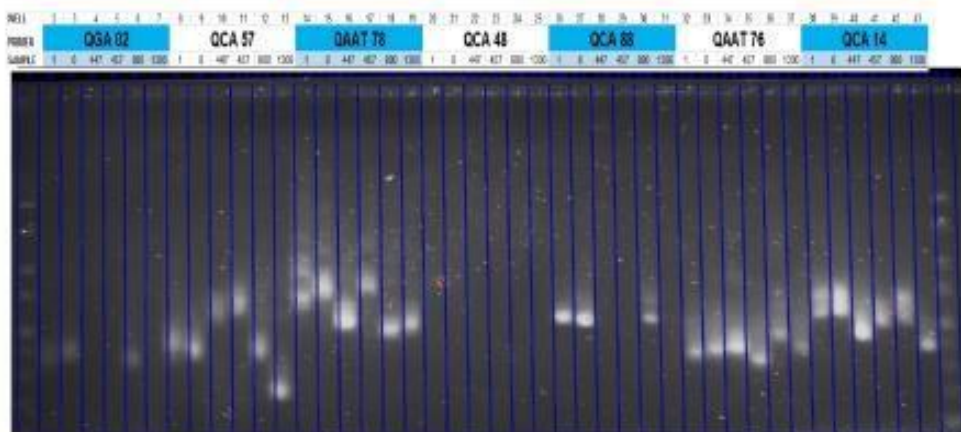


Figura 2. Gel de amplificación con 7 Primers de microsatélites.

La Figura 2, muestra los loci de microsatélites con 15 Primers o iniciadores y se puede observar el polimorfismo existente entre los genotipos.

Los datos se analizaron, basándose en los datos de similitud de la matriz usando el coeficiente de similitud de Jaccard y aplicando el método de análisis de conglomerados UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic average) y un dendrograma (Figura 3) fue Generado utilizando el paquete estadístico NTSYS-PC (Numerical Sistem Taxonomy,

versión PC 2.02).

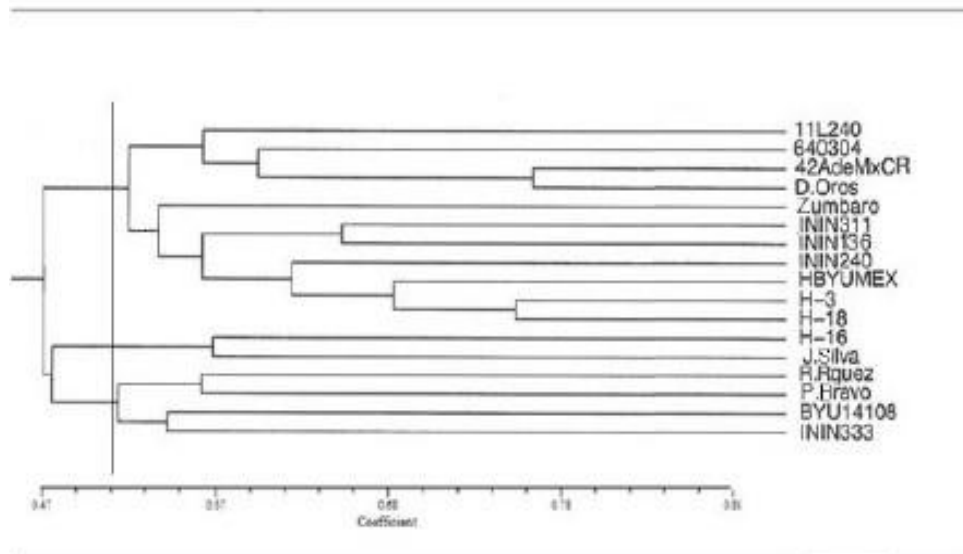


Figura 3. Dendrograma de 17 genotipos de *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* y *Chenopodium quinoa* a partir de datos moleculares de 17 marcadores SSR basado en la distancia genética.

El dendrograma generado dividió a los genotipos en 3 conglomerados principales a un coeficiente de 0.51 (Figura 3), en el primer grupo presento una alta variación formado por genotipos de Chia, quinua y Huauzontle. Dentro de este se formaron dos subgrupos, el primero formado por 2 quinuas [(11L240 y 640304) (*C. quinoa* Willd)], una Chía roja [(D. OROS) (*C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*)] y un híbrido 42AdeMXCR (*C. quinoa* X *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*); el segundo se formó por 3 *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* 2 Huauzontles (H3 y H18) y una Chía roja (Zumbaro); 3 quinuas mutantes (ININ311, ININ136 y ININ240), y un huauzontle [(HBYUMEX) (*C. berlandieri*)]. El Segundo Grupo solo se formó por dos *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* un Huauzontle y una Chia roja. En el Tercer grupo se formaron dos subgrupos el primero con dos Chias rojas [(*C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*) (E.Rguez y P.Bravo)] y el segundo por un Huauzontle [(BYU14108) (*C. berlandieri*)] y una quinua [(ININ333) (*C. quinoa* Willd)].

DISCUSIÓN

El principal objetivo del estudio fue caracterizar la diversidad genética de 17 genotipos de *C. quinoa* y *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*. Esto nos da una idea del parentesco que existe entre estos pseudocereales Andinos, mexicanos y de USA y nos ayudará a continuar en el proceso de mejoramiento de nuestra colección ya que se podría seguir utilizando en estrategias de hibridación [16].

La determinación de la pureza y concentración del ADN de los pseudocereales (*C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*, *C. quinoa* Willd y *C. berlandieri*) mediante la relación de la lectura de absorbancia de A260/A280 proporcionó un estimado de pureza. Dicha relación en una muestra pura de ADN registraría un valor de entre 1.91 a 2.29 los cuales se consideran aceptables para utilizarse en la técnica SSR [20].

En dendrograma nos mostró la formación de tres grupos discretos Figura 3 que a diferencia de [16, 20, 17] en donde se formándose 4, 7 y 10 grupos respectivamente utilizando un análisis de rasgos morfológicos.

CONCLUSIONES

Los marcadores SSR permitieron determinar la variabilidad genética de los genotipos evaluados agrupándolos en diferentes grupos.

Mediante las amplificaciones se pudo apreciar el marcado polimorfismo con los diferentes Primers, aun así, se tuvo que descartar QCA48 al no notarse banda alguna.

El dendrograma mostró grupos muy interesantes mostrando gran variación genética y dentro de estos se formaron subgrupos donde se combinaron Líneas avanzadas de quinua con Chía Roja y quinas mutantes con Chía roja y Huauzontle de acuerdo con similitudes o diferencias genéticas que existen entre géneros.

Los agrupamientos nos dan una idea del parentesco que existe entre estos pseudocereales Andinos, mexicanos, americanos y mutantes y nos ayudará a continuar en el proceso de mejoramiento de nuestra colección ya que se podría seguir utilizando en estrategias de hibridación combinando materiales de porte bajo, de alta productividad y de contenido proteínico al igual que los silvestres y semidomesticados.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Allende, C. L. Estudio de radiosensibilidad de pseudocereales mediante marcadores moleculares y microscopía electrónica. (Tesis Licenciatura), Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México. (2014).
- [2] Bukasov. Cultivated plants of Mexico, Guatemala and Colombia. Howard Karno Books. 553p. (1930).
- [3] Bournof-Radosevich, M. Paupardin, C. Vegetative propagation of *Chenopodium quinoa* by shoot tip culture. Amer. J. Bot. 72(2) 278-283. (1985).
- [4] De la Cruz, T.E, Xingú L. A., García A. J. M, Germán V. I y Germán V. G. Aplicación de técnicas moleculares en el estudio del huauzontle, cultivo prehispánico alternativo para zonas agrícolas, Rev. Div. Contacto Nuclear ININ, No. 55, pp. 16- 21. (2010).
- [5] De la Cruz, T.E, Allende C. L., García A. J. M., Estudio de radiosensibilidad en pseudocereales mediante marcadores moleculares. MEMORIAS del XXVI Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN, México. pp. 204-206. (2016).
- [6] Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N. and Koyro, H. W. Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. Australian Journal of Crop Science. AJCS 6(2): pp. 357-368. (2012).
- [7] FAO. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2013. Sistemas Alimentarios para una Mejor Nutrición. Roma. (2013).
- [8] Fuentes, F. F., Martínez, E. A., Hinrichsen, P. V., Jellen, E. N. and Maughan, P. J. Assessment of genetic diversity patterns in Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm using multiplex fluorescent microsatellite markers. Conserv. Genetics. pp. 369-

377. (2009).

[9] García, A. J. M Tesis de Maestría en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus Universitario "El Cerrillo" Toluca, Estado de México, (2005).

[10] Geerts, S., Santos, M. R., García, M. and Raes, D. Response of Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) to Differential Drought Stress in The Bolivian Altiplano: Towards a Deficit Irrigation Strategy Within A Water Scarce Region. Universidad de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz Bolivia. pp. 1-9. (2006).

[11] Germán V. I. Caracterización molecular de 23 colectas de Huauzontle *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* Mediante RAPDS (Random amplified polymorphis) en el Valle de Toluca. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México, México, pp. 1-30, 34-40. (2009).

[12] Medina, F. J. Composición nutricional de la quinua. [en línea] [Consultado 11 de mayo 2013] Disponible en:

<http://xa.vimg.com/kg/groups/21260884/1421089015/name/Composici%C3%B3n+Nutricional+de+la+Quinua.doc>). (2006).

[13] Morales, A. y Zurita, A. La quinua como fuente de genes de resistencia a estrés por sequía. Centro Estudios Avanzados en Zonas Áridas, CEAZA. La Serena, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. pp. 1-8. (2009).

[14] Mason SL, Stevens MR, Jellen EN, Bonifacio A, Fairbanks DJ, Coleman CE, McCarty RR, Rasmussen AG, Maughan P.J. Development and use of microsatellite markers for germplasm characterization in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Crop Sci* 45:1618–1630. (2005).

[15] Maughan, P. J., Jellen E, Stevens M, Coleman C, Ricks M, Mason S, Jarvis D, Gardunia B, Fairbanks D. DNA Microprep Extraction. Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young University (BYU). USA. pp. 1-3. (2013).

[16] Morillo, C. A. C., MAnjarres E. H. and Morrillo C.Y. Caracterización molecular de *Chenopodium quinoa* Willd. Utilizando marcadores de repetición de secuencia inter-simple (ISSR). Universidad Pedagógica and Tecnológica de Colombia (UPTC) pp. 1-12. (2017).

- [17] Romo, S., Rosero, A., Forero, C. L. y Ceron, E. Potencial nutricional de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) variedad Piartal en los Andes Colombianos Primera Parte. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol 4 No.1 pp. 113-125. (2006).
- [18] Ormeño, Z. J. Agrupamiento de 16 accesiones peruanas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) En relación al origen utilizando marcadores SSR. Tesis Licenciatura. Universidad Agraria La Molina, Facultad de Ciencias, Lima Perú. (2015).
- [19] Ruiz, R. S., Valdés, O. A., Facio, P. F., Arce, G. L. Efecto de diferentes niveles de salinidad en la germinación y vigor de semillas de cinco gramíneas forrajeras. Agraria, vol (9). No.(1) A2. pp.7-13. (2012).
- [20] Xingú López Andrés. Caracterización del germoplasma de Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) en el Estado de México mediante técnicas moleculares (SSR), Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México. (2010).
- [21] Zingaretti, M. S., Cascaes, I. M., de Matos, P L., Antunes P.T. and De Castro F. S. Water Stress and Agriculture. INTECH. [en línea] [Consultado 17 febrero 2014] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/53877> Chapter 7. pp. 151-179 (2012).



8.2. Caracterización Molecular de 17 genotipos de *Chenopodium* mediante SSR.

inifap
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

México
ISSN: 2007-0934
REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Texcoco, Estado de México, 08 de noviembre de 2024
Núm. Ref.: 3805-24

Dr. Eulogio De la Cruz Torres
Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares
Presente:

Por este medio le agradezco y acuso de recibido su manuscrito científico titulado **Caracterización Molecular de *Chenopodium berlandieri* (CHENOPODIACEAE) Silvestres y Cultivados del Centro de México**, cuyos autores, **Juan Manuel García Andrade, Eulogio De la Cruz Torres, Martín Rubi Arriaga, Antonio Laguna Cerda y Dora María Sangerman Jarquín** que fue propuesto para su posible publicación a la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Le notificamos que el texto inicial del manuscrito, autores (as) principal y los coautores(as), autor(a) para correspondencia no podrán alterarse y quedarán como se envía en esta versión.

Asimismo, me permito informarle que su contribución será enviada a revisión técnica por los árbitros que se designen en la REMEXCA, en caso de ser aceptado se le notificará sobre las observaciones correspondientes.

Agradezco su colaboración y le envío un cordial saludo.

Atentamente

JSAPIhPWpRZ6tXw+VhUyyg==EN0Xfy6BnNRYwvITqOd3FD5IFPo=

Dra. Dora Ma. Sangerman-Jarquín
Editora en Jefa de la Revista
Mexicana de Ciencias Agrícolas

ccp* archivo
DMB@inifap

Carretera Los Reyes- Texcoco, km 13.5. Coatlínchán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250
E-mail: revista_atm@yahoo.com.mx. Tel. 01 800 088 2222 Ext. 85353

1 **Caracterización Molecular de *Chenopodium berlandieri* (CHENOPODIACEAE)**

2 **Silvestres y Cultivados del Centro de México**

3
4 Juan Manuel García Andrade ¹, Eulogio De la Cruz Torres^{1*}, Martín Rubí Arriaga², Antonio
5 Laguna Cerda² y Dora María Sangerman Jarquín

6 1. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Departamento de Biología,
7 Carretera México - Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750. Tel. +52
8 (55) 53297200 Ext. 12310. jmanuel.garcia@inin.gob.mx; eulogio.delacruz@inin.gob.mx.*

9 2. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus
10 Universitario El Cerrillo, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200. Tel. (fax)
11 2-96-55-29 y 2-96-55-31. mrubia@uaemex.mx; m_rubi65@yahoo.com.mx;
12 alagunac@uaemex.mx), Campo Experimental Valle de México. Carretera Los Reyes-
13 Texcoco, km. 13.5. INIFAP. C. P. 56250. Coatlinchán, Texcoco, Edo. de México. Tel. 01
14 (595) 92 1268. Sangerman.dora@inifap.com.mx

15 * Autor de correspondencia

16
17 **Resumen**

18 En el presente trabajo se realizó en el Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham
19 Young University, USA. El objetivo fue caracterizar molecularmente germoplasma de
20 Chía roja, Huauzontle (*Chenopodium, berlandieri* subsp *nuttalliae*) y quinua
21 (*Chenopodium quínoa* Willd) colectado en zonas productoras del Estado de México y
22 silvestres de USA. para determinar la variabilidad genética de 48 genotipos de los Bancos
23 de Germoplasma, del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares y el de Plant
24 Genetic Resources Laboratory of BYU. Se utilizaron 14 marcadores microsatélites (SSR),

1 específicos para *Chenopodium*. Los resultados indican que, dentro de la población se
2 produjeron 175 alelos, que van de 8 (KGA16, QCA88) a 16 (QCA37, QAAT74, QCA57)
3 siendo estos los que más alelos por locus se obtuvieron. En el dendrograma se pudo
4 apreciar que a un coeficiente de 0.90 se formaron 4 grupos principales donde en los
5 grupos 1 y 2 se unen líneas avanzadas de quinua con chía roja, mutantes de Chía roja y
6 Huauzontle y en los grupos 3 y 4 todo el germoplasma del Plant Genetic Resources
7 Laboratory of BYU.

8

9 **Palabras clave:** *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*, *Chenopodium quinoa*,
10 Marcadores moleculares, SSR.

11

12 **Summary**

13 In the present work it was carried out at the Plant Genetic Resources Laboratory of
14 Brigham Young University, USA. The objective was to molecularly characterize
15 germplasm of Red Chia, Huauzontle (*Chenopodium, berlandieri* subsp *nuttalliae*) and
16 quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) collected in producing areas of the State of Mexico
17 and wild in the USA. to determine the genetic variability of 48 genotypes from the
18 Germplasm Banks, the National Institute for Nuclear Research and the Plant Genetic
19 Resources Laboratory of BYU. 14 microsatellite markers (SSR), specific for
20 *Chenopodium*, were used. The results indicate that, within the population, 175 alleles were
21 produced, ranging from 8 (KGA16, QCA88) to 16 (QCA37, QAAT74, QCA57), these being
22 the ones that obtained the most alleles per locus. The dendrogram showed that at a
23 coefficient of 0.90, 4 main groups were formed where groups 1 and 2 unite advanced

1 lines of quinoa with red chia, mutants of red chia and Huauzontle and in groups 3 and 4
2 all the germplasm from the Plant Genetic Resources Laboratory of BYU.

3
4 **Key words:** *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*, *Chenopodium quinoa*, Molecular
5 markers, SSR.

6 7 **Introducción**

8
9 La producción de alimentos enfrenta una problemática muy compleja, el aumento de la
10 población impone nuevos retos para suplir sus necesidades. El cambio climático y la
11 disposición del agua causa un importante impacto en la agricultura y consecuentemente
12 en la salud humana (Zingaretti, 2012) acentuando problemas de desnutrición que, según
13 la FAO, afecta a 42.5 millones de habitantes en toda Latinoamérica (FAO, 2019). En años
14 recientes, ha crecido el interés en recuperar y valorar cultivos de alto contenido proteínico
15 y valor nutricional, que tienen un prometedor potencial de explotación y que contribuyan
16 a reducir la desnutrición, un ejemplo de éstos es la chía roja, el huauzontle y la quinua
17 pseudocereales de grano comestible (García, 2017).

18
19 Los pseudocereales (se consideran así porque sus semillas son como las de los cereales
20 ricos en materias harinosas aptas para la panificación), tienen gran relevancia dado que
21 se trata de un recurso biológico de alto valor nutritivo y gran rusticidad. Estos cultivos,
22 son muy resistentes a los climas fríos y secos, y crecen incluso en suelos pobres, además
23 tienen un alto valor nutritivo. (García *et al.*, 2009; García y De la Cruz, 2010; De la Cruz
24 *et al.*, 2013). Dentro de este grupo se encuentran los géneros, *Chenopodium* y

1 *Amaranthus*: la quinua (*Chenopodium quínoa* Willd.), la Chía roja (*Chenopodium*
2 *berlandieri* subsp. *nuttalliae*) y el Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*)
3 (García y De la Cruz, 2010; Xingú, 2010; De la Cruz, 2012).

4
5 Éstos cultivos tuvieron gran importancia alimenticia, económica y religiosa entre las
6 civilizaciones prehispánicas, dado que constituían la base de la alimentación al igual que
7 el maíz (*Zea maíz* L.) y el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (García *et al.*, 2009; Ramírez *et al.*,
8 2011). Sin embargo, a la llegada de los españoles su cultivo y consumo quedó rezagado
9 e incluso prohibido, sobreviviendo en zonas muy apartadas (García y De la Cruz, 2011).

10
11 La chía roja, el huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* razas locales 'chía
12 roja' y 'huauzontle' respectivamente) así como la quinua (*Chenopodium quinua* Willd)
13 poseen cualidades nutricionales excepcionales (12,5 a 16,7% aunque puede contener
14 hasta 23% de proteína, 5% de lípidos y 58 al 76.2 % de carbohidratos) (Medina, 2006;
15 Romo, *et al.*, 2006; Lamothe *et al.*, 2015, Yasui *et al.*, 2016), y presentan de acuerdo a
16 estudios fisiológicos gran adaptabilidad en virtud de su gran tolerancia a condiciones
17 adversas de estrés ambiental, como sequía y salinidad factores que limitan la
18 productividad (Geerts *et al.*, 2006; Morales y Zurita, 2009; Eisa *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*,
19 2012; Jacobsen *et al.*, 2012; Shabala *et al.*, 2013).

20
21 Algunas ventajas que presentan estos cultivos, es su rusticidad al ser adaptables a
22 diversos ambientes de sequía, salinidad, bajas temperaturas y suelos poco fértiles,
23 características por las que constituyen una alternativa de cultivo para las regiones
24 marginales del país, además presentan un alto valor nutritivo y alto valor dentro de la

1 clasificación de los alimentos establecidos por la FAO, por ello su importancia reside en
2 que pueden constituir una alternativa de cultivo sustentable para solventar la escasez de
3 alimentos (Bukasov, 1930; Jacobsen *et al.*, 2005; Mora *et al.*, 2006; De la Cruz *et al.*,
4 2010; Jacobsen *et al.*, 2012; Shabala *et al.* , 2013; Lamothe *et al.*, 2015, Yasui *et al.*,
5 2016).

6
7 El estudio de la diversidad genética es muy importante para la conservación, evaluación
8 y utilización de los recursos genéticos para el mejoramiento vegetal y para determinar la
9 autenticidad de cultivares o variedades, facilitando las prácticas de una agricultura
10 sustentable, que nos pueda llevar a una soberanía alimentaria. (German, 2009; Xingú,
11 2010).

12
13 En la actualidad existen varias técnicas moleculares, que nos permiten conocer la
14 variabilidad genética en las poblaciones naturales. Así bajo esta tendencia, existen varios
15 tipos de marcadores moleculares, que se utilizan en el mejoramiento genético para
16 obtener estimaciones de las distancias genéticas entre poblaciones, variedades, líneas o
17 híbridos, así como para el establecimiento de relaciones de parentesco entre líneas o
18 variedades detectando polimorfismos en loci únicos o múltiples de tipo dominante o co-
19 dominante. (Xingú, 2010; De la Cruz *et al.*, 2014). También se emplean marcadores
20 moleculares, para la caracterización genética del germoplasma de *Chenopodium*. Se han
21 utilizado para diferenciar genotipos bajo condiciones ambientales, que confundieron sus
22 fenotipos (Nolasco *et al.*, 2013). Las repeticiones simples de secuencia (SSR) son uno
23 de los marcadores moleculares frecuentemente usados para genotipificación en cultivos
24 (Jarvis *et al.*, 2008).

1
2 Los microsatélites SSR (*Simple Sequence Repeats*) o también conocidos como
3 secuencias cortas o simples, son repeticiones de mono-, di-, tri- y tetranucleótidos
4 (Rodríguez, 2008; Allende, 2014), constituidos de 2 a 10 pares de bases como unidad
5 básica, se encuentran en todo el genoma de los organismos eucariontes ya sea en
6 regiones codificantes y no codificantes (Rentarías, 2007; Allende, 2014). Técnica que
7 requiere poco ADN, sin tener una alta calidad de pureza, resultados altamente
8 polimórficos y su interpretación es relativamente sencilla (Germán, 2009; Allende, 2014).

9
10 En el presente trabajo, se muestra la caracterización molecular de 48 materiales, de la
11 colección del Instituto Nacional de investigaciones Nucleares México y del Plant Genetic
12 Resources Laboratory of Brigham Young University, USA, utilizando 14 iniciadores para
13 microsatélites desarrollados específicamente para *Chenopodium* por Maughan, *et al.*,
14 (2013), con el objetivo determinar la variabilidad genética en el germoplasma de Chía
15 roja, Huauzontle (*Chenopodium, berlandieri* subsp *nuttalliae*) y quinua (*Chenopodium*
16 *quínoa* Willd) colectado en zonas productoras del estado de México y silvestres de USA..

17

18 **Materiales y métodos**

19

20 Se evaluaron 48 genotipos entre variedades, colectas y accesiones de la colección del
21 Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) y del
22 Banco de Germoplasma del Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young
23 University. Se utilizó semilla del género *Chenopodium*: 3 colectas de *Chenopodium*
24 *berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. Huauzontle (H3, H16 y H18 del Valle de Toluca); 5

1 colectas de *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* var. Chía Roja (J.Silva, D.Oros,
2 R.Rguez, P.Bravo y Zumbaro de la rivera del Lago de Pátzcuaro, Michoacán); 2 líneas
3 avanzadas de *Chenopodium quínoa* donadas por el Banco Nacional de Germoplasma
4 del C.P. (640304 y 11L240); 4 líneas de *Chenopodium quínoa* obtenidas por mutagénesis
5 radioinducida (ININ136, ININ240, ININ311 y ININ333); una línea F1 procedente de la
6 cruza (42AdeM X Chía roja) y 33 colectas de *Chenopodium berlandieri* ssp. donadas del
7 Banco de Germoplasma del Plant Genetic Resources Laboratory of BYU.

8

9 **Caracterización Molecular.**

10

11 Para la extracción molecular, se utilizó el tejido foliar sano de plantas de 30 días después
12 de la siembra (dds) establecidas bajo condiciones de invernadero. La muestra de tejido
13 foliar (4 hojas) se introdujo en microtubos eppendorf para colocarlas en la cámara de
14 liofilización con un secador de congelación a 0,7 atm de presión por 24 hrs. El tejido filiar
15 liofilizado fue molido en un molino Retsch-Mill 200. La extracción del ADN se realizó de
16 acuerdo con los procedimientos descritos por Maughan *et al.*, (2013). El ADN extraído se
17 cuantificó con un espectrofotómetro y se diluyó a aproximadamente 30 ng \ Delta L \ beta
18 1 en Solución Buffer TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,5).

19

20

21

22

23 **Tabla 1.** Material genético y procedencia de *Chenopodium* utilizados para la evaluación
24 de diversidad genética, mediante repeticiones de secuencias simples (SSR) (Parte 1).

N o.	Genotipo	Especie	Var.	Localidad	Cuidad	Estado	País
1	H-3	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	huauzontle	Atacomulco	Toluca	Edo. Méx.	México
2	H-16	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	huauzontle	San Andrés Cuexcontitlán	Toluca	Edo. Méx.	México
3	H-18	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	huauzontle	Valle de Toluca	Toluca	Edo. Méx.	México
4	J.Silva	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	Chía roja	Opopeo	S. Escalante	Mich. Méx.	México
5	D.Oros	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	Chía roja	Opopeo	S. Escalante	Mich. Méx.	México
6	R.Rguez	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	Chía roja	Sta. Ma. Huiramangaro	Pátzcuaro	Mich. Méx.	México
7	P.Bravo	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	Chía roja	Opopeo	S. Escalante	Mich. Méx.	México
8	Zumbaro	<i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	Chía roja	Sta. Ma. Huiramangaro	Pátzcuaro	Mich. Méx.	México
9	640304	<i>C. quinoa</i>	quinoa	C.P.	Texcoco	Edo. Méx.	México
10	11L240	<i>C. quinoa</i>	quinoa	C.P.	Texcoco	Edo. Méx.	México
11	ININ136	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
12	ININ240	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
13	42Ade M x CR	<i>C. quinoa</i> x <i>C. berlandieri</i> <i>subsp. nuttalliae</i>	Cruza F1	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
14	ININ311	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México

1 **Tabla 2.** Material genético y procedencia de *Chenopodium* utilizados para la evaluación
 2 de diversidad genética, mediante repeticiones de secuencias simples (SSR) (Parte 2).

N o.	Genotipo	Especie	Var.	Localidad	Cuidad	Estado	País
15	ININ333	<i>C. quinoa</i>	quinoa mutante	ININ	La Marquesa	Edo. Méx.	México
16	HBYU MEX	<i>C. berlandieri</i>	huauzontle	Provo	BYU	UT	USA
17	BYU 14108	<i>C. berlandieri</i>	Sinuatum	AZ Hwy 181	Cochise	UT	USA
18	402	<i>C. berlandieri</i>	----- --	Torrey Pines	San Diego	CA	USA
19	423	<i>C. berlandieri</i>	zschacker	-----	L. Á.	CA	USA
20	447	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Orem	Utah	UT	USA
21	457	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	Dúchense	UT	USA
22	505	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	Garfield	UT	USA
23	544	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	-----	Yavapai	AZ	USA
24	629	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	S of Lusk	Niobrara	WY	USA
25	641	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Pine Creek Ranch	Sanpete	UT	USA
26	642	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	1 mi S of Ephraim	Sanpete	UT	USA
27	880	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Ramah	McKinley	NM	USA
28	881	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Provo	Utah	UT	USA
29	882	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Spanish Fork Cyn	Utah	UT	USA
30	902	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Laguna Mts	San Diego	CA	USA
31	922	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	BYU	Provo	UT	USA
32	937	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Galveston, Virginia Point	Brazoria	TX	USA
33	1007	<i>C. berlandieri</i>	zschacke	Kyle Cyn. Rd., Spring Mts	Clark	NV	USA

34	1301	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Eagle Point Marina, St. Leon	Galveston	TX	USA
35	1303	<i>C. berlandieri</i>	----- --	Kamas Valley	Summit	UT	USA
36	1306	<i>C. berlandieri</i>	----- --	N Amstrong Rd	Clark	NV	USA
37	1312	<i>C. berlandieri</i>	----- --	Cty Rd C	St. Charles	MO	USA
38	1316	<i>C. berlandieri</i>	----- --	N P. I-15 Frontage RD	Iron	UT	USA
39	1448	<i>C. berlandieri</i>	Zschacke	Sherman Oaks	L. Á.	CA	USA
40	1449	<i>C. berlandieri</i> + <i>C. boscianum</i>	----- --	Sherman Oaks	L. Á.	CA	USA
41	1452	<i>C. berlandieri</i>	Zschacke	Big Tujunga Cyn.	L. Á.	CA	USA
42	1454	<i>C. album</i>	----- --	Big Tujunga Cyn.	L. Á.	CA	USA
43	1455	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Cypremort Point	St. Mary	LA	USA
44	1456	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Cypremort Point	St. Mary	LA	USA
45	1457	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Golden Meadow	Lafourche	LA	USA
46	1458	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Golden Meadow	Lafourche	LA	USA
47	1459	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Point Fourchon	Lafourche	LA	USA
48	1460	<i>C. berlandieri</i>	boscianum	Grand Isle	Jefferson	LA	USA

1

2

3 Todas las plantas se cultivaron en el invernadero del Plant Genetic Resources Laboratory

4 de Brigham Young University en macetas de 15 cm, a 25°C bajo lámparas halógenas con

5 un fotoperiodo de 12 h.

6

7

1 **Iniciadores SSR utilizados**

2

3 Se utilizaron 14 iniciadores microsatélites, específicos para *Chenopodium* para el estudio

4 de diversidad genética de los 48 genotipos QCA37, KGA20, QAAT74, QAAT50, QAAT70,

5 QGA02, QCA14, KGA16, QCA57, QCA88, QAAT76, QAAT78, QCA38 y QAAT24, éstos

6 se obtuvieron para caracterizar molecularmente variedades de quinua y fueron

7 desarrollados por Mason *et al*, (2005) (Fuentes, 2009; Ormeño, 2015).

8

9 Tabla 3. Lista de Primers y secuencias utilizados en el estudio.

No	Primer	Secuencia forward (5'- 3')	Secuencia reverse (5'- 3')	Temp
1	QCA37	gcttctccgttctccagaccaattc	tcatgagccacttcatacacg	66
2	KGA20	gcttctcacctacctcggtaaaggaaa	ggagcagatgatgaacatgg	64
3	QAAT7	gcttctatggaacacccatccgataa	atgcctatcctcatcctcca	66
4	QAAT5	ggcacgtgctgctactcata	gcttctatggcaatggtaaatt	68
5	QAAT7	tgaacaggatcgatcatagtcaa	gc gcttctcgttcatcatctgacca	64
6	QGA02	gcttctgaaccttaataggtcgtaccaa	at aagaaatgtcacaagcaagca	64
7	QCA14	gcttctccctgagctgattatcaaagga	cctcttgcgagatttctgct	66
8	KGA16	ccctgctaatactccgtgaa	gcttctccgaaccaagactacg aaaca	65
9	QCA57	gcttctgcaaggaaacctcttgg	tgctcacagtcacacctaca	69
10	QCA88	gcttcttctggctgctccaccta	cagtcccggaatcgtaactc	66
11	QAAT7	gcttcatgtgtataaaaatgccaat	gcttcttctcggctcccactaatt	63
12	QAAT7	agcgaaggaaattggaact	t gcttctaacgatacgctccaag	63
13	QCA38	gcttctcattcccaaactgcatgaat	gaa atgtgtgtgcgtgtgagtg	67
14	QAAT2	gcttctaccataacagcaccacct	agggatcaatctgttcattca	62

10

11

1 **Amplificación de SSR mediante PCR.**

2
3 Las amplificaciones por PCR, se realizaron en 12 μ l reacciones consistentes en 3,0 μ L
4 (30 ng / μ L) de ADN, 0,5 μ l de cada 10 μ M Cebador directo e inverso, 6,0 μ L de MyTaq
5 HS Red Master Mix (Bioline, Taunton, Massachusetts, EE.UU.), y 2,0 μ L de ddH₂O.
6 Se realizaron reacciones de PCR Usando un termociclador C1000 o T100 (Bio-Rad,
7 Applied Biosystems, Foster City, California, EE.UU.) con los siguientes parámetros: 95°C
8 durante 60 s; 35 ciclos de 95 °C durante 15 s, 60 °C durante 15 s, y 72 °C durante 10 s;
9 y una sola final ciclo de extensión de 72 °C durante 60 s.

10

11 **Electroforesis de productos amplificados**

12
13 La electroforesis de los productos amplificados, se hizo en una cámara de electroforesis
14 horizontal, con gel de agarosa al 1.5% (250 ml de TBE, 7.5 g de agarosa y 12.5 μ l de
15 midori green). Las muestras de ADN fueron colocadas en el Gel, el cual se cubrió con
16 amortiguador TBE y se conectó a la fuente de poder BIO-RAD (Power-PAC 300) durante
17 30 min. Al termino del tiempo, el gel se lavó con agua destilada y se colocó en un
18 transiluminador de luz ultravioleta (UV) BIO-RAD Modelo Universal Hood II y por medio
19 del programa Quantity one los geles se registraron y guardaron en una base de datos.

20

21 **Análisis estadístico**

22

23 Para el análisis estadístico se generó una matriz binaria de ausencia (0) y presente (1).
24 Las bandas difusas no se consideraron, la similitud genética entre individuos se evaluó

1 utilizando el coeficiente de similitud de Jaccard. El análisis de conglomerados fue
2 Realizado por el método UPGMA. El dendrograma correspondiente, fue generado
3 utilizando el paquete estadístico NTSYS (Numerical Sistema Taxonomía para Ordenador
4 Personal, versión PC 2.02). Para determinar las similitudes entre los genotipos en
5 cuestión.

6

7 **Resultados y discusión**

8

9 Los resultados indican que, dentro de la población de 48 genotipos de los Bancos de
10 Germoplasma, del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares y el de Plant Genetic
11 Resources Laboratory of BYU, 14 loci SSR se produjeron 175 alelos, que van de 8
12 (KGA16, QCA88) a 16 (QCA37, QAAT74, QCA57) siendo estos los que más alelos por
13 locus se observaron y siendo el iniciador QAAT74 que coincide con el trabajo de Ormeño,
14 2015, como uno de los que se obtuvo mayor cantidad de alelos observados y
15 contrariamente el QCA88 con menos con alelos y utilizado en el trabajo de Donaire, 2018
16 con alto número de alelos. Esto nos dice que en cada trabajo donde son utilizados actúan
17 de manera muy diferente.

18

19 **Análisis de agrupamiento**

20

21 El análisis se realizó utilizando los datos obtenidos de 14 locus registrados para 48
22 genotipos entre variedades, colectas y accesiones de la colección del Banco de
23 Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) y del Banco de

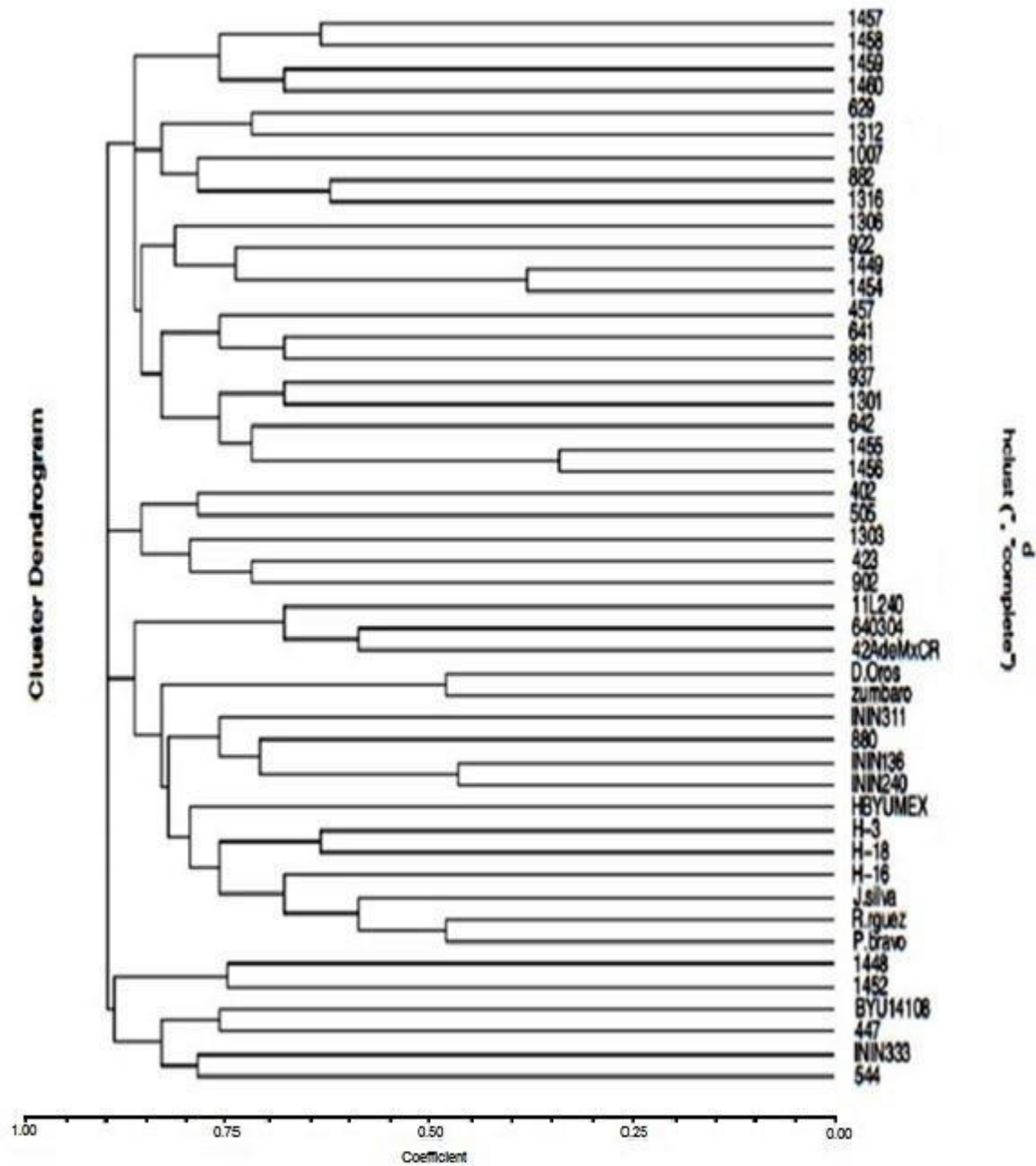
1 Germoplasma del Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young University de
2 quinua, Chía roja y Huauzontle.

3

4 De los resultados obtenidos se puede tener una idea aproximada acerca de la diversidad
5 genética de las muestras analizadas contenida en la información de los microsatélites. El
6 objetivo del análisis de conglomerados es formar grupos en donde los individuos en cada
7 grupo sean lo más parecido entre sí que con los individuos de otro grupo (allende, 2017).

8

9 Para visualizar las relaciones entre poblaciones según su distancia se construyó un
10 dendrograma o encadenamiento promedio (jerárquico).



1
2 **Figura 1.** Dendrograma de 48 genotipos de *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae* y
3 *Chenopodium quínoa* a partir de datos moleculares de SSR basado en la distancia
4 genética.

5

1 En el dendrograma de la figura 1, se puede apreciar que a un coeficiente de 0.90 se
2 formaron 4 grupos que a diferencia de Ormeño, 2015 donde solo se evaluaron 16
3 genotipos, se formaron 6 grupos y en Xingú, 2018, donde evaluó 38 genotipos 10 menos
4 que en este estudio se formaron 6 grupos.

5
6 El grupo 1, constó de 4 genotipos, dos líneas avanzadas (11L240 y 640304) de quinua,
7 una F1 de cruce simple entre quinua y chía roja (42AdeMXCR) y una Chía Roja (D.Oros);

8
9 El grupo dos, se constituyó de siete genotipos, una Chía roja (Zumbaro), 3 quinuas
10 mutantes (ININ311, ININ136 y ININ240), 2 Huauzontles (H-3 y H-18) y una colecta de
11 BYU de *Chenopodium berlandieri* (HBYUMEX), que, a diferencia de Allende, 2014 hay
12 una separación entre los huauzontle y las Chías.

13
14 Los grupos 3, 4 y 5 solo tuvieron dos genotipos cada uno: El grupo 3 un Huauzontle (H-
15 16) y una Chía roja (J.Silva). El grupo 4, dos genotipos de Chía roja (R.riguez y P.Bravo).
16 El grupo 5 se formó de una colecta de BYU de *C. berlandieri* (BYU14108) y una quinua
17 mutante (ININ333).

18
19 **Conclusiones**

20
21 De la presente investigación se derivaron las siguientes conclusiones. El ADN que se
22 extrajo tuvo una pureza que oscilo entre 1.2 y 2%. Con concentraciones entre 356 y 2209
23 µg/ml. El peso molecular fue mayor a >622 pb.

24

1 Los 14 iniciadores revelaron polimorfismo entre genotipos, que mostraron un total de
2 1634 bandas con un 97.22% de polimorfismo. El iniciador QCA0005, fue el que presento
3 el mayor polimorfismo.

4
5 Mediante la técnica de amplificación, se pudo apreciar el marcado polimorfismo en los
6 diferentes Primers. Los marcadores QCA38, QCA02 y QAAT70, tuvieron que
7 descartarse, por no presentar banda alguna.

8
9 El dendrograma muestra dos grupos muy interesantes como el grupo 1 y 2 de las líneas
10 avanzadas de quinua, se unen con Chía roja y quinuas mutantes con Chía roja y
11 Huauzontle y en los grupos 3 y 4 todo el germoplasma del Plant Genetic Resources
12 Laboratory of BYU

13

14 **Literatura citada.**

15

16 Allende, C. M. J. 2017. Caracterización morfológica y molecular de accesiones de Quinoa
17 (*Chenopodium quinoa* Willd.) para estimar variabilidad genética. Tesis.
18 Universidad Nacional Agraria La Molina Escuela de Posgrado Maestría en
19 Mejoramiento Genético de Plantas. Lima - Perú. pp. 1-90.

20

21 Allende, C. L. 2014. Estudio de radiosensibilidad de pseudocereales mediante
22 marcadores moleculares y microscopía electrónica. (Tesis Licenciatura), Facultad
23 de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México.

24

- 1 De la Cruz, T.E, Xingú L. A., García A. J. M, Germán V. I. y Germán V. G. 2010. Aplicación
2 de técnicas moleculares en el estudio del huauzontle, cultivo prehispánico
3 alternativo para zonas agrícolas, Rev. Div. Contacto Nuclear ININ, No. 55, pp. 16-
4 21.
- 5
- 6 De la Cruz, T. E. 2012. Improvement of pseudocereals native to Mexico by radioinduced
7 mutagenesis for high yield and enhanced adaptability to climate change, IAEA
8 RESEACH
- 9
- 10 De la-Cruz, T. E., Palomino, H. G., García, A. J. M., Mapes, S. C., González, J. J., Falcón,
11 B. T. y Vázquez, A. O. 2013. The genus *Chenopodium*: A potential Food Source.
12 3-32. En: S. M. Jain y S. D. Gupta (Eds.). Biotechnology of neglected and
13 underutilized crops. Springer. London, Estados Unidos. 459
- 14
- 15 De la Cruz, T. E., Xingú L. A., García A. J. M., Germán V. I. y Germán V. G. 2014.
16 Aplicación de técnicas moleculares en el estudio del huauzontle, cultivo
17 prehispánico alternativo para zonas agrícolas. Instituto Nacional de
18 Investigaciones Nucleares, Rev. Div. Contacto Nuclear # 55, México pp. 16-21
- 19
- 20 Donaire, T. G. V. 2018. Caracterización molecular de 75 accesiones de quinua
21 (*Chenopodium quínoa* Willd) del departamento de puno mediante marcadores
22 microsátélites. Tesis, Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de
23 Ciencias. Lima - Perú. pp. 1-122.
- 24

- 1 Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N. and Koyro, H. W. 2012. Effect of NaCl salinity on water
2 relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium*
3 *quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. Australian Journal of Crop
4 Science. AJCS 6(2): pp. 357-368.
- 5
- 6 FAO 2019. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe
7 <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/1201490> (Consultado 03 de marzo 2021).
8
- 9 Fuentes, F. F., Martinez, E. A., Hinrichsen, P. V., Jellen, E. N. and Maughan, P. J. 2009.
10 Assessment of genetic diversity patterns in Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa*
11 Willd.) germplasm using multiplex fluorescent microsatellite markers. Conserv.
12 Genetics. pp. 369-377.
- 13
- 14 García, A. J. M., De la Cruz, T. E y Cristina M. S. 2009. Cultivo de chías *Chenopodium* y
15 *Amaranthus* en la meseta purépecha conservando el germoplasma y promoviendo
16 la sustentabilidad. X Simposio Internacional y V Congreso Nacional de Agricultura
17 Sostenible. "Agricultura Sostenible: Realidades y Desafíos" Tuxtla Gutiérrez,
18 Chiapas, México. pp. 180-186.
- 19
- 20 García, A. J. M. y De la Cruz T. E. 2010. Las chías de México, Instituto Nacional de
21 Investigaciones Nucleares, Rev. Div. Contacto Nuclear # 59, México pp. 14-18
22
- 23 García, A. J. M. y De la Cruz, T. E. 2011. Las chías, importantes pseudocereales de
24 México. XI Simposio Internacional y VI Congreso Nacional de Agricultura

1 Sostenible, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S. L. P.,
2 México.
3
4 García, A. J. M. 2017. Caracterización molecular de *Chenopodium* mediante SSR.
5 Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Informe Técnico Científico GB
6 209/2017. pp. 1-3.
7
8 Geerts, S., Santos, M. R., Garcia, M. and Raes, D. 2006. Response of Quinoa
9 (*Chenopodium Quinoa* Willd.) to Differential Drought Stress in The Bolivian
10 Altiplano: Towards a Deficit Irrigation Strategy Within A Water Scarce Region.
11 Universidad de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz Bolivia. pp. 1-9.
12
13 Germán V. I. 2009. Caracterización molecular de 23 colectas de Huauzontle
14 *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* Mediante RAPDS (Random amplified
15 polymorphis) en el Valle de Toluca. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma
16 del Estado de México, México, pp. 1-30, 34-40.
17
18 Jacobsen SE, Jensen CR, Liu F 2012. Improving crop production in the arid
19 Mediterranean climate. *Field Crop Res.* 128:34-47.
20
21 Jarvis D, Kopp O, Jellen E, Marllory M, Pattee J, Bonifacio A, Coleman C, Stevens M,
22 Fairbanks D, Maughan P 2008. Simple sequence repeat marker development and
23 genetic mapping in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *J. Genet.* 87(1):39-51.
24

1 Lamothe LM, Srichuwong S, Reuhs BL, Hamaker BR 2015. Quinoa (*Chenopodium quinoa*
2 W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic
3 substances and xyloglucans. Food Chem. 167(1):490-496.
4

5 Medina, F. J. 2006. Composición nutricional de la quinua.
6 [http://xa.yimg.com/kq/groups/21260884/1421089015/name/Composici%C3%B3n](http://xa.yimg.com/kq/groups/21260884/1421089015/name/Composici%C3%B3n+Nutricional+de+la+Quinoa.doc)
7 [+Nutricional+de+la+Quinoa.doc](http://xa.yimg.com/kq/groups/21260884/1421089015/name/Composici%C3%B3n+Nutricional+de+la+Quinoa.doc).) (Consultado 11 de mayo 2013).
8

9 Morales, A. y Zurita, A. 2009. La quinua como fuente de genes de resistencia a estrés
10 por sequía. Centro Estudios Avanzados en Zonas Áridas, CEAZA. La Serena,
11 Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. pp. 1-8.
12

13 Mason SL, Stevens MR, Jellen EN, Bonifacio A, Fairbanks DJ, Coleman CE, McCarty
14 RR, Rasmussen AG, Maughan PJ 2005. Development and use of microsatellite
15 markers for germplasm characterization in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.).
16 Crop Sci 45:1618-1630.
17

18 Maughan, P. J., Jellen E, Stevens M, Coleman C, Ricks M, Mason S, Jarvis D, Gardunia
19 B, Fairbanks D 2013. DNA Microprep Extraction. Plant Genetic Resources
20 Laboratory of Brigham Young University (BYU). USA. pp. 1-3.
21

22 Nolasco O, Cruz Wilbert, Santa Cruz C, Gutiérrez A 2013. Evaluation of the DNA
23 polymorphism of six varieties of *Chenopodium quinoa* Willd, using AFLP. Biologist
24 11(2):277-286.

- 1
- 2 Ormeño, Z. J. 2015. Agrupamiento de 16 accesiones peruanas de quinua (*Chenopodium*
3 *quínoa* Willd.) En relación al origen utilizando marcadores SSR. Tesis Licenciatura.
4 Universidad Agraria La Molina, Facultad de Ciencias, Lima Perú. pp. 1-88.
5
- 6 Ramírez, V. M. L., Espítia R. E., Carballo C. A., Zepeda B. R., Vaquera H. H. y Córdova
7 T. L. 2011. Fertilization and plant density in varieties of amaranth (*Amaranthus*
8 *hypochondriacus* L.). Rev. Méx. De Ciencias Agrícolas. Vol. 2, núm. 6. pp. 855-
9 866.
10
- 11 Rentarías A. M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. In Eguiarte L. E.,
12 Souza V. y X. Aguirre (Edits.), Ecología molecular, las herramientas moleculares,
13 pp- 541- 566.
14
- 15 Rodríguez B. A. 2008. Evaluación de la diversidad genética de 7 especies del género
16 *Cosmos Cav.* Mediante marcadores moleculares (RAPD y ASSR). Tesis de
17 licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México, México, 21-48.
18
- 19 Romo, S., Rosero, A., Forero, C. L. y Ceron, E. 2006. Potencial nutricional de harinas de
20 quinua (*Chenopodium quínoa* Willd) variedad Piartal en los Andes Colombianos
21 Primera Parte. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol 4 No.1 pp. 113-125.
22

- 1 Ruiz, R. S., Valdés, O. A., Facio, P. F., Arce, G. L. 2012. Efecto de diferentes niveles de
2 salinidad en la germinación y vigor de semillas de cinco gramíneas forrajeras.
3 Agraria, vol (9)_No.(1)_A2. pp.7-13.
4
- 5 Shabala S, Hariadi Y, Jacobsen SE 2013. Genotypic difference in salinity tolerance in
6 quinoa is determined by differential control of xylem Na⁺ loading and stomatal
7 density. J. Plant Physiol. 170(10):906-914.
8
- 9 Xingú, L. A. 2010. Caracterización del germoplasma de Huauzontle (*Chenopodium*
10 *berlandieri* subsp. *nuttalliae*) en el Estado de México mediante técnicas
11 moleculares (SSR), Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de
12 México.
13
- 14 Xingú, L. A., Balbuena, M. A., Laguna, C. A., L. G. Iglesias, A.L.G., Olivares, C. V. y De
15 la Cruz, T. E. 2018. Caracterización de huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp
16 *nuttalliae*) del Estado de México mediante microsatélites. *Ciencia y Technol. Agrop.*
17 *México* Vol. 6 Núm. 2: 9-16.
18
- 19 Yasui Y, Hirakawa H, Oikawa T, Toyoshima M, Matsuzaki C, Ueno M, Mizuno N,
20 Nagatoshi Y, Imamura T, Miyago M, Tanaka K, Mise K, Tanaka T, Mizukoshi H,
21 Mori M, Fujita Y 2016. Draft genome sequence of an inbred line of *Chenopodium*
22 *quinoa*, an allotetraploid crop with great environmental adaptability and outstanding
23 nutritional properties. DNA Res. 23(6):535-546.
24

1 Zingaretti, M. S., Cascaes, I. M., de Matos, P L., Antunes P.T. and De Castro F. S. 2012.
2 Water Stress and Agriculture. INTECH. <http://dx.doi.org/10.5772/53877> Chapter 7.
3 [pp. 151-179](#). (Consultado 17 de febrero 2014).

4
5

IX. DISCUSIÓN GENERAL

El principal objetivo del estudio fue caracterizar la diversidad genética de 17 genotipos de *C. quinoa* y *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*. Esto nos da una idea del parentesco que existe entre estos pseudocereales Andinos, mexicanos y de USA y nos ayudará a continuar en el proceso de mejoramiento de nuestra colección ya que se podría seguir utilizando en estrategias de hibridación (Morillo *et al.*, 2017).

La determinación de la pureza y concentración del ADN de los pseudocereales (*C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*, *C. quinoa* Willd y *C. berlandieri*) mediante la relación de la lectura de absorbancia de A260/A280 proporcionó un estimado de pureza. Dicha relación en una muestra pura de ADN registraría un valor de entre 1.91 a 2.29 los cuales se consideran aceptables para utilizarse en la técnica SSR (Xingú, 2010).

En dendrograma nos mostró la formación de tres grupos discretos Figura 3 que a diferencia de (Morillo *et al.*, 2017; Romo, *et al.*, 2006 y Xingú, 2010) en donde se formándose 4, 7 y 10 grupos respectivamente utilizando un análisis de rasgos morfológicos.

Los resultados indican que, dentro de la población de 48 genotipos de los Bancos de Germoplasma, del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares y el de Plant Genetic Resources Laboratory of BYU, 14 loci SSR se produjeron 175 alelos, que van de 8 (KGA16, QCA88) a 16 (QCA37, QAAT74, QCA57) siendo estos los que más alelos por locus se observaron y siendo el iniciador QAAT74 que coincide con el trabajo de Ormeño, (2015), como uno de los que se obtuvo mayor cantidad de alelos observados y contrariamente el QCA88 con menos con alelos y utilizado en el trabajo de Donaire, (2018), con alto número de alelos. Esto nos dice que en cada trabajo donde son utilizados actúan de manera muy diferente.

Análisis de agrupamiento

El análisis se realizó utilizando los datos obtenidos de 14 locus registrados para 48 genotipos entre variedades, colectas y accesiones de la colección del Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) y del Banco de Germoplasma del Plant Genetic Resources Laboratory of Brigham Young University de quinua, Chía roja y Huauzontle.

De los resultados obtenidos se puede tener una idea aproximada acerca de la diversidad genética de las muestras analizadas contenida en la información de los microsatélites. El objetivo del análisis de conglomerados es formar grupos en donde los individuos en cada grupo sean lo más parecido entre sí que con los individuos de otro grupo (Allende, 2017).

Para visualizar las relaciones entre poblaciones según su distancia se construyó un dendrograma o encadenamiento promedio (jerárquico).

X. CONCLUSIONES GENERALES

De la presente investigación se derivaron las siguientes conclusiones:

La caracterización mostró una amplia variabilidad molecular entre las 48 accesiones evaluadas

El ADN que se extrajo tuvo una pureza que osciló entre 1.2 y 2%. Con concentraciones entre 356 y 2209 $\mu\text{g/ml}$. El peso molecular fue mayor a >622 pb.

Los 14 iniciadores revelaron polimorfismo entre genotipos, que mostraron un total de 1634 bandas con un 97.22% de polimorfismo. El iniciador QCA0005, fue el que presentó el mayor polimorfismo

Los marcadores SSR permitieron determinar la variabilidad genética de los genotipos evaluados agrupándolos en diferentes grupos.

Mediante la técnica de amplificación, se pudo apreciar el marcado polimorfismo en los diferentes iniciadores. Los marcadores QCA38, QCA48, QCA02 y QAAT70, tuvieron que descartarse, por no presentar banda alguna.

El dendrograma muestra dos grupos muy interesantes como el grupo 1 y 2 de las líneas avanzadas de quinua, se unen con chíá roja y quinuas mutantes con chíá roja y huauzontle y en los grupos 3 y 4 todo el germoplasma del Plant Genetic Resources Laboratory de BYU. También hubo grupos que mostraron gran variación genética y dentro de estos se formaron subgrupos donde se combinaron líneas avanzadas de quinua con chíá roja y quinuas mutantes con chíá roja y huauzontle de acuerdo con similitudes o diferencias genéticas que existen entre géneros.

Los agrupamientos nos dan una idea del parentesco que existe entre estos pseudocereales andinos, mexicanos, americanos y mutantes y nos ayudará a continuar en el

proceso de mejoramiento de nuestra colección ya que se podría seguir utilizando en estrategias de hibridación combinando materiales de porte bajo, de alta productividad y de contenido proteínico al igual que los silvestres y semidomesticados.

XII. RECOMENDACIONES.

Completar el análisis molecular con el análisis morfológico para identificar, seleccionar y determinar relaciones en la variabilidad genética entre Chía roja, huauzontle, quinua y quelites.

Se recomienda ampliar las colecciones de muestra y establecer posibles relaciones filogenéticas según los análisis dendrológicos.

Realizar la caracterización fenológica y morfológica de los materiales con indicadores agronómicas, con el fin de verificar la clasificación correcta en el banco de germoplasma.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aceves N.E. (1979). El ensalitramiento de los suelos bajo riego. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. P 160-289.

Adal, A. M., Z. A. Demissie, S. S. Mahmoud (2015). Identification, validation and cross-species transferability of novel Lavandula EST-SSRs. *Planta* 241:987-1004.

Allende, C. M. J. (2017). Caracterización Morfológica y Molecular de accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) para Estimar Variabilidad Genética. Tesis Escuela de Postgrado, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima Perú. pp. 1-63.

Allende, C. L. (2014). Estudio de radiosensibilidad de pseudocereales mediante marcadores moleculares y microscopia electrónica. Tesis Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México. pp. 15-103.

Arenas, M. V. E. (2018). Análisis de la diversidad genética y estructura poblacional en genotipos de quínoa chilena (*Chenopodium quinoa* Willd.) usando Microsatélites. Tesis Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias de la Vida, Escuela en Ingeniería en Biotecnología, Santiago de Chile. pp. 7-14.

Azhar, M., M. Amjad, M. Qasim, Y. Doğan, G. Comertpay, M. Yıldız, R. Hatipoğlu, F. Ahmad, A- Alsaleh, N. Labhane, H. Özkan, G. Chung and F. Shehzad. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32:21-285.

Basset, J. y Cromptn, W. (1982). The genus *Chenopodium* in Canada. *Can. J. Bot.* **60**: 86-610.

Bonifacio, A., Mujica, A., Álvarez, A., y Roca, W. (2001). Mejoramiento genético, germoplasma y producción de semilla. *Cultivos Andinos.*, Santiago, Chile. P.

Bonifacio, A., Vargas, M. A. (2003). Interspecific Hybridization and Restoration of Fertility in the Offspring of Hybrids. Informe anual, Fundación PROINPA, Cochabamba, Bolivia.

Bournof-Radosevich, M. Paupardin, C. (1985). Vegetative propagation of *Chenopodium quinoa* by shoot tip culture. *Amer. J. Bot.* 72(2) 278-283.

Canahua, A. (1997). Observaciones del comportamiento de la quinua a la sequía. En Proc. I Congreso Internacional de Cultivos Andinos, Ayacucho. Perú. pp. 390-392.

Coras M.P.M.R; Arteaga R. y M.A. Vázquez P. (1992). Niveles freáticos someros y los problemas de salinidad y sodicidad en los suelos. Ejido San Martín Netzahualcóyotl, Estado de México. En Memoria de XXV Congreso Nacional de Ciencias del Suelo. Acapulco, Guerrero. 418 p.

Costa, T. S. M., Manifesto, M. M. y Bertero, H. D. (2009). Evaluación de cuarenta genotipos de quinua (*Chenopodium quinua* Willd) al déficit hídrico en cuatro fases fenológicas. Tesis Sudamérica. Instituto de Recursos Biológicos CIRN-INTA, Facultad de Agronomía (UBA), Argentina. pp. 1-7.

Costa, T. S. M. (2014). Variabilidad genética de *Chenopodium quinoa* Willd. en el Noroeste Argentino y su relación con la dispersión de la especie. Tesis Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina. pp. 15-144.

Chávez A. J. L. (1993). Mejoramiento de plantas 1, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro., Segunda edición Ed. Trillas, México, D. F.

Cubero, J.I. (2003). Introducción a la mejora genética vegetal. 2a.ed.: Mundi-Prensa. España 567 p. 567-570.

De la Cruz T. E. A. Rubluo I., G. Palomino H., García A. J. M. y Laguna C. A. (2004). Characterization of *Chenopodium* germplasm, selection of putative mutants, and its

cytogenetic study IAEA. Technical Document. Neglected and underutilized crops. pp. 114-124.

De la Cruz T. E., Ávila R. S. y García R. A. (2006a). Caracterización bromatológica de líneas mutantes de *Chenopodium quinoa* Willd. XXI Congreso Nacional de Fitogenética. Tuxtla Gutiérrez Chis. Septiembre de 2006. Memorias en Disco Compacto.

De la Cruz T.E., Martínez G. N. C., y García R. A. (2006b). Análisis físico y bromatológico de razas locales de pseudocereales. XXI Congreso Nacional de Fitogenética. Tuxtla Gutiérrez Chis. Septiembre de 2006. Memorias en Disco Compacto.

De la Cruz T.E., Mapes S. C., García A. J. M., Pérez A. E., González J. J., Falcón BT, López M. A. (2006c). Colecta, Caracterización, Conservación y Mejoramiento de pseudocereales Nativos de México. En: López LP y Montes HS. (eds) Avances en la investigación de la Red de Hortalizas del SINAREFI. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. México. pp. 512-464.

De la Cruz T. E., González R. B., García A. J. M. y Laguna C. A. (2007). Comportamiento agronómico de genotipos de pseudocereales sometidos a condiciones de sequía y salinidad. XVI Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. Centro Nuclear., México, D.F. 059, Memorias en Disco Compacto.

De la Cruz T. E. (2012). Improvement of pseudocereals native to Mexico by radioinduced mutagenesis for high yield and enhanced adaptability to climate change, IAEA RESEACH

De la Cruz, E.; Palomino, G.; García, A. J. M.; Mapes, C.; González, J.; Falcón, T. y Vázquez, O. (2013). “The Genus *Chenopodium*: A potential Food Source”. En S.M. JAIN y S. DUTTA GUPTA (eds.): *Biotechnology of Neglected and Underutilized Crops*. Springer Science+Business Media, Dordrecht: Capítulo 1:1-29.

Dellaporta, S.L., J. Wood and J.E. Hicks (1983). A plant DNA miniprep: Version II. *Pl. mol. Biol. Rep.* 1:19-21.

Eisa, S., Hussin, S., Geissler, N. and Koyro, H. W. (2012). Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. *Australian Journal of Crop Science*. *AJCS* 6(2): pp. 357-368.

Espíndola, C. G. (1986). Respuestas fisiológicas, morfológicas y agronómicas de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) al déficit hídrico. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. 100p.

Fernández, H., Soto, E., Salazar, E. y Betancourt, M. (2011). Análisis RAPD entre y dentro de poblaciones derivadas de girasol silvestre x cultivado. *Agronomía Tropical* 60 (3): pp. 263-269.

Flores, R. D.A. (2012). Estudio de radiosensibilidad en colectas sobresalientes de *Chenopodium* y *Amaranthus*. Tesis Tecnológico de Estudios Superiores Huixquilucan, Huixquilucan Estado de México, pp. 6-108.

Funes, F. N. (2017). Caracterización molecular de una colección núcleo de germoplasma de maní (*Arachis hypogaea* l.) mediante el empleo de marcadores microsatélites. Tesina, Universidad Nacional de Villa María, Instituto Académico-Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas. Córdoba, Argentina. pp. 9-18.

García, A. J. M. y De la Cruz, T. E. (2004). Evaluación de caracteres de rendimiento de líneas y mutantes de *Chenopodium*. Memorias del XX Congreso Nacional de Fitogenética, Estado de México. 03_etc. pp. 1-4.

García, A. J. M. (2005). Caracterización de germoplasma de quinoa y estudio de su diversidad genética. Tesis de Maestría en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales. Universidad autónoma del Estado de México. pp 7-10.

García A. J. M., López M. A. y De la Cruz T. E. (2006). Caracterización de los sistemas de producción de pseudocereales en la zona purépecha. XXI Congreso Nacional y Primer Internacional de Fitogenética, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Memorias en Disco Compacto.

García A. J. M. y De la Cruz T. E. (2007). Hibridación en pseudocereales. Informe Técnico GCB – 041/2007.

García, A. J. M. y De la Cruz T. E. (2008). Hibridaciones interespecíficas en pseudocereales. Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. pp.18-22.

García A. J. M. y De la Cruz T. E. (2010). Evaluación morfológica de la F1 obtenida mediante hibridaciones interespecíficas entre quinua, chíá roja y huauzontle. Informe Técnico CB 019/2010

García A. J. M. y De la Cruz T. E. (2011). Las chías de México, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Rev. Div. Contacto Nuclear, México pp. 14-18

García A. J. M., De La Cruz T. E., López M. A., Ibáñez M. M. y Rubí A. M. (2012). Descripción Morfológica y Usos de Opohuira var. Chíá Roja (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) y de Huirapeo var. Chíá negra o Prieta (*Amaranthus hypochondriacus* Raza Mixteca). 1er

Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Agropecuaria y 1er Simposium en Producción y Tecnología de Semillas., Roque, Celaya, Guanajuato.

García, A. J. M.; De la Cruz, E. y Mapes C. (2013). “Cultivos de chías *Chenopodium* y *Amaranthus* en la meseta purhépecha conservando el germoplasma y promoviendo la sustentabilidad”. *Agricultura sostenible* 5. Sociedad Mexicana de Agricultura sostenible. Accesible en:

http://www.somas.org.mx/pdf/pdfs_libros/agriculturasostenible5/5_1/17.pdf

Geerts, S., Santos, M. R., García, M. and Raes, D. (2006). Response Of Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) To Differential Drought Stress In The Bolivian Altiplano: Towards A Deficit Irrigation Strategy Within A Water Scarce Region. Universidad de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz Bolivia. pp. 1-9.

German, V. G. (2009). Caracterización Morfológica de Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*) en el Valle de Toluca. Tesis Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo, Toluca, México. pp. 3-69.

Gómez P. L., Eguiluz A. y Falconi J. (2009). Mejoramiento genético de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad Pasankalla empleando inducción de mutaciones.

[http://www.infoquinua.bo/fileponencias/a_GOMEZ%20Pando%20Luz%20Mejoramiento%20genetico\(Agro\).pdf](http://www.infoquinua.bo/fileponencias/a_GOMEZ%20Pando%20Luz%20Mejoramiento%20genetico(Agro).pdf)) (Consultado 11 de mayo 2013).

González M. S. P. (2009). Estudio de flujo de genes en quinua (*Chenopodium quinoa* W.) en campo de agricultores mediante el uso de marcadores microsatélites Tesis de Licenciatura. Departamento de Ciencias de la Vida, Ingeniería en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador. pp. 16-34.

Gutiérrez, M. M. y Rincón, A. C. A. (2011). Caracterización de la variabilidad genética mediante el uso de marcadores RAPDs, de un grupo de genotipos nativos y comerciales de Caraota en Venezuela. *Agronomía Tropical*. 61(1) pp. 73-83

Hanco, J. L. (2001). Hibridación y comparación de la F1 con sus progenitores en tres cultivares de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en Puno, Perú. pp.

Hernández, A. M. (1992). Mejoramiento genético de la quinua por mutagénesis generación M2. Informe Técnico Científico ININ. IA-92-23., México.

Hernández, A. M., De La Cruz, T. E., Rodríguez, D. R. (1994). Evaluación de características agronómicas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) generación M4. Memorias del VI Congreso Técnico-Científico ININ-SUTIN. p: 39-45., México.

Hunziker, A.T. (1943). Las especies alimenticias de *Amaranthus* y *Chenopodium* cultivadas por los indios de América. Rev Argent Agron 30 (4): 297-353

Hunziker, A. T. (1952). Los pseudocereales de la agricultura indígena de América. ACMÉ Agency Soc. Resp. Ltd. p. 101.

Ibáñez, M. M. (2011). Caracterización del desarrollo Fenológico de dos especies de pseudocereales: *Amaranthus hypochondriacus* raza Azteca y raza Mixteca y *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*. cv. Huauzontle y cv. Chía Roja. Tesis de Licenciatura en Biología. Tecnológico de Estudios Superiores de Huixquilucan. Huixquilucan, Edo. México. pp. 37-90.

Ibáñez, M. M., García A. J.M., De la Cruz T. E., Flores R. D. A., Velasco L. D. B. y Rubí A. M. (2011). Comportamiento Fenológico de dos especies de pseudocereales: *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*. XXI Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. Centro Nuclear., México, D.F. 059, pp. 2-4.

IBUNAM. 2019. *Chenopodium berlandieri* Moq. Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Jacobsen S.E., Mujica A. y Salen O. (1999). Tolerancia de la quinua a la sal durante la germinación. *Agro. Trop.* 48(3): 359-366.

Jacobsen S.E y Mujica S.A. (1999). Fisiología de la resistencia a Sequía en quinua (*Chenopodium quinua* Willd). I Curso Internacional. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. P. 79.

Jacobsen, S-E. y Mújica (2000). Quinua: Cultivo con resistencia a la sequía y otros factores adversos. *La Gestión de la Biodiversidad; Áreas Protegidas y Áreas Vulnerables.* pp. 2-39
<http://hoeger.com.ve/ama/pdf/sesion-biodiversidad-05.pdf>

Jiménez., O. P. A. (2022). Efecto del tipo de secado (horno y liofilización) y la forma de preparación (crudo y hervido) en el perfil fenólico y la capacidad antioxidante de la hoja e inflorescencia de *Chenopodium berlandieri*. Tesis. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro.

Johnson, D. L. and Ward, S. M. (1993). Quinoa. In: J. Janick and J. E. Simon (eds.), *New crops.* Wiley, New York. pp. 219-221.

López L.L. (1994). Caracterización de diversas especies frutales desarrollando bajo condiciones de salinidad. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. 110 p.

López M. A., De la Cruz T. E., Mapes S. C., García A. J. M. y Pérez A. E. (2005). Tipificación de los sistemas de producción de pseudocereales en la zona lacustre de Pátzcuaro. XV Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. Diciembre de 2005. Memorias en Disco Compacto.

López, M. A. (2006). Estudio de los recursos genéticos de los seudocereales chíá roja (*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*) y amaranto (*Amaranthus spp.*) en los ejidos de Opopeo y Santa María Huiramangaro, Michoacán. Tesis Facultad de Biología Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. pp. 3-35.

López, M. L. y McClung, H. E. S. (2015). Procesamiento post-cosecha y carbonización experimental de granos de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. (chía roja). Acercamiento a datos actuales con inferencia arqueológica. Boletín de Arqueología Experimental, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. pp. 27-29

Mapes, S. E. C. (1987). El maíz entre los purépechas de la cuenca del Lago de Pátzcuaro, Michoacán México. América Indígena, vol. XLVII, núm. 2, abril-junio. pp. 350-362.

Marín B. E. (2008). Biodiversidad y recursos genéticos en la agricultura. IDESIA (Chile) Volumen 26, N° 1,2008. pp 2-3.

Mayta, Q. J. (2021). Progenies Autofecundadas S5 de la Quinua: Un Estudio de Características Agromorfológicas y Moleculares. Universidad Do Contestado – UnC. pp.17-35.

Medina F. J. (2006). Composición nutricional de la quinua. <http://xa.yimg.com/kq/groups/21260884/1421089015/name/Composici%C3%B3n+Nutricional+de+la+Quinua.doc>.) (Consultado 11 de mayo 2013).

Merino, A. C. Ivonne. (2019). Barra Nutritiva con Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*). Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos. Chiapas. pp. 9-15.

Mora P. E., De la Cruz T. E. y García A. J. M. (2006). “Evaluación Agronómica de Pseudocereales para el Valle de Toluca”. Memorias del “XVI Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN” Centro Nuclear., México, D.F. pp. 1-4.

Morales, A. y Zurita A. (2009). La quinoa como fuente de genes de resistencia a estrés por sequía. Centro Estudios Avanzados en Zonas Áridas, CEAZA. La Serena, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile. pp. 1-8.

Morales, J. A., Bajgain, P., Garver, Z., Maughan, P. J. and Udall, J. A. (2011). Physiological responses of *Chenopodium quinoa* to salt stress. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry Vol. 3(6), pp. 2-14.

Morillo, C. A. C., Manjarres, E. H. and Morrillo, C. Y. (2017). Caracterización molecular de *Chenopodium quinoa* Willd. Utilizando marcadores de repetición de secuencia inter-simple (ISSR). Universidad Pedagógica and Tecnológica de Colombia (UPTC) pp. 1-12.

Mújica, S. M. A. (1988). Parámetros genéticos e índices de selección en quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 72-99.

Mújica, S. M. A., Jacobsen, Sven–Eric, Izquierdo, J., Marathe, J. P. (1998). Prueba Americana y europea de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Cultivos Andinos FAO. En: CD. FAO.

Mujica, A. & S.-E. Jacobsen. (1999). Resistencia de la quinua a la sequía y otros factores abióticos adversos y su mejoramiento. In Fisiología de la Resistencia a Sequía en Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Jacobsen, S.-E. & A. Mujica, eds.), CIP, Lima, Perú, p. 71-78.

Mujica A., Izquierdo J. y Marathee J. P. (2000). Ancestral Cultivo andino, alimentos del presente y del futuro. Desarrollo floral de la quinua. En: CD. FAO.

Mujica A., Izquierdo J. y Marathee J. P. (2005). Cultivos andinos. FAO. (Enlínea)(www.fao.org/Regional/LAmerica/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contento/libro03/-54) (Consultado 30 de marzo 2005).

Mujica, A. & S.-E. Jacobsen. (2006). La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres. Botánica Económica de los Andes Centrales Editores: M. Moraes R., B. Øllgaard, L. P. Kvist, F. Borchsenius & H. Balslev Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. pp. 449-457.

NIH, 2022. National Human Genome Research Institute Glosario de términos genómicos y genéticos.

<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa>

Nutripediatría (2019). Que sabes de los Pseudocereales. **Nutrición y Pediatría en un solo blog.**

<https://nutripediatría.com/2019/01/11/pseudocereales/>

Orgaz, G. G. (2020). Adaptación de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) a las condiciones agroecológicas de la zona centro peninsular. Tesis. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Agronomía, Alimentaria y de Biosistemas. Madrid España. pp. 1-27.

Ormeño, Z. J. (2015). Agrupamiento de 16 accesiones peruanas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en relación al origen utilizando marcadores SSR. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. pp. 12-88.

Peñañiel C. C. E. y L. Díaz V. (1988). Determinación espectrofotométrica de ácido oleanólico y saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) variedad Kancolla. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol. 38. pp: 113-125.

Pérez, P. R. (1988). Efecto de la salinidad y sequía en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. pp. 49-117.

Quispe, M. G. (2017). Caracterización Agromorfológica de 29 accesiones de quinua del Altiplano Central (*Chenopodium quinoa*) en la Estación Experimental de Patacamaya-La Paz. Tesis Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía, La Paz Bolivia. pp. 1-86.

Ramírez, H., (2003). Uso de Isoenzimas en la Caracterización de Germoplasma Vegetal. Seminario “Biotecnologías en el sector Agropecuario, Situación Actual y Perspectivas de la Investigación Universidad del Cauca, Popayán. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol. 1 No. 1. pp. 81-82.

Razzaghi, F. (2011). Acclimatization and Agronomic performance of quinoa exposed to salinity, drought and soil-related Abiotic stress. PhD Thesis. Aarhus University, Department of Agroecology, Science and Technology. pp. 14-21.

Romo, S., Rosero, A., Forero C. L. y Ceron, E. (2006). Potencial nutricional de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) variedad Piartal en los Andes Colombianos Primera Parte. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol 4 No.1 pp. 113-125.

Ruiz R. S., Valdés O. A., Facio P. F., Arce G. L. (2012). Efecto de diferentes niveles de salinidad en la germinación y vigor de semillas de cinco gramíneas forrajeras. Agraria, vol(9)-_No.(1)_A2. pp.2.

Salomón (1996). Biología de Ville. Editorial: Mc Graw Hill Interamericana 429-433 pp.

Sanchez, V. S.S. (2022). Caracterización Genotípica por RAPDs y Morfométrica de diferentes accesiones de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) de la Zona Centro del Ecuador.

Scandalios, G. J. (1974). Isozymes in development and differentiation. Annual Review of Plant Physiology Vol. 25: 225-258.

Tamayo C. H. L. (2010). Caracterización molecular inter e intra genotípica de 16 accesiones de *Chenopodium Quinoa* (Quinoa) mediante la técnica de ISSR. Tesis Master Science. Escuela de Postgrado, Especialidad de Mejoramiento Genético de plantas. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. pp. 9-34.

Tanaka, R and Tanaka, A. (1980). Karyomorphological studies in halophitic plants. I. Some taxa of *Chenopodium*. Cytologia, 45: 257-269.

Tenorio, B. S. M. (2018). Análisis de la diversidad de papas (*Solanum spp.*) con marcadores moleculares microsatélite de los distritos de Secclla y Santo Tomás de pata (Huancavelica) y Santillana (Ayacucho). Tesis. Universidad Nacional de Huancavelica, Facultad de Ciencias de Ingeniería. Huancavelica, Perú. pp. 32-41.

Torres, B. E. (2025). Quelite cenizo. Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México

Uotila, P. (1972). Chromosome counts on the *Chenopodium album* aggregate in Finland and EN Sweden. *Ann. Bot. Fennici.* 9:29-32.

Vazquez J.T. (1995). Evaluación de cuarenta genotipos de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) al déficit hídrico en cuatro fases fenológicas. Tesis de Magíster Scientiae en Cultivos Andinos. Escuela de Postgraduados, UNA. Puno, Perú. pp. 35-97.

Velázquez, J. L. y Gutiérrez H. J. P. (2005). Pruebas de hibridación *in vitro* de dos especies de *Chenopodeaceas*: *Chenopodium quinoa* Willd, var. Barandales y *Chenopodium berlandieri nuttalliae*, var. Chía roja. Tesis de Licenciatura

Vía y Rada, F. R. N. (2015). Determinación de la diversidad genética de 172 accesiones de la colección Nacional de *Chenopodium quinoa* Willd. “Quinoa” Mediante marcadores microsatélites. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú. pp. 10-68.

Weber J. L. (1990). Informativeness of human (dC-dA)*n* • (dG-dT)*n* polymorphisms. *Genomics* 7. 4: 524-530.

Wilson, D. H. (1980). Artificial hybridization among species of *Chenopodium* sect. *Chenopodium*. *Systematic Botany*. 5 (3) pp. 253-263.

Xingú, L. A. (2010). Caracterización del germoplasma de Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*) en el Estado de México mediante técnicas moleculares (SSR). Tesis Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México.

Xingú, L. A. (2015). Caracterización del Germoplasma de Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* ssp *nuttalliae*) Del Estado de México Mediante Técnicas Moleculares (SSR). Tesis Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. pp. 1-82

Xingú, L. A. (2019). Caracterización morfológica y molecular de germoplasma de *Salvia hispanica* l. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas, México. pp. 5-16.

Zingaretti M. S., Cascaes, I. M., de Matos, P L., Antunes P.T. and De Castro F. S. (2012). Water Stress and Agriculture. INTECH. <http://dx.doi.org/10.5772/53877> Chapter 7. pp. 151-179.

XIII. ANEXOS

Matriz de datos del patrón de bandeo electroforético del germoplasma analizado.

1	H-3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	H-16	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3	H-18	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	J. silva	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	D. Oros	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	R. Rguez	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	P. bravo	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Zumbaro	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	640304	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	11L240	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	ININ 136	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	ININ 240	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	42AdeM x CR	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	ININ 311	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
15	ININ 333	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	HBYUMEX	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	BYU 14108	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
18	402	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	423	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	447	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
21	457	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
22	505	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
23	544	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	629	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
25	641	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
26	642	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
27	880	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
28	881	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	882	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
30	902	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	922	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
32	937	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	1007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
34	1301	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
35	1303	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	1306	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

37	1312	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
38	1316	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
39	1448	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
40	1449	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
41	1452	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
42	1454	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
43	1455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
44	1456	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
45	1457	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
46	1458	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
47	1459	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
48	1460	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0 0
0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0
0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0