

00322



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

200

FACULTAD DE CIENCIAS

Análisis cromosómico y contenido de ADN por Citometría de Flujo de *Chenopodium quinoa* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

# B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

**LAURA TREJO HERNÁNDEZ**



FACULTAD DE CIENCIAS U.N.A.M.

DIRECTOR DE TESIS: DR. GUADALUPE PALOMINO HASBACH



FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**TESIS CON  
FALLA DE  
ORIGEN**



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA**  
**Jefa de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: Análisis cromosómico y contenido de ADN por Citometría de Flujo en *Chenopodium quinoa* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*. realizado por la pasante Laura Trejo Hernández,

con número de cuenta 09335868-8 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario

Dra. Guadalupe Palomino Hasbach

Propietario

Dr. Armando García Velázquez

Propietario

Dra. Hilda Flores Olvera

Suplente

M. en C. Eulogio De La Cruz Torres

Suplente

M. en C. Francisco Javier Martínez Ramón

Consejo Departamental de Biología.

M. en C. ~~Juan Manuel Rodríguez Chávez~~

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ENSEÑANZA  
DE BIOLÓGICA

Este trabajo se realizó gracias a las facilidades otorgadas por el laboratorio de Citogenética del Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM.

Es parte del proyecto: Ref. 33285-B "Mejoramiento genético de dos especies de interés agronómico del género *Chenopodium*", financiado parcialmente por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

El tesista recibió el apoyo del Programa de Becas para Tesis de Licenciatura en Proyectos de Investigación (PROBETEL-UNAM).

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Laura Trejo Hernández

FECHA: 16 de octubre de 2003

FIRMA: [Firma manuscrita]

---

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Guadalupe Palomino Hasbach por dirigir esta tesis, por su apoyo y tiempo invertido en este trabajo. Agradezco su ayuda en el manejo del citómetro de flujo para la determinación del tamaño del genoma de las especies estudiadas.

Al Dr. Abraham Rubluo Islas<sup>†</sup> por su apoyo en la dirección y realización de esta tesis.

Al M. en C. Francisco Javier Martínez Ramón por su enseñanza en el manejo de las técnicas de citogenéticas, por su disposición a la constante discusión, por su apoyo para la obtención de las microfotografías empleadas en este trabajo y por la revisión del escrito.

Al M. en C. Eulogio De La Cruz Torres por el trabajo, tiempo y dedicación al proyecto al cual pertenece esta tesis. Agradezco su ayuda en la obtención del material biológico en el campo, su apoyo en la aplicación de las pruebas estadísticas de este trabajo y por la revisión del escrito.

A la Dra. Hilda Flores Olvera por su apoyo en la determinación de las plantas empleadas en este trabajo y por sus importantes rectificaciones al escrito.

A la Dra. Cristina Mapes por su apoyo en la obtención del material bibliográfico, por proporcionar la información etnobotánica, la ubicación de los sitios de colecta de la chía roja y por sus valiosas sugerencias en la revisión de este escrito.

Al Dr. Armando García Velázquez por su colaboración al revisar y enriquecer este trabajo.

Al Biól. Jorge Saldivar Sandoval por su asistencia técnica en el manejo de los equipos y programas de cómputo. Por su apoyo en el diseño y edición de imágenes y figuras; así como por la edición final por computadora de este trabajo.

Al la Biól. Miriam Laad por su apoyo y por sus consejos muy útiles en el manejo de la técnica de citometría de flujo.

A la Ing. Iliana García Manzano por su apoyo en la obtención, edición y diseño de las imágenes y figuras de esta tesis.

## DEDICATORIA

**A mi madre por su ejemplo, apoyo y cariño.**

**A mis hermanos y sobrinas por su apoyo, cariño y comprensión.**

**A Iliana por su cariño, amistad y por el apoyo total e incondicional en mi vida y en mi trabajo.**

**A Elizabeth (Ana) que es la fuente de muchas de mis alegrías.**

**A María que es y será siempre la compañera que oriente mi camino.**

**A mis amigos Areli, Erika, Guillermo y Fernando por su comprensión y sus enseñanzas.**

**A mis familiares Carmen, Germán y Moisés por su apoyo.**

---

“Prometo actuar por un mundo mejor donde la ciencia y la tecnología sean utilizadas de manera ética. Examinaré las implicaciones éticas de mi trabajo y las consecuencias dañinas eventuales”

Juramento para los científicos  
José Luz González  
Ginebra, 2001

**El motor del pensamiento crítico y abstracto de la ciencia: los sentimientos.**

**Durante mi corto camino por la ciencia he escuchado frecuentemente que los científicos son fríos y calculadores: “Mucho cerebro y poco corazón”. Sin embargo tener el compromiso de hacer investigación científica de alta calidad en un país como el nuestro, donde la ciencia no es una prioridad, es el resultado del coraje, la pasión y el placer. Es la necesidad de responder preguntas que no son parte de un monólogo entre científicos, sino de diálogos con la sociedad para resolver problemas que nos conciernen a todos.**

**Como todo trabajo la ciencia tiene sus dificultades burocráticas pero hasta el momento no conozco alguien que lo hayan obligado a ser científico. Por eso, el incentivo para continuar en la academia mexicana de ciencias, donde la motivación a través del salario es poca, y que el trabajo científico trascienda más allá de un simple estilo de vida, proviene de los sentimientos que con un mucho de inteligencia, astucia y trabajo alcanzarán para crear más preguntas que muevan a humanidad a pensar en sus respuestas.**

**Laura Trejo Hernández**

# CONTENIDO

	Página
1. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCIÓN .....	3
2.1 Mejoramiento genético de dos especies del género <i>Chenopodium</i> .....	3
2.2 Citogenética .....	4
2.2.1 Cromosomas mitóticos .....	4
2.2.2 Cariotipo e idiograma .....	6
2.2.3 Asimetría del cariotipo .....	7
2.2.4 Mutaciones cromosómicas .....	7
2.2.5 Aplicación de la Citogenética en el mejoramiento de los cultivos agrícolas .....	9
2.2.6 Citogenética del género <i>Chenopodium</i> .....	10
2.3 Taxonomía, distribución y origen de <i>Chenopodium</i> .....	14
2.4 Importancia económica de <i>Chenopodium quinoa</i> y <i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> .....	23
2.5 Contenido de ADN por citometría de flujo .....	25
3. OBJETIVOS .....	29
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	30
4.1 Ejemplares de herbario .....	30
4.2 Trabajo de campo .....	30
4.3 Técnica para el análisis de cromosomas mitóticos .....	32
4.4 Técnica para la estimación de la viabilidad del polen .....	33
4.5 Técnica para la obtención del contenido de ADN por citometría de flujo .....	34
4.6 Análisis estadísticos.....	37
5. RESULTADOS .....	38
5.1 Cariotipos .....	38
5.2 Porcentajes de células octoploides .....	58
5.3 Viabilidad del polen .....	60
5.4 Contenido de ADN por citometría de flujo .....	62
6. DISCUSIÓN .....	68
7. CONCLUSIONES .....	74
8. LITERATURA CITADA .....	76

# 1. RESUMEN

Este trabajo contribuye a la caracterización de los genomios de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. chía roja, chía amarilla, huauzontle verde (Atlacomulco y Lerma), huauzontle rojo, y quelite cenizo. El número cromosómico para estas taxa fue de  $2n = 36 = 4x$  ( $x = 9$ ), estos resultados coinciden con el número básico propuesto para el género *Chenopodium* subsección *Cellulata* e indican que existe gran estabilidad cromosómica en estas plantas y que sus genomios son homogéneos con 36 cromosomas metacéntricos. Sin embargo se observó variación entre las taxa en el tamaño de los cromosomas, longitud total del genomio (LTG), posición de los satélites e índice de asimetría (TF%).

*Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja fue el taxa que presentó la mayor LTG (58.82  $\mu\text{m}$ ) y los cromosomas más largos (2.09  $\mu\text{m}$ ). *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma mostró la menor LTG (44.66  $\mu\text{m}$ ) y los cromosomas más cortos (1.63  $\mu\text{m}$ ). La comparación de la LTG en todos los taxa de *Chenopodium* estudiados permitió definir significativamente ( $P < 0.0001$ ) tres grupos, los cuales coinciden con el tipo de uso que se les ha dado a estas plantas. En el primer y segundo grupo se encuentran incluidas las plantas que se cultivan para obtener la semilla: *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja y *C. quinoa* var. *barandales*, respectivamente. En el tercer grupo se presentan las taxa que se utilizan como verdura como quelites o para el consumo de la panoja: *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. quelite cenizo, huauzontle rojo, huauzontle verde de Atlacomulco, chía amarilla y huauzontle verde de Lerma.

Todos los taxa presentan dos pares de cromosomas con satélites, el primer par se ubica en los dos cromosomas más largos y el segundo par de satélites es diferente en la mayoría de las taxa; lo que apoya su origen alotetraploide. Las diferencias entre los valores de TF% en los distintos taxa de *Chenopodium* son significativas ( $P < 0.0001$ ) y se distribuyen en cinco grupos. No se encontró relación entre TF% con algún carácter morfológico, de distribución o uso.

La variación entre los genomios de las taxa de *Chenopodium* estudiados se atribuye a rearrreglos cromosómicos estructurales en los cariotipos como deleciones, fusiones, duplicaciones o translocaciones que posiblemente sucedieron durante la evolución de estas plantas. Lo que refleja un proceso de diferenciación posiblemente influenciado tanto por el hombre como por procesos naturales de selección y adaptación.

El mayor contenido de ADN (3.04 pg, 1489 Mpb) se presentó en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco, mientras que *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja y *C. quinoa* var. *barandales* tienen el menor contenido de ADN (2.96 pg, 1450 Mpb) con lo cual se corrobora que son genomios pequeños. Las diferencias en el contenido de ADN no fueron significativas aunque estas pudieron haberse originado durante los procesos de desarrollo y de diferenciación de las especies como respuesta a factores adaptativos durante su evolución.

La similitud que existe entre los taxa en los números cromosómicos (somático  $2n$  y básico  $x$ ), nivel de ploidía, tamaño de los cromosomas, longitud total del genomio (LTG), morfología de los cromosomas, número y posición de los satélites, tamaño de los genomios en pg y su composición en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb) y los altos porcentajes de viabilidad de polen (>92%) que observamos en estos taxa; principalmente entre *C. quinoa* var. *barandales* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja.; incrementan la posibilidad de obtener descendientes viables de las cruzas entre estos dos taxa para su mejoramiento genético.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Mejoramiento genético de dos especies del género *Chenopodium*

El rápido aumento de la población humana ha creado la necesidad de producir más y mejores alimentos para afrontar las demandas nutricionales. El hombre ha cubierto sus necesidades de alimentación solamente con 5,000 especies de plantas, que incluyen el 1% de la flora del mundo y las poblaciones urbanas dependen esencialmente de 3 cereales: arroz, maíz y trigo; y de un tubérculo: la papa, para su subsistencia (Wilkes, 1993).

Actualmente la búsqueda de alternativas de cultivo de nuevas especies vegetales que brinden productos nutritivos con reducidos requerimientos de insumos y mínimo deterioro ambiental, se ha convertido en una necesidad apremiante para afrontar la demanda de alimentos y la necesidad de preservar el entorno mediante la práctica de una agricultura sustentable (Wilkes, 1993). En esta perspectiva, el empleo de especies subutilizadas con alto valor nutritivo y capacidad de soportar condiciones adversas del ambiente como *Chenopodium quinoa* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* son una alternativa para ayudar a resolver el ingente problema de la alimentación humana, principalmente en las zonas agrícolas marginadas.

Sin embargo, la mayoría de dichas quenopodiáceas poseen saponinas en el episperma que le da un sabor amargo y toxicidad a la semilla. La presencia de saponinas representa un problema para la comercialización y consumo de estos pseudocereales, dado que la eliminación de las saponinas aumenta los costos de producción y reduce su competitividad con respecto a los cereales (Kim *et al.*, 1994). Por lo tanto, una prioridad fundamental para difundir estos cultivos es la reducción de saponinas y mejorar aspectos de cultivo como productibilidad, adaptabilidad y calidad de la semilla.

En este sentido, los estudios cromosómicos (metodología tradicional) son básicos para la caracterización y manipulación de los genomios de estas plantas, e incluyen el análisis de cromosomas mitóticos para determinar el  $2n$  y la estructura del cariotipo. De esta información se obtiene el número de grupos de ligamiento génico o número básico ( $x$ ) y cuantas veces se repiten (nivel de poliploidía) lo que provee un indicador en la similitud genética entre estas taxa. Dicha información es esencial para determinar la plasticidad de los genomios dentro y entre las diferentes posiciones de los rangos ecológicos donde estas especies se distribuyen (Kenton, 1986; Palomino, 1991, 1995, 2000).

Otros análisis necesarios para la caracterización y manipulación de los genomios corresponden a la estimación del tamaño del genomio en picogramos (pg), su composición en Mpb (millones de pares de bases de nucleótidos) y corroborar los niveles de ploidía; todos por citometría de flujo (metodología de punta). Estos caracteres nos permitirán evaluar la variación inter- e intra- taxa (Ohri 1998; Bennett *et al.*, 2000; Palomino, 2000). El análisis cromosómico y del tamaño del genoma son útiles también para apoyar los estudios de mejoramiento genético, taxonómicos, filogenéticos, conocer los lugares de origen y diversificación de las especies y cultivares de *Chenopodium* estudiados.

## 2.2 Citogenética

La unión de la Biología Celular con la Genética dio origen a la Citogenética. Esta disciplina se ocupa de las bases cromosómicas que explican los fenómenos de la herencia (Lacadena, 1988). Se fundamenta en la teoría cromosómica de la herencia cuyos postulados son: a) los genes están situados en los cromosomas; b) su ordenación sobre los mismos es lineal; y c) al fenómeno genético de la recombinación le corresponde un fenómeno citológico de intercambio de segmentos cromosómicos (Wilson, 1896 citado por Lacadena, 1988). De acuerdo con lo anterior, la Citogenética estudia la regularidad de la distribución de los genes de célula a célula (mitosis), de generación a generación (meiosis), así como su origen y la relación con la transmisión y la recombinación génica (Sáez y Cardoso, 1978; García, 1990). Es una importante herramienta para lograr un mejor entendimiento entre las relaciones filogenéticas y las tendencias evolutivas de los distintos niveles taxonómicos de los organismos.

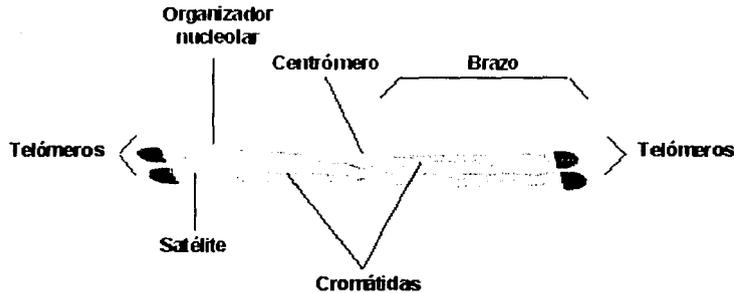
### 2.2.1 Cromosomas mitóticos

Los cromosomas son estructuras de ligamiento constituidos por secuencias específicas de genes, estas estructuras son autoreplicativas cuyo número (por célula), morfología y organización son características específicas del organismo (Rieger *et al.*, 1982). El material cromosómico del núcleo interfásico es denominado cromatina la cual esta formada por un conjunto complejo de ADN (15 % - 20%), ARN (10% - 15%) y proteínas (65% - 75%) histonas y no histonas (Rieger *et al.*, 1982). Además de algunos componentes minoritarios como lípidos, iones de  $Ca^{+2}$  y  $Mg^{+2}$  (Swanson *et al.*, 1967; Lewin, 1974 citados por Lacadena, 1988).

La estructura externa de un cromosoma eucarionte en metafase mitótica (Fig. 1) es la de un cromosoma formado por dos cromátidas idénticas en su morfología y en la información genética contenida en su ADN. Se denominan cromátidas hermanas y cada una constituye la última unidad indivisible del cromosoma, desde el punto de vista citogenético. En cada cromátida hay una molécula lineal de ADN bicatenario que la recorre de forma continua de un extremo a otro. A los extremos de cada cromátida se les denomina telómeros, estos delimitan la longitud de los cromosomas lo que les proporciona estabilidad y estructura. Las cromátidas presentan un diámetro constante a lo largo de toda su longitud, salvo en las zonas de constricción, como el centrómero y las constricciones secundarias (Lacadena, 1988).

El centrómero da a cada cromosoma una morfología característica al dividirlo en dos brazos que pueden ser iguales, desiguales o que sólo tenga un brazo. Las constricciones secundarias son de dos tipos: aquellas que son contricciones de las cromátidas y aquellas relacionadas con el organizador nucleolar llamadas también satélites que sólo se presentan en algunos cromosomas. Estos son segmentos de ADN ribosómico de un brazo cromosómico, separado del resto del mismo por una constricción delgada, la cual es corta, como la del centrómero o larga como un filamento (Dyer, 1979; García, 1990).

Los satélites están relacionados con el organizador nucleolar el cual contiene genes repetidos que codifican para la síntesis del ARN 45s precursor del ARN ribosómico y es, así mismo, responsable de la organización del nucléolo en cada ciclo de división celular (Rieger *et al.*, 1982; Lacadena, 1988). Estos son utilizados como marcadores puesto que en los cromosomas que los contienen se puede evidenciar más fácilmente rearrreglos cromosómicos ocurridos en los genomas (García, 1990). En ningún caso la presencia de constricciones implica una discontinuidad del ADN a lo largo de la cromatina.



**Figura 1.** Estructura externa de un cromosoma eucarionte en metafase mitótica (Lacadena, 1988).

Los cromosomas se clasifican con base en la posición del centrómero (Stebbins, 1971; Dyer, 1979; Lacadena, 1988) y al índice centromérico, es decir, la longitud del brazo corto en relación a la longitud total del cromosoma (Levan *et al.*, 1964). Lo que determina los siguientes términos: metacéntricos (m, el centrómero se encuentra en el centro del cromosoma), submetacéntricos (sm, el centrómero se encuentra desplazado hacia el extremo de uno de los brazos), subtelocéntricos (st, el centrómero se encuentra en un región muy cercana a la parte terminal del cromosoma) y telocéntricos (t, en la parte final del cromosoma se encuentra el centrómero) (Figura 2).



**Figura 2.** Tipos de cromosomas según Levan *et al.*, 1964.

Otros parámetros que se pueden medir de los cromosomas son: el número fundamental, se refiere al número total de brazos mayores que forman un cariotipo, dos por cada cromosoma metacéntrico y uno por cada acro- y telocéntrico (García, 1990). Longitud total (LT), como la longitud y diámetro, expresados en micras, del total y cada uno de los cromosomas del complemento. La longitud del tamaño relativo porcentual (L%), que es la

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

relación que guarda la longitud de un cromosoma particular con respecto a la de los demás y al total del genomio. Esta relación de un cromosoma dado dentro del genomio o cariotipo, puede ser estimado como porcentaje con respecto a la longitud total del genomio (LTG) tomada como 100% (García, 1990).

Stebbins (1971), propone tres funciones principales de los cromosomas, las cuales son el almacenamiento, duplicación y transmisión de la información hereditaria, contenida en los genes. Esto se lleva a cabo mediante los procesos de meiosis y mitosis. Es en la metafase mitótica o meiótica, donde los cromosomas se encuentran completamente condensados y donde es posible distinguir y apreciar su estructura (Stebbins, 1971; Lacadena, 1988).

## 2.2.2 Cariotipo e idiograma

El cariotipo es el complemento cromosómico particular de un individuo o grupo afín de individuos y es definido por el número y forma de los cromosomas en metafase mitótica (Stebbins, 1971; John, 1976).

Para observar los cromosomas mitóticos en células somáticas obtenidas de tejido meristemático, se someten los ápices radicales a tratamientos con diversos mitostáticos, previos a la fijación y tinción (García, 1990). Con esta técnica, se obtiene el cariotipo, el número cromosómico somático ( $2n$ ) de una planta o un grupo de plantas relacionadas, así como los niveles de ploidía (Palomino, 1995). La información obtenida permite determinar el número básico ( $x$ ) de grupos de ligamiento génico y cuantas veces se repiten, proporcionando un indicador rápido de la similitud génica entre poblaciones y especies (Kenton, 1986).

El número básico de cromosomas ( $x$ ) es el número cromosómico más pequeño de cromosomas de una serie poliploide (Rieger *et al.*, 1982). Además es una de las características mejor conocida y la más utilizada en la determinación de la posición taxonómica y filogenética de las especies. Géneros, especies e incluso familias relacionadas, poseen a menudo números cromosómicos del mismo orden de magnitud (Morán, 1949). Stace (1980) señala que el conteo cromosómico es la evidencia biosistemática que más se utiliza en los estudios taxonómicos de las floras modernas, sin embargo, esta información está disponible sólo para un 15% a 20% de las plantas vasculares y es menor para familias de plantas tropicales.

El análisis comparativo de los cariotipos puede mostrar diferencias entre las especies y también puede dar indicios de como surgieron estas variaciones en el curso de la evolución. Esto permite detectar las relaciones entre las distintas categorías taxonómicas (García 1990). Con base en el análisis cariotípico, distribución geográfica y características morfológicas de las plantas se puede interpretar la evolución y filogenia de los organismos (Stebbins, 1971; John, 1976; Dyer, 1979; García, 1990).

El análisis de los cariotipos se realiza mediante representaciones gráficas (García, 1990):

**Cariograma:** Corresponde a las fotografías o dibujos de la estructura externa de cada uno de los cromosomas del complemento cromosómico. Los cromosomas se ordenan en pares de homólogos y en series de tamaños decrecientes.

**Idiograma:** Es la representación diagramática del cariotipo de los valores promedio de los cromosomas de varias células analizadas. Se emplean barras o líneas para indicar la posición relativa del centrómero o constricción primaria y de constricciones secundarias.

### 2.2.3 Asimetría del cariotipo

El término de asimetría se refiere a las diferencias de tamaño y de la relación de brazos entre los cromosomas no homólogos de un genomio. La asimetría de un cariotipo es menor cuando los cromosomas son aproximadamente del mismo tamaño y su relación de los brazos o la posición del centrómero es prácticamente la misma (Stebbins, 1971).

El índice de asimetría en estos estudios cromosómicos, nos permite caracterizar el genotipo de un individuo o de un grupo de individuos relacionados de una especie en particular y nos da la base para hacer comparaciones inter- e intra- específicas pues refleja las tendencias y los grados de los cambios sufridos en cada uno de sus cromosomas y en el genomio total de una especie (García, 1990).

### 2.2.4 Mutaciones cromosómicas

La evolución biológica tiene lugar debido a que el material hereditario, el ADN, puede cambiar de generación en generación ya sea por errores en la duplicación o por agentes externos llamados mutágenos como las radiaciones. A este tipo de errores o alteraciones en el material genético se les llama mutación. Las mutaciones cromosómicas son cambios de estructura, número y disposición de los genes de los cromosomas (Rieger *et al.*, 1982).

Una vez producida la variabilidad genética por la mutación como fuente primaria, el intercambio de segmentos cromosómicos en la meiosis llamado recombinación potencializa la variación genética donde puede actuar los diversos mecanismos de evolución sobre los seres vivos (Lacadena, 1988).

Las mutaciones se clasifican en tres tipos (Herskowitz, 1965):

#### 1. Cambios en el número de genes presentes en los cromosomas

a) **Deficiencia o delección:** es un cambio estructural que resultan al perderse una sección del material hereditario de un cromosoma, variando el tamaño de éste desde un sólo nucleótido hasta segmento mayores que contengan cierto número de genes e incluso porciones completas de un cromosoma (Lacadena, 1988).

**b) Duplicación:** es un cambio estructural, que produce la repetición de una una sección del material hereditario de un cromosoma de mayor o menor tamaño (Lacadena, 1988).

## 2- Cambios en la situación de los genes en los cromosomas

**a) Inversión:** implica el cambio de una sección del material hereditario de un cromosoma, de manera que se encuentra invertida con respecto al resto del cromosoma (Stebbins, 1971; Lacadena, 1988). Según su relación con el centrómero las inversiones pueden ser: paracéntricas cuando la inversión se da en el mismo brazo cromosómico y pericéntricas que ocurre en diferentes brazos y el centrómero está incluido en el segmento invertido (Lacadena, 1988).

**b) Traslocación:** se caracteriza por un cambio estructural en el que algunos segmentos cromosómicos cambian su posición relativa dentro del complemento cromosómico, modificando por lo tanto a los grupos de ligamiento de dos o más cromosomas no homólogos (Lacadena, 1988).

## 3. Cambios en número de los cromosomas.

**a) Fisión céntrica:** da origen a dos cromosomas acrocéntricos o telocéntricos a partir de un cromosoma metacéntrico y puede deberse a una mala división centromérica o puede implicar a un cromosoma donante que aporte un centrómero y dos telómeros (Lacadena, 1988).

**b) Fusiones céntricas:** es la reunión por translocación recíproca de dos cromosomas acrocéntricos para dar un cromosoma metacéntrico y un fragmento pequeño que usualmente se pierde. Las fusiones céntricas pueden deberse a dos rupturas muy próximas al centrómero de cromosomas acrocéntricos, una en el brazo largo y otra en el brazo corto, dando lugar a un metacéntrico grande y a un cromosoma muy pequeño que usualmente se pierde. También puede deberse a dos rupturas en las regiones centroméricas o en los brazos cortos de los acrocéntricos que dan lugar a un metacéntrico con dos centrómeros tan próximos que funcionan como un acéntrico que se pierde inmediatamente (Lacadena, 1988).

**c) Aneuploidía:** esta condición se presenta cuando uno o varios cromosomas de la dotación normal se pierden o se incrementan. Los términos nulisómicos, monosómicos, trisómicos, tetrasómicos, etc., se refieren a la presencia de un cromosoma determinado, cero, una, tres o más veces en un organismo diploide (Lacadena, 1988).

**d) Poliploidía:** los organismos poliploides presentan más de dos dotaciones de cromosomas o número básico de las especies. Se dice que el organismo es triploide si presenta tres dotaciones de cromosomas básicos ( $3x$ ), tetraploide si presenta cuatro dotaciones ( $4x$ ) y así sucesivamente (Dobzhansky, 1980; Lacadena, 1988). DeWet (1979), propone que la poliploidía no se da por una duplicación espontánea de cromosomas diploides a tetraploides, sino por la falta de reducción en los gametos.

Mears (1979), considera dos grupos de poliploides de acuerdo a su origen:

**Alopoliploides:** también llamados anfídiploides son los individuos que se obtienen de la cruce natural o experimental entre especies o géneros diferentes y contienen dos juegos cromosómicos diferentes genética y estructuralmente. Cada juego está presente una vez (alodiploide) o en mayor número (alopoliploide).

Estos individuos se pueden originar por la duplicación cromosómica de híbridos interespecíficos o intergenéricos o por la tetraploidización y posterior cruzamiento de los autotetraploides de especies diferentes (Lacadena, 1988).

**Autopoliploides:** son individuos que surgen de la fecundación cruzada con gametos no reducidos de la misma especie. Los juegos cromosómicos son homólogos y se aparean completamente en meiosis formando grupos de polivalentes (Rieger *et al.*, 1982).

### 2.2.5 Aplicación de la Citogenética en el mejoramiento de los cultivos agrícolas

La manipulación del genomio es útil tanto para el taxónomo como para el biólogo evolucionista y el fitomejorador ya que lo habilita para observar las diferencias relativas entre los taxa y sus patrones de divergencia. El análisis citogenético puede ser utilizado en cada una de estas investigaciones. En el nivel más simple, los números cromosómicos pueden proporcionar, en muchos casos, una idea general acerca del grado de relación entre los taxa. Los estudios de morfología cromosómica, comportamiento meiótico, potencial de hibridación y contenido de ADN son todas herramientas útiles, especialmente si son aplicados en forma conjunta (Kenton, 1986).

El mejoramiento de los recursos por introducción de germoplasma adicional o por incorporación de genes de una especie en el banco genético de otra, se realiza comúnmente mediante la hibridación. Sin embargo, existen barreras reproductivas que limitan la hibridación interespecífica como son las barreras preapareamiento que pueden ser producidas por la incompatibilidad polen-pistilo o las barreras postapareamiento que incluyen diferencias en los niveles de ploidía, pérdidas o eliminación de cromosomas (Stalker, 1980). Este tipo de barreras pueden ser determinadas mediante los estudios citogenéticos, que permiten detectar genotipos amortiguadores (poliploides) y homologías cromosómicas que ayuden a salvar barreras citológicas (Palomino, 1986).

Por otra parte, el empleo de plantas poliploides presentan ventajas con respecto a sus ancestros diploides debido a su gran adaptabilidad, ya que pueden crecer en medios muy variados, alcanzar gran talla, producir grandes cantidades de alimento, forraje y son más resistentes a las enfermedades. El flujo genético que ha dado origen a estas plantas poliploides proviene tanto de plantas cultivadas como silvestres, lo que permite mejorar las razas y combinar las ventajas de la poliploidía y la domesticación. En conclusión, un poliploide derivado de un cultivo pueden ser mejor que un poliploide silvestre y la secuencia:

domesticación - poliploidización es más útil en relación al mecanismo contrario (Zeven, 1979).

Además, con el advenimiento de nuevas tecnologías como el uso de marcadores moleculares, la aplicación de técnicas de citometría de flujo para estudios citológicos y la micropropagación han incrementado el uso de técnicas convencionales tales como la hibridación, la mutagénesis y la selección recurrente en la búsqueda de nuevas y mejores variedades.

## 2.2.6 Citogenética del género *Chenopodium*

El número básico de cromosomas que predomina entre las quenopodiáceas es  $x = 9$  siendo rara la aneuploidía y más común la poliploidía (Raven y Axelrod, 1974). McArthur *et al.*, (1983) resumieron la información disponible sobre los números cromosómicos de las quenopodiáceas, misma que se reproduce en el cuadro 1. Las especies diploides ( $2x$ ) predominan (61%) y los taxa poliploides son tanto genéricos como específicos.

**Cuadro 1.** Patrón de números cromosómicos en Chenopodiaceae (McArthur *et al.*, 1983)

Números cromosómicos					
Número básico		Número géneros			
6		1			
8 y 9		1			
9		43			
12		2			
Patrón de números cromosómicos en poliploides					
Patrón		Número géneros			
2x		26			
2x - 4x		6			
2x - 6x		1			
2x - 6x, 12x		1			
2x - 8x		2			
2x - 8x, 12x		1			
2x - 12x		1			
4x		7			
4x - 6x		1			
4x - 8x		1			
Número de especies					
2x	4x	6x	8x	10x	12x
257	114	34	11	3	2
61%	27.1%	8.1%	2.6%	0.7%	0.5%

El número básico de cromosomas que predomina en el género *Chenopodium* es de  $x = 9$  (Giusti, 1970; Simmonds, 1965; Uotila, 1973; Wilson y Heiser, 1979) (Cuadro 2). Giusti (1970) reporta  $x = 9$ , como el número básico para 15 de 16 secciones del género *Chenopodium* y  $x = 8$ , para la sección Ambrina.

Dentro de la sección *Cellulata* serie *Foveosa* del género *Chenopodium* se encuentran algunos tetraploides como *C. quinoa* ( $2n = 4x = 36$ ), *C. berlandieri* Moq. ( $2n = 4x = 36$ ), *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* ( $2n = 4x = 36$ ), *C. hircinum* ( $2n = 4x = 36$ ) y los diploides ( $2n = 2x = 18$ ) *C. watsonii* y *C. neomexicanum* (Wilson, 1990).

En el caso de *Chenopodium quinoa* el número cromosómico es  $2n = 4x = 36$  (Cárdenas y Hawkes, 1948; Gandarillas y Luizaga, 1967) y los cromosomas pueden ser arreglados en nueve grupos en series de cuatro cromosomas (Cárdenas y Hawkes, 1948).

Gandarillas y Luizaga (1967) realizaron conteos de cromosomas en radículas de *Chenopodium quinoa* y encontraron que el número cromosómico variaba de 18 a 36 cromosomas; predominando los triploides con 27 cromosomas y encontraron la existencia de endomitosis con números que sobrepasan la heptaploidía. Al realizar los conteos cromosómicos en raicillas observaron que predominaban los tetraploides con 36 cromosomas. Del estudio anterior se concluyó que la quinua es una planta tetraploide cuando se estabiliza el proceso de diferenciación de las partes constitutivas de la raíz

*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* también presenta un número cromosómico  $2n = 4x = 36$  con un  $n = 9$  (Meharchandani, 1960, citado por Harbhajan, 1961; Wilson y Heiser, 1979). Palomino *et al.* (1990), analizaron cinco poblaciones de huauzontle del Valle de México de las cuales el número cromosómico es de  $2n = 4x = 36$  y el cariotipo que observaron en este cultivar fue de 15 pares de cromosomas metacéntricos y tres pares de cromosomas submetacéntricos; dos pares de cromosomas metacéntricos con satélites. Este cariotipo se presentó por primera vez, dado que hasta el momento sólo se habían reportado el número cromosómico. También observaron que el 18.6% de las células en metafase estudiadas tenían un  $2n = 72$ , estas plantas son interpretadas como octoploides ( $8x$ ) con un  $x = 9$  y cuyo origen puede deberse a una no disyunción en el ciclo celular o por duplicaciones endomitóticas.

Cuadro 2. Números cromosómicos reportados para las especies de *Chenopodium*.

Especie	No. cromosómico		Referencia
	n	2n	
<i>C. acuminatum</i> Willd.		18	Lomonosova y Krasnikov, 1994.
<i>C. album</i> L.	27	18, 36, 54	Bassett y Crompton, 1982.
		54	Bouchard <i>et al.</i> , 1978; Dvorak, 1993a
		27, 54	Gervais, 1979b; Tanaka y Tanaka, 1980.
		18	Uotila, 1973.
<i>C. antarctium</i> (Hook. f.) Benth. y Hook.		18	Giusti, 1970.
<i>C. aristatum</i>		18	Balaeva y Siplivinsky, 1981.
<i>C. berlandieri</i> Moq.		36	Crawford, 1973.
<i>C. berlandieri</i> Moq. <i>ssp.</i> <i>zschackei</i> (Murr.) Zobel	18		Bassett y Crompton, 1982.
		36	Wilson, 1980.
<i>C. berlandieri</i> <i>spp</i> <i>nuttalliae</i> (Saff.) Wilson y Heiser	18		Meharchandani, 1960 citado por Harbhajan, 1961.
		36	Simmonds, 1965; Wilson y Heiser, 1979; Palomino <i>et al.</i> , 1990.
<i>C. borbasii</i> J. Murr.		54	Dvorák y Dadaková, 1984.
<i>C. botrys</i> L.	9		Uotila, 1973.
		18	Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. botryodes</i> Smith		18	Lomonosova y Krasnikov, 1994.
<i>C. carnosulum</i> Moq.	9		Giusti, 1970.
<i>C. capitatum</i> (L.) Asch.	9	18	Gervais, 1979b ; Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. cordobense</i> Aellen	9		Giusti, 1970.
<i>C. densifoliatum</i> (Ludwig y Aellen) Dvorák		54	Dvorák, 1986a.
<i>C. desiccatum</i> A. Nelson	9	18	Dvorák <i>et al.</i> , 1979; Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. diversifolium</i> (Aellen) Dvorák		54	Dvorák, 1986a.
<i>C. ficifolium</i> Smith	9		Uotila, 1973.
		18	Bouchard <i>et al.</i> , 1978; Gervais, 1979b.
<i>C. ficifoliiforme</i> Dvorák		54	Dvorák, 1986b.
<i>C. foggii</i> Wahl.	9		Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. foliosum</i> (L.) F. Asch.		18	Lomonosova y Krasnikov, 1994.
<i>C. fremontii</i> S. Watson	9	18	Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. frutescens</i> C. A. Mey.		90	Lomonosova y Krasnikov, 1994.
<i>C. fursajewii</i> Aellen y Iljin		18, 36	Dvorák, 1986b.
<i>C. gigantespermum</i> Aellen		36	Bassett y Crompton, 1982.
	18		Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. glabrescens</i>		18	Crawford, 1973.
<i>C. glaucophyllum</i> Aellen		36	Dvorák <i>et al.</i> , 1989.
<i>C. glaucum</i> L.	9		Bassett y Crompton, 1982.
	9	18	Gervais, 1979b; Tanaka y Tanaka, 1980.
<i>C. griseochlorium</i> F. Dvorák		54	Dvorák, 1994.
<i>C. hubertusii</i> F. Dvorák		18, 36	Dvorák, 1986b.
<i>C. hircinum</i> Schrader		36	Giusti, 1970.
<i>C. inurale</i> L.		18	Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. lanceolatum</i> <i>forma opizii</i> Dvorák		54	Dvorák, 1987.
<i>C. lanceolatum</i> Muhlenb Willd.		54	Dvorák, 1993b.
<i>C. leptophyllum</i> Nutt.	9	18	Bassett y Crompton, 1982.

**Cuadro 2.** (Continuación) Números cromosómicos reportados para las especies de *Chenopodium*.

Especie	No. cromosómico		Referencia
	n	2n	
<i>C. macrospermum</i> Hook.	18		Giusti, 1970.
<i>C. macrocalycium</i> Aellen	18		Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. mediterraneum</i> (Aellen) Dvorák		36, 54	Dvorák y Dadaková, 1984.
<i>C. multifidum</i> L.	16		Uotila, 1973.
		32	Giusti, 1970.
<i>C. murale</i> L.		18	Giusti, 1970; Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. neomexicanum</i> Aellen		18	Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. oahuense</i> (Meyen) Aellen	18		Carr, 1978.
<i>C. obscurum</i> Aellen		18	Giusti, 1970.
<i>C. opulifolium</i> Schrader		54	Queirós, 1975.
<i>C. opulifolium</i> Schrader, Koch y Ziz	27		Uotila, 1973.
<i>C. pallidicaule</i> Aellen	9	18, 36	Giusti, 1970.
<i>C. papulosum</i> Moq.		18	Giusti, 1970.
<i>C. paucidentatum</i> (Aellen) Dvorák		54	Dvorák, 1986a.
<i>C. penduculare</i> Bertol		54	Dvorák, 1984a.
<i>C. papulosum</i> Moq.		18	Giusti, 1970.
<i>C. petiolare</i> H. B. K.		18	Giusti, 1970.
<i>C. polyspermum</i> L.	9		Dvorák <i>et al.</i> , 1989; Bassett y Crompton, 1982.
		18	Uotila, 1973.
<i>C. praeacutum</i> x <i>thellungii</i>		18, 54	Dvorák, 1986b.
<i>C. pratericola</i> Rydb.	9	18	Giusti, 1970; Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. x pseudo-striatum</i> Zschacke		36, 72	Dvorák, 1984b.
<i>C. quinoa</i> Willd.		18, 27, 36, 45	Giusti, 1970; Gandarillas, 1976.
<i>C. quinoa</i> var. <i>melanospermum</i>		36	Giusti, 1970
<i>C. quinoa</i> var. <i>viridescens</i>		36	Giusti, 1970
<i>C. retusum</i> Juss. ex Moq.		64	Giusti, 1970.
<i>C. rubrum</i> L.		18	Bassett y Crompton, 1982.
		36	Lomonosova y Krasnikov, 1994.
<i>C. salinum</i> Standley	9		Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. scabricaule</i> Speg.		18	Giusti, 1970.
<i>C. solitarium</i> x		18, 36	Dvorák, 1986b.
<i>C. stratiforme</i> J. Murr		36	Dvorák, 1993b.
<i>C. x striatum</i> (Krasan) J. Murr x <i>strictum</i>		36	Dvorák, 1993b.
<i>C. striatum</i> f. <i>erosum</i> J. Murr		36	Dvorák, 1989.
<i>C. striatum</i> f. <i>purpureo-griseum</i> Dvorák		36	Dvorák, 1989.
<i>C. striatum</i> f. <i>atro- viridolivaceum</i> Dvorák		36	Dvorák, 1989.
<i>C. strictum</i> Roth f. <i>strictum</i>	18		Dvorák, 1993b; Uotila, 1973.
<i>C. strictum</i> Roth		36	Gervais, 1979a.
<i>C. subglabrum</i> (S. Wats.) A. Nelson		18	Bassett y Crompton, 1982.
<i>C. subopulifolium</i> J. Murr		18, 36	Dvorák, 1992.
<i>C. suecicum</i> J. Murr		18	Lomonosova y Krasnikov, 1994.
<i>C. urbicum</i> L.	9		Uotila, 1973.
<i>C. vulvaria</i> L.		18	Dempser <i>et al.</i> , 1994.
		36	Dvorák, 1989.
<i>C. watsonii</i> A. Nelson		18	Bassett y Crompton, 1982.

## 2.3 Taxonomía, distribución geográfica y origen de *Chenopodium*

### Taxonomía

La familia Chenopodiaceae incluye 100 géneros con alrededor de 1200 a 1500 especies (Cronquist, 1981). Es una de las 11 familias del orden Caryophyllidae o Centrospermales la cual se caracteriza por presentar placentación libre central, alta densidad de sus ramificaciones y raíces secundarias, morfología del polen muy similar y como pigmentos las betalainas (Behnke, 1976; Eckardt, 1976; Cronquist, 1981).

El género *Chenopodium* comprende 250 especies donde se incluyen plantas herbáceas (anuales y perenes) y arborescentes. Este género está caracterizado por flores pequeñas, perfectas y raramente unisexuales, con 5 partes del perianto, raramente 3 y 4 partes lobadas. Las flores tienen comúnmente 5 estambres con anteras oblongas, el estilo usualmente tiene de 2 a 5 estigmas y ovario súpero. Fruto aquenio, lenticular, horizontal o vertical (Standley, 1916).

*Chenopodium quinoa* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* pertenecen a la subsección *Cellulata* la cual se caracteriza por presentar pericarpio alveolado y cáliz lobulado. Los caracteres diagnósticos que distinguen a *C. quinoa* son el tener semillas que miden de 1.5 a 1.75 mm de diámetro, hojas anchas trilobadas y lóbulo medio triangular ancho (Cuadro 1.). *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* presenta semillas de 1 a 1.5 mm de diámetro, hojas ovaladas, elípticas, rómbicas, anchas y lóbulo obtuso o acuminado (Cuadro 3).

La posición taxonómica de según Aellen y Just (1943); Wilson y Heiser, (1979) es:

Orden : Centrospermales  
 Familia : Chenopodiaceae  
 Género : *Chenopodium*  
 Sección : *Chenopodia*  
 Subsección : *Cellulata*  
 Serie : *Foveosa*  
 Género y Especie: ***Chenopodium quinoa* Willdenow var. *barandales*  
*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* (Safford)  
 Wilson y Heiser cvs. chía roja, chía amarilla,  
 huauzontle verde, huauzontle rojo y quelite cenizo.**

**Cuadro 3.** Características morfológicas de *Chenopodium quinoa* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* (Aellen y Just, 1943; Simmonds, 1965; Carrillo y Mark, 1994; Mujica, 1997).

Especie	<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i>
<b>Habito</b>	Planta anual, con un periodo vegetativo de <b>150 a 240 días</b> , erecta, ramificada y puede llegar a medir hasta <b>3 m</b> de longitud.	Planta anual, con un periodo vegetativo de <b>90 a 120 días</b> , erecta, ramificada y llega a medir hasta <b>2.8 m</b> de longitud.
<b>Raíz</b>	Sistema radical primario altamente ramificado.	Sistema radical primario altamente ramificado.
<b>Tallo</b>	<b>Cilíndrico</b> , termina en la panoja, de color verde, amarillo, púrpura, rojo, con o sin pigmentos en las axilas.	<b>Angular, estriado</b> , termina en la panoja, de color verde, amarillo y rojos.
<b>Hojas</b>	Alternas, <b>trilobuladas</b> y cubiertas por una capa de oxalato de calcio. Presenta polimorfismo, las hojas inferiores son rómbicas, deltoides o triangulares, miden hasta 15 cm de largo y 12 cm de ancho. Las hojas de la inflorescencia son lineales y lanceoladas.	Alternas, <b>ovaladas, elípticas y rómbicas</b> , ápice agudo, pecioladas, <b>más delgadas y angostas que las hojas de la quinoa</b> ; las hojas inferiores también tienden a ser rómbicas. Las hojas de la inflorescencia son lineales y lanceoladas.
<b>Inflorescencias</b>	Panícula foliosa, constituida por un eje central, ejes secundarios, terciarios y pedicelos que sostienen a los glomérulos. Glomerulada y en algunas variedades amarantiforme. Diámetro de <b>1 a 13 cm</b> .	Panícula foliosa, glomérulos redondeados, con un eje principal y varios secundarios. Diámetro de <b>1 a 9 cm</b> .
<b>Flores</b>	Plantas ginomonóicas (flores unisexuales y hermafroditas) de aproximadamente <b>2 mm</b> de longitud, perianto quillado con 5 lóbulos, ( <b>lóbulo medio triangular ancho</b> ), 5 estambres, pericarpio adherente, ovario súpero. Algunas o todas las flores hermafroditas pueden ser androestériles.	Plantas ginomonóicas (flores unisexuales y hermafroditas) de aproximadamente <b>1.5 mm</b> de longitud, perianto quillado con 5 a 8 lóbulos ( <b>lóbulo medio obtuso o acuminado</b> ), estambres de 5 a 7, pericarpio adherente, ovario súpero.
<b>Polen</b>	El polen es pantoporado, apolar, con simetría radiada, de forma circular, con un tamaño que oscila entre 10 y 30µm de diámetro. Tiene aperturas simples de tipo poro, muy numerosas (de 25 a 59) formando círculos concéntricos por toda la superficie del polen, con un diámetro de hasta 3µm. La membrana apertural tiene numerosos gránulos, y su exina aproximadamente 2µm de grosor. El tectum es completo, infratectum columelado, con columelas gruesas y numerosas. Superficie equinulada o punteada.	El polen es pantoporado, apolar, con simetría radiada, de forma circular, con un tamaño que oscila entre 10 y 30µm de diámetro. Tiene aperturas simples de tipo poro, muy numerosas (de 25 a 59) formando círculos concéntricos por toda la superficie del polen, con un diámetro de hasta 3µm. La membrana apertural tiene numerosos gránulos, y su exina aproximadamente 2µm de grosor. El tectum es completo, infratectum columelado, con columelas gruesas y numerosas. Superficie equinulada o punteada.
<b>Frutos</b>	Aquenio, constituido por el pericarpio que contiene una sola semilla. La cara superior del fruto es casi plana y la cara inferior es convexa con un surco radial donde se enrolla el funículo.	Aquenio, constituido por el pericarpio que contiene una sola semilla. La cara superior del fruto es casi plana y la cara inferior es convexa con un surco radial donde se enrolla el funículo.
<b>Semillas</b>	Semillas de <b>1.5 - 2.6 mm</b> de diámetro, de forma lenticular, elipsoidal o cónica. El color de la semilla puede ser blanco, rojo, amarillo, amarillo, marrón hasta negro.	Semillas de <b>1.1 - 1.3 mm</b> de diámetro y 1.1 - 1.4 mm de largo, eléptica de colores amarillo, castaño, rojizo.

***Chenopodium quinoa var. barandales***: planta con tallo cilíndrico de 1.80 m de altura, diámetro de 1.82 cm, de color verdeclaro y sin pigmentos en las axilas. Las hojas superiores son verdes, ovaladas, de borde liso, de una longitud máxima de 4.86 cm y de 2.67 cm de ancho; las hojas inferiores son lobuladas, ligeramente dentadas, miden hasta 5.78 cm a lo largo y 4.98 de ancho. La panoja es glomerulada, compacta, de color verde, con una longitud máxima de 35.50 cm y un diámetro de 28.10 cm. La semilla es de color blanco y de 2.2 mm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. Fig. 3A).

Los cultivares en este estudio fueron determinados por caracteres morfológicos seleccionados para propósitos agrícolas como el tamaño y el color de la semilla, la panoja y las hojas los cuales se transmiten a las siguientes generaciones.

**Chía roja**: planta con tallo cilíndrico de 1.80 m de altura, diámetro de 1.48 cm y de color púrpura oscuro sin pigmentos en las axilas. Las hojas son de diversos grados de color púrpura, las hojas superiores son ovaladas, de borde liso, de una longitud máxima de 6.74 cm y de 2.98 cm de ancho; las hojas inferiores son rómbicas, ligeramente dentadas, miden hasta 3.35 cm a lo largo y 1.61 de ancho. La panoja es glomerulada, compacta, de color rojo oscuro, con una longitud máxima de 70 cm y un diámetro de 35 cm. La semilla es de color púrpura y mide 2 mm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. Fig. 3B).

**Chía amarilla**: planta con tallo cilíndrico de 1.80 m de altura, diámetro de 1.36 cm y de color amarillo con pigmentos en las axilas. Las hojas son verdes con manchones amarillos, las hojas superiores son ovaladas, de borde liso, de una longitud máxima de 3.53 cm y de 1.72 cm de ancho; las hojas inferiores son lobuladas, ligeramente dentadas, miden hasta 3.28 cm a lo largo y 1.40 de ancho. La panoja es glomerulada, compacta, de color amarillo claro, con una longitud máxima de 16 cm y un diámetro de 35 cm. La semilla es de color rojo y mide 1.8 mm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. Fig. 4A).

**Huauzontle verde de Atlacomulco**: planta con tallo angular de 1.31 cm de altura, diámetro de 1.5 cm, de color amarillo y sin axilas pigmentadas. Las hojas superiores son verdes, elípticas, de borde dentado, de una longitud máxima de 6.83 cm y de 1.68 cm de ancho; las hojas inferiores son anaranjadas, rómbicas, dentadas, miden hasta 9.14 cm a lo largo y 4.92 cm de ancho. La panoja es glomerulada, compacta de color verde con una longitud máxima de 74.25 cm y un diámetro de 52 cm. La semilla es de color amarillo - anaranjado y de 1.8 cm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. Fig. 4B).

**Huauzontle verde de Lerma**: planta con tallo angular de 1.51 cm de altura, diámetro de 1.5 cm, de verde oscuro y sin axilas pigmentadas. Las hojas superiores son verdes, elípticas, de borde dentado, de una longitud máxima de 5.46 cm y de 1 cm de ancho; las hojas inferiores son anaranjadas, rómbicas, dentadas, miden hasta 5.41 cm a lo largo y 3 de ancho. La panoja es glomerulada, compacta de color verde con una longitud máxima de 66.5 cm y un diámetro de 26 cm. La semilla es de café cloro y mide 1.8 mm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. . Fig. 4C).

**Huauzontle rojo:** planta con tallo angular de 1.34 cm de altura, diámetro de 1.32 cm, de color verde-rojizo, sin axilas pigmentadas. Las hojas superiores son verdes, elípticas, de borde dentado, de una longitud máxima de 6.42 cm y de 1.78 cm de ancho; las hojas inferiores son verde-rojizas, rómbicas, dentadas, miden hasta 8.88 cm a lo largo y 5.05 cm de ancho. La panoja es glomerulada de color verde con una longitud máxima de 49.80 cm y un diámetro de 20 cm. La semilla es de color amarillo y de 1.6 mm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. . Fig. 5A).

**Quelite cenizo:** planta con tallo cilíndrico de 1.70 m de altura, diámetro de 1.30 cm y de color verde rojizo, con pigmentos en las axilas. Las hojas superiores son verde-rojizas, elípticas, de borde liso, de una longitud máxima de 5.60 cm y de 2.30 cm de ancho; las hojas inferiores son verdes, rómbicas, ligeramente dentadas, miden hasta 3.81 cm a lo largo y 1.93 de ancho. La panoja es glomerulada, de color amarillo claro, con una longitud máxima de 30 cm y un diámetro de 30 cm. La semilla es de color rojo y mide 1.80 mm de diámetro (Eulogio de la Cruz, comunicación personal. Fig. 5B).



**Figura 3** Ejemplares representativos de: A) *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y B) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. *chía roja*.



**Figura 4.** Ejemplares representativos de : A) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. A) chíá amarilla, B) huauzontle verde de Atlacomulco, C) huauzontle verde de Lerma.



**Figura 5.** Ejemplares representativos de : A) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. A) huauzontle rojo, B) quelite cenizo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Distribución geográfica y origen

La familia Chenopodiaceae se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo por su capacidad de tolerar condiciones ambientales extremas como suelos salinos, pasando por todos los grados intermedios de temperatura y humedad, lo cual se debe probablemente a su condición poliploide (Giusti, 1970; Uotila, 1973; Tanaka y Tanaka, 1980; Basset y Crompton, 1982).

Las especies de *Chenopodium* subsección *Cellulata* están distribuidas a lo largo del Norte y Sur de América (Fig. 6). En Sudamérica se encuentra *Chenopodium quinoa* que se distribuye a lo largo del Altiplano de Perú y Bolivia, Suroeste de Colombia, Noroeste de Argentina, Norte de Chile y en la Sierra ecuatoriana. Fue domesticado alrededor del Lago Titicaca-Perú donde los registros arqueológicos datan desde 5000 a C. y es ahí donde se presenta el 75% de la variabilidad de esta especie creciendo a 4000 msnm (Wilson, 1988a, 1988b).

*Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. huauzontle y quelite cenizo se distribuyen en el Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas y Veracruz (Simmonds, 1965). La distribución de la chíá roja y la chíá amarilla se restringe a prácticas tradicionales de costumbres familiares en los alrededores de Pátzcuaro, Michoacán (Mapes, 1984). Se considera al centro y norte de México como los lugares de origen de la domesticación (Wilson y Heiser, 1979).

Análisis electroforéticos en poblaciones de *C. quinoa* del Sur de América, proveen bases para la interpretación de fenotipos de isoenzimas, siendo el más común el tetraploide homocigótico el cual pudo ser generado por alopoliploidía que involucra progenitores diploides de fenotipos completamente distintos. Esto pudo suceder por la pérdida y duplicación de los genes vía fijación de alelos producidos por la duplicación del loci (Wilson, 1980, 1981a).

Walters (1987) mediante análisis electroforéticos indica que *Chenopodium berlandieri* es un alotetraploide originado por hibridación entre dos especies diploides norte americanas. Además, los fenotipos electroforéticos observados por este autor coinciden con los rangos de distribución geográfica y de similitud morfológica entre las especies diploides y *C. berlandieri*.

Estudios de segregación alélica de caracteres morfológicos de un solo gen indican que *C. quinoa* presenta herencia disómica y tetrasómica, lo cual es consistente con la alotetraploidía de la quinoa (Ward, 2000).

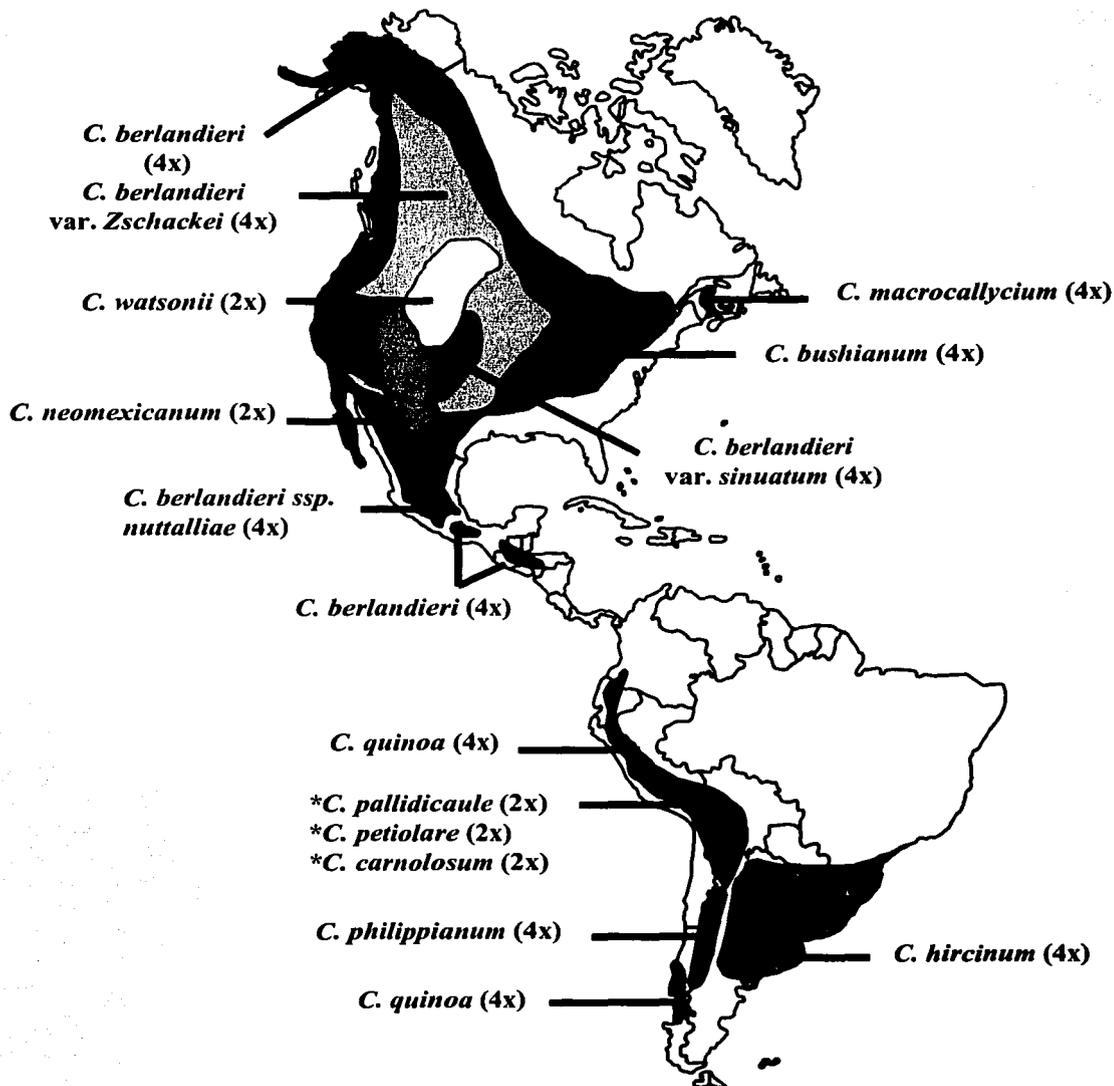
Simmonds (1971), con base en estudios de la herencia del color de la planta y tipo de esterilidad masculina de *C. quinoa* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae*, considera que las dos especies son alotetraploides con herencia disómica, lo que quiere decir que en su origen participaron dos especies diploides distintas entre sí ( $2n = 2x = 18$  cromosomas).

Gandarillas (1976) considera a los Andes del Perú y Bolivia como el centro de origen de *Chenopodium quinoa* por la gran diversidad que presenta esta especie en la región. Asimismo, Hunziker (1943) y Gandarillas (1976) coinciden en proponer como al pariente más cercano de la quinoa al tetraploide silvestre *C. hircinum* ( $2n = 4x = 36$ ) de la subsección *Cellulata* y sus ancestros *C. carnosolum*, *C. pallidicaule* y *C. petiolare* todos ellos aldeanos y diploides de la subsección *Leiosperma* del género *Chenopodium* (Figura 6).

Algunos autores consideran que *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* es co-específica con *Chenopodium quinoa* (Figura 6). Dicho planteamiento sugiere que *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* puede ser en la actualidad la representación de la introducción pre-colombiana por el humano de *C. quinoa* desde Sur América hasta Norteamérica y que pudieron ser originadas por un mismo silvestre sudamericano (Standley y Steyermark, 1949; Dressler, 1953; citados por Ruas, et al., 1999).

Si el huazontle no viene del sur, otra especie de la cual pudo descender es el tetraploide silvestre *Chenopodium berlandier* ( $2n = 4x = 36$ ) de la subsección *Cellulata* que se localiza desde el Noroeste de América hasta Guatemala (Wilson, 1981a). Los ancestros diploides que se proponen para *C. berlandieri* son *C. neomexicano* y *C. watsonii* ( $2n = 2x = 18$ ) y se distribuyen desde el Suroeste de Estados Unidos hasta México. Además, *C. berlandieri* también puede ser el ancestro de la quinoa si la base de la domesticación hubiera sido en México (Hunziker, 1943; Heise, 1990).

Sin embargo el lugar de origen de *Chenopodium quinoa* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* que esta más apoyado por la literatura es el norteamericano. Esto se basa en que *C. berlandieri* var. *zschackei* (subsección *Cellulata*), distribuido en norteamérica, es el único tetraploide silvestre de la subsección *Cellulata* con el cual se obtiene altos porcentajes de viabilidad en la descendencia de cruza tanto con *C. quinoa* como con *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* (Wilson y Heiser, 1979). Además mediante análisis isoenzimáticos se observó que *C. berlandieri* var. *zschackei* es el único que comparte alelos de leucina aminopeptidaza (LAP) con *C. quinoa* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae*. Por último, Ruas et al., (2000) mediante la amplificación al azar de ADN polimorfo (RAPD) identificó que hay mayor relación de *C. quinoa* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* con *C. berlandieri* que con su posible ancestro sudamericano diploide *C. pallidicaule* de la subsección *Leiosperma* (Figura 6).



**Figura 6.** Distribución geográfica de la subsección *Cellulata* y \**Leiosperma* del género *Chenopodium* en América. Modificado de Wilson (1990).

## 2.4 Importancia económica de *Chenopodium quinoa* y *Chenopodium berlandieri* ssp *nuttalliae*.

*Chenopodium quinoa*, se ha utilizado para el consumo humano y animal desde hace más de 5, 000 años y constituye una parte importante de la dieta de los pueblos de América del Sur (Tapia, 1990). El contenido de proteínas de la quinoa es alto, 14.6% (Fleming y Galwey *et al.*, 1995) (Cuadro 4) y su composición es rica y balanceada en aminoácidos (cisteína, lisina, metionina). Además contiene vitaminas y minerales (Cuadro 5) como vitamina A, E, C, tiamina, riboflamina, ácido fólico, Ca, P, Mg, Fe, Zn y Cu (Galwey *et al.*, 1990). Sin embargo la quinoa suele tener saponinas en el episperma de la semilla, que son un grupo de jaboncillos (glicósidos) que le otorgan un sabor amargo a las semillas y se eliminan a través de lavados pero esto incrementa su costo (Kim, *et al.* 1994). En la actualidad se cultiva principalmente en la Zona Andina del Perú cubriendo una superficie de aproximadamente 20,000 hectáreas (Valdivia *et al.*, 1997).

La harina de la quinoa se mezcla con trigo en la elaboración de pan, galletas, pastas, papillas, etc. Las hojas tiernas, también se utilizan en la alimentación humana como verdura tipo espinaca. Los granos maltratados o quebrados se emplean en la alimentación de la mayoría de los animales domésticos. Los tallos sirven como forraje por su buena palatabilidad y alta digestibilidad (Paz, 1999; Flores, 1987). También tiene usos medicinales tanto las hojas, los tallos como los granos, recomendándose para aliviar más de 22 dolencias que van desde cicatrizante, desinflamante, dolor de muelas, fracturas de huesos hasta para detener hemorragias internas y como repelente de insectos (Mujica, 1997).

Además, es una planta resistente a la sequía debido a una serie de modificaciones y mecanismos que pueden ser morfológicos (menor tamaño de la planta), fisiológicos (cierre estomático temprano), anatómicos (menor número y tamaño de estomas), fenológicos (reducción del período de floración) y bioquímicos (mayor síntesis de prolina) así mantiene sus funciones vitales y logra almacenar sustancias de reserva en la semilla (Jacobsen, 1997).

*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae* fue de gran importancia para los antiguos mexicanos, tanto en el aspecto alimenticio como religioso hasta antes de la conquista. Actualmente, no es un cultivo importante para la agricultura mexicana aunque se sigue vendiendo el cultivar huazontle durante todo el año en los mercados, principalmente en el Centro de México. Se consumen sus hojas como quelites, las semillas se usan para obtener harinas y predomina el consumo de las inflorescencias, las cuales tienen un gran valor nutritivo por el contenido de proteínas, vitaminas y minerales (Escobedo, 1947; Laborde, 1962) (Cuadro 4 y 5).

Actualmente, se siguen empleando los nombres de chíja roja, chíja amarilla para algunos cultivares de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* por su cubierta rosa o roja y amarilla (Heiser, 1985). De la chíja roja se usa la semilla para obtener harina que puede o no combinarse con el maíz para la elaboración de tortillas y tamales; la chíja amarilla se utiliza la inflorescencia como en el caso del huazontle. Estos dos cultivares se siembran asociados con cultivos de maíz, calabaza y frijol en las partes altas del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. A

pesar de que la chífa presenta un mínimo o nulo contenido saponinas y que su contenido de proteínas en la semilla es cercano al que contiene la quinoa, su cultivo tiende a desaparecer como una costumbre familiar más de México (Heiser, 1985; Mapes, 1984).

Los quelites se definen como plantas generalmente herbáceas, se incluyen especies arbustivas y arbóreas, cuyas hojas y tallos tiernos y en ocasiones también las inflorescencias inmaduras son consumidas como verdura e incluyen algunas especies del género *Chenopodium* (Bye, 1981).

**Cuadro 4.** Comparación de la calidad nutricional (%) peso seco de quinoa y huauzontle comparados con algunos cereales. Escobedo (1947); Galwey *et al.* (1990).

Cultivo	% peso seco					
	Agua	Proteína	Grasas	Carbohidratos	Fibra	Cenizas
Arroz	12	9.7	2.4	73.2	1.1	1.6
Avena	11	10.3	4.7	62.1	9.3	2.6
Cebada	15	10.0	1.5	66.4	4.5	2.6
Centeno	10	12.4	1.3	71.7	2.3	2.0
Huauzontle	9	13.0	1.1	67.8	2.0	3.2
Maíz	11	9.4	4.1	72.1	2.0	1.4
Quinoa	12	14.7	5.3	55.7	4.9	3.0
Sorgon	11	11.0	3.2	70.9	2.4	1.5
Trigo	15	8.9	2.2	66.8	2.1	1.5

**Cuadro 5.** Densidad de nutrientes para algunas vitaminas y minerales del grano de la quinoa y comparado con el trigo, arroz, avena, maíz.

Nutrientes	Densidad de nutrientes					
	Quinoa	Huauzontle	Trigo	Arroz	Avena	Maíz
Vitamina A	1.4		0	0	0	0.2
Vitamina C	1.4	1.1	0	0	0	-
Vitamina E	2.1		1.2	0.5	0.5	0.8
Tiamina	1.2	1.7	2.1	1.7	2.9	2.0
Riboflavina	0.9	0.5	0.6	0.3	0.6	0.4
ácido fólico	2.2		1.7	1.6	1.7	1.4
Calcio (Ca)	0.4	0.2	0.2	0.1	0.4	0.1
Fósforo (P)	2.1		1.5	1.3	1.4	1.2
Magnesio (Mg)	4.9		3.2	4.0	2.8	3.0
Hierro (Fe)	1.1		1.0	0.4	1.2	1.1
Zinc (Zn)	1.3		1.1	0.6	1.0	0.6
Cobre (Cu)	6.3		1.9	1.3	1.5	1.3

Densidad de nutrientes: rango entre la cantidad que presentan los nutrientes en el material que proporciona 1,300 Kcal. y la cantidad recomendada para los niños entre uno y tres años. Tomado de Escobedo (1947); Ruales y Nair (1993).

## 2.5 Contenido de ADN por citometría de flujo

### Contenido de ADN

El contenido de ADN o tamaño del genoma y el valor C del ADN nuclear son relevantes para el conocimiento del genoma de los organismos; además son caracteres importantes de biodiversidad. El valor C se define como la suma total del ADN de los núcleos gaméticos haploides sin replicar (Swift, 1950) y es independiente de los niveles de ploidía del taxon (Bennett y Leitch, 2003).

El contenido de ADN nuclear en las Angiospermas varía unas 1000 veces entre rangos de valor  $2C = 0.2$  pg ( $1 \text{ pg} = 10^{-12}\text{g}$ , Cavalier - Smith, 1985) en *Fragaria viridis* Duchensne (Rosaceae) a 250 pg en *Fritillaria assyriaca* Bake (Liliaceae). Para el año 2002 se ha medido el contenido de ADN de más de 3802 especies de Angiospermas lo que apenas representa el 1.4% del total de la flora mundial de las plantas con flores (Bennett y Leitch, 2003).

En el caso de la variación en el contenido de ADN se involucran principalmente secuencias de ADN repetitivas que no codifican funciones. Los cambios en el contenido de ADN entre plantas de una misma especie con el mismo nivel de ploidía se deben a duplicaciones de sus genomios y al "efecto nucleotípico". Este último es definido como el efecto que tiene el ADN sobre el fenotipo aparte del que codifica funciones (Bennett, 1972); el cual tiene influencia en el desarrollo de varios parámetros celulares como son el tamaño de los cromosomas, el volumen de la célula y la duración del ciclo celular.

Se han observado patrones de variación inter- e intra- específicos del contenido de ADN que se relacionan con factores adaptativos medioambientales y ecológicos de las plantas (Wyman *et al.*, 1997; Cavallini y Natali, 1991) como son la distribución, el rango de crecimiento, hábitat y el tiempo de ciclo de vida (Bennett, 1985, 1987); es decir, el efecto nucleotípico en la variación del ADN son predecibles y aparentemente de significancia adaptativa en las plantas (Price, 1976).

El ADN nuclear es un carácter importante para conocer la biodiversidad (Bennett *et al.*, 2000), también es empleado en estudios de Sistemática y Evolución (Cavalier-Smith, 1985; Ohri, 1998; Narayan, 1998), Ecología (Grime, 1998), Biología Celular y Molecular (Dolezel, 1997b; Bennett y Leitch, 1995), Fisiología (Vinogradov, 1999), desarrollo (Bharathan, 1996) y Paleontología (Masterson, 1994).

## Citometría de flujo

La citometría de flujo es una metodología que permite el análisis rápido y preciso de la fluorescencia y la dispersión de la luz en poblaciones de “partículas” que pueden ser núcleos, protoplasmas, células, organelos; que fluyen por una corriente líquida y estrecha a través de una luz intensa. Mediante esta técnica se ha logrado detectar variación intercelular y la existencia de subpoblaciones en especies vegetales (Dolezel, 1997a).

El citómetro de flujo (CF) es el instrumento que se emplea para medir el contenido de ADN mediante el análisis de parámetros ópticos, es decir la diseminación de luz de fluorescencia de las partículas teñidas con fluorocromos que fluyen a velocidades altas entre  $10^2 - 10^3$  partículas por segundo con respecto al punto donde son medidas. Los núcleos celulares son medidos a velocidades de 40 - 50 núcleos por segundo y pueden ser teñidos con fluorocromos específicos que se intercalan en la doble hélice del ADN como el Ioduro de Propidio (IP) y el Bromuro de Etidio (BE). Otro tipo de fluorocromos son los base - selectivos que se adhieren a las regiones ricas en Adenina - Timina del ADN como el DAPI y el Hoech 33258 o los que seleccionan a Guanina - Citocina como Cromomicina A3 y Mitramicina (Dolezel *et al.*, 1992).

Las partículas teñidas son forzadas hidrodinámicamente dentro del CF para dirigirse por el centro de un haz líquido estrecho a través de un foco de luz intensa. Esto permite la excitación del fluorocromo presente en la superficie o dentro de la partícula individual, lo que resulta en una diseminación de la luz. Estos pulsos de luz fluorescente diseminada se colectan utilizando un sistema detector óptico, que separado por filtros, convierte el haz fluorescente en pulsos eléctricos que son capturados en un sistema computarizado (Dolezel, 1995).

Esta técnica se requiere de la preparación de suspensiones de núcleos intactos con buffers hipotónicos generalmente ricos en  $Mg^{2+}$  o poliamidas como agentes estabilizadores, su composición final esta determinada para preservar la integridad del núcleo, proteger el ADN de la degradación y proveer las condiciones optimas para teñir el ADN nuclear en cada tipo de planta (Dolezel, 1995).

En la mayoría de las plantas, el análisis del contenido de ADN de núcleos aislados de parénquima de hojas jóvenes produce un histograma dominante que corresponde a núcleos en la fase  $G_0/G_1$  (con un contenido 2C de ADN) y otro  $G_2$  (con un contenido de 4C de ADN) del ciclo celular. La calidad del histograma se estima por el coeficiente de variación que es igual a la desviación estándar entre la media de los histogramas. Dolezel (1995) sugiere que para una medición confiable del contenido de ADN en plantas, los valores del coeficiente de variación (CV) deben ser menores a 5%.

La estimación del contenido de ADN en picogramos o en millones de pares de bases de nucleótidos (1 pg = 980 Mpb en 1C; Bennett *et al.*, 2000) y los niveles de ploidía utilizando el CF se obtienen a partir de mediciones simultáneas de núcleos de la planta en cuestión y una planta de referencia o control interno (con el valor C y ploidía conocida) como lo es *Lycopersicum esculentum* cv. stupicke polni rane (2C = 1.96 pg), *Zea mays* var. kukurice

CE-777 (2C = 5.43 pg), *Pisum sativum* cv. *citrad* (2C = 9.09 pg). Para determinar el tamaño del genomio se utiliza la siguiente fórmula (Dolezel, 1991):

$$\text{Contenido 2C ADN de la planta problema (pg)} = \frac{\text{Media del histograma G./G. de la planta problema}}{\text{Media del histograma G./G. de la planta en referencia}} \times \text{Contenido 2C ADN de la planta de referencia (pg)}$$

El análisis del genomio con el CF tiene ventajas importantes con relación al conteo de cromosomas: la preparación de las muestras es relativamente fácil y rápida, pueden leerse en el CF un promedio de 5 - 15000 núcleos por muestra y varias de ellas al día, lo que puede traducirse en un análisis rápido de poblaciones. Además, no depende de analizar células en división (no se requiere tejido meristemático), no destruye la planta (la muestra puede prepararse con algunos miligramos de parénquima foliar) y se pueden detectar patrones endoploides como en *Mammillaria san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999) o mixoploidías en plantas propagadas por cultivo de tejidos vegetales, plantas donde sus tejidos tienen células con diversos niveles de ploidía (Dolezel, 1997a).

El CF es ampliamente usado para estimar el tamaño del genoma en las especies cultivadas y silvestres; la precisión en el análisis es tan alta que permite determinar diferencias significativas en el tamaño del genoma tan bajas como 0.02 pg (Dolezel, 1997b).

Además con el CF se puede monitorear el control de estabilidad del nivel de ploidía *in vivo* y después de micropropagación *in vitro*. En el mejoramiento de plantas y producción de semillas, el CF se aplica para seleccionar nuevos niveles de ploidía, cuantificar la producción de haploides y el doblamiento de líneas haploides, indentificación de plantas aneuploides, uso de la apomixis para mantener uniformidad en cultivares, la indentificación del sexo en estadios tempranos del crecimiento, en predicción de caracteres agronómicos, control del desarrollo y vigor en semillas. También se emplea para el monitoreo de efectos de radiación y mutantes químicos y en el análisis de la genotoxicidad. La citometría de flujo permite el aislamiento y purificación de cromosomas y su clasificación para facilitar la indentificación y el mapeo de genes (Dolezel, 1997b).

### Contenido de ADN en la familia Chenopodiaceae

Son pocos los registros de contenido de ADN (2C) para la familia Chenopodiaceae los cuales se mencionan en el cuadro 6. Tomando en cuenta que solo se conoce el 1.4 % del ADN de las Angiospermas en el mundo en un rango de 0.2 pg (*Fragaria viridis* Duchensne, Rosaceae) a 250 pg (*Fritillaria assyriaca* Bake, Liliaceae. Bennett *et al.*, 2000), los genomios de las quenopodiáceas se consideran pequeños, puesto que su contenido de ADN oscila de 0.85 pg en *Atriplex sabulosa*, *Atriplex serenana*, *Atriplex californica* a 4.70 pg en *Chenopodium album* (Bennett y Leitch, 2003).

**Cuadro 6.** Número cromosómico, nivel de ploidía y contenido de ADN reportado para las especies de la familia Chenopodiaceae (Bennett y Leitch, 2003).

Especies de la familia Chenopodiaceae	No. Cromo sómico (2n)	Nivel de ploidía	Contenido de ADN		Referencia
			(pg*) 2C	(Mpb) 1C	
<i>Atriplex sabulosa</i>	18	2	0.85	417	Belford y Thompson, 1981 (Ref. 150).
<i>Atriplex serenana</i>	18	2	0.85	417	Belford y Thompson, 1981 (Ref. 150).
<i>Atriplex californica</i>	18	2	0.85	417	Bennett <i>et al.</i> , 1982 (Ref. 55).
<i>Chenopodium pallidicaule</i>	18	2	0.95	466	Bennett y Smith, 1976 (Ref. 108).
<i>Atriplex phyllostegia</i>	18	2	0.95	466	Belford y Thompson, 1981 (Ref. 150).
<i>Atriplex truncata</i>	18	2	1.15	564	Belford y Thompson, 1981 (Ref. 150).
<i>Atriplex triangularis</i>	18	2	1.40	686	Belford y Thompson, 1981 (Ref. 150).
<i>Atriplex fruticulosa</i>	18	2	1.50	735	Bennett <i>et al.</i> , 1982 (Ref. 55).
<i>Atriplex rosea</i>	18	2	1.90	931	Bennett <i>et al.</i> , 1982 (Ref. 55).
<i>Spinacia oleracea</i>	12	2	2.05	1009	Barlow, 1981 comunicación personal (Ref. 58).
<i>Atriplex hortensis</i>	18	2	2.35	1152	Bennett <i>et al.</i> , 1982 (Ref. 55).
<i>Beta vulgaris</i>	18	2	2.50	1225	Bennett, 1972 (Ref. 1).
<i>Beta maritima</i>	18	2	2.55	1250	Bennett, 1972 (Ref. 1).
<i>Chenopodium quinoa</i>	36	4	2.65	1299	<b>Bennett y Smith, 1976 (Ref. 108).</b>
<i>Atriplex patula</i>	36	4	4.30	2107	Band, 1984 comunicación personal (Ref. 154).
<i>Chenopodium album</i>	54	6	4.70	2303	Bennett <i>et al.</i> , 2000 (Ref. 233).

\* 1 picogramo (pg) =  $10^{-12}$ g (Cavalier y Smith, 1985) y a 980 millones de pares de bases (Mpb) en 1C (Bennett *et al.*, 2000).

### 3. OBJETIVOS

#### Objetivo general

Obtener y analizar los cariotipos de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* (chía roja, chía amarilla, huauzontle verde (Atlacomulco y Lerma), huauzontle rojo, y quelite cenizo) y determinar el tamaño, niveles de ploidía y composición del genoma por citometría de flujo.

#### Objetivos específicos

- 1.- Obtener los números cromosómicos somáticos ( $2n$ ), básico ( $x$ ) y los niveles de ploidía de los taxa mencionados.
- 2.- Realizar el análisis cariotípico de los taxa de este estudio para determinar sus variaciones inter- e intra- específicas.
- 3.- Determinar tamaño del genoma en picogramos y su composición en millones de pares de bases de nucleóticos (Mpb) y niveles de ploidía por citometría de flujo en seis taxa del género *Chenopodium*.
- 4.- Proponer con base a estos estudios los posibles mecanismos involucrados en la evolución cromosómica de los taxa analizados.
- 5.- Proporcionar información citogenética para integrar estudios taxonómicos, biosistemáticos, filogenéticos, de mejoramiento genético y de conservación *in situ* y *ex situ* de *C. quinoa* y *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae*.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Ejemplares de herbario

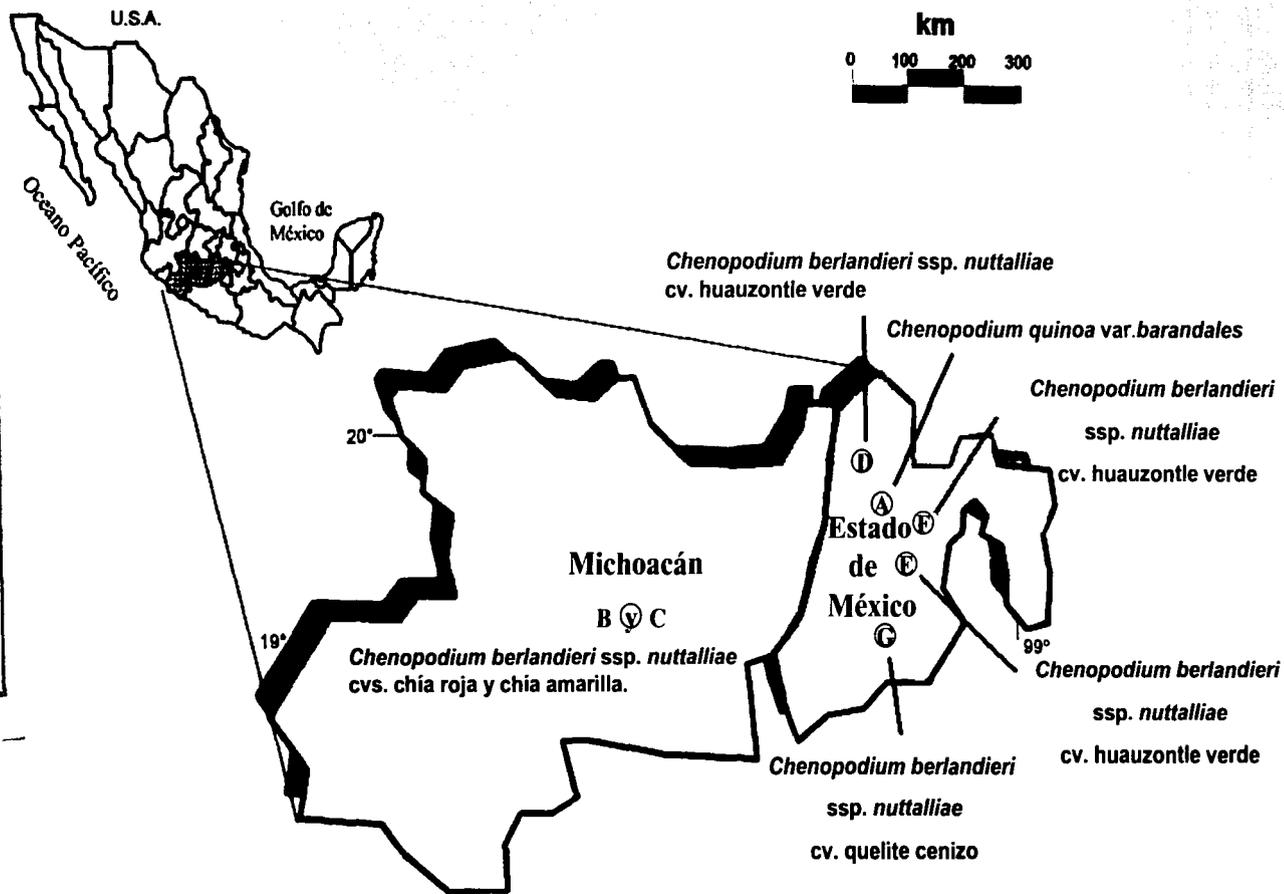
Se consultaron los ejemplares del género *Chenopodium* en el Herbario Nacional (MEXU) de la UNAM, como apoyo en la determinación de los taxa incluidos en este trabajo y para complementar la información sobre distribución geográfica, hábitat, fenología, usos y nombres comunes que se reportan en la introducción.

### 4.2 Trabajo de campo

Para la obtención del material biológico empleado en este estudio se colectaron plantas de poblaciones del Estado de México y Michoacán (Cuadro 7; Fig. 7), con el apoyo del M. en C. Eulogio de la Cruz del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ). De estas plantas se obtuvieron ejemplares de herbario y semillas que fueron depositados en el Herbario Nacional (MEXU) y en el Laboratorio de Citogenética del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM (JB - IBUNAM).

**Cuadro 7.** Datos de colecta de cinco cultivares y una variedad de dos especies de *Chenopodium*.

Especie	Colector	No. de colecta	Localidad
<i>Chenopodium quinoa</i> var. <i>barandales</i>	Eulogio de la Cruz	MSO	Edo. de México, Tlachaloya a 2600 msnm. Semillas originarias de Perú, proporcionadas por la Universidad de Chapingo. Plantas cultivadas en parcelas experimentales de la Facultad de Ciencias Agrícolas, UAEM, adyacentes a cultivos de maíz, haba y trigo. 2000.
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chía roja	Eulogio de la Cruz	1 - 99	Michoacán, Opopeo a 1820 msnm. Colectada en montículos donde predomina la vegetación arbustiva, acahuales, jarilla y calabacilla. Terrenos franco arcillosos con capa de suelo delgada. Asociada a cultivo de maíz con amaranto. 2001.
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chía amarilla	Eulogio de la Cruz	2 - 99	Michoacán, Opopeo a 1820 msnm. Colectada en montículos donde predomina la vegetación arbustiva, jarilla, acahuales y calabacilla. Terrenos franco arcillosos con capa de suelo delgada. Asociada a cultivo de maíz con amaranto. 1999.
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	Eulogio de la Cruz	7 - 01	Edo. de México, Atlacomulco a 2600 msnm. Crece en parcelas de transpatio junto a parcelas de maíz asociada con cultivo de haba. Suelo franco arcilloso. 2001.
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	Eulogio de la Cruz	2 - 01	Edo. de México, Lerma a 2600 msnm. Crece en parcelas de transpatio de hortalizas en suelo franco arcilloso, junto a surcos de lechuga, acelga y calabaza. 2001.
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle rojo	Eulogio de la Cruz	8 - 01	Edo. de México, Xonacatlán a 2620 msnm. Crece en huertas de hortalizas en terreno franco arcilloso, junto a surcos de lechuga, rábano y calabaza. 2001.
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. quelite cenizo	Eulogio de la Cruz	10 - 01	Edo. de México, Xonacatlán a 2620 msnm. Crece en parcelas de maíz en suelo franco arcilloso en el Valle de Toluca. 1999.



**Figura 7.** Localización de las poblaciones de: A) *Chenopodium quinoa* var. *barandales* (Tlachaloya) y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. B) chia roja (Opopeo), C) chia amarilla (Opopeo), D) huauzontle verde (Atlacomulco), E) huauzontle verde (Lerma), F) huauzontle rojo (Xonacatlán) y G) quelite cenizo (Coatepec).

### 4.3 Técnica para el análisis de cromosomas mitóticos

Se analizaron los cromosomas mitóticos de *Chenopodium quinoa* var. *barandales*, *Chenopodium berlandieri* spp. *nutalliae* cvs. chía roja, chía amarilla, huauzontle verde (Atlacomulco y Lerma), huauzontle rojo, y quelite cenizo (Cuadro 7). De estas plantas se estudiaron tres células de meristemos apicales de raíces secundarias en metafase mitótica por planta y tres plantas por taxa dando un total de 9 células por taxa. La obtención de cromosomas mitóticos, su cariotipo e idiograma de las plantas aquí analizadas, se realizó con base en el siguiente procedimiento.

**Material biológico:** Plantas colectadas en las localidades señaladas en el cuadro 6, se dejaron secar a temperatura ambiente en cuartos secos y una vez secas las panojas, se restregaron para liberar las semillas de parte del fruto como el pericarpio. Después las semillas fueron colocadas para su germinación en macetas, a un centímetro de profundidad dentro de una mezcla de tierra de hoja, tierra de banco y agrolita en partes iguales. Todas las plantas se mantuvieron en invernaderos del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM.

**Pretratamiento:** A partir de que las plantas mantenidas en los invernaderos alcanzaron las tres semanas de edad se obtuvieron los meristemos apicales de raíces blancas (las más jóvenes) entre las 7:00 y 8:00 hrs. Los meristemos se pretrataron con una solución acuosa del mitostático 8 - hidroxiquinoleína 0.002 M durante 6 hrs. a 18°C y en la oscuridad, para observar cromosomas mitóticos en metafase.

**Fijación:** Después del pretratamiento, las raíces fueron fijadas en una solución de Farmer 3:1 (v/v etanol - ácido acético) y almacenadas en refrigeración a 4°C al menos 4 hrs. y no más de 48 hrs.

**Hidrólisis:** Después de la fijación, las raíces se lavaron y fueron hidrolizadas en HCl 1N durante quince minutos a una temperatura de 60°C.

**Tinción:** La tinción de los cromosomas se realizó en solución de Feulgen (elaborado con Fucsina básica de acuerdo a García, 1990) colorante específico para el ADN, durante 25 minutos, tiempo suficiente para que los meristemos tomaran un color violeta (Sharma y Sharma, 1959).

**Elaboración de preparaciones:** Los ápices teñidos se cortaron y fueron colocados en un porta objetos, agregando una gota de solución colorante de orceína propiónica al 1.8%. Estas laminillas se hicieron permanentes con el método del hielo seco propuesto por Conger y Ferichil (1953), deshidratadas en alcohol y montadas en Bálsamo de Canadá.

**Análisis de preparaciones:** Una vez obtenidas las laminillas permanentes, se analizaron para seleccionar las 6 mejores células con cromosomas en metafase de 3 plantas por población y fotografíarlas utilizando un Fotomicroscopio Zeiss II. Después los negativos se proyectaron en un pantalla para dibujar a los cromosomas.

**Clasificación de los cromosomas:** Para determinar los tipos de cromosomas (meta, submetá, subteló y telocéntrico) de las células fotografiadas se obtuvo de cada cromosoma dibujado la relación de brazos  $r$  ( $r = \text{brazo largo} / \text{brazo corto}$ ) de acuerdo a Levan *et al.*, (1964) y la longitud del tamaño relativo porcentual  $L\%$  ( $L\% = \text{LT de cada cromosoma} / \text{Longitud total del genomio (LTG)} \times 100$ ). La  $L\%$  de cada uno de los cromosomas nos permite hacer comparaciones entre los pares homólogos de los cromosomas de los genomios de especies diferentes o de poblaciones de la misma especie (Sinha y Roy, 1979).

**Asimetría de los cariotipos:** Para determinar la variación inter- e intra-específica de los cariotipos en los taxa de *Chenopodium* estudiados, se obtuvo en cada una de las 9 células fotografiadas por taxa el índice de asimetría ( $TF\% = \text{Longitud total de los brazos cortos} / \text{Longitud total de los cromosomas} \times 100$  de acuerdo a Sinha y Roy, 1979). De los 6 valores de  $TF\%$  se obtuvo la media ( $\bar{x}$ ) y el error estándar (EE) para cada población. El valor de  $TF\%$  permitió comparar los cariotipos entre los taxa estudiados.

**Elaboración de idiogramas:** De cada taxa se seleccionaron 3 células en metafase que se fotografiaron y amplificaron. A partir de estas fotografías se elaboraron los idiogramas de la siguiente manera. Los cromosomas se dibujaron y ordenaron por parejas de homólogos de acuerdo a su tamaño y a la posición del centrómero. Los cromosomas se clasificaron de acuerdo al criterio de Levan *et al.* (1964). A los cromosomas se les tomaron las siguientes medidas: longitud total, longitud del brazo largo, longitud del brazo corto y se obtuvo en cada caso la media ( $\bar{x}$ ) y el error estándar (EE). También se determinaron la longitud del tamaño relativo porcentual ( $L\%$ ) (Sinha y Roy, 1979; García, 1990) y el índice de asimetría  $TF\%$ . Los idiogramas de cada complemento cromosómico fueron ordenados en forma decreciente en longitud, siendo el primer cromosoma el más largo y el último el de menor longitud.

#### 4.4 Técnica para la estimación de la viabilidad del polen

Para estimar el porcentaje de viabilidad del polen se empleó la metodología propuesta por Radford *et al.*, (1974). Se analizaron de 4 a 6 individuos por taxa entre las 11 y 14 hrs durante los meses de febrero a junio del 2002. Los granos de polen se tiñeron con azul de algodón y después de 15 min se realizó el conteo. De cada individuo se contaron de 182 a 740 granos de polen, la variación en el número de granos dependió del grado de maduración de las flores en la panoja o de los glomérulos de la planta.

Se consideraron los granos de polen viables, según Kenton (1984), cuando se tiñen completamente de azul y conservan su forma característica ya sea redonda o esférica. Los granos de polen inviables se observan transparentes, vacíos o sólo se tiñen parcialmente, pueden conservar la forma típica o ser amorfos.

## 4.5 Técnica para la obtención del contenido de ADN por citometría de flujo

Para determinar el tamaño del genoma en picogramos (pg), su composición en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb) y los niveles de poliploidía por citometría de flujo de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae* (Cuadro 7) se realizaron los siguientes pasos:

### Manejo del material biológico en el invernadero

Plantas colectadas en las localidades señaladas en el cuadro 6, se dejaron secar a temperatura ambiente en cuartos secos y una vez secas las panojas, se restregaron para liberar las semillas de parte del fruto como el pericarpio. En los invernaderos del JB – IBUNAM germinaron las semillas colectadas en macetas con una mezcla de partes iguales de agrolita, tierra negra y tierra de banco. Plantas de 2 a 4 semanas se usaron para medir el contenido de ADN utilizando el citómetro de flujo (CF).

En el Laboratorio de Citogenética se determinó, por ensayos previos a este trabajo, que la planta de referencia para medir el contenido de *Chenopodium quinoa* es *Lycopersicum* cv. *stupicke polni rane* (1.96 pg. Dolezel *et al.*, 1992). Por lo cual, estas plantas testigo también se cultivaron y mantuvieron en los invernaderos.

### Calibración del citómetro de flujo

Para la medición del ADN se empleó un citómetro de flujo (Partec CA II) calibrado con núcleos de eritrocitos de pollo (NEP) como lo proponen Palomino *et al.*, 1999 (Cuadro 8). El objetivo de calibrar el citómetro de flujo (CF) es alinear correctamente la lámpara, el lente objetivo de 40x y el lente ocular; logrando así, coeficientes de variación (CV) entre 0.98 - 1.96 (Palomino *et al.*, 1999).

**Cuadro 8.** Calibración del citómetro de flujo (CF) con núcleos de eritrocitos de pollo (NEP) y Ioduro de propidio (Palomino *et al.*, 1999).

- 1.- Tomar 500 µl de OTTO (solución 1).
- 2.- Agitar vigorosamente la muestra del stock de NEP\*.
- 3.- Agregar 10 µl de solución stock de NEP que equivale aproximadamente a  $369 \times 10^3$  núcleos de eritrocitos.
- 4.- Agitar durante 15 min con la ayuda de una jeringa de 1 a 3 ml. Si se observan muchos agrupamientos en la pantalla del citómetro de flujo repetir la muestra.
- 5.- Añadir 2 ml de OTTO (solución 2).
- 6.- Añadir 125 µl de solución stock de IP.
- 7.- Añadir 125 µl de solución stock de RNasa.
- 8.- Filtrar empleando con una malla de nylon de 30 - 50 µm

\*La metodología que se uso para aislar los núcleos de los eritrocitos de pollo se presenta en el cuadro 1 del apéndice.

## Preparación de reactivos para medir el contenido de ADN por citometría de flujo

Para la preparación de núcleos de eritrocitos de pollo, la calibración del citómetro de flujo (CF) y para la elaboración y análisis de muestras de *Chenopodium* por citometría de flujo; se emplearon los siguientes reactivos: Solución 1 de OTTO (Otto, 1990) (Cuadro 9) como buffer, Ioduro de propidio (1 mg/ml, Dolezel *et al.*, 1992) (Cuadro 10) como colorante fluorescente y RNasa (1 mg/ml) para eliminar el ARN que se encuentra en el núcleo ya sea de mitocondrias o de cloroplastos (Dolezel *et al.*, 1992) (Cuadro 11).

**Cuadro 9.** Composición y preparación del buffer OTTO (Otto, 1990).

Solución 1	
Ácido cítrico (0.1 M)	4.2 g
Tween 20 (0.5 %)	1.0 ml
Aforar a 200 ml con agua deionizada	
Filtrar con una malla de nylon de 0.47 $\mu\text{m}$	
Almacenar en refrigeración a 4 °C	
Solución 2	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O (0.4 M)	28.65g (Calentar a 50 - 60°C)
Aforar a 200 ml en agua deionizada	
Filtrar con una malla de nylon de 0.47 $\mu\text{m}$	
Almacenar a temperatura ambiente y en la oscuridad.	

**Cuadro 10.** Composición y preparación de la solución stock de ioduro de propidio (1 mg/ml). Tomado de Dolezel *et al.*, 1992.

- a) Disolver 25 mg de IP en 25 ml de agua deionizada (17 MOhms), agitar durante 60 min.
- b) Filtrar usando un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$ .
- c) Distribuir en alícuotas de 500  $\mu\text{l}$ .
- d) Almacenar en refrigeración a - 20°C.

**Cuadro 11.** Composición y preparación de la solución stock de RNasa (Dolezel *et al.*, 1992).

- a) Disolver 25 mg de RNasa\* en 25 ml de agua deionizada (17 Mohms).
- b) Inactivar la RNasa a una temperatura de 90°C por 15 min, en baño maría donde la RNasa debe estar a 90°C y la temperatura del agua en agitación en un rango de 95°C - 97°C.
- c) Después en refrigeración, filtrar en un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$ .
- d) Distribuir en alícuotas de 500  $\mu\text{l}$ .
- e) Almacenar en refrigerador a una temperatura de - 20°C.

### Procedimiento para medir el contenido de ADN por citometría de flujo

Se colectaron las hojas más jóvenes de plantas de *Chenopodium* de 2 a 4 semanas de edad y de plantas de 4 a 6 semanas de *Lycopersicum* cv *stupicke polni rane*. Este último utilizado como planta de referencia, con un 2C de ADN = 1.96 pg.

En una caja de petri de 10 cm de diámetro y con 1 ml del buffer OTTO (Solución 1) se picaron simultáneamente 20 mg de parénquima foliar de *Chenopodium* y 8.5 mg de *Lycopersicum*. Después se agregó 0.5 ml del mismo buffer para filtrar la muestra con una malla de nylon de 50  $\mu$ m, el líquido filtrado se centrifugó a 1000 rpm por 3 min; se decantó el sobrenadante y al precipitado (que contiene los núcleos) se le añadió un mililitro más de OTTO (Solución 1).

La muestra permaneció durante 15 min a temperatura ambiente, posteriormente se le agregó 2 ml de OTTO (Solución 2), 125  $\mu$ l de una solución de Ioduro de propidio (1 mg/ml) y de RNasa en igual concentración y cantidad que el colorante fluorescente. Por último, la muestra se filtro con una malla de nylon de 50  $\mu$ m inmediatamente fue analizada en el CF.

En total se analizaron 5 plantas por población con tres repeticiones de cada planata donde se cuantificó la fluorescencia de al menos 10,000 núcleos en cada una. El tamaño del genoma se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido 2C ADN de } \textit{Chenopodium} \text{ (pg)} = \frac{\text{Media del histograma G}_0\text{/G}_1 \text{ de } \textit{Chenopodium}}{\text{Media del histograma G}_0\text{/G}_1 \text{ de } \textit{Lycopersicum} \textit{ esculentum cv. stupicke polni rane}} \times 1.96 \text{ pg}$$

## 4.6 Análisis estadísticos

Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño anidado balanceado para evaluar las diferencias entre los valores promedio de la longitud total del genomio (LTG) y el índice de asimetría (TF%) de los 36 cromosomas de los complementos de los taxa de *Chenopodium* estudiados. Un análisis similar se empleó para evaluar la significancia estadística entre los valores promedio del tamaño del genomio en picogramos (pg) y su composición en Mpb (Millones de pares de bases de nucleótidos) en las diferentes poblaciones de *Chenopodium* estudiadas. A los datos de LTG y TF% se les aplicó un modelo jerárquico (anidado) donde en el primer nivel se evaluaron siete colectas, de las cuales se analizaron tres plantas para el segundo nivel y de cada planta tres células como último nivel (7 colectas. x 3 plantas. x 3 células.). En el caso de las mediciones de ADN en pg y en Mpb se evaluaron las mismas siete colectas como primer nivel, cinco plantas de cada colecta para el segundo nivel y tres repeticiones de cada planta para el tercer nivel (7 colectas. x 5 plantas. x 3 repeticiones.). Para la comparación múltiple de medias de LTG y TF% de los cromosomas de los diferentes taxa se empleó la prueba de Tukey. Se empleó la Chi-Cuadrada para confirmar la normalidad y homogeneidad de las variables. Para la realización de estos análisis se utilizó una computadora con software Statistical Analysis System (SAS) versión 8.0.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Cariotipos

#### Número cromosómico

Se observó tanto en *Chenopodium quinoa* var. *barandales* como *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. chía roja, quelite cenizo, huauzontle rojo, chía amarilla, huauzontle verde de Atlacomulco y huauzontle verde de Lerma, un número cromosómico básico de  $x = 9$  y su número tetraploide  $2n = 4x = 36$  (Figs. 8, 9, 10 y 11).

#### *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja

##### Intervalo de longitud de los cromosomas

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja, fue de  $1.26 \mu\text{m}$  para los cromosomas más cortos y de  $2.04 \mu\text{m}$  para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 17 y 18, presentaron la diferencia máxima en longitud total,  $0.16 \mu\text{m}$ , la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 12).

Los 18 pares cromosómicos presentaron un intervalo de longitud del tamaño relativo porcentual (L%) que osciló de  $2.14$  a  $3.46$  %. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas, fueron de  $0.55$  a  $0.85 \mu\text{m}$  y de  $0.71$  a  $1.16 \mu\text{m}$ , respectivamente (Cuadro 12).

La longitud total del genomio (LTG) fue de  $58.81 \mu\text{m}$ , es el genomio más grande de los taxa estudiados (Cuadro 19).

##### Morfología cromosómica

La fórmula cromosómica de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja fue de  $36$  cromosomas metacéntricos (Cuadro 12. Figs. 8A, 11A).

##### Presencia de satélites

Se observaron satélites de forma esférica de  $0.08 \mu\text{m}$  en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1 y 2 (Cuadro 12. Figs. 8A, 11A).

##### Índice de asimetría

El índice de asimetría (TF%) para el cariotipo de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja correspondió a  $45.95$ % (Cuadro 19).

**Cuadro 12.** Valores promedio de 9 células de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	CC
	BC		BL		LT				
	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE			
1*	0.85	0.10	1.16	0.12	2.04	0.16	3.46	1.36	m
2*	0.79	0.10	1.06	0.11	1.90	0.15	3.22	1.34	m
3	0.79	0.10	0.98	0.11	1.77	0.15	3.01	1.24	m
4	0.77	0.10	0.99	0.11	1.76	0.15	2.98	1.28	m
5	0.77	0.10	0.98	0.11	1.75	0.15	2.97	1.27	m
6	0.74	0.10	0.94	0.11	1.68	0.14	2.85	1.27	m
7	0.74	0.10	0.94	0.11	1.68	0.14	2.85	1.27	m
8	0.74	0.09	0.94	0.10	1.68	0.14	2.85	1.27	m
9	0.74	0.09	0.94	0.10	1.68	0.14	2.85	1.27	m
10	0.74	0.09	0.94	0.10	1.68	0.14	2.85	1.27	m
11	0.69	0.09	0.88	0.10	1.57	0.14	2.66	1.27	m
12	0.69	0.09	0.88	0.10	1.57	0.14	2.66	1.27	m
13	0.69	0.09	0.86	0.10	1.55	0.14	2.62	1.25	m
14	0.69	0.09	0.86	0.10	1.55	0.14	2.62	1.25	m
15	0.66	0.09	0.78	0.10	1.44	0.13	2.44	1.18	m
16	0.66	0.09	0.76	0.10	1.42	0.13	2.40	1.15	m
17	0.58	0.09	0.69	0.09	1.42	0.13	2.40	1.18	m
18	0.55	0.08	0.71	0.09	1.26	0.12	2.14	1.29	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### *Chenopodium quinoa* var. *barandales*

#### Intervalo de longitud de los cromosomas

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* fue de 1.17  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más cortos y de 1.96  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 1 y 2 mostraron una diferencia más evidente en la longitud total, de 0.22  $\mu\text{m}$ , la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 13).

La longitud del tamaño relativo porcentual (L%) de los 18 pares de cromosomas se mantuvo en el intervalo de 2.17 a 3.63 %. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas, fueron de 0.51 a 0.85  $\mu\text{m}$  y de 0.66 a 1.05  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Cuadro 13).

La longitud total del genomio (LTG) fue de 53.88  $\mu\text{m}$  (Cuadro 19).

Cuadro 13. Valores promedio de 9 células de *Chenopodium quinoa* var. *barandales*.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	CC
	BC		BL		LT				
	$\bar{x}$	$\pm$ EE	$\bar{x}$	$\pm$ EE	$\bar{x}$	$\pm$ EE			
1*	0.85	0.10	1.05	0.11	1.96	0.16	3.63	1.23	m
2	0.76	0.10	0.98	0.11	1.74	0.16	3.22	1.28	m
3*	0.80	0.10	0.81	0.10	1.67	0.14	3.09	1.01	m
4	0.80	0.09	0.87	0.10	1.67	0.14	3.09	1.08	m
5	0.73	0.09	0.81	0.10	1.54	0.14	2.85	1.10	m
6	0.70	0.09	0.84	0.10	1.54	0.14	2.85	1.20	m
7	0.70	0.09	0.84	0.10	1.54	0.14	2.85	1.20	m
8	0.70	0.09	0.84	0.10	1.54	0.14	2.85	1.20	m
9	0.69	0.09	0.82	0.10	1.54	0.14	2.80	1.18	m
10	0.69	0.09	0.82	0.10	1.51	0.14	2.80	1.18	m
11	0.69	0.09	0.75	0.09	1.44	0.13	2.67	1.08	m
12	0.69	0.09	0.75	0.09	1.44	0.13	2.67	1.08	m
13	0.65	0.09	0.72	0.09	1.44	0.13	2.54	1.10	m
14	0.65	0.09	0.72	0.09	1.37	0.13	2.54	1.10	m
15	0.63	0.09	0.74	0.09	1.37	0.13	2.54	1.17	m
16	0.63	0.09	0.74	0.09	1.37	0.13	2.54	1.17	m
17	0.51	0.08	0.68	0.09	1.19	0.12	2.20	1.33	m
18	0.51	0.08	0.66	0.09	1.17	0.12	2.17	1.29	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### Morfología cromosómica

*Chenopodium quinoa* var. *barandales* presentó una fórmula cromosómica con 36m, es decir, todos los cromosomas son metacéntricos (Cuadro 13. Figs. 8B, 11B).

### Presencia de satélites

Los pares cromosómicos 1 y 3, presentaron satélites de forma esférica, de 0.08  $\mu\text{m}$  en los brazos cortos de cada cromosoma (Cuadro 13. Figs. 8B, 11B).

### Índice de asimetría (TF%)

El índice de asimetría (TF%) en el cariotipo de *Chenopodium quinoa* var. *barandales*, fue de 43.80% (Cuadro 19). Es el cariotipo más asimétrico de los taxa estudiados.

***Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo****Intervalo de longitud de los cromosomas**

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo, fue de **1.11**  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más cortos y de **1.59**  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 16 y 17, presentaron la diferencia máxima en longitud total, 0.10  $\mu\text{m}$ , la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 14).

Los 18 pares cromosómicos presentaron un intervalo de longitud del tamaño relativo porcentual (L%) que osciló de **2.32** a **3.33** %. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas fueron de **0.48** a **0.67**  $\mu\text{m}$  y entre **0.63** a **0.92**  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Cuadro 14).

La longitud total del genomio (LTG) fue de **47.81**  $\mu\text{m}$  (Cuadro 19).

**Cuadro 14.** Valores promedio de 9 células de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	CC
	BC		BL		LT				
	$\bar{x}$	$\pm$ EE	$\bar{x}$	$\pm$ EE	$\bar{x}$	$\pm$ EE			
1*	<b>0.67</b>	0.09	<b>0.92</b>	0.11	<b>1.59</b>	0.14	<b>3.33</b>	1.37	m
2	0.72	0.09	0.79	0.10	1.51	0.14	3.15	1.09	m
3	0.65	0.09	0.78	0.10	1.43	0.13	3.00	1.20	m
4	0.65	0.09	0.78	0.10	1.43	0.13	3.00	1.20	m
5	0.65	0.09	0.78	0.10	1.43	0.13	3.00	1.20	m
6	0.65	0.09	0.78	0.10	1.43	0.13	3.00	1.20	m
7	0.65	0.09	0.78	0.10	1.43	0.13	3.00	1.20	m
8*	0.53	0.08	0.90	0.10	1.35	0.13	2.81	1.69	m
9	0.62	0.09	0.66	0.09	1.28	0.13	2.68	1.06	m
10	0.62	0.09	0.66	0.09	1.28	0.13	2.68	1.06	m
11	0.62	0.09	0.66	0.09	1.28	0.13	2.68	1.06	m
12	0.62	0.09	0.66	0.09	1.28	0.13	2.68	1.06	m
13	0.61	0.09	0.66	0.09	1.27	0.13	2.64	1.08	m
14	0.61	0.09	0.66	0.09	1.27	0.13	2.64	1.08	m
15	0.56	0.08	0.65	0.09	1.21	0.12	2.53	1.16	m
16	0.56	0.08	0.65	0.09	1.21	0.12	2.53	1.16	m
17	0.48	0.08	0.63	0.09	1.11	0.12	2.32	1.31	m
18	<b>0.48</b>	0.08	<b>0.63</b>	0.09	<b>1.11</b>	0.12	<b>2.32</b>	1.31	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### Morfología cromosómica

La fórmula cromosómica de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. quelite cenizo fue de 36 cromosomas metacéntricos (Cuadro 14. Figs. 9A, 11C).

### Presencia de satélites

Se observaron satélites de forma esférica de 0.06 µm en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1 y 8 (Cuadro 14. Figs. 9A, 11C).

### Índice de asimetría (TF%)

El índice de asimetría (TF%) para el cariotipode *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. quelite cenizo fue de 45.91%, es el cariotipo más simétrico de los taxa estudiados (Cuadro 19).

## *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle rojo

### Intervalo de longitud de los cromosomas

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle rojo, fue de 1.09 µm para los cromosomas más cortos y de 1.69 µm para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 1 y 2, presentaron la diferencia máxima en longitud total, 0.21 µm, la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 15).

Los 18 pares cromosómicos presentaron un intervalo de longitud del tamaño relativo porcentual (L%) que osciló de 2.28 a 3.56 %. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas fueron de 0.46 a 0.73 µm y entre 0.63 a 0.95 µm, respectivamente (Cuadro 15).

La longitud total del genomio (LTG) fue de 47.64 µm (Cuadro 19).

### Morfología cromosómica

La fórmula cromosómica de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle rojo fue de 36 cromosomas metacéntricos (Cuadro 15. Figs. 9B, 11D).

### Presencia de satélites

Se observaron satélites de forma esférica, de 0.06 µm, en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1 y 9 (Cuadro 15. Figs. 9B, 11D).

### Índice de asimetría (TF%)

El índice de asimetría (TF%) para el cariotipode *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle rojo fue de **45.45 %** (Cuadro 19).

**Cuadro 15.** Valores promedio de 9 células de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle rojo.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	CC
	BC		BL		LT				
	$\bar{x}$	$\pm$ EE	$\bar{x}$	$\pm$ EE	$\bar{x}$	$\pm$ EE			
1*	<b>0.73</b>	0.09	<b>0.95</b>	0.11	<b>1.69</b>	0.14	<b>3.56</b>	1.30	m
2	0.67	0.09	0.81	0.10	1.48	0.14	3.12	1.20	m
3	0.67	0.09	0.81	0.10	1.48	0.14	3.12	1.20	m
4	0.63	0.09	0.80	0.10	1.43	0.13	3.01	1.26	m
5	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	2.94	1.22	m
6	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	2.94	1.22	m
7	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	2.94	1.22	m
8	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	2.94	1.22	m
9*	0.63	0.09	0.70	0.09	1.33	0.13	2.79	1.11	m
10	0.62	0.09	0.65	0.09	1.27	0.13	2.67	1.04	m
11	0.53	0.09	0.73	0.09	1.26	0.12	2.63	1.37	m
12	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.60	1.03	m
13	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.60	1.03	m
14	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.60	1.03	m
15	0.58	0.08	0.61	0.09	1.19	0.12	2.49	1.05	m
16	0.58	0.08	0.61	0.09	1.19	0.12	2.49	1.05	m
17	0.46	0.08	0.63	0.09	1.09	0.12	2.28	1.36	m
18	<b>0.46</b>	0.08	<b>0.63</b>	0.09	<b>1.09</b>	0.12	<b>2.28</b>	1.36	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco

#### Intervalo de longitud de los cromosomas

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco fue de 1.03  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más cortos y de 1.69  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 1 y 2 mostraron una diferencia más evidente en la longitud total, de 0.27  $\mu\text{m}$ , la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 16).

La longitud del tamaño relativo porcentual (L%) de los 18 pares de cromosomas se mantuvo en el intervalo de 2.25 a 3.69 %. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas, fueron de 0.44 a 0.77  $\mu\text{m}$  y de 0.59 a 0.92  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Cuadro 16).

La longitud total del genomio (LTG) fue de 45.60  $\mu\text{m}$  (Cuadro 19).

### Morfología cromosómica

La fórmula cromosómica de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco fue de 36 cromosomas metacéntricos (Cuadro 16 Figs. 10A, 11E).

### Presencia de satélites

Se observaron satélites de forma esférica, de 0.06  $\mu\text{m}$ , en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1 y 7 (Cuadro 16; Figs. 10A, 11E).

**Cuadro 16.** Valores promedio de 9 células de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	CC
	BC		BL		LT				
	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE			
1*	0.77	0.10	0.92	0.11	1.69	0.14	3.69	1.19	m
2	0.64	0.09	0.78	0.10	1.42	0.13	3.11	1.21	m
3	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	3.05	1.22	m
4	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	3.05	1.22	m
5	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	3.05	1.22	m
6	0.63	0.09	0.77	0.10	1.40	0.13	3.05	1.22	m
7*	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.13	2.71	1.03	m
8	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.70	1.03	m
9	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.70	1.03	m
10	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.70	1.03	m
11	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.70	1.03	m
12	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.70	1.03	m
13	0.61	0.09	0.63	0.09	1.24	0.12	2.70	1.03	m
14	0.59	0.09	0.63	0.09	1.22	0.12	2.66	1.06	m
15	0.44	0.08	0.63	0.09	1.07	0.12	2.34	1.43	m
16	0.44	0.08	0.63	0.09	1.07	0.11	2.29	1.43	m
17	0.44	0.08	0.59	0.08	1.03	0.11	2.25	1.34	m
18	0.44	0.08	0.59	0.08	1.03	0.11	2.25	1.34	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### Índice de asimetría (TF%)

El índice de asimetría (TF%) para el cariotipo de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco fue de **46.27 %** (Cuadro 19).

### *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá amarilla

#### Intervalo de longitud de los cromosomas

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá amarilla fue de **1.06  $\mu\text{m}$**  para los cromosomas más cortos y de **1.69  $\mu\text{m}$**  para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 1 y 2, presentaron la diferencia máxima en longitud total, **0.20  $\mu\text{m}$** , la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 17).

Los 18 pares cromosómicos presentaron un intervalo de longitud del tamaño relativo porcentual (L%) que osciló de **2.32 a 3.73 %**. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas fueron de **0.47 a 0.66  $\mu\text{m}$**  y entre **0.59 a 1.02  $\mu\text{m}$** , respectivamente (Cuadro 17).

La longitud total del genomio (LTG) fue de **45.32  $\mu\text{m}$**  (Cuadro 19).

#### Morfología cromosómica

La fórmula cromosómica de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá amarilla fue de **36** cromosomas metacéntricos (Cuadro 17; Figs. 10B, 11F).

#### Presencia de satélites

Se observaron satélites de forma esférica, de **0.06  $\mu\text{m}$** , en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1 y 5 (Cuadro 17. Figs. 10B, 11F).

### Índice de asimetría (TF%)

El índice de asimetría (TF%) para el cariotipo de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá amarilla fue de **43.58 %** (Cuadro 19).

**Cuadro 17.** Valores promedio de 9 células de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíca amarilla.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	C
	BC		BL		LT				
	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE			
1*	0.66	0.09	1.02	0.11	1.69	0.14	3.73	1.54	m
2	0.67	0.09	0.79	0.10	1.46	0.13	3.21	1.17	m
3	0.68	0.09	0.76	0.10	1.44	0.13	3.12	1.11	m
4	0.68	0.09	0.76	0.10	1.44	0.13	3.12	1.11	m
5*	0.59	0.09	0.75	0.10	1.38	0.13	2.88	1.27	m
6	0.57	0.08	0.72	0.09	1.29	0.13	2.70	1.28	m
7	0.50	0.08	0.74	0.09	1.24	0.13	2.73	1.48	m
8	0.50	0.08	0.74	0.09	1.24	0.13	2.73	1.48	m
9	0.50	0.08	0.74	0.09	1.24	0.13	2.73	1.48	m
10	0.50	0.08	0.74	0.09	1.24	0.13	2.73	1.48	m
11	0.48	0.08	0.72	0.09	1.20	0.12	2.64	1.50	m
12	0.48	0.08	0.72	0.09	1.20	0.12	2.64	1.50	m
13	0.52	0.08	0.64	0.09	1.16	0.12	2.46	1.23	m
14	0.52	0.08	0.64	0.09	1.16	0.12	2.46	1.23	m
15	0.49	0.08	0.59	0.08	1.08	0.12	2.35	1.20	m
16	0.49	0.08	0.59	0.08	1.08	0.12	2.35	1.20	m
17	0.47	0.08	0.59	0.08	1.06	0.11	2.32	1.25	m
18	0.47	0.08	0.59	0.08	1.06	0.11	2.32	1.25	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma

#### Intervalo de longitud de los cromosomas

El valor promedio de la longitud total de los 18 pares de cromosomas de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma, fue de **0.98**  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más cortos y de **1.60**  $\mu\text{m}$  para los cromosomas más largos. Los pares cromosómicos 2 y 3, presentaron la diferencia máxima en longitud total, 0.9  $\mu\text{m}$ , la mínima fue de cero puesto que varios pares cromosómicos tienen la misma longitud (Cuadro 18).

Los 18 pares cromosómicos presentaron un intervalo de longitud del tamaño relativo porcentual (L%) que osciló de **2.17** a **3.71** %. Los intervalos de longitud del brazo corto y del brazo largo para todos los pares de cromosomas fueron de **0.46** a **0.70**  $\mu\text{m}$  y entre **0.52** a **0.95**  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Cuadro 18).

La longitud total del genomio (LTG) fue de **45.02**  $\mu\text{m}$  (Cuadro 19).

**Cuadro 18.** Valores promedio de 9 células de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma.

PC	L o n g i t u d ( $\mu\text{m}$ )						L%	r	CC
	BC		BL		LT				
	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE	$\bar{X}$	$\pm$ EE			
1*	0.70	0.09	0.95	0.11	1.60	0.14	3.71	1.35	m
2	0.70	0.09	0.84	0.10	1.54	0.13	3.42	1.20	m
3	0.70	0.09	0.75	0.10	1.45	0.19	3.22	1.07	m
4	0.70	0.09	0.75	0.10	1.45	0.19	3.22	1.07	m
5*	0.65	0.08	0.69	0.10	1.40	0.13	3.10	1.06	m
6	0.65	0.09	0.70	0.09	1.35	0.13	2.99	1.07	m
7	0.60	0.09	0.65	0.09	1.25	0.12	2.77	1.08	m
8	0.60	0.09	0.65	0.09	1.25	0.12	2.77	1.08	m
9	0.60	0.09	0.65	0.09	1.25	0.12	2.77	1.08	m
10	0.60	0.09	0.65	0.09	1.25	0.12	2.72	1.08	m
11	0.58	0.08	0.60	0.09	1.18	0.12	2.62	1.03	m
12	0.58	0.08	0.60	0.09	1.18	0.12	2.62	1.03	m
13	0.49	0.08	0.61	0.09	1.10	0.12	2.44	1.24	m
14	0.49	0.08	0.61	0.09	1.10	0.11	2.44	1.24	m
15	0.49	0.08	0.61	0.09	1.10	0.11	2.44	1.24	m
16	0.49	0.08	0.61	0.09	1.10	0.11	2.44	1.24	m
17	0.46	0.08	0.52	0.08	0.98	0.11	2.17	1.13	m
18	0.46	0.08	0.52	0.08	0.98	0.11	2.17	1.13	m

PC = par cromosómico, BC = longitud del brazo corto  $\pm$  error estándar (EE), BL = longitud del brazo largo  $\pm$  error estándar (EE), LT = longitud total  $\pm$  error estándar (EE), L% = longitud del tamaño relativo porcentual, r = relación de brazos, CC = clasificación cromosómica, m = cromosoma metacéntrico. El asterisco señala al par cromosómico con satélites.

### Morfología cromosómica

La fórmula cromosómica de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma fue de 36 cromosomas metacéntricos (Cuadro 18. Figs. 10C, 11G).

### Presencia de satélites

Se observaron satélites de forma esférica, de 0.06  $\mu\text{m}$ , en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1 y 5 (Cuadro 18; Fig. 10C, 11G).

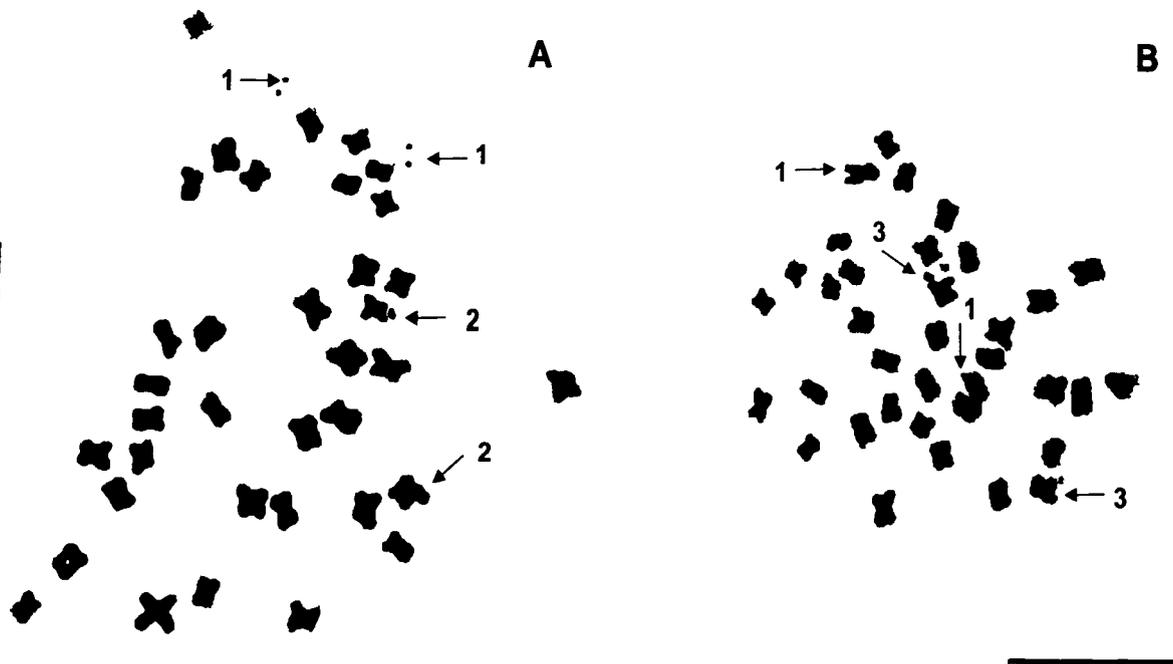
### Índice de asimetría (TF%)

El índice de asimetría (TF%) para el cariotipo de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma correspondió a 46.82 % (Cuadro 19).

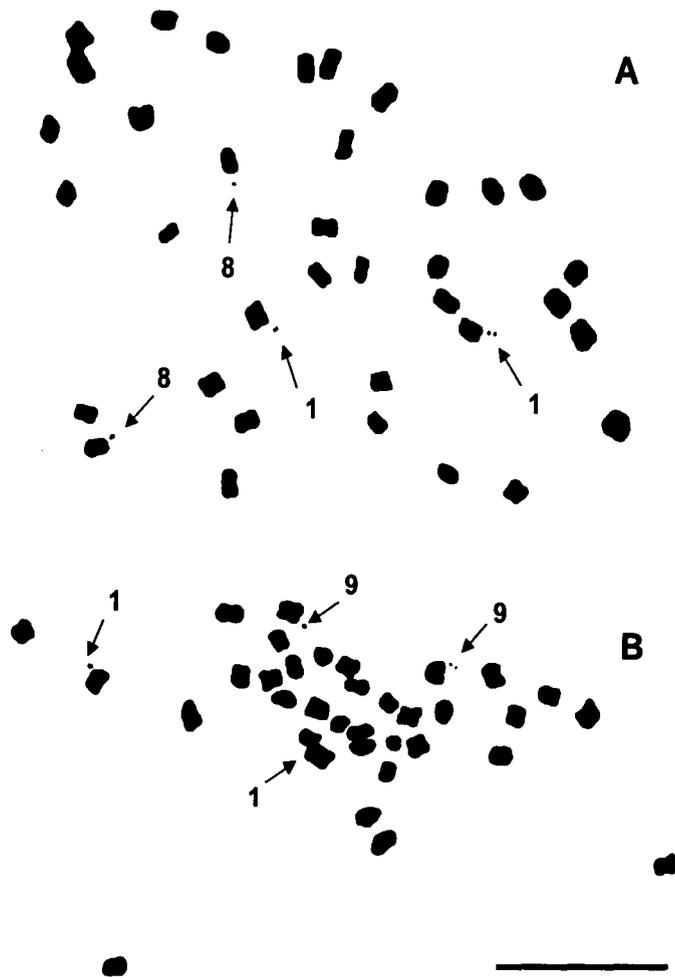
**Cuadro 19.** Análisis cariotípico de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y de cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae*,  $2n = 36$ ,  $x = 9$ .

Taxa	Fórmula cariotípica	Cromosomas con satélites	Intervalo de longitud de los cromosomas ( $\mu\text{m}$ )	Longitud total del genomio ( $\mu\text{m}$ ) $\bar{X} \pm \text{EE}$		Índice de asimetría TF (%) $\bar{X} \pm \text{EE}$	
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chía roja	36m	4m	1.26 - 2.04	58.81	0.85	45.95	0.75
<i>C. quinoa</i> var. <i>barandales</i>	36m	4m	1.17 - 1.96	53.88	0.81	43.80	0.75
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. quelite cenizo	36m	4m	1.11 - 1.59	47.81	0.77	45.91	0.75
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle rojo	36m	4m	1.09 - 1.69	47.64	0.77	45.45	0.75
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	36m	4m	1.03 - 1.69	45.60	0.75	46.27	0.76
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chía amarilla	36m	4m	1.06 - 1.69	45.32	0.75	45.58	0.74
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	36m	4m	0.94 - 1.60	45.02	0.73	46.82	0.75

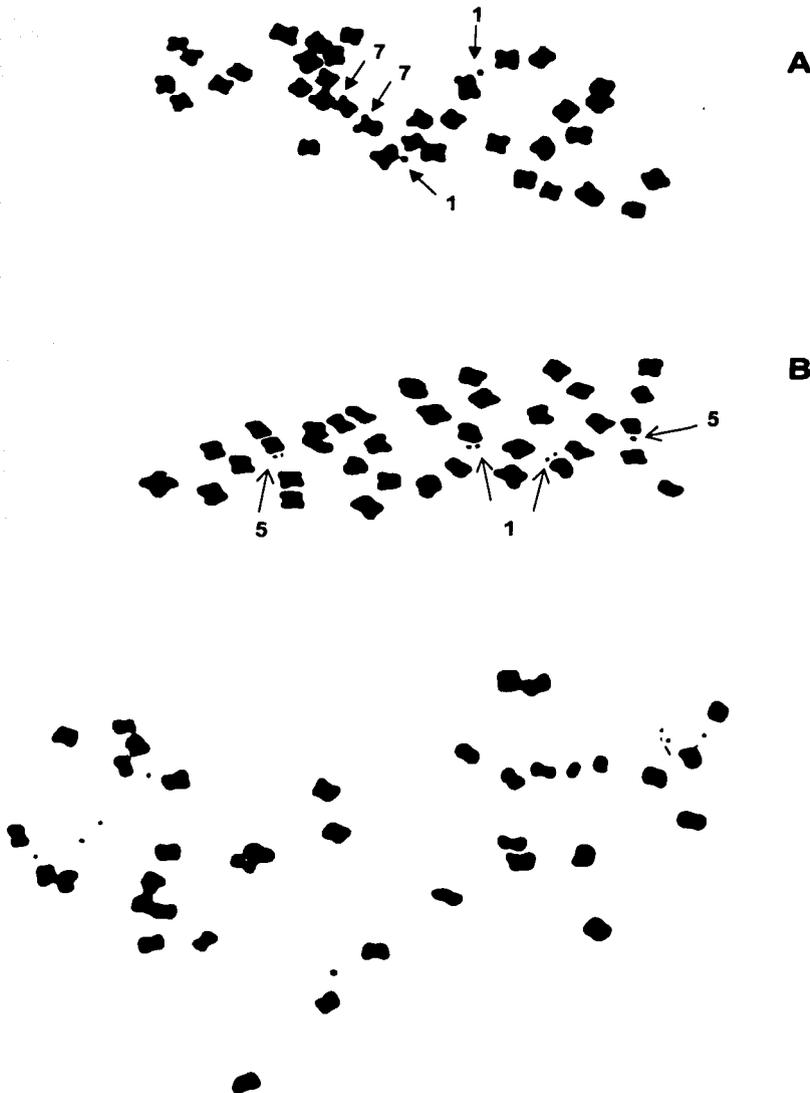
TIPOS CON  
FALLA DE ORIGEN



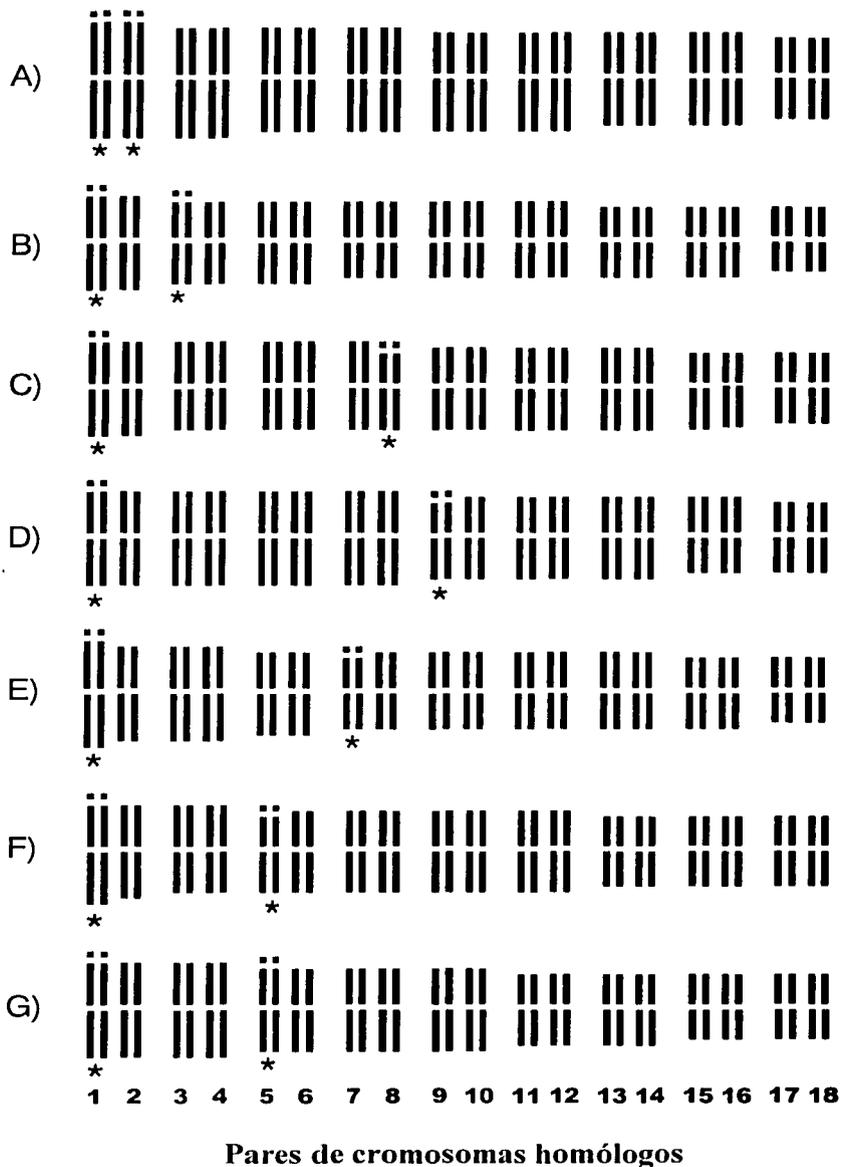
**Figura 8.** Cromosomas en metafase de células somáticas de: A) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja, B) *Chenopodium quinoa* var. *barandales*. Los números indican a los cromosomas homólogos con satélites. Escala 10  $\mu$ m.



**Figura 9.** Cromosomas en metafase de células somáticas de: A) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo, B) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle rojo. Los números indican a los cromosomas homólogos con satélites. Escala 10µm.



**Figura 10.** Cromosomas en metafase de células somáticas de: A) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco, B) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía amarilla y C) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma. Los números indican a los cromosomas homólogos con satélites. Escala 10 $\mu$ m.



**Figura 11.** Idiogramas de: *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chia roja, B) *C. quinoa* var. *barandales*, C) *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo, C) *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle rojo, D) *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco, E) *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chia amarilla, F) *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma. Todos los taxa presentan un número cromosómico tetraploide,  $2n = 4x = 36$ . Los asteriscos indican pares de cromosomas homólogos con satélites. Escala 2  $\mu$ m.

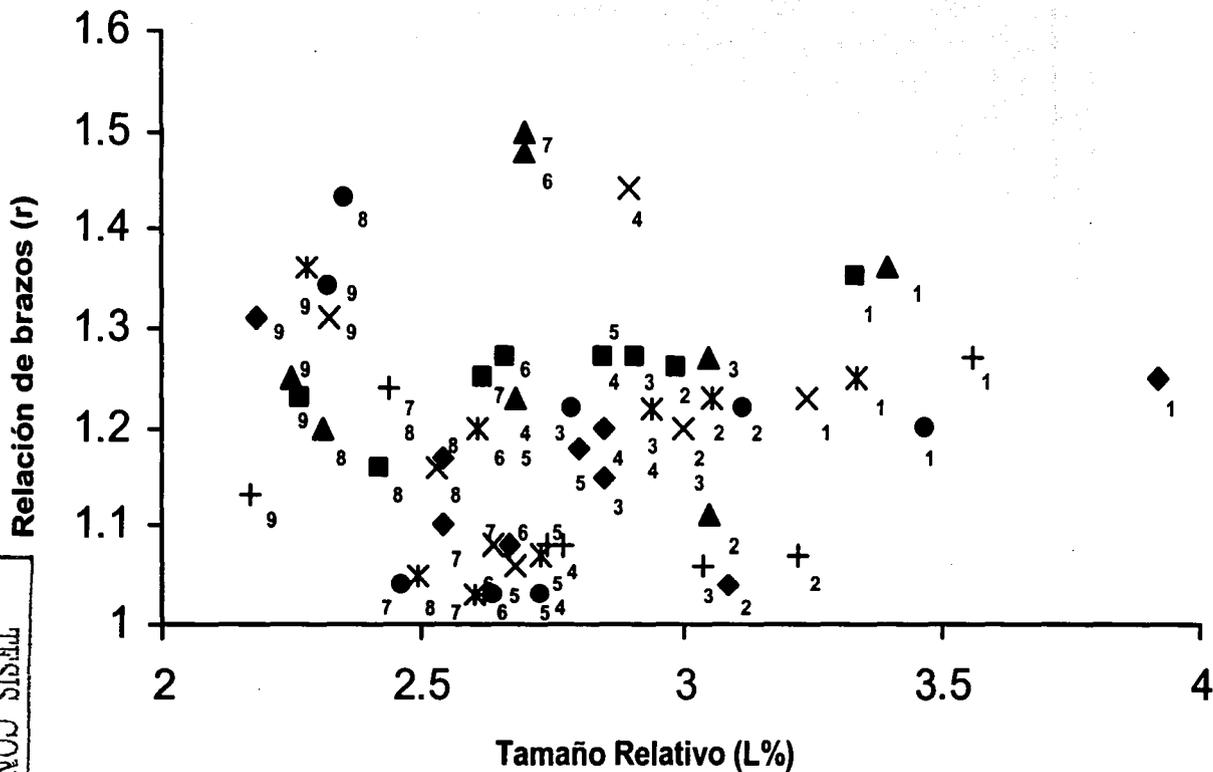
De la comparación de la longitud del tamaño relativo porcentual (L%) vs. la relación de brazos (r) se observó que *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde Lerma y el grupo cromosómico 7 son los más simétricos y *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá amarilla junto con los grupos cromosómicos 1 y 9 son los más variables o asimétricos (Cuadro 20. Fig. 12 y 13).

**Cuadro 20.** Longitud del tamaño relativo porcentual (L%) y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de una variedad de *Chenopodium quinoa* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*.

Taxa		Grupo cromosómico								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chíá roja	L%	3.34*	2.99	2.91	2.85	2.85	2.66	2.62	2.42	2.27
	r	1.35*	1.26	1.27	1.27	1.27	1.27	1.25	1.16	1.23
<i>Chenopodium quinoa</i> var. <i>barandales</i>	L%	3.92*	3.09*	2.85	2.85	2.80	2.67	2.54	2.54	2.18
	r	1.25*	1.04*	1.15	1.20	1.18	1.08	1.10	1.17	1.31
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. quelite cenizo	L%	3.24*	3.00	3.00	2.90*	2.68	2.68	2.64	2.53	2.32
	r	1.23*	1.20	1.20	1.44*	1.06	1.06	1.08	1.16	1.31
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle rojo	L%	3.34*	3.06	2.94	2.94	2.73*	2.61	2.60	2.49	2.28
	r	1.25*	1.23	1.22	1.22	1.07*	1.20	1.03	1.05	1.36
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	L%	3.47*	3.12	2.79	2.73*	2.73	2.64	2.46	2.35	2.32
	r	1.20*	1.22	1.22	1.03*	1.03	1.03	1.04	1.43	1.34
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chíá amarilla	L%	3.40*	3.05	3.05*	2.70	2.70	2.70	2.68	2.31	2.25
	r	1.36*	1.11	1.27*	1.48	1.48	1.50	1.23	1.20	1.25
<i>Chenopodium berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	L%	3.56*	3.22	3.04*	2.77	2.74	2.62	2.44	2.44	2.17
	r	1.27*	1.07	1.06*	1.08	1.08	1.03	1.24	1.24	1.13

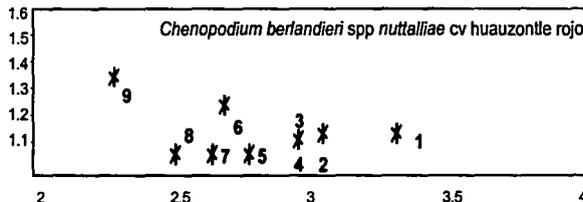
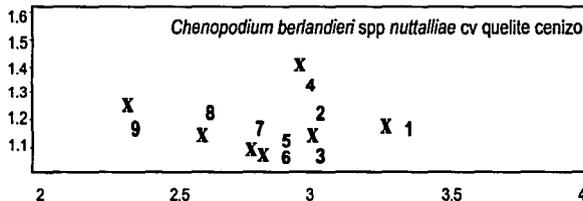
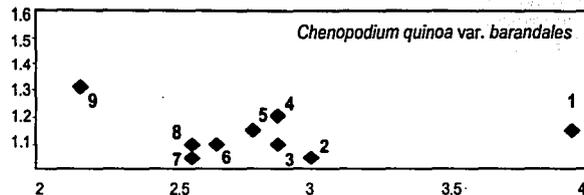
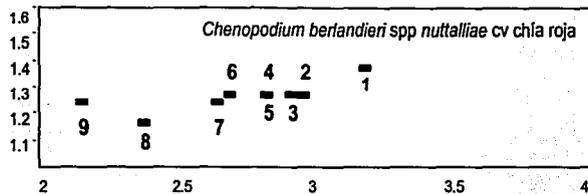
El asterisco señala al grupo cromosómico que contiene un par de cromosomas homólogos con satélites.

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

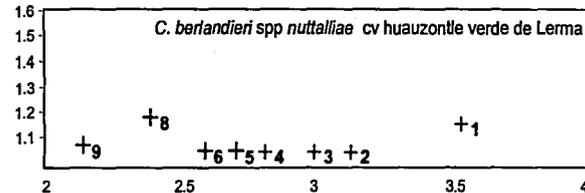
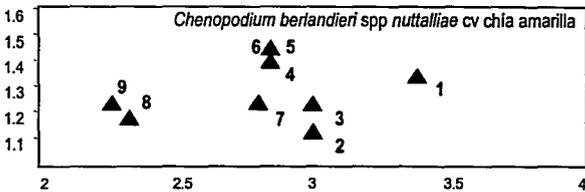
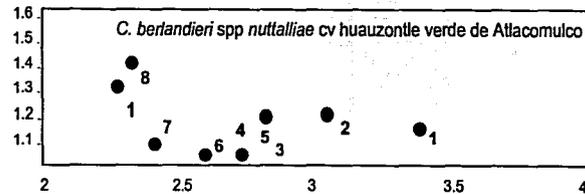


**Figura 12.** Tamaño relativo y relación de brazos de los cromosomas somáticos de  $\blacklozenge$  *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *C. berlandieri berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs.:  $\blacksquare$  chía roja,  $\times$  quelite cenizo,  $\ast$  huauzontle rojo,  $\bullet$  huauzontle verde de Atacomulco,  $\blacktriangle$  chía amarilla,  $+$  huauzontle verde de Lerma.

Relación de brazos (r)



Relación de brazos (r)



Longitud relativa porcentual (L%)

Longitud relativa porcentual (L%)

**Figura 13.** Tamaño relativo y relación de brazos de los cromosomas somáticos de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*.

## Resultados de la aplicación de las pruebas estadísticas para LTG y TF (%)

A los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño anidado balanceado el cual se muestra en el cuadro 21. Se observa que la variación de la longitud total del genomio (LTG) entre las colectas fue significativa ( $P < 0.0001$ ). La variación de LTG entre plantas dentro de colectas también fue significativa ( $P < 0.0001$ ) probablemente por la etapa de la mitosis y el nivel de contracción de los cromosomas donde fueron medidos a pesar de la homogenización del método para la obtención de las células. Finalmente la variación de la LTG entre células dentro de plantas no fue significativa ( $P > 0.4339$ ).

**Cuadro 21.** ANOVA anidado balanceado para longitud total del genomio (LTG).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Colectas	1476.950965	6	246.158494	46.65	0.0001*
Plantas	443.290578	14	31.663613	6.00	0.0001*
Células	50.378114	8	6.297264	1.19	0.3319
Total (corregido)	2150.039943	62			

\* Significativo a  $P < 0.0001$

Para la comparación múltiple de medias se utilizó el método de Tukey que ordenó las diferencias de la longitud total del genomio (LTG) en tres grupos (Cuadro 22). El primer grupo incluye a *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja, el segundo a *Chenopodium quinoa* var. *barandales*, y en el último grupo se encuentran *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. quelite cenizo, huauzontle rojo, huauzontle verde de Atlacomulco, chía amarilla, huauzontle verde de Lerma.

**Cuadro 22.** Prueba de Tukey para la comparación múltiple de medias de la longitud total del genomio (LTG) de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*.

Especie	Media de la longitud total del genomio (LTG)	Agrupamiento de Tukey
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chía roja	58.81	a
<i>C. quinoa</i> var. <i>Barandales</i>	53.88	b
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. quelite cenizo	47.81	c
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle rojo	47.64	c
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	45.60	c
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chía amarilla	45.32	c
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	45.02	c

Letras iguales indican grupos de taxa que no son significativamente diferentes usando  $\alpha = 0.05$ .

En el caso del índice de asimetría las diferencias fueron significativas entre colectas y entre plantas ( $P < 0.0001$ ) pero no entre células ( $P < 0.0555$ ; Cuadro 23).

**Cuadro 23.** ANOVA anidado para el índice de asimetría (TF%).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Colectas	82.46047619	6	13.74341270	292.03	0.0001*
Plantas	5.47662222	28	0.39118730	8.31	0.0001*
Células	1.28532698	5	0.16066587	3.41	0.0555
Total	90.82249841	42	75.19869762		

(corregido)

\* Significativo a  $P < 0.0001$

La comparación múltiple de medias a través del método estadístico Tukey, ordena las diferencias de índice de asimetría (TF%) en cinco grupos (Cuadro 24). El primer grupo incluye a *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma, el segundo grupo a *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco, en el tercer grupo se encuentran *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. chíá roja y quelite cenizo; el cuarto grupo es *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle rojo y en el quinto grupo se ubican *C. quinoa* var. *barandales* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá amarilla

**Cuadro 24.** Prueba de Tukey para la comparación múltiple de medias del índice de asimetría (TF%) de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae*.

Especie	Media del índice de asimetría (TF%)	Agrupamiento de Tukey
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	46.82	a
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	46.27	b
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chíá roja	45.95	c
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. quelite cenizo	45.91	c
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle rojo	45.45	d
<i>C. quinoa</i> var. <i>barandales</i>	43.80	e
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chíá amarilla	43.58	e

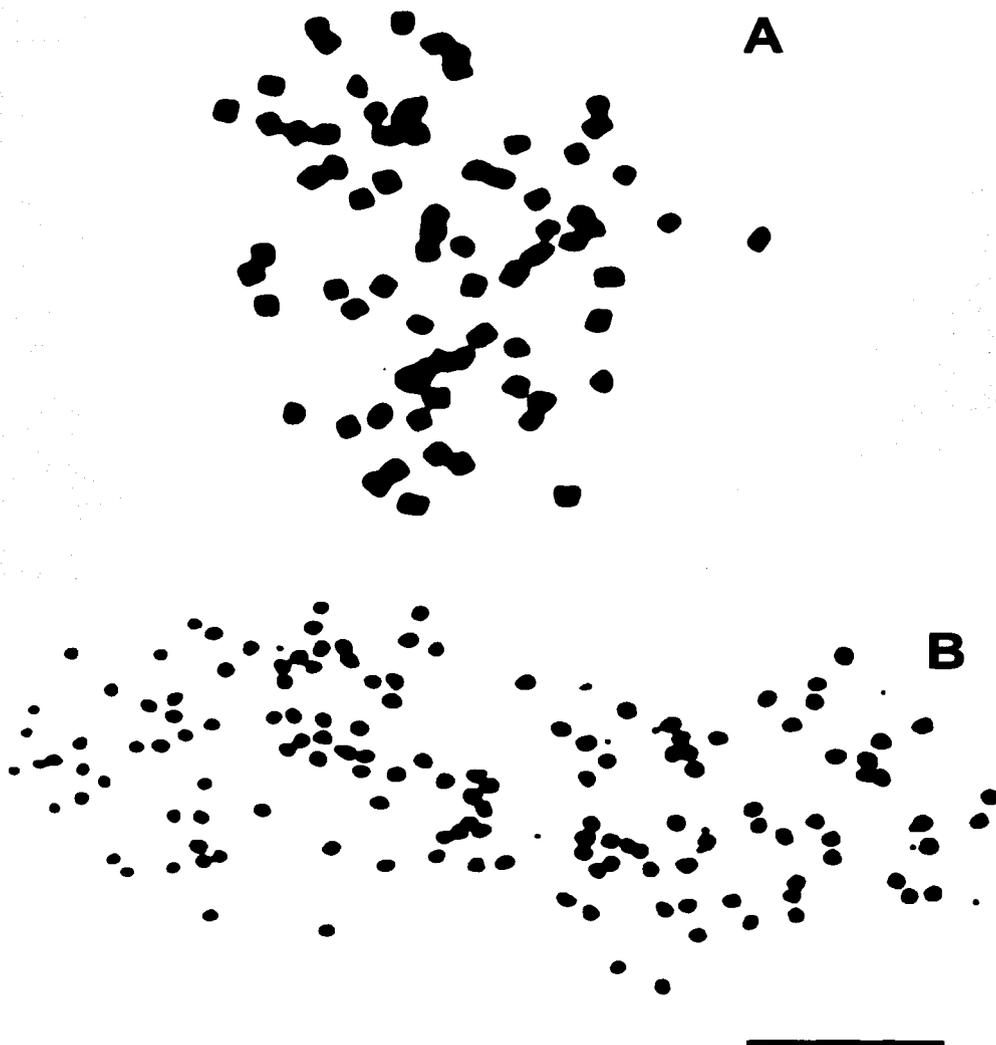
Letras iguales indican grupos de taxa que no son significativamente diferentes usando  $\alpha = 0.05$ .

## 5.2 Porcentajes de células octoploides (8x)

Los porcentajes de las células octaploides analizadas en los diferentes taxa de *Chenopodium* del presente estudio se encuentran dentro de el intervalo de 6.45% a 16.2% (Cuadro, 25; Fig. 14A). El menor porcentaje es para *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco y el mayor es de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo. También se observaron algunas células 16x pero por su baja presencia no se contabilizaron (Fig. 14B).

**Cuadro 25.** Porcentajes de células octoploides (8x) en metafase mitótica de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae*.

Taxa	Total de células en metafase mitótica	Porcentaje de células octoploides
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chía roja	171	14.5%
<i>C. quinoa</i> var. <i>barandales</i>	399	7.63%
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. quelite cenizo	48	16.2%
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle rojo	34	10.5%
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	124	6.45%
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. chía amarilla	113	11.02%
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nuttalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	186	8.07%



**Figura 14.** Células somáticas poliploides de: A) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá roja (1-99), célula octaploide  $2n=8x=72$ ,  $x=9$  y B) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde (7-01), célula diez y seis ploide  $2n=16x=144$ ,  $x=9$ . Escala  $10\mu\text{m}$ .

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

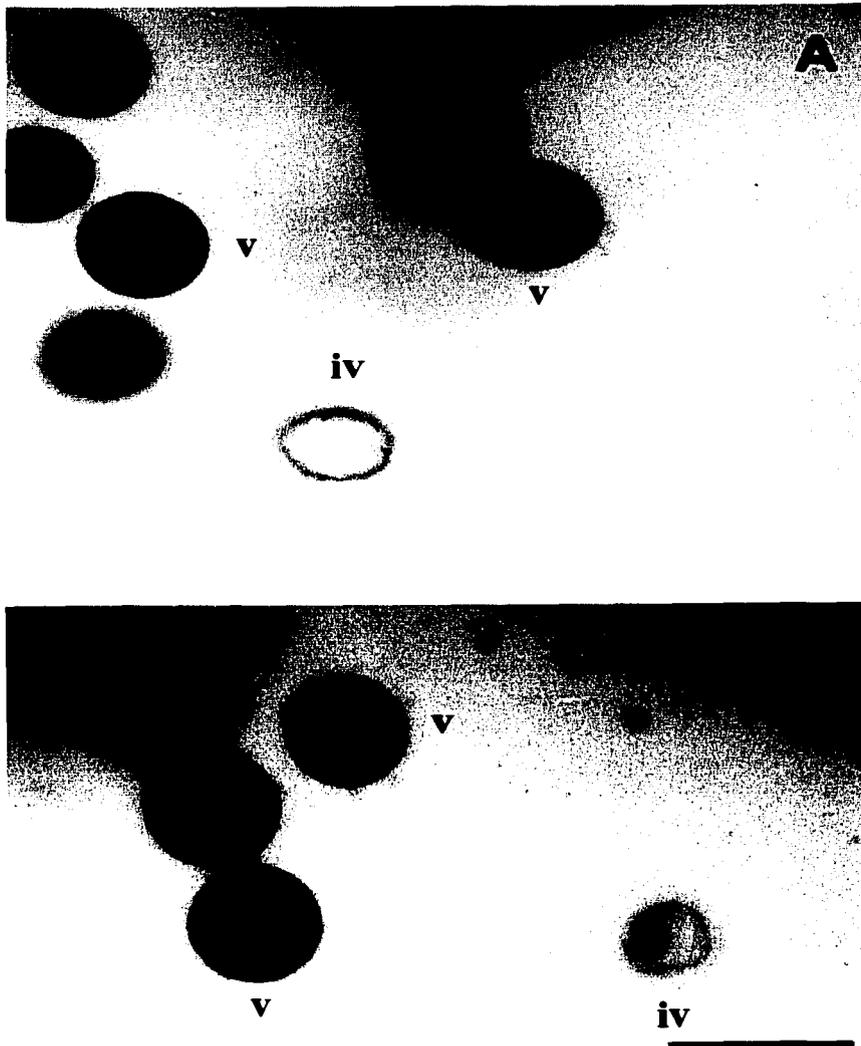
### 5.3 Viabilidad del polen

El porcentaje de viabilidad del polen en los taxa de *Chenopodium* estudiado fue superior al 92 % (Cuadro 26). El mayor porcentaje se observó en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco (99.30 %) y el menor se presentó en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá amarilla (92.57 %).

El tamaño promedio del polen fue de 7.4  $\mu\text{m}$  y en todos los taxa se observó polen de menor tamaño (5.5  $\mu\text{m}$ ) en porcentajes de 0.2% a 1.3% (Fig. 15) y solamente en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma se encontró polen más grande de 8.8  $\mu\text{m}$  en un porcentaje del 0.3%. Todos los granos de polen , no importando su tamaño, fueron viables e inviables.

**Cuadro 26.** Porcentaje de polen viable en *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae*.

Taxa	Granos de polen observados	
	Total	Viables
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chíá roja	4,654	99.53%
<i>C. quinoa</i> var. <i>barandales</i>	4,643	96.58 %
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. quelite cenizo	4,178	97.86 %
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle rojo	4,288	98.46 %
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	4,679	99.30 %
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chíá amarilla	3,947	92.57 %
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde Lerma	4,661	99.14%



**Figura 15.** Granos de polen viables (v) e inviables (iv) de: A) *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y B) *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. *quelite cenizo*. Escala 10 $\mu$ m.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 5.4 Contenido de ADN por Citometría de Flujo

El citómetro de flujo fue calibrado con núcleos eritrocitos de pollo (NEP) para alinear correctamente la lámpara, el objetivo y el ocular; logrando así un coeficiente de variación (CV) de 0.98 (Figura 16).

El tamaño del genomio, contenido 2C de ADN, en los taxa de *Chenopodium* estudiados fue de 2C = 2.96 pg a 3.04 pg (Cuadro 25, Figs. 16 - 19) y los coeficientes de variación fueron de 3.55 a 4.27 (Cuadro 27); lo que refleja la baja dispersión de la muestra por lo que la información es confiable e indica que los núcleos se aislaron sin contaminantes y sin sufrir daños por rompimiento de la membrana nuclear.

El tamaño del genomio de *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíca roja y *C. quinoa* var. *barandales* es de 2C = 2.96 pg (Cuadro 27, Figs. 17A y 17B) siendo los genomas más pequeños que se observaron. El genoma más grande que se obtuvo fue el de *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco con 2C = 3.04 pg, siendo este último 2.7% mayor que el primero (Cuadro 27, Fig. 19A).

**Cuadro 27.** Valores promedio del contenido de ADN de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y cinco cultivares de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae*.

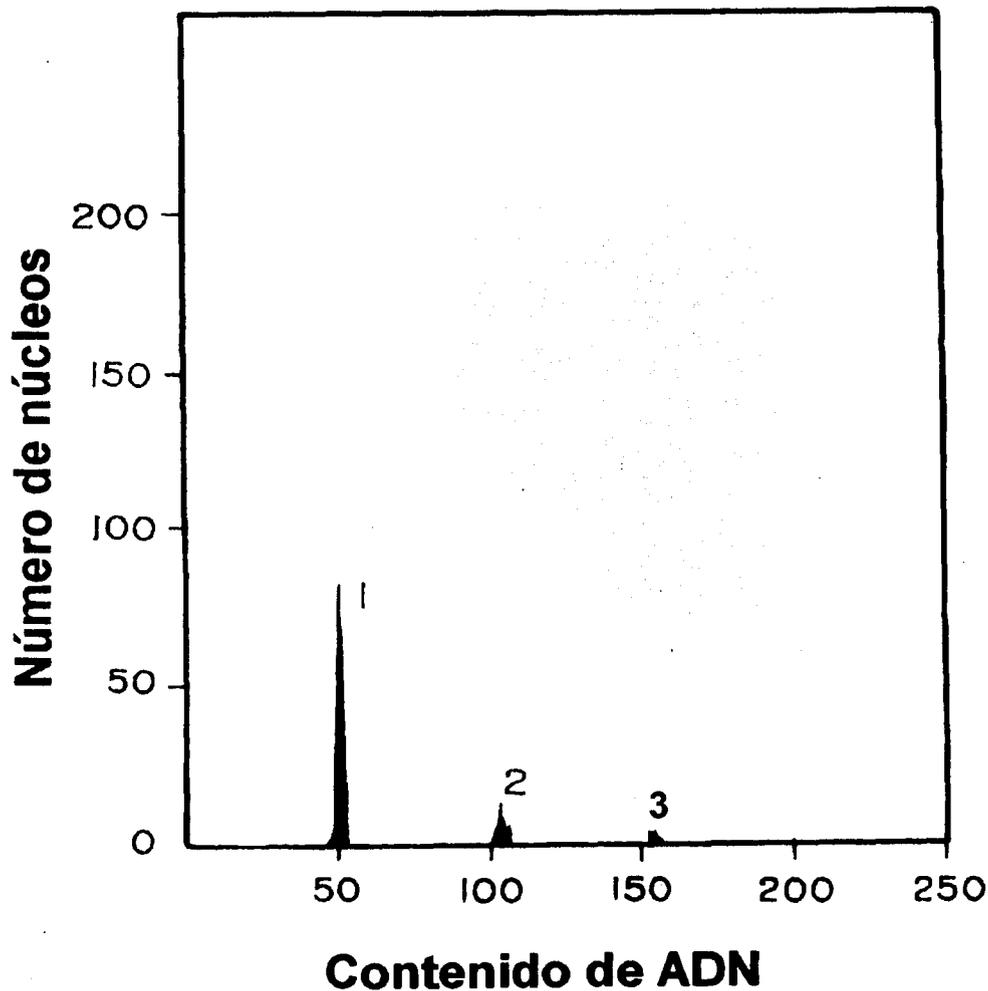
Taxa	ADN 2C (pg)*		Tamaño del genoma 1Cx Mpb	CV (%)
	$\bar{x}$	± EE		
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chíca roja	2.96	0.01	1450	3.58
<i>C. quinoa</i> var. <i>barandales</i>	2.96	0.01	1450	3.42
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. quelite cenizo	2.99	0.01	1465	4.16
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle rojo	2.98	0.01	1460	3.46
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Atlacomulco	3.04	0.02	1489	3.99
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chíca amarilla	2.97	0.02	1455	4.27
<i>C. berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. huauzontle verde de Lerma	2.97	0.02	1455	3.55

El promedio de cada población se calculó a partir de cinco plantas con tres repeticiones de al menos 10,000 núcleos por repetición.

\*1 picogramo (pg) = 980 millones de pares de bases (Bennett *et al.*, 2000).

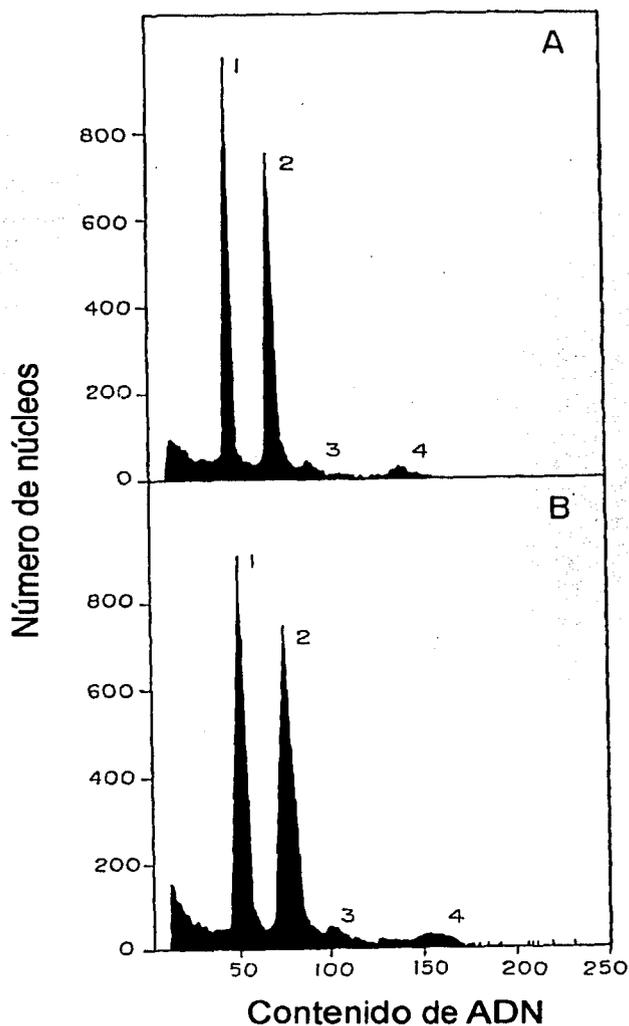
Mpb = millones de pares de bases de nucleótidos (Bennett *et al.*, 2000).

1Cx = Mpb en el grupo de cromosomas monoploide x (Bennett *et al.*, 2000).



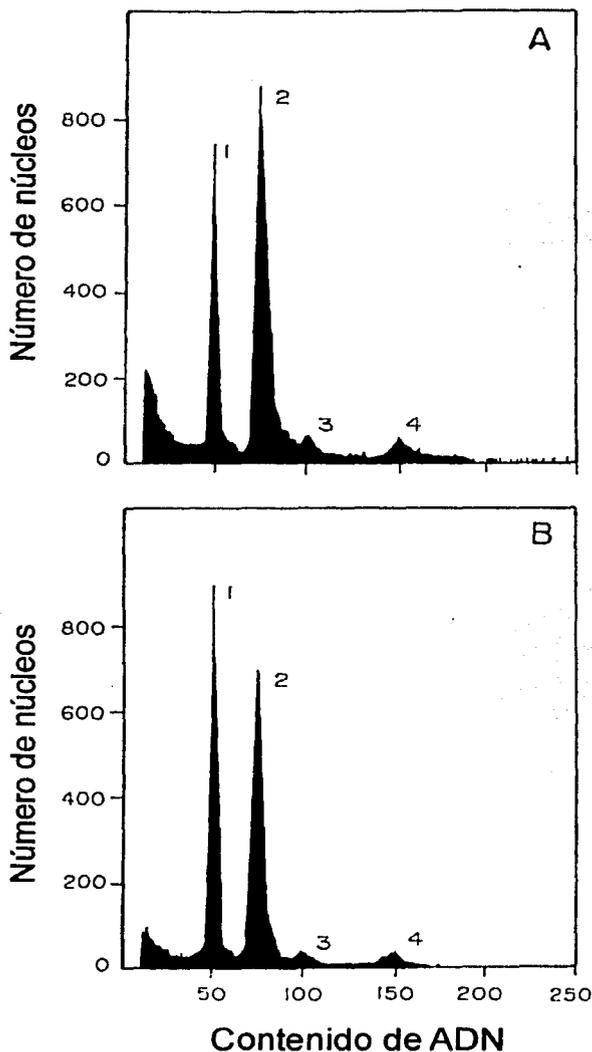
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 16.** Contenido de ADN relativo de los núcleos de células de sangre de pollo (NEP) empleados para la calibración del citómetro de flujo. El histograma 1 representa a los núcleos en  $G_0/G_1(2C)$ . Los histogramas 2 y 3 representan la agregación de núcleos dobles y triples.



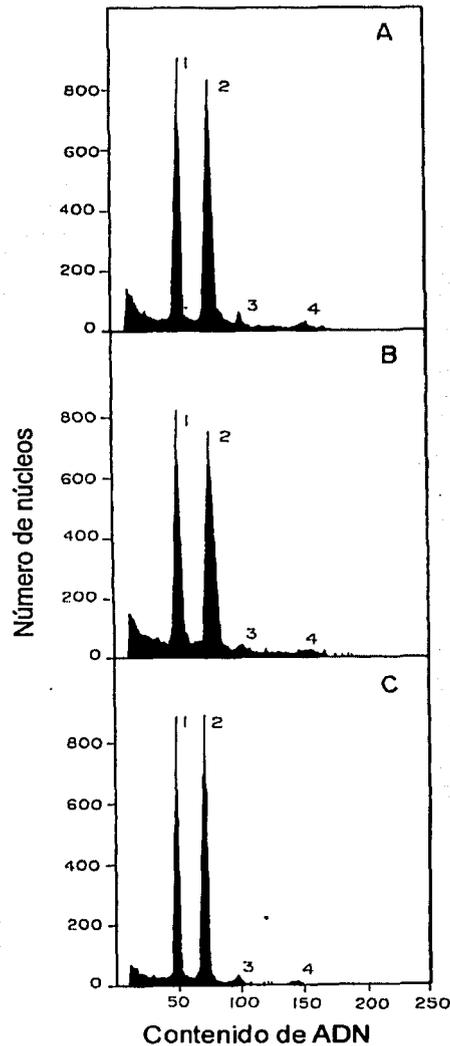
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 17.** Contenido de ADN relativo de los núcleos aislados de *Chenopodium* usando un citómetro de flujo. Los histogramas 1 y 3 de las figuras A) y B) representan núcleos en  $G_0 / G_1$  (2C) y  $G_2$  (4C) de *L. esculentum*, empleado como control interno. Los histogramas 2 y 4 en la figura A), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. berlandieri* ssp. *mutalliae* cv. chía roja y los de la figura B), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. quinoa* var. *barandales*.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 18.** Contenido de ADN relativo de los núcleos aislados de *Chenopodium* usando un citómetro de flujo. Los histogramas 1 y 3 de las figuras A) y B) representan núcleos en  $G_0 / G_1$  (2C) y  $G_2$  (4C) de *L. esculentum*, empleado como control interno. Los histogramas 2 y 4 en la figura A), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo y los de la figura B), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle rojo.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 19.** Contenido de ADN relativo de los núcleos aislados de *Chenopodium* usando un citómetro de flujo. Los histogramas 1 y 3 de las figuras A), B) y C) representan núcleos en  $G_0 / G_1$  (2C) y  $G_2$  (4C) de *L. esculentum*, empleado como control interno. Los histogramas 2 y 4 en la figura A), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv huauzontle verde de Atlacomulco; para la figura B), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv chia amarilla, y los de la figura C), representan núcleos en  $G_0 / G_1$  y  $G_2$  de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma.

## Resultados para el análisis estadístico del contenido de ADN

No se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) del tamaño del genoma en pg (Cuadro 28), en Mpb (Cuadro 29) entre colectas, entre plantas dentro de colectas y entre repeticiones dentro de plantas.

**Cuadro 28.** ANOVA anidado para el contenido de ADN (pg).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Colectas	0.04527619	6	0.00754603	1.82	0.1126
Plantas	0.11354667	28	0.00405524	0.98	0.5152
Repeticiones	0.04025143	14	0.00287510	0.69	0.7726
Total	0.431823	104			

(corregido)

**Cuadro 29.** ANOVA anidado para el contenido de ADN (Mpb).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Colectas	42162.32048	6	7027.05341	1.89	0.0900
Plantas	2646.452763	28	661.91319	0.18	0.9490
Repeticiones	16128.81700	14	8064.40850	2.17	0.1195
Total	402124.2401	104			

(corregido)

## 6. DISCUSIÓN

Las plantas de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. chía roja, quelite cenizo, huauzontle rojo, chía amarilla y huauzontle verde, presentaron un  $2n = 36 = 4x$ , donde  $x = 9$ . Estos conteos coinciden con los observados en *C. quinoa* (Cárdenas y Howkes, 1948; Gandarillas y Luizaga, 1967), *C. quinoa* var. *melanospermum* y *C. quinoa* var. *viridescens* (Giusti, 1970); *C. berlandieri* (Crawford, 1973), *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* (Meharchandani, 1960 citado por Harbhajan, 1961; Palomino *et al.*, 1990), *C. berlandieri* ssp. *zschackei* (Bassett y Crompton, 1982). También coinciden con los observados en otras especies del mismo género y/o subsección (*Cellulata*), *C. hircinum* (Giusti, 1970), *C. pallidicaule* (Giusti, 1970), *C. macrospermum* (Giusti, 1970), *C. stratiforme* (Dvorák, 1986b), *C. fursajewii* (Dvorák, 1986a), *C. glaucophyllum* (Dvorák y Dadaková, 1989), *C. vulvaria* (Dvorák, 1989).

Estudios cariológicos (Meharchandani, 1960 citado por Harbhajan, 1961; Gandarillas, 1976), isoenzimáticos (Wilson y Heiser, 1979; Wilson, 1980, 1981b), de segregación alélica de genes (Ward, 2000), herencia de color de la planta y tipo de esterilidad masculina (Simmonds, 1971); apoyan que estas plantas son alotetraploides con un  $x = 9$ . En la familia Chenopodiaceae y el género *Chenopodium*, el número básico que predomina es  $x = 9$ , siendo rara la aneuploidía y más común la poliploidía (Raven y Axelrod, 1974). También se ha observado que en la mayoría de las plantas alotetraploides se forman bivalentes como ocurre en *C. berlandieri* ssp. *zschackei*,  $2n = 36 = 4x$ ;  $x = 9$ , (Bassett y Crompton, 1982); *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* (Meharchandani, 1960 citado por Harbhajan, 1961); *C. strictum*,  $2n = 36 = 4x$ ;  $x = 9$ , (Devorak, 1993a); *C. macrospermum*,  $2n = 36 = 4x$ ;  $x = 9$  (Giusti, 1970); lo que sustenta el  $x = 9$  para la subsección *Cellulata* del género *Chenopodium*.

De los cariotipos analizados el de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja fue el que presentó la mayor longitud total del genomio (58.82  $\mu\text{m}$ ) al igual que los cromosomas más largos (2.09  $\mu\text{m}$ ). *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle rojo presentó el tamaño del genomio intermedio (48.88  $\mu\text{m}$ ), al igual que los cromosomas medianos (1.71  $\mu\text{m}$ ) y la longitud total del genomio menor (44.66  $\mu\text{m}$ ) y los cromosomas más cortos se presentaron en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma (1.63  $\mu\text{m}$ )(Cuadro 19).

Al comparar los cariotipos de *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. chía roja, quelite cenizo, huauzontle rojo, chía amarilla y huauzontle verde; utilizando la longitud total del genomio (LTG) se observó variabilidad ( $P < 0.0001$ ) (Cuadro 21); y mediante la comparación múltiple de medias de LTG se definieron tres grupos (Cuadro 22). El primer grupo incluye a *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja (LTG = 58.81), el segundo grupo incluye a *Chenopodium quinoa* var. *barandales* (LTG = 53.88) y en el tercer grupo se encuentran los restantes cultivares de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae*: quelite cenizo (LTG = 47.81), huauzontle rojo (LTG = 47.64), huauzontle verde de Atlacomulco (LTG = 45.60), chía amarilla (LTG = 45.32) y huauzontle verde de Lerma (LTG = 45.02). *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja y *Chenopodium quinoa* var.

*barandales* presentaron los genomios más grandes y cercanos entre sí. Los restantes taxa con genomios de tamaño intermedio y pequeño quedan ubicados en el último grupo.

Los grupos formados a partir de la comparación de LTG de los taxa estudiados coinciden en gran medida con los procesos de evolución que se han tenido en estas plantas debido a la domesticación que el hombre les ha dado dependiendo de sus objetivos de uso como alimento. Así, en el primer y segundo grupo se encuentran incluidos las plantas que se cultivan para obtener la semilla: *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja y *Chenopodium quinoa* var. *barandales* respectivamente. En el tercer grupo se presentan los taxa que se utilizan como verdura como quelites o para el consumo de la panoja (*C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. quelite cenizo, huauzontle rojo, huauzontle verde de Atlacomulco, chía amarilla y huauzontle verde de Lerma).

Todos los cromosomas de los taxa estudiados son metacéntricos y se pudieron agrupar por su tamaño en series de cuatro en cuatro lo que apoya el origen tetraploide de estas plantas. Todos los taxa presentan dos pares de cromosomas con satélites, el primer par de satélites se ubica en los dos cromosomas más largos y la ubicación del segundo par de satélites es diferente para la mayoría de los taxa, lo que apoya también su origen alotetraploide (Figs. 8, 9, 10 y 11).

*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía roja y *Chenopodium quinoa* var. *barandales* presentan el segundo par de satélites en los cromosomas más grandes, en el segundo y tercer par cromosómico respectivamente. En los cultivares que se consumen como verdura la posición del segundo par de satélites es muy similar, *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chía amarilla y huauzontle verde de Lerma presentan el segundo par de satélites en el quinto par cromosómico y el huauzontle verde de Atlacomulco en el séptimo par cromosómico. Estos tres últimos se cultivan para el consumo de su panoja y para el consumo de las hojas como quelite se utilizan a *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. quelite cenizo y huauzontle rojo; los cuales tienen el segundo par de satélites en el octavo y noveno par cromosómico.

Palomino *et al.*, (1990) observaron cariotipos de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle del Valle de México ( $2n = 4x = 36$ ) con 15 pares de cromosomas metacéntricos y 3 pares de cromosomas submetacéntricos (dos pares de cromosomas metacéntricos con satélites). Las diferencias en morfología y en posición de satélites dentro de una misma especie pero de distintas poblaciones también se han observado en *C. album* y *C. ambrosoides* (Tanaka y Tanaka, 1980; Palomino *et al.*, 1990). Estas diferencias estructurales pueden ser explicadas por rearrreglos estructurales en algunos cromosomas donde ocurrieron inversiones pericéntricas como se han observado en el género *Phaseolus* (Sinha y Roy, 1979).

La comparación de los cariotipos de los taxa de *Chenopodium* basada en la relación de longitud del tamaño relativo porcentual (L%) vs. relación de brazos (r), mostró que las diferencias entre estos dos parámetros son mínimas y al ser todos los cromosomas metacéntricos y pequeños no se observaron patrones claros de distribución (Cuadro 20 Fig. 12 y 13). Sin embargo, *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde, *C. quinoa*, *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cvs. huauzontle verde de Atlacomulco y huauzontle rojo

presentaron, respectivamente, los valores más bajos de  $r$  por lo cual son los taxa menos variables en la simetría de sus cromosomas. *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. chíá amarilla, quelite cenizo y chíá roja presentaron, también respectivamente, los genomios más variables o asimétricos.

El grupo cromosómico uno se aleja de la distribución de los demás grupos cromosómicos por tener los cromosomas más grandes, tener satélites y presentar la mayor diferencia en  $L\%$  con respecto al siguiente grupo cromosómico. Es decir, la diferencia de longitud entre el primer grupo cromosómico con respecto al siguiente es de hasta  $0.83 \mu\text{m}$  en *C. quinoa*, mientras que entre los restantes grupos cromosómicos es de menos de  $0.25 \mu\text{m}$  exceptuando el último grupo cromosómico que también se aleja en su distribución con respecto a los demás grupos cromosómicos con diferencias de hasta  $0.36 \mu\text{m}$  en *C. quinoa* (Cuadro 20; Fig. 12 y 13). Así, los cromosomas más asimétricos se ubican en el grupo cromosómico 1 y 9 y los cromosomas del grupo cromosómico 7 son los más simétricos. Los grupos cromosómicos que más se parecen en la asimetría de los sus pares de cromosomas homólogos son el 1 con el 5, el 2 con el 4, 3-6, 7-8, 8-9.

Las diferencias en el tamaño de los cromosomas en distintas especies del mismo género, pueden ser consideradas como evidencia de similitud y de la reestructuración de sus genomios y se atribuyen a rearrreglos cromosómicos como deleciones, fusiones, duplicaciones o translocaciones, que sucedieron durante su evolución y que tendrían que confirmarse con la realización de cruza y estudios de la meiosis en la F1 (Jones, 1977; Martínez y Palomino 1996). La poliploidía y la domesticación también han jugado un papel relevante en la evolución de estas plantas, lo cual se refleja en la diversidad de ambientes ecológicos que colonizan, proporcionando así mayores ventajas para su aprovechamiento en beneficio del hombre (Segura, 1988).

Mediante la medición del índice de asimetría (TF%) se observó que *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma es el genomio más simétrico (46.82%. Cuadro 19) y el más asimétrico es *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá amarilla (43.58. Cuadro 19). Las diferencias de las medias de TF% de los distintos taxa de *Chenopodium* resultaron significativas ( $P < 0.0001$ . Cuadro 23) y al realizar la comparación múltiple de sus medias mediante el método estadístico de Tukey se encontraron cinco grupos (Cuadro 24). El primer grupo incluye a *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Lerma, el segundo grupo a *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco, en el tercer grupo se encuentran *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. chíá roja y quelite cenizo; el cuarto grupo es *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle rojo y en el último grupo se ubican *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá amarilla. No se encontró relación entre el índice de asimetría (TF%) con algún carácter morfológico, la distribución o domesticación pero es claro que la variación de este parámetro es evidencia de la reestructuración de los genomios de estos taxa posiblemente durante el transcurso de su domesticación.

La variabilidad entre los taxa de *Chenopodium* estudiados, se observa en la longitud total del genomio (LTG), tamaño de los cromosomas; la posición de los satélites, longitud relativa ( $L\%$ ), relación de brazos ( $r$ ) e índice de asimetría (TF%). Estas diferencias

podieron haberse generado como consecuencia de rearrreglos estructurales en los cariotipos como deleciones, duplicaciones, translocaciones e inversiones entre sus cromosomas que se han presentado a través de la evolución de sus cariotipos. Dichos cambios posiblemente reflejan un proceso de diferenciación influenciados tanto por la selección del hombre como por los procesos naturales de adaptación. Sin embargo, a pesar de tales diferencias, los cariotipos de estas plantas son muy similares entre sí y aunque son plantas preferentemente autógamas en *C. quinoa* se ha observado que presenta flujo genético en porcentajes bajos de aloгамia menores al 13% (Simmons, 1971; Gómez, 1989).

El porcentaje de células octoploides observadas en todos los taxa de *Chenopodium* estudiados se encuentran en un intervalo de 6.45% para *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco y 16.2% para cv. quelite cenizo (Cuadro 25). Palomino *et al.* (1990), reportaron un 19% de células octoploides en el caso de las poblaciones de huauzontles que analizaron de la Ciudad de México. Lacadena (1988) considera que la existencia de células poliploides en bajos porcentajes en las plantas donde domina un determinado número cromosómico es frecuente en la mayoría de las plantas y se atribuye a las replicaciones endomitóticas sin separación de las células hijas, lo que origina los números múltiples de los cromosomas. Gandarillas y Luizaga (1967) reportaron también en *C. quinoa* endomitosis como un proceso común en las quenopodiáceas como se observa en la espinaca (*Spinacia oleracia*).

Con respecto a los porcentajes de viabilidad de polen, en todos los taxa de *Chenopodium* estudiados fueron superiores a 92% (Cuadro 26). El mayor porcentaje se observó en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco con un 99.30% de polen viable y el menor se presentó en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá amarilla con 92.57%. Esto indica que son especies fértiles y muy probablemente de origen híbrido lo cual puede ser confirmado mediante cruza inter- e intra- específicas posteriores las cuales pueden ser empleadas en el mejoramiento de estas plantas para reducir el nivel de saponinas en *C. quinoa* y/o aumentar el potencial agronómico de los cultivares de *C. berlandieri* ssp. *nuttalliae*.

El tamaño promedio del polen fue de 7.4  $\mu\text{m}$  y en todos los taxa se observó polen de menor tamaño (5.5  $\mu\text{m}$ ) en porcentajes de 0.2% a 1.3% (Fig. 15) y solamente en *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Lerma se encontró polen más grande de 8.8  $\mu\text{m}$  en un porcentaje del 0.3%. Johnson (1980) sugiere que polen más pequeño que los granos de polen de tamaño promedio es inviable y son resultado de irregularidades en la meiosis como la mala segregación de los cromosomas como se observó en *Mammillaria prolifera*. García (Comunicación personal) sugiere que tanto los granos de polen más grandes como los más pequeños provienen de irregularidades de la división meiótica y su fertilidad deberá ser evaluada mediante la germinación o cruza de sus descendientes.

*Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco es el taxa que presentó el mayor contenido de ADN  $2C = 3.04$  pg, 1489 Mpb (1C), mientras que *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* cv. chíá roja y *Chenopodium quinoa* var. *barandales* presentaron el menor contenido de ADN de  $2C = 2.96$  pg, 1450 Mpb (1C). Entre las

mediciones del contenido de ADN de todos los taxa no se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.1126$ , Cuadros 28 y 29). Sin embargo las pequeñas diferencias que se observaron en el contenido de ADN pudieron haberse originado durante el proceso de desarrollo y de diferenciación de las especies como lo indican Biradar y Rayburn (1993). Por otro lado, Price (1976) mencionan que la plasticidad y la variación observada en el contenido de ADN pueden ser debidas a efectos ambientales. Los cambios en el contenido de ADN pueden deberse a duplicaciones y deleciones que se consideran son activadas en respuesta al ambiente o estrés del genoma (Price, 1976).

Bennett *et al.* (1976) en una de sus listas de contenido de ADN reporta los valores de *C. quinoa* ( $2C = 2.66$  pg, 1299 Mpb (1C)) utilizando microdensitometría de Feulgen, lo cual no coincide completamente con el resultado obtenido en este trabajo (*C. quinoa*  $2C = 2.96$ , 1450 Mpb (1C)). La medición del contenido de ADN tanto por citometría de flujo como por microdensitometría de Feulgen no generan diferencias significativas pero la planta de referencia sí (Dolezel, *et al.*, 1992). Lamentablemente, los primeros resultados reportados no fueron publicados en un artículo donde se describiera la planta de referencia utilizada principal causa que pudiera haber generado tal diferencia.

Finalmente, debido a la similitud que existe entre estas especies y cultivares especialmente entre *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja en los números cromosómicos (somático  $2n$  y básico  $x$ ), nivel de ploidía, longitud total del genomio (LTG), tamaño de los cromosomas, longitud del tamaño relativo porcentual (L%), relación de brazos ( $r$ ), morfología de los cromosomas, posición de los satélites, porcentajes de viabilidad de polen, tamaño de los genomios en pg y su composición en Mpb (Cuadro 30); incrementan la posibilidad de que las cruza entre estas dos especies sean viables con el objetivo de mejorar genéticamente.

**Cuadro 30.** Caracteres similares entre *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chía roja.

Caracter	<i>Chenopodium quinoa</i> var. <i>barandales</i>	<i>Chenopodium</i> <i>berlandieri</i> ssp. <i>nutalliae</i> cv. chía roja
$2n$	36	36
Intervalo de longitud	1.17 - 1.96	1.26 - 2.04
Longitud total del genomio	53.88	58.81
Fórmula cariotípica	36m	36m
Satélites	4m	4m
% de viabilidad de polen	96.58	99.53
Tamaño del genomio en (pg)	2.96	2.96
Composición del genomio en (Mpb)	2847	2847

Por parte de la quinoa se disminuiría o eliminaría las saponinas que contiene en el episperma de sus semillas y que reduce su comercialización y su competencia frente a los cereales. En el caso de la chía roja, que no contiene saponinas, adquiriría de la quinoa atributos agronómicos como un mayor tamaño de sus semillas con igual o mejor valor nutritivo, mayor altura, panoja más compacta. Conservando al mismo tiempo en las dos especies su rusticidad y plasticidad para ser cultivados en grandes altitudes, en suelos pobres de nutrientes y tolerantes a condiciones adversas del clima como la sequía, y las heladas.

Además, sería importante que tanto la quinoa como la chía roja tuvieran una mayor distribución en su comercio con la finalidad de poderlas hacer llegar a las poblaciones más necesitadas y para que se fueran incorporando en la alimentación. El consumo los cultivares analizados en este estudio, puede contribuir a la disminución de algunos problemas nutritivos de los mexicanos al aportarles proteínas, minerales y vitaminas, que por lo regular son de las principales deficiencias nutricionales de la población.

## 7. CONCLUSIONES

- *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. chíá roja, quelite cenizo, huauzontle rojo, chíá amarilla y huauzontle verde, son alotetraploides con un  $2n = 36 = 4x$  ( $x = 9$ ). Estos resultados coinciden con el número básico propuesto en la literatura para el género *Chenopodium* subsección *Cellulata*.
- A pesar de que todos los taxa analizados presentaron genomios homogéneos con 36 cromosomas metacéntricos y pequeños ( $0.94 - 1.26 \mu\text{m}$ ); se observó variación en algunos parámetros que caracterizan sus cariotipos.
- La comparación de longitud total del genomio (LTG) en todos los taxa de *Chenopodium* estudiados permitió definir significativamente ( $P < 0.0001$ ) tres grupos, los cuales coinciden con el tipo de uso que se les ha dado a estas plantas. En el primer y segundo grupo se encuentran incluidas las plantas que se cultivan para obtener la semilla: *C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá roja ( $58.81 \mu\text{m}$ ) y *Chenopodium quinoa* var. *barandales* ( $53.88 \mu\text{m}$ ) respectivamente. En el tercer grupo se presentan los taxa que se utilizan como verdura tanto para el consumo de las hojas, como quelites o para el consumo de la panoja (*C. berlandieri* ssp. *nutalliae* cvs. quelite cenizo ( $47.81 \mu\text{m}$ ), huauzontle rojo ( $47.64 \mu\text{m}$ ), huauzontle verde de Atlacomulco ( $45.60 \mu\text{m}$ ), chíá amarilla ( $45.32 \mu\text{m}$ ) y huauzontle verde de Lerma ( $45.02 \mu\text{m}$ )).
- Todos los taxa presentan dos pares de cromosomas con satélites, el primer par de satélites se ubica en los dos cromosomas más largos y el segundo es diferente para la mayoría de los taxa, esto apoya su origen alotetraploide.
- Las diferencias entre los valores de TF% en los distintos taxa de *Chenopodium* son significativas ( $P < 0.0001$ ) y se distribuyen en cinco grupos. No se encontró relación entre la variación de este parámetro con algún carácter morfológico, de distribución o domesticación.
- La variación entre todos los taxa definida por las diferencias en la longitud total (LTG) del genomio, tamaño de los cromosomas, posición de los satélites, longitud del tamaño relativo porcentual (L%), relación de brazos ( $r$ ) e índice de asimetría (TF%); se atribuye a rearrreglos en los cariotipos como deleciones, fusiones, duplicaciones o translocaciones que posiblemente sucedieron durante la evolución de estas plantas. Estos rearrreglos cromosómicos estructurales posiblemente reflejan un proceso de diferenciación en sus genomios influenciado tanto por el hombre como por procesos naturales de selección y adaptación.
- El porcentaje de polen viable fue superior al 92% en todos los taxa de *Chenopodium* analizados, por lo que se infiere que son especies fértiles a pesar de tener un origen híbrido ancestral.

- *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. huauzontle verde de Atlacomulco es el taxa que presentó el mayor contenido 2C de ADN 3.04 pg, 2934 Mpb, mientras que *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá roja y *Chenopodium quinoa* var. *barandales* presentaron el menor contenido 2C de ADN de 2.96 pg, 2847 Mpb (1C); por lo que se consideran genomios pequeños. Entre las mediciones del contenido de ADN de todos los taxa no se encontraron diferencias significativas, las pequeñas diferencias que se observaron en el contenido de ADN pudieron haberse originado durante los procesos de desarrollo y de diferenciación de las especies como respuesta a factores adaptativos durante su evolución.
- La similitud que existe entre los taxa en los números cromosómicos (somático 2n y básico x), nivel de ploidia, tamaño de los cromosomas, longitud total del genomio (LTG), longitud del tamaño relativo porcentual (L%), relación de brazos (r), morfología de los cromosomas, número y posición de los satélites, tamaño de los genomios en pg, su composición en millones de pares de bases (Mpb) y los altos porcentajes de viabilidad de polen; especialmente entre *Chenopodium quinoa* var. *barandales* y *Chenopodium berlandieri* ssp. *nutalliae* cv. chíá roja; incrementan la posibilidad de obtener descendientes viables de las cruas entre estos dos taxa para su mejoramiento genético.

## 8. LITERATURA CITADA

- Aellen, P. & T. Just, 1943. Key and synopsis of the American species of the genus *Chenopodium* L. *Am Midl Nat* 30: 47-76.
- Auquier, A. & R. Renard, 1975. Nombres chromosomiques de quelques angiospermes du Rwanda, Burundi et Kivu (Zaïre)-I. *Bull Jard Bot Nat Belg* 45: 421-445.
- Bassett, J. & W. C. Crompton, 1982. The genus *Chenopodium* in Canada. *Can J Bot* 60: 586-610.
- Behnke, H., 1976. Ultrastructure of sieve-element plastids in Caryophyllales (Centrospermae), evidence for the delimitation and classification of the order. *Plant Syst Evol* 126: 31-54.
- Belaeva, V. & V. Siplivinsky, 1981. Chromosome number reports LXXIII. *Taxon* 30: 857-860.
- Belford, H.S. & W.F. Thompson, 1981. Single copy DNA homologies in *Atriplex*. I. Cross reactivity estimates and the role of deletions in genome evolution. *Heredity* 46: 91-108.
- Bennett, M.D., 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond B* 181: 109-135.
- Bennett, M.D., 1985. Intraspecific variation in DNA amounts and nucleotypic dimension in plant genetics. In: M. Freeling (Ed.), *UCLA Symp Mol Cel Biol New Ser* 35: 173-179.
- Bennett, M.D., 1987. Ordered disposition of parental genomes and individual chromosomes in reconstructed plant. nuclei, and their implications. *Somat Cell Mol Genet* 13(4): 463-466.
- Bennett, M.D. & I. L. Leitch, 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann Bot* 76: 113-176.
- Bennett, M.D. & I. L. Leitch, 1998. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann Bot* 82 (suppl. A): 1.
- Bennett, M.D. & J. Smith, 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Phil. Trans. R. Soc. Lond B* 274: 227-274.

- Bennett, M.D. & J. Smith, 1991. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Phil. Trans. R. Soc. Lond B 334: 309-345.
- Bennett, M.D., J. Smith & J. Harrison, 1982. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Proc R Soc Lond Biol Sci 216:179-199.
- Bennett, M.D., P.B. Bhandol & I. L. Leitch, 2000. Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses – 807 New Estimates. Ann Bot 86: 859–909.
- Benenett, M.D., & I. L. Leitch, 2003. Angiosperm DNA. C-values database. <http://www.rbgekew.org.uk/cval/database1.html>
- Bharathan, G., 1996. Reproductive development and nuclear DNA content in angiosperms. Am J Bot 70: 1420-1423.
- Biradar D.P. & A.L. Rayburn, 1993. Heterosis and nuclear DNA content in maize. Heredity 71:300-304.
- Bouchard, C.J., D. Doyon & C. Gervais, 1978. Étude comparative de trois Chénopodes adventices dans les cultures de la région de Québec: *Chenopodium album* L., *C. ficifolium* Smith ET., *C. Glaucum* L. Naturalist Can 105: 41–50.
- Bye, R.B., 1981. Quelites. Ethnobiology of edible greenpast, present and future. J Ethnob 1: 109-123.
- Cárdenas, M., & J.G. Hawkes, 1948. Número de cromosomas de algunas plantas cultivadas por los indios de los Andes. Rev Agric B 32: 109-114.
- Carr, G.D., 1978. Chromosome numbers of Hawaiian flowering plants and the significance of cytology in selected taxa. Am J Bot 65(2): 236-242.
- Carrillo, A.O. & E.E. Mark, 1994. Anatomía de la semilla de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* (Chenopodiaceae) “huauzontle”. Bull Soc Mex 54: 17-34.
- Cavalier-Smith, T., 1985. The evolution of genome size. John Wiley and Sons, New York.
- Cavallini, A. & L. Natali, 1991. Intraspecific variation of nuclear DNA content in pant species. Caryologia 44 (1): 93-107.
- Coger, A.D. & L.M. Farichil, 1953. A quick freeze method for making smear slides permanent stain. Tech. 28: 281-283.
- Crawford, D., 1973. Morphology, flavonoid chemistry and chromosomes numbers of the *Chenopodium neomexicanum* complex. Madroño 22: 185-195.
- Cronquist, A., 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia

University Press, New York.

- Dempsey, R., R. Gornall & J. Bailey, 1994. Contributions to a cytological catalogue of the British and Irish flora. *Watsonia* 20: 63-66.
- DeWet, J., 1979. Origins of polyploids. In: W. Lewis (Ed.), 1980. *Polyploidy*. Plenum Press, New York.
- Dobzhansky, T., 1980. *Evolution*. Omega, Barcelona.
- Dolezel, J., 1991. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plant. *Phytochem Anal* 2: 143-154.
- Dolezel, J., 1995. *Flow cytometry: Principles and applications in mutation breeding*. 14th (IAEA/FAO) International Training Course on Advances in plant Mutation Techniques (C7-INT-5.135). Viena, Austria. 25 p.
- Dolezel, J., 1997a. Flow cytometry, its applications and potential for plant breeding. In: T. Lelley (Ed.), *Current topics in plant Cytogenetics related to plant improvement*, pp. 80-90. IFA, Tulln., Austria.
- Dolezel, J., 1997b. Applications of flow cytometry for study of plant genomes. *J. Appl. Genet* 38: 285-302.
- Dolezel, J., S. Sgorbati & S. Lucretti, 1992. Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiol Plant* 85: 625-631.
- Dvorák, F., 1984a. Annotated chromosome counts of the *Chenopodium pedunculare*. *Bertol Scripta Fac Sci Nat Univ Purk Brun (Biol)* 14: 455-462.
- Dvorák, F., 1984b. *Chenopodium x pseudostriatum* Zschacke. *Biologia (Bratislava)* 39: 63-70.
- Dvorák, F., 1986a. Annotated chromosome counts of the genen *Chenopodium*. *Bertol Scripta Fac Sci Nat Univ Purk Brun (Biol)* 16: 13-40.
- Dvorák, F., 1986b. Study of some taxa from the genus *Chenopodium*. *Feddes Reperit* 97: 805-830.
- Dvorák, F., 1987. Study of *Chenopodium diversifolium* (Aellen) Dvorák and of some hybrids with this species. *Bertol Scripta Fac Sci Nat Univ Purk Brun (Biol)* 17: 401-446.
- Dvorák, F., 1989. Study on *Chenopodium strictum* agg. *Feddes Reperit* 100: 197-234.
- Dvorák, F., 1986b. Study of some taxa from the genus *Chenopodium*. *Feddes Reperit* 97: 805-830.

- Dvorák, F., 1992. Study of *Chenopodium subopulifolium* J. MURR emend. D. Feddes Reperit 103: 49-69.
- Dvorák, F., 1993a. Study on some hybrids from *Chenopodium album* agg. Feddes Reperit 104: 1-16.
- Dvorák, F., 1993b. Relationships and diagnostic characters of *Chenopodium striatiforme* J. MURR, *C. striatum* (KRASAN) J. MURR and *C. strictum* ROTH. Feddes Reperit 104: 439-449.
- Dvorák, F., 1994. Study on *Chenopodium griseochlorium* D. Feddes Reperit 105: 425-432.
- Dvorák, F., F. Grull, I. Ruzicka & B. Dadaková, 1979. Chromosome number reports LXIV. Taxon 28: 391-392.
- Dvorák, F. & B. Dadaková, 1984. Chromosome counts and chromosome morphology of some selected species. Folia Geobot. Phytotaxon 19: 41-70.
- Dvorák, F. & B. Dadaková, 1989. A contribution to a better understanding of the variability of *Chenopodium rubrum* L. Bertol Scripta Fac Sci Nat Univ Purk Brun (Biol) 19: 323-330.
- Dvorák, F., I. Ruzicka & B. Dadaková, 1989. Chromosome counts and chromosome morphology of some selected species. Bertol Scripta Fac Sci Nat Univ Purk Brun (Biol) 19: 301-322.
- Dyer, J., 1979. Investigation Chromosomes. Edward Arnold, London.
- Eckardt, T., 1976. Classical morphological features of Centrosperous families. Plant Syst Evol 126: 5-25.
- Escobedo, G. M., 1947. Contribución al estudio de alimentos mexicanos "El Huauzontle". Tesis de Licenciatura. Fac. de Química, UNAM.
- Fleming, J.E. & N.W. Galwey, 1995. Quinoa (*Chenopodium quinoa*). In: J.T. Williams (Ed.), Cereals and Psuedocereals, pp. 1-83. Chapman & Hall, London.
- Flores, E., 1987. Aspectos bioquímicos, nutricionales y tecnológicos de tres especies del género *Chenopodium*. Tesis Licenciatura. Fac. de Química, UNAM.
- Galwey, N.W., C.L.A. Leakey, K.R. Price & G.R. Fenwick, 1990. Chemical composition and nutritional characteristics of quinoa. Food Sci Nutr 42: 245-261.
- Gandarillas, H., 1976. Genética y origen de la quinua (*Chenopodium quinoa*). Bol. Genét. Inst. Fitotec Bolivia 9: 3-14.

- Gandarillas, H. & J. Luizaga, 1967. Número de cromosomas de *Chenopodium quinoa* Willd. En radículas y raicillas. Turrialba 17 (3): 275-279.
- García, V.A., 1990. Manual de técnicas de citogenética. Colegio de Posgraduados, Chapingo, México.
- Gervais, C., 1979a. Le *Chenopodium strictum* roth au Québec et ses caractères distinctifs. Naturalist Can 106: 331-336.
- Gervais, C., 1979b. Liste annotée de nombres chromosomiques de la flore vasculaire du nord-est de L'Amérique. Naturalist Can 106: 451-461.
- Giusti, L., 1970. El género *Chenopodium* en Argentina. I. Número de cromosomas. Darwiniana 16 (1-2): 98-105.
- Gómez, M.E., 1989. ¿Qué grado de alogamia tiene la quinoa? Tesis Licenciatura. C.P., Chapingo, México.
- Grime, J.P., 1998. Plant classification for ecological purposes: is there a role for genome size? Ann Bot 82 (suppl. A): 117-120.
- Harbajan, S., 1961. Grain *Amaranthus*, buckwheat and *Chenopods*. Indian Council of agricultural research, New Delhi.
- Heiser, C.H., 1985. Chenopods: From weeds to the halls of Montezuma. In: Of plants and people, pp. 82-99. University of Oklahoma press.
- Heiser, C.H., 1990. New Perspectives on the origin and evolution of New World domesticated plants, Econ Bot (suppl.) 44 (3): 111-116.
- Heiser, C.H. & D. Nelson, 1974. On the origin of the cultivated chenopods (*Chenopodium*). Genetics 78: 503-505.
- Hunziker, A.T., 1943. Las especies alimenticias de *Amaranthus* y *Chenopodium* cultivadas por los indios de América. Rev Argent Agron 30 (4): 297-353.
- Herzkowitz, Y.H., 1965. Genetics. In: R. Rieger, A. Michaelis & M. M. Green (Eds.). Glosary of Genetics and Cytogenetics Classical and Molecular, pp. 180-218. Springer-Verlag, Berlín, Heidelberg, New York.
- Jacobsen, S.E., 1997. Adaptation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) to Northern European agriculture. Studies on the developmental pattern. Euphytica 96: 41-48.
- John, B., 1976. Population cytogenesis. Arnold. The Camelot Press. Ltd. South Ampton, England.

- Johnson, M.A.T., 1980. Further cytological investigations in *Mammillaria prolifera* and other *Mammillaria* species. *Cact Succ J Gt Brit* 42 (2): 43-47.
- Jones, K., 1977. The Role of Robertsonian change in karyotype evolution in higher plants. *Chromosome Today* 6: 121-129.
- Kenton, A., 1984. Chromosome evolution in the *Gibasis linearis* group (Commelinaceae). III DNA variation, chromosome evolution, and speciation in *G. venustula* and *G. heterophylla*. *Chromosome (Berl)* 90: 303-310.
- Kenton, A., 1986. Importancia de los cromosomas en la especiación y evolución como base para el conocimiento y caracterización de especies vegetales con valor potencial. In: G. H. Palomino (Ed.), III Seminario Maximino Martínez: La aplicación de la Citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México, pp. 11-36. Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM, México.
- Kim, G.N., R.K. Price & Fenwick, R., 1994. A TLC method for the analysis of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins. *Food Chem* 49: 311-315.
- Laborde, J., 1962. El cultivo del huauzontle. *Novedades hortícolas*, 7: 1-5.
- Lacadena, J., 1988. *Genética*. A.G.E.S.A., Madrid.
- Levan, A., K. Freiga & A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201 - 219.
- Lewis, W.H. 1979. *Polyploidy*. Plenum, New York.
- Lomonosova, M. & A. Krasnikov, 1994. Chromosome numbers in some species of genus of the *Chenopodium*, flora of Siberia. *Bot Zhurn (St. Petesburg)* 79(3): 124-125.
- Mapes, C., 1984. Una revisión sobre la utilización del género *Amaranthus* en México. In: A.M. Sánchez (Ed.), *Memorias del Primer Seminario Nacional del Amaranto (Vol. I)*, pp: 388-403. Colegio de Posgraduados. Chapingo, México.
- Martínez, R.F. & G.H. Palomino. 1996. Karyotype analysis in three new species of *Echeandia* (Liliaceae) and cytotypes of *E. reflexa*. *Cytologia* 61: 215-223.
- Masterson, J., 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264: 421-424.
- McArthur, D.E. & S.E. Sanderson, 1983. Distribution, systematic and evolution of Chenopodiaceae: an overview. In: A. Tiedeman, D.E. McArthur, H. Stutz, R. Stevens & K. Johnson (Eds.), *Proceedings. Symposium on the Biology of Atriplex and Related Chenopods*. pp. 14-24. Provo, Utah, U.S. Dept. of Agric., Forest Service, Intermountain Forest and Range Exp. Stat.

- Mears, J., 1979. Chemistry of polyploids. A summary with comments on Parthenium (Asteraceae-Ambrosinae). In: W. Lewis, (Ed.), pp. 77-102. Poliploidy Plenum Press. New York.
- Morán, R., 1949. Why count chromosomes? *Deser Pl. Life*, 21: 21-27.
- Mujica, S., 1997. Cultivo de quinua. INIA. Ministerio de Agricultura, Lima.
- Narayan, R.K.J., 1998. The role of genomic constraints upon evolutionary changes in genome size and chromosome organization. *Ann Bot (suppl. A)* 82: 57-66.
- Ohri, D., 1998. Genome size variation and plant systematics. *Ann Bot* 82: 75-83.
- Otto, F., 1990. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Z. Darzynkiewicz & H.A. Crissman (Eds.), *Methods in Cell Biology*, Vol. 33, pp. 105-110. Academic Press, Inc., New York.
- Palomino, G.H. 1986. La aplicación de la citogenética en el conocimiento biológico de los recursos genéticos. In: G. H. Palomino (Ed.) *Seminario Máximo Martínez: La aplicación de la citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México*. pp. 1-10. Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM, México.
- Palomino, G.H. 1991. La importancia del enfoque interdisciplinario en el conocimiento de los recursos vegetales de México. In: P. Ortega, G. H. Palomino, F. Castillo, V. González & M. Livera (Eds.), *Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México*. pp. 63-82. SOMEFI, Chapingo, México.
- Palomino, G.H., 1995. Estudios citogenéticos de plantas mexicanas. *Plantas, Biotecnología, Agronomía, Nutrición*. COFAA-IPN, México.
- Palomino, G.H., 2000. Genome analysis of Mexican flora. *Genet Mol Biol* 23 (4): 921-924.
- Palomino, G.H., M.D. Segura, R.B. Bye y M. R. Mercado, 1990. Cytogenetic distinction between *Teloxys* and *Chenopodium* (Chenopdiaceae). *The Southwestern Naturalist* 35 (3): 351-353.
- Palomino, G.H, J. Dolezel, R. Cid, I. Brunner, I. Méndez & A. Rubluo, 1999. Nuclear genoma stability of *Mammillaria san-angelensis* (Cactaceae) regenerants induce by auxins in log-term *in vitro* culture. *Plant Sci* 141: 191-200.
- Paz, L.S., 1999. Comercio de alimentos en el siglo XXI y los productos andinos. In: A. Mujica, J. Izquierdo, J. Pierre, C. Morón & S. Jacobsen (Eds.), *Reuniones técnicas y Taller de formulación de proyecto regional sobre la producción y nutrición en base a cultivos andinos*, pp. 113-116. Arequipa, Perú.

- Price, H.J., 1976. Evolution of ADN content in higher plants. Bot Rev 42: 27-52.
- Queirós, M., 1979. Números cromosómicos para a flora portuguesa. 16-37. Bol Soc Brot Sér 2 53: 15-28.
- Radford, A.E., W.C. Dickison, S.R. Massey & C.R. Bell, 1974. Vascular plant systematics. Harper and Row Publishers, New York.
- Raven, P. & D. Axelrod, 1974. Angiosperm biogeography and past continental movements. Ann Missouri Bot Gard 61: 539-763.
- Rieger, R., M. Michelis & M. Green, 1982. Diccionario de genética y citogenética. Alhambra, Madrid.
- Ruales, J. & B. Nair, 1993. Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. Food Chem 48: 131-136.
- Ruas, P.M., A. Bonifacio, C.F. Ruas, D.J. Fairbanks & W.R. Andersen, 1999. Genetic relationship among 19 accessions of six species of *Chenopodium* L. by Random Amplified Polymorphic DNA fragments (RAPD). Euphytica 105: 25-32.
- Sáez, F. & H. Cardoso, 1978. Citogenética básica y biología de los cromosomas. O.E.A., Washington.
- Segura, M., 1988. Estudio citogenético de algunas especies mexicanas de *Chenopodium* L. Tesis Licenciatura. Fac. de Ciencias, UNAM.
- Sharma, A. & A. Sharma, 1959. Recent Advances in the Study of Chromosomal Alteration with Relation to Speciation. Bot Rev 25: 514 - 544.
- Simmonds, N.W., 1965. The grain chenopods of the tropical American highlands. Econ Bot 19: 223-235.
- Simmonds, N.W., 1971. The breeding system of *Chenopodium quinoa*. I. Male sterility. Heredity 27: 73-82.
- Sinhna, S.S.N. & H. Roy, 1979. Cytological studies in the genus *Phaseolus* I. Mitotic analysis in fourteen species. Cytologia 44: 191-199.
- Stace, C.A. 1980. Plant taxonomy and biosystematics. Edward Arnold. Great Britain, Inglaterra.
- Stalker, H.T., 1980. Utilización de especies silvestres para el mejoramiento de los cultivos. In: Germen Núm 4, pp. 6-25. Boletín de intercambio Técnico y Científico de la SOMEFI, Chapingo, México.

- Standley, P.C., 1916. Chenopodiales. Chenopodiaceae. North American. Field Mus Nat. Hist Bot Ser 11: 115-126.
- Stebbins, G., 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London.
- Swift, H., 1950. The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 36: 643-654.
- Tanaka, R. & A. Tanaka, 1980. Karyomorphological studies in halophitic plants. I. Some taxa of *Chenopodium*. Cytologia 45: 257-269.
- Tapia, M., 1990. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. INIAA. FAO., Lima.
- Uotila, P., 1973. Chromosome counts on the *Chenopodium album* aggregate in Finland and EN Sweden. Ann Bot Fennici 9: 29-32.
- Valdivia, R., S. Paredes, A. Zegura, V. Choquehuanca & J. Reinoso, 1997. Manual del productor de quinua. CIRMA. Altiplano E.I.R. Ltda. Puno, Perú.
- Vinogradov A.E., 1999. Intro-genome relationship on a large evolutionary scale. J Mol Evol 49: 376-384.
- Walters, T.W., 1987. Electrophoretic evidence for the evolutionary relationship of the tetraploid *Chenopodium berlandieri* to its putative diploid progenitors. Selbyana 10: 36-55.
- Ward, S.M., 2000. Allotetraploid segregation for single-gene morphological characters in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Euphytica 116: 11-16.
- Wilkes, G. 1993. Germplasm collections: their use, potential, social responsibility and genetic vulnerability. Crop Sci 1: 445-450.
- Wilson, H.D., 1980. Artificial hybridization among species of *Chenopodium* Sect. *Chenopodium*. Syst Bot 5(3): 233-239.
- Wilson, H.D., 1981a. Domesticated *Chenopodium* of the Ozark Bluff Dwellers. Econ Bot 35(2): 233-239.
- Wilson, H.D., 1981b. Genetic variation among South American populations of tetraploids *Chenopodium* Subsect. *Cellulata*. Syst Bot 6(4): 380-398.
- Wilson, H.D., 1988a. Quinoa Biosystematics I: Domesticated Populations. Econ Bot 42 (4): 461-477.

- Wilson, H.D., 1988b. Quinoa Biosystematics II: Free-living Populations. *Econ Bot* 42 (4): 478-494.
- Wilson, H.D., 1990. Quinoa and relatives (*Chenopodium* sect. *Chenopodium* subsect. *Cellulata*) In: P. Bretting, (Ed.), *New perspectives on the origin and evolution of new world domesticated plants*. *Econ Bot* (suppl.) 44 (3): 92-111.
- Wilson, H.D. & C.B. Heiser, 1979. The origin and evolutionary relationships of "Huauzontle" (*Chenopodium nuttalliae* Safford), domesticated chenopod of Mexico. *Am J Bot* 66(2): 198-206.
- Wyman, J., S. Laliberté & M. Trembray, 1997. Nuclear DNA content variation in seeds from 22 hafsib families of jack pine (*Pinus banksiana*, Pinaceae). *Am J Bot* 84(10): 1351-1361.
- Zeven, A., 1979. Polyploidy and plant domestication. In: W.H. Lewis (Ed.), *Polyploidy*, pp. 385-407. Plenum Press, New York.