



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS
CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA**

**CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA, BROMATOLÓGICA,
ISOENZIMÁTICA Y RADIOSENSIBILIDAD DE
POBLACIONES DE AMARANTO (*Amaranthus* spp.)
COLECTADAS EN LAS PRINCIPALES ÁREAS DE
PRODUCCIÓN DE MÉXICO**

CRISTIAN ROBERTO SUBÍA GARCÍA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2012

La presente tesis titulada: **Caracterización agronómica, bromatológica isoenzimática y radiosensibilidad de poblaciones de amaranto (*Amaranthus* spp.)** colectadas en las principales áreas de producción de México, realizada por el alumno: **Cristian Roberto Subía García**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


DR. PORFIRIO RAMÍREZ VALLEJO

ASESOR


MC. JULIO ARTURO ESTRADA GÓMEZ

ASESOR


DRA. MA. DE LA LUZ RAMÍREZ VÁZQUEZ

ASESOR


DR. EULOGIO DE LA CRUZ TORRES

Montecillo, Texcoco, Estado de México. Noviembre de 2012

DEDICATORIA

A la memoria de mi gran amigo David.

A mis padres, hermanos y a toda mi familia

*A mis sobrinos Tommy, Saharaí, Mayte y Christian, como una muestra más de
que el querer es poder...*

A los agricultores quienes son nuestra razón de ser.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por siempre estar presente y llevarme a conocer los límites en los momentos de debilidad porque solo así pude valorar de lo que soy capaz.

A mis padres, hermanos, sobrinos que han sido la génesis de mis proyectos, por sus palabras de aliento y confianza. A todos mis familiares y amigos de Ecuador, quienes estuvieron siempre pendientes de mis avances en la maestría.

Al gobierno de Ecuador que a través del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) por el respaldado económico para la consecución de este proyecto.

A mis compañeros del Programa de Leguminosas y Granos Andinos (PRONALEG-GA) y a Katherinne Argotty responsable del área de capacitación de INIAP.

Al Colegio de Postgraduados y específicamente a los maestros del Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad (IREGEP), por su generosidad al haber compartido sus conocimientos en el ciclo de estudios.

Mi infinita gratitud al Dr. Porfirio Ramírez Vallejo por su tiempo y su apoyo incondicional en todas las fases de la investigación, por su orientación en mis estudios y dirección durante la ejecución de todo el proyecto.

A mi consejo particular: M.C. Julio Arturo Estrada Gómez, Dra. Ma. de la Luz Ramírez Vazquéz, Dr. Eulogio De la Cruz Torres y al Dr. Tarsicio Corona, por sus acertadas sugerencias durante la investigación y revisiones del presente documento.

A Juan Carlos Zaragoza, Sra. Ángeles Arenas y compañeros del laboratorio de marcadores genéticos por su amistad y apoyo en la fase de los análisis de isoenzimas.

A la Dra. Magdalena Crossby y sus asistentes por la colaboración en los análisis bromatológicos.

A la Sra. Dalila, Sra. Charito, Lcdo. Niño y al personal de Servicios Académicos, por su colaboración y orientación en los trámites administrativos.

Al personal de campo, quienes colaboraron en la fase experimental realizada en el Colegio.

A mis compañeros y amigos del grupo de GENETICA a quienes tuve la suerte de conocer a mi llegada a su país: Lore, Sandry, Lupita, Estely, Chio, Nery, Pablo y Amado, por ser los mejores anfitriones q pude imaginar y facilitar mi estadía en tierras lejanas.

A todas las personas en general que de una u otra manera colaboraron en la consecución del presente trabajo.

CONTENIDO GENERAL

Resumen	xiii
Summary	xiv
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
JUSTIFICACIÓN	12
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	15
BIBLIOGRAFÍA	16
CAPÍTULO II. EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA DE POBLACIONES NATIVAS DE AMARANTO	20
RESUMEN	20
SUMMARY	21
INTRODUCCIÓN	22
MATERIALES Y MÉTODOS	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38
CAPÍTULO III. VALOR BROMATOLÓGICO DE POBLACIONES NATIVAS DE AMARANTO	41
RESUMEN	41
SUMMARY	42
INTRODUCCIÓN	43
MATERIALES Y MÉTODOS	46

Determinación de cenizas	47
Determinación de grasa	48
Determinación de fibra cruda	49
Determinación de proteína	50
Determinación de almidón	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
CAPÍTULO IV. DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA EN POBLACIONES NATIVAS DE AMARANTO	64
RESUMEN	64
SUMMARY	65
INTRODUCCIÓN	66
MATERIALES Y MÉTODOS	68
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
CONCLUSIONES	83
BIBLIOGRAFÍA	84
CAPÍTULO V. ESTUDIO DE RADIOSENSIBILIDAD DE POBLACIONES NATIVAS DE AMARANTO	87
RESUMEN	87
SUMMARY	88
INTRODUCCIÓN	89
MATERIALES Y MÉTODOS	92
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	94

CONCLUSIONES	101
BIBLIOGRAFÍA	103
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN GENERAL	106
1. Variabilidad de las poblaciones de amaranto	106
2. Niveles de caracterización	107
3. Tendencia de agrupamientos	109
4. La mutagénesis en el mejoramiento genético	109
5. Patrón de regionalización de la diversidad	110
6. Representatividad de la muestra	110
BIBLIOGRAFÍA	112

CONTENIDO DE CUADROS

CAPÍTULO I

Cuadro 1. Composición proximal del grano de distintas especies de amaranto.....	9
--	---

CAPÍTULO II

Cuadro 1. Origen y nombre de 32 poblaciones de amaranto evaluadas. Montecillo, 2011.....	25
Cuadro 2. Características morfológicas cuantitativas y cualitativas registradas en campo de poblaciones nativas de amaranto. Montecillo, 2011.....	26
Cuadro 3. Promedios y significancia ($p \leq 0.05$) de seis características cuantitativas de grupos poblacionales de amaranto. Montecillo, 2011.....	29
Cuadro 4. Valores y vectores propios de los tres primeros componentes principales de 34 poblaciones de amaranto con base en 11 variables cuantitativas. Montecillo, 2011.....	30
Cuadro 5. Frecuencias de 11 variables cualitativas de poblaciones de amaranto. Montecillo, 2011.....	35

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Origen y nombre de 30 poblaciones de amaranto evaluadas en su composición química. Montecillo, 2012.....	46
Cuadro 2. Composición química proximal del grano en porcentaje de nueve grupos poblacionales de amaranto. Montecillo, 2012.....	53

Cuadro 3. Composición química proximal del grano en porcentaje de 30 poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.....	55
Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson\p-valor de cinco componentes químicos del grano de amaranto. Montecillo, 2012.....	56
Cuadro 5. Promedios de seis grupos formados con base en la composición bromatológica de poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.....	59

CAPÍTULO IV

Cuadro 1. Procedencia y nombre de 30 poblaciones de amaranto analizadas con isoenzimas. Montecillo, 2012.....	68
Cuadro 2. Sistemas enzimáticos, tipo de gel y tejido vegetal analizado de 30 poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.....	69
Cuadro 3. Sistemas enzimáticos, loci y número de alelos identificados en 30 poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.....	73
Cuadro 4. Frecuencias alélicas de los grupos poblacionales de 30 genotipos de amaranto. Montecillo, 2012.....	75
Cuadro 5. Porcentaje de polimorfismo y número de alelos por locus en poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.....	78
Cuadro 6. Valores y vectores propios de los dos primeros componentes del ACP de poblaciones de amaranto en base de 11 isoenzimas (35 alelos en 13 loci). Montecillo, 2012.....	79
Cuadro 7. Frecuencia de los alelos discriminantes para la formación de conglomerados de poblaciones de amaranto de acuerdo a las distancias euclidianas. Montecillo, 2012.....	82

CAPÍTULO V

Cuadro 1. Principales características de 10 poblaciones de amaranto evaluadas en el ensayo de radiosensibilidad. Montecillo, 2012.....	93
Cuadro 2. Cuadrados medios y significación de los análisis de varianza de altura de planta en tres fechas de muestreo y de peso verde a los 45 días del estudio de cinco dosis de radiación en 10 genotipos de amaranto. Montecillo, 2012.....	95
Cuadro 3. Análisis de la regresión para altura de planta a los 45 días de 10 genotipos de amaranto con cinco dosis de radiación. Montecillo, 2012.....	97

CONTENIDO DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Dispersión de 27 poblaciones nativas de amaranto, 5 variedades mexicanas y 2 variedades ecuatorianas de amaranto con base en los dos primeros componentes principales de 11 variables morfológicas cuantitativas. Montecillo, 2011..... 31
- Figura 2.** Dendrograma de 27 poblaciones nativas de amaranto, 5 variedades mexicanas y 2 variedades ecuatorianas con base en el análisis de conglomerados con 11 variables morfológicas cuantitativas. Montecillo, 2011..... 33

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Distribución de 30 poblaciones de amaranto en base al contenido de proteína y almidón. Montecillo, 2012..... 57
- Figura 2.** Dendrograma de 30 poblaciones de amaranto con base en el análisis de conglomerados de sus características bromatológicas. Montecillo, 2011..... 58

CAPÍTULO IV

- Figura 1.** Distribución espacial de grupos poblacionales de accesiones de amaranto por origen en base de las frecuencias alélicas de 11 isoenzimas. Montecillo, 2012..... 77
- Figura 2.** Dispersión de 30 poblaciones de amaranto en el plano de los dos primeros componentes principales en base a las frecuencias alélicas determinadas por el análisis de 11 isoenzimas. Montecillo, 2012..... 80

Figura 3. Dendrograma de 30 poblaciones de amaranto en base a las distancias euclidianas estimadas a partir de las frecuencias alélicas y con el método UPGMA. Montecillo, 2012.....	81
---	----

CAPÍTULO V

Figura 1. Curvas de crecimiento de plantas de amaranto con cuatro dosis de rayos gamma y un testigo sin irradiar. Montecillo, 2012.....	96
Figura 2. Puntos de dispersión y líneas de ajuste de la regresión de tres tipos de respuesta en altura de planta a los 45 días de poblaciones de amaranto irradiadas con cinco dosis de rayos gamma. Montecillo, 2012.....	98
Figura 3. Porcentaje de mortalidad y porcentaje de plantas malformadas en poblaciones de amaranto con dos dosis de irradiación. Montecillo, 2012.....	100

RESUMEN

CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA, BROMATOLÓGICA, ISOENZIMÁTICA Y RADIOSENSIBILIDAD DE POBLACIONES DE AMARANTO (*Amaranthus* spp.) COLECTADAS EN LAS PRINCIPALES ÁREAS DE PRODUCCIÓN DE MÉXICO

Cristian Subía García

Colegio de Postgraduados, 2012

El amaranto (*Amaranthus* spp.) es una especie originaria de América con gran valor agronómico, nutricional, de mucho potencial económico y ampliamente dispersada. El presente estudio se realizó con el objetivo de caracterizar poblaciones nativas procedentes de los estados centrales de México y dos especies sudamericanas. La investigación se realizó en cuatro fases: agronómica, bromatológica, genética y se evaluó la tolerancia a la radiación. Se observó amplia variación entre poblaciones y grupos de origen con base en los métodos de análisis empleado y los métodos de agrupamiento separaron las especies de acuerdo a su origen. Las características agronómicas de mayor importancia para diferenciar a las poblaciones fueron: días a la floración y a la madurez, altura de planta y tamaño de hoja. Los grupos formados con las poblaciones nativas claramente separaron las especies y razas. Se observó variabilidad de colores en diferentes estructuras de la planta. El análisis bromatológico determinó que las especies mexicanas son similares en sus valores nutritivos y tienen mayor contenido de proteína que *A. caudatus*; *A. hybridus* sobresalió por el contenido de cenizas, grasa y fibra cruda. El análisis genético con 11 isoenzimas identificó 15 loci con 37 alelos. Se observó 86.6% de polimorfismo entre poblaciones. La distribución de las poblaciones en el plano de los dos primeros componentes separó a las variedades mejoradas entre ellas, y de las poblaciones nativas. Se identificaron enzimas y alelos específicos en las especies y en las poblaciones. El estudio de radiosensibilidad clasificó a las poblaciones en tolerantes o susceptibles a la radiación. La variedad Revancha fue la más susceptible a la radiación en la dosis de 300 Gy, con una mortalidad superior a 90%; las poblaciones nativas presentaron una DL_{50} cerca de los 300 Gy. La especie *A. hybridus* de grano negro, proveniente de Ecuador fue la más resistente a la radiación gamma.

Palabras clave: *Amaranthus* spp., caracterización, agronómica, bromatología, isoenzimas, radiosensibilidad.

SUMMARY

AGRONOMICAL, BROMATOLOGICAL, ISOENZYMATIC CHARACTERIZATION AND RADIATION SENSIBILITY OF AMARANTH (*Amaranthus* spp.) POPULATION COLLECTED FROM THE MAIN PRODUCTION AREAS OF MEXICO

Amaranth (*Amaranthus* spp.) is a highly valuable American species in terms of agronomical and nutritional values, economic potential, and it is widely distributed. This research characterized native populations from the central states of México, plus two South American species. Work was divided into four phases: agronomical studies, bromatological studies, genetic studies and radiation sensibility studies. Ample variation was observed among populations and origin groups based on the methods of the analysis used. Clustering methods separated species based on their origin. The most important agronomical characteristics to differentiate populations were days to flower, day to maturity, plant height, and leaf size. Color varied in different plant structures. Bromatological studies determined that Mexican species have similar nutritional values and higher protein content than *A. caudatus*. *A. hybridus* stood out on ash, fat and raw fiber contents. Genetic analysis with 11 isoenzymes identified 15 loci with 37 alleles. Among populations there was an 86.6 % polymorphism. Population distribution on the plane of the first two components separated improved varieties among them and from the native populations. Specific enzymes and alleles in the species and populations were identified. Radiation sensibility studies classified populations into tolerant and susceptible to radiation. "Revancha" variety was most susceptible to radiation in the 300 Gy dosage level, with a 90 % mortality rate. Native populations had a LD50 close to 300 Gy. The black grain species, *A. hybridus*, withstood gamma radiation best.

Keywords: *Amaranthus* spp., characterization, agronomical, bromatological, isoenzymes, radiation sensibility.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

En tiempos precolombinos el grano de amaranto (*Amaranthus* spp.) fue uno de los alimentos básicos del Nuevo Mundo, miles de hectáreas eran sembradas con estas plantas. En el Imperio Mexicano cada año se enviaban 20 mil toneladas procedentes de 17 provincias de Tenochtitlan, como tributo anual al emperador azteca Moctezuma: Esta especie era tan importante como el maíz y el frijol; era consumida tanto en forma vegetal como cereal, y la producción del grano estuvo en su máximo apogeo durante los periodos Maya y Azteca en Centroamérica, la situación cambió cuando llegaron los españoles que prohibieron su cultivo y su consumo por considerarla “pagana” (Asociación Mexicana de Amaranto, 2003).

El valor histórico y cultural del amaranto ha sido ampliamente documentado a lo largo de los años. Casillas (1990) resume algunas crónicas históricas sobre el amaranto, como el encuentro de esta semilla en Sinaloa y Sonora, reseñado por Alvar Núñez Cabeza de Vaca en 1536; el Códice Mendocino de 1541 menciona a la semilla de “huautli” como tributo recibido por los Aztecas; el Códice Florentino de 1550 describe el cultivo, uso cotidiano y ritual de la semilla de huautli; y que en los años 1600 los clérigos abundan sobre los usos rituales de la semilla de alegría.

Las especies cultivadas originarias del Nuevo Mundo en la actualidad se encuentran a lo largo de Asia y África, así que el grano de amaranto es ampliamente cultivado en las estribaciones de los Himalaya en Asia. Sobre el origen de esta especie, Sauer desarrolló dos hipótesis: una es que las tres especies cultivadas fueron independientemente domesticadas de especies silvestres en tres regiones: *A. cruentus* se originó de *A. hybridus* en América Central (Guatemala y México); *A. hypochondriacus* se obtuvo de *A. powelli* en México y *A. caudatus*

se originó de *A. quitensis* en América del Sur, principalmente Ecuador y Perú. La hipótesis alternativa propone un único origen y sugiere que *A. cruentus* surgió de *A. hybridus* en América Central y en etapas tempranas de domesticación se desplazó hacia el norte y hacia el sur, con la subsecuente hibridación con las poblaciones silvestres que permitieron la selección de *A. hypochondriacus* en Norteamérica y *A. caudatus* en Sudamérica. (Kulakow y Hauptli, 1994)

Manrique de Lara (2006) señala el creciente interés en torno al amaranto; de 1980 a 1996, varios países como: Argentina, Eslovaquia, India, Kenia, Polonia y Tailandia han establecido programas nacionales o sectoriales para el desarrollo del amaranto como cultivo. En 1997 China, con 100 000 hectáreas sembradas, se convirtió en el principal productor de amaranto en el mundo. En los últimos años se ha ampliado el mercado de consumo en países industrializados, incluyendo Estados Unidos, Japón y Alemania, y se puede constatar la presencia creciente de productos elaborados con amaranto destinados al mercado masivo.

Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en México en el 2011, se sembraron 3354.1 ha equivalente al 1,5% de la superficie agrícola del país, y se registró un rendimiento promedio de 1.26 t/ha a un precio de 6033.77 pesos la tonelada. En el estado de Puebla se cultiva 68% de la superficie nacional cultivada con amaranto, en Tlaxcala 15%, en Morelos 6%, en el Estado de México 6% y en el D.F. 4%. Es importante recalcar que los estados de Guerrero y Michoacán, a pesar de ser considerados centros de diversidad, no aparecen en las estadísticas (SIAP, 2012).

Ecuador no cuenta con estadísticas de producción sobre el amaranto y actualmente es considerado un cultivo en proceso de recuperación. El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), con apoyo del Gobierno Nacional y Organismos Internacionales, en los últimos años ha establecido una serie de alianzas estratégicas con

Organismos No Gubernamentales y Comunidades Campesinas en las zonas con potencial de producción de amaranto y se han ejecutado varios proyectos orientados a incentivar la producción y consumo de estas especies, en particular el cultivo de *A. hybridus* también conocido como ataco o Sangorache además de la especie *A. caudatus* originarias de la Zona Andina.

Mujica (1997) en el manual preparado para la FAO señala que el cultivo de amaranto tanto en el área andina como en las costas de los países de América, tiene enormes posibilidades y perspectivas de desarrollo, puesto que las características agroclimáticas, edáficas y tecnológicas son adecuadas y propicias para el cultivo, transformación e industrialización; y que el uso y consumo de este producto de alto valor proteico traería como consecuencia la disminución considerable de los niveles de desnutrición existente en muchos países en desarrollo.

La familia *Amaranthaceae* está compuesta por 70 géneros y más de 850 especies (García *et al.*, 2010). El género *Amaranthus* comprende más de 60 especies. La planta es una dicotiledónea del orden *caryophyllales*, familia *amaranthaceae*, que comprende plantas anuales o perennes. La raíz es pivotante con abundante ramificación. El hábito de crecimiento va de tallo erecto a ramificado, cilíndrico y anguloso con estrías longitudinales, el número de ramificaciones depende de la densidad de población del cultivo. El color de la planta es de verde a púrpura con coloraciones intermedias; las hojas son pecioladas, opuestas o alternas de color rojo o verde y diversas tonalidades de combinación entre ambos colores, con nervaduras pronunciadas. Las plantas de este género tienen una inflorescencia terminal compuesta, que puede ser amarantiformes o glomeruladas muy vistosas, erectas o decumbentes, y de colores amarillo, anaranjado, café, rojo, rosado, hasta púrpura, con tamaños entre 50 y 90 cm. Las unidades básicas de esta inflorescencia son glómérulos: una flor estaminada inicial y un

número indefinido de flores pistiladas, las cuales se encuentran sobre un eje carente de hojas llamadas espigas. El fruto es una cápsula pequeña que botánicamente corresponde a un pixidio unicelular dehiscente. Son predominantemente autógamias, variando el porcentaje de polinización cruzada con los cultivares. El color de la semilla va de negro a blanco, destacando el color crema por su brillantez, de 1 a 1.5 mm de diámetro (Barrales *et al.*, 2010, Alejandre y Gómez, 1999).

De acuerdo con la clasificación botánica realizada por Linneo y modificada por Saff, la planta de amaranto se le ubica en la forma siguiente (Barrales *et al.*, 2010):

- Reino: Vegetal
- División: *Embriophita sponogamia*
- Subdivisión: *Angiospermae*
- Clase: *Dicotiledóneae*
- Subclase: *Arcichomydae*
- Género: *Amaranthus*
- Principales especies: *Amaranthus hypochondriacus* L.

Amaranthus cruentus L.

Amaranthus caudatus L.

Amaranthus hybridus L.

Amaranthus spinosus L.

Amaranthus hypochondriacus L. es una planta herbácea anual de 1.5 a 2 m de altura, tallo ramificado desde la base y marcado con estrías longitudinales, hojas largamente pecioladas y ovadas que miden aproximadamente 15 cm de largo y 10 cm de ancho; de color verde completo o con el borde de las hojas algo rosadas; inflorescencias en panículas terminales o axilares muy ramificadas de aproximadamente 50 cm de largo de colores verde, rojo o

púrpura con numerosas flores de 4 a 5 mm, masculinas y femeninas. El fruto es una cápsula pequeña dehiscente que contiene una sola semilla blanca, lisa y brillante, ligeramente aplanada, pero también se encuentran semillas café pardas y negras mezcladas con las blancas., el peso de 100 semillas varía de 0.06 a 0.09 gramos (Alejandre y Gómez, 1999)

Razas: Azteca, Mercado, Mixteca, Nepal, Picos

Amaranthus cruentus L. (vulgarmente conocida como “quelite rojo o morado”), Ornelas, citado por *Barrales et al.*, (2010) describe a esta especie como una planta herbácea monoica con los tallos ascendentes, simples o ramificados, algunas veces vellosos en la parte superior; mide hasta 2 m de altura; hojas elípticas rombo-aovadas, verdes o púrpuras, ligeramente vellosas, de 3.5 a 30 cm de longitud y de 2 a 10 cm de ancho; peciolos de 2 a 20 cm; flores en panículas de espigas terminales o axilares, de 4 a 18 cm de largo por 6 a 8 cm de grueso; brácteas lanceoladas con las puntas espiniformes rojas o púrpuras de 3 mm de largo; sépalos estaminales oblongo-aovados de cerca de 1 mm de longitud, agudos, sépalos pistilados cortos oblongos de cerca de 1.5 mm de largo en ambas flores, 5 estambres estilo trifido; semilla redondeada de 1 mm de diámetro, de color negra, café o rojiza brillante.

Razas: Mexicana, Guatemalteca, Africana

Amaranthus caudatus L. es una planta herbácea anual, con un tallo escasamente ramificado, mide hasta 2 m de altura. La forma de sus hojas es muy variable, las hay elípticas; ovatinadas; lanceoladas o rombo-ovatinadas. La inflorescencia normalmente es laxa, con panículas o espigas extremadamente largas y colgantes con una apariencia glomerular que es distintiva de esta especie, debido precisamente a que los glomérulos son grandes y muy espaciados, ocasionalmente se parece a *A. cruentus*. Las brácteas son más cortas que las ramificaciones del estilo, con láminas anchas y con una nervadura central delgada. La flor de esta especie presenta 5 tépalos, anchos a menudo sobrepuestos y fuertemente encorvados, Los

tépalos externos son obovatados y más largos que los internos, estos últimos son espatulados con ápices mucronados u obtusos, el utrículo es circunsésil. Las ramificaciones del estilo están muy esparcidas y se juntan en la base que tiene la apariencia de una silla de montar. Las semillas son blancas, con bordes rojos o rosas o negras. Las plantas con semilla de color claro son las que se utilizan para la producción de grano. (Espitia *et al.*, 2010)

Razas: Sudamericana, Edulis.

***Amaranthus hybridus* L.** (Conocida vulgarmente como “bledo”, “quelite”, “quintonil”). Según Williams y Brenner, citados por Espitia (2010), es considerado una maleza muy común en su zona de origen, crece hasta 2.5 m y presenta ramificación. Las hojas son muy variables, ovadas, lanceoladas, elípticas, ovaladas, oblongas o rómbicas con puntas agudas, obtusas o acuminadas, La inflorescencia es más bien laxa con muchas espigas laterales. Las brácteas son dos veces más largas que los tépalos y exceden las ramificaciones del estilo en longitud. Los tépalos son ligeramente recurvados, más pequeños que el utrículo, los internos son ligeramente obovados con puntas agudas. El utrículo se estrecha en una torre en el ápice. Las ramificaciones del estilo son erectas y se reúnen en una hendidura profunda en la base. Las semillas son de color oscuro.

Raza: Prima

Espitia *et al.*, (2010) señala que el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha liberado cinco variedades comerciales que se encuentran vigentes: tres son de la especie *A. hypochondriacus*; Nutrisol, Rojita, Revancha correspondientes a las razas Azteca, Nepal y Mercado, respectivamente; las otras dos variedades son de la especie *A. cruentus*; Amaranteca y Dorada, las dos de la raza Mexicana. También son identificadas como variedades dos genotipos liberados por el Instituto

Tecnológico Agropecuario No.29 de Tlaxcala y conocidas con los nombres de DGETA y Gabriela.

En Ecuador hasta el momento se ha liberado una variedad de la especie *A. caudatus*, originaria de Perú e identificada con el nombre de INIAP – Alegría (Monteros *et al.*, 1994); y se han identificado líneas promisorias de la especie *A. hybridus*, destacando la accesión Chimborazo (Peralta *et al.*, 2008).

La siembra en México se realiza entre mayo y junio, requiere preparación eficiente del suelo por el tamaño de la semilla; no es bueno para competir con la maleza en las etapas iniciales y en floración del cultivo; se realizan labores de escarda y uno o dos deshierbes dependiendo de la presencia de malezas, con énfasis en las etapas iniciales del cultivo, el control químico es una alternativa hasta ahora poco viable, porque alrededor del 95% de los herbicidas recomendados para controlar malezas de hoja ancha, fueron desarrollados para controlar entre otras especies a *A. hybridus* que está emparentada con las especies que se producen en forma comercial (Barrales *et al.*, 2010). Se recomienda la rotación de cultivos pero es necesario estudiar las especies recomendadas ya que el amaranto deja los suelos deficientes de Ca y Mg (García *et al.*, 2010).

La siembra puede ser de trasplante, directa, de bandeado usando estiércol de ganado, sistema de mateado, y siempre de preferencia en suelo húmedo. Alejandre y Gómez (1999) señala que dependiendo del sistema de siembra se debe hacer el aclareo de 3 a 4 plantas cada 33 cm aproximadamente. El amaranto para grano prefiere ambientes secos, mientras que para verdura se requiere humedad; se adapta bien a las altas temperaturas, tolera heladas suaves que mayormente afectan al follaje y no al grano pero en determinadas etapas fisiológicas y por ser planta tipo C4 es resistente a la sequía por lo que con prácticas adecuadas de cultivo se

puede cosechar en tierras de temporal, como lo son la mayoría de tierras agrícolas disponibles en el país (Hernández y Herrerías, 1998).

La fertilización recomendada es abundante en nitrógeno y el control de malezas depende de la presencia de las mismas. Se han reportado diversas plagas y enfermedades principalmente causadas por hongos y micoplasmas en México, así como desordenes fisiológicos causados por agentes abióticos.

De la Cruz y García (2007) señalan que a nivel mundial varias organizaciones han mostrado interés en buscar cultivos que cubran las necesidades alimenticias de la creciente población global, que además de presentar un valor nutricional satisfactorio, sea posible cultivarlos en las poblaciones que los requieren. Así por ejemplo la NASA mostró su interés por la quinua y el amaranto al incluirlos en su lista de alimentos del futuro, pues además de sus propiedades alimenticias, no se descomponen en los viajes espaciales, lo que posibilita su uso para el consumo de los astronautas.

El valor nutritivo del amaranto radica en que cuenta con el doble de proteína que el maíz y el arroz, y tiene de un 60 a 80% más que el trigo y su calidad proteínica es mejor. Posee lisina (aminoácido proteico), el doble que el trigo y el triple que el maíz. Es rico en fibra dietética, calcio, hierro almidón amilo-pectinado, metionina, vitamina C y complejo B; grasas poliinsaturadas y es bajo en gluten. La Organización para la Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO) y la Academia de Ciencias de los Estados Unidos (NAS), lo clasificaron como el mejor alimento de origen vegetal para el consumo humano desde 1979, por su elevado nivel nutricional. Sus hojas tienen más hierro que las espinacas y contienen mucha fibra, vitamina A, C, así como hierro, calcio y magnesio. Pero hay que hervirlas para usarlas como verdura. Según la FAO y la Organización Mundial de la Salud (OMS), sobre un

valor proteico ideal de 100, el amaranto posee 75, la leche vacuna 72, la soya 68, el trigo 60 y el maíz 44 (Frías, 2010)

Entre los aspectos más estudiados sobre el valor nutrimental del amaranto está la identificación y cuantificación de los aminoácidos y proteínas y se han encontrado valores distribuidos en un amplio rango para los componentes de un análisis bromatológico. Por ejemplo, las semillas negras de *A. caudatus* tienen mayor contenido de proteínas crudas que las semillas de colores claros; sin embargo, las primeras poseen mucho más fibra y menos almidón. Lo que indica que existen diferencias en la composición proximal entre especies y dentro de ellas, además muchos de estos factores son afectados de manera directa por las condiciones ambientales donde se desarrollan los cultivos. La composición proximal del grano de las principales especies cultivadas, se presenta en el Cuadro 1, donde se observa las diferencias en los valores de los componentes entre las especies (Morales, *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Composición proximal del grano de distintas especies de amaranto.

Componente	<i>A. caudatus</i>	<i>A. cruentus</i>	<i>A. hypochondriacus</i>
	g/100 g de base seca		
Proteínas crudas	13.0	14.1	15.6
Extracto etéreo	6.0	6.0	6.1
Fibra cruda	4.0	2.9	5.0
Cenizas	2.0	2.7	3.3
Hidratos de carbono	65.0	67.2	62
Energía (kcal)	360	372	370

Del 50 al 80% del total de la planta es comestible; en la mayoría de las especies las hojas contienen alrededor de 3.5% de proteínas y 5 gramos de licina por cada 100 g de proteína. La planta de amaranto se puede aprovechar de diversas formas; por ejemplo como ornato y para preparar sopas y ensaladas a partir de las hojas y partes blandas de los tallos, también es

utilizada en la alimentación animal. Las semillas oscuras se han utilizado para extraer colorantes de valor en diversas industrias, y las semillas claras (amarillas) se consumen como alimento en una variedad de productos (García *et al.*, 2010).

Hay al menos cinco niveles en la reserva genética del grano de amaranto que explican la diversidad de esta especie: el material genético menos seleccionado que son los diferentes grupos de especies silvestres y de malas hierbas parientes del amaranto que pueden transferir sus genes por hibridación; el segundo nivel es el grupo de las especies cultivadas; el tercer nivel corresponde a las razas, tipos de grano o grupos morfológicos dentro de cada especie cultivada, el cuarto nivel incluye a poblaciones nativas cultivadas o variedades locales y el quinto nivel es el stock genético, líneas mejoradas y variedades de los programas de mejoramiento (Espitia, 1994)

La diversidad genética de las poblaciones nativas de las especies vegetales, es importante como fuente de variabilidad para procesos de mejoramiento, ya sea para desarrollar cultivos con resistencia o tolerancia a factores bióticos o abióticos que inciden directamente en la disminución del potencial de rendimiento de los cultivos.

Cárdenas (1983) afirma que la caracterización e identificación de material vegetal, generalmente se basa en la descripción de características morfológicas de la planta; sin embargo, esta metodología no es del todo confiable debido a que las características de los organismos vivos son afectadas por el ambiente donde éste se desarrolla, limitando así la identificación de cultivares, razón por la que la ciencia en la actualidad se apoya de herramientas como marcadores bioquímicos o marcadores moleculares para obtener una caracterización más precisa de los fenotipos.

El acelerado desarrollo de la biología molecular en los últimos años ha permitido grandes avances en los estudios genéticos de los seres vivos y cada una de las herramientas que se

usan en la actualidad, tienen sus aspectos favorables y sus desventajas. El uso es aún restringido principalmente por el acceso que se pueda tener a equipos sofisticados y sumamente costosos, en la mayoría de los casos, por lo que el uso de marcadores bioquímicos se mantiene como una opción válida en estudios genéticos.

Las isoenzimas y el patrón de bandeo de las proteínas totales se han usado para la identificación de especies, variedades, líneas endogámicas y aneuploides. Las ventajas del uso de isoenzimas han sido reconocidas y las técnicas afinadas además que han sido usadas cada vez en más formas innovativas. Muchos de los novedosos métodos usados con isoenzimas, pueden ser aplicados directa o indirectamente en los programas de mejoramiento vegetal (More y Collins, 1986)

El amaranto no ha sido ajeno a los procesos que se desarrollan en biología molecular y se han reportado algunos trabajos de transgénesis realizados por CINVESTAV-Irapuato, así como la regeneración de plantas a través de cultivo de tejidos, sin embargo, no son esos procesos los de mayor interés con esta especie, sino el potencial que tiene como fuente de genes para la transformación de otras especies, razón por la que la caracterización morfológica o tradicional sin dejar de ser importante, necesita ser complementada con este tipo de análisis (Lozoya, 1994).

El amaranto ha despertado gran interés en la comunidad científica debido a su amplia difusión en diversos países del mundo y existe una amplia habilidad para una libre hibridación dentro del género. Sus ventajas como una herramienta para la investigación genética son las siguientes: puede crecer en un pequeño espacio debido a su morfología plástica y es capaz tanto de autopolinización como de entrecruzamiento sin ninguna depresión de rendimiento o heterosis. El número de cromosomas diploides que se ha reportado ha sido 32 ó 34 y los dos

diferentes recuentos de cromosomas diploides dentro de especies no es necesariamente una indicación de incompatibilidad en el cruzamiento (Alejandre y Gómez, 1999).

Los esfuerzos en mejoramiento genético de las variedades de amaranto han sido orientados principalmente a incrementar los rendimientos, mayor precocidad y mejor adaptación, pero requiere que se realicen esfuerzos para obtener plantas con ventajas para la cosecha como son: maduración homogénea, menos dehiscencia y facilidades de mecanización de la cosecha. A pesar de su reconocido valor nutritivo, es necesario fijar las mejores características nutricionales en las nuevas variedades.

Por otro lado, si bien el mejoramiento genético requiere variación genética de las características útiles para mejorar los cultivos, a menudo no se logra la variación deseada. En estos casos pueden emplearse agentes mutágenos, como la radiación y algunos productos químicos, para inducir mutaciones y generar variaciones genéticas de las cuales puedan seleccionarse los mutantes deseados. La inducción de mutaciones ha resultado ser un método eficaz para lograr variaciones dentro de un tipo de cultivo, ya que ofrece la posibilidad de inducir características deseadas que no se pueden hallar en la naturaleza o se han perdido durante el proceso evolutivo. Cuando los fitogenetistas no encuentran en el banco de genes de que disponen, un gen tolerante a los cambios del medio ambiente, no tienen otra opción evidente sino tratar de inducir la mutación (Novak y Brunner, 1992).

JUSTIFICACIÓN

A pesar de que se han identificado un sinnúmero de ventajas en el cultivo de amaranto, aún hay mucho por hacer con esta especie. En Ecuador el amaranto está considerado como uno de los cultivos olvidados y se lo encuentra escasamente sembrado en zonas muy específicas. Para garantizar que se promueva el cultivo y se incremente el interés por esta especie, en 2010 fue

declarado el año nacional del amaranto y se realizaron reuniones con los interesados, lográndose establecer la potencial cadena de producción con la intervención de productores, procesadores y consumidores.

Se sabe que conocer la similitud entre los individuos y las poblaciones es de gran utilidad en los programas de mejoramiento genético, pues permite, además de la organización del material, la selección adecuada de los genotipos superiores y la complementación con datos fenotípicos y agronómicos para el desarrollo de una población mejorada (Becerra, 2000). En el caso del amaranto, no obstante que se conoce su amplia diversidad en México y Sudamérica, son muy pocos los estudios realizados, y estos han sido orientados básicamente a sus características morfológicas y agronómicas.

Específicamente en México, los distintos tipos de amarantos de grano, representan complejos adaptativos a diferentes localidades bajo condiciones ambientales y culturales diferentes. Espitia *et al.*, (2010) consideran que la designación más adecuada para estos tipos es la de razas, ya que cada una tiene una distribución definida y ha sido desarrollada bajo condiciones agroclimáticas distintas, lo cual las ha llevado evolucionar por diferentes caminos. Cabe señalar que no todas las poblaciones coinciden completamente con las características de una raza o tipo, pues existe una gran hibridación entre ellas (Becerra, 2000).

La colección ecuatoriana de amaranto (*Amaranthus* spp.), dispone de 434 entradas, de las cuales 260 no han sido identificadas taxonómicamente y las restantes corresponden a las especies *A. hypocondriacus*, *A. caudatus*, *A. cruentus* y *A. hybridus*. En cuanto al origen de las muestras, estas provienen de Ecuador, Perú, México, Estados Unidos, Nepal, Bolivia, entre otros. Por lo expuesto, es necesario entender y reconocer la variabilidad de los materiales para que puedan ser agrupados de manera más clara y mejor aún no basados únicamente en sus características morfológicas, como se lo ha realizado comúnmente (Mazón *et al.*, 2003)

Un estudio muy puntual en marcadores moleculares con amaranto es el caso del trabajo realizado por Chan y Sun (Campos y Seguel 2000), quienes analizaron mediante RAPDs, 60 poblaciones silvestres de amaranto, determinándose una elevada variabilidad entre las distintas accesiones, un importante grado de homogeneidad genética dentro de ellas y un mayor polimorfismo entre las accesiones herbáceas silvestres cultivadas. La elevada variabilidad observada entre las formas herbáceas se relaciona con el escaso o nulo mejoramiento genético efectuado sobre ellas y la mínima presión de selección ejercida por el hombre durante su cultivo.

Por último, para aprovechar de la disponibilidad de instituciones interesadas y en conocimiento de otras alternativas de mutación, como fuentes de variabilidad, se reconoce que el estudio de la radiosensibilidad del material a tratar constituye un paso previo inviolable para el desarrollo exitoso de todo trabajo de mejora por inducción de mutaciones, siendo una práctica usual en todos los cultivos debido a la diferente tolerancia de los genotipos a la radiación gamma (Fé *et al.*, 2000).

A pesar de las superficies dedicadas al cultivo y su alto valor nutritivo, el futuro del amaranto en México es aún incierto. Algunas industrias nacionales empiezan a interesarse en comprar las nuevas tecnologías para la elaboración de productos de amaranto, pero la producción en el país no alcanza los niveles suficientes para impulsar una industrialización de grandes alcances. Por otra parte, los productores siembran pequeñas cantidades de amaranto porque no existe demanda del grano. En este círculo vicioso el mercado aún se encuentra restringido a un pequeño y selecto número de consumidores que puedan adquirir alimentos naturales y nutritivos a pesar de su alto costo (Becerra, 2000).

HIPÓTESIS

No existen diferencias morfológicas, bromatológicas ni genéticas entre las poblaciones nativas de amaranto de diferentes orígenes, y presentan igual respuesta a la irradiación.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar poblaciones nativas de amaranto con base en características agronómicas, bromatológicas y con isoenzimas, e identificar sus niveles de resistencia a la radiación gamma.

ESPECÍFICOS

1. Colectar poblaciones de amaranto de las principales zonas de producción en la región centro sur de México.
2. Evaluar la diversidad genética con base en marcadores morfológicos y bioquímicos de poblaciones de amaranto de los diferentes estados.
3. Identificar poblaciones promisorias con las mejores características agronómicas y de calidad nutritiva.
4. Determinar la DL_{50} y el nivel de resistencia de los materiales de amaranto al ser expuestos a radiación gamma.

BIBLIOGRAFÍA

Alejandro G, F Gómez (1999) Cultivo del amaranto en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 245 p.

Asociación Mexicana del Amaranto (2003) Historia del Amaranto. Centro de Información al consumidor de Amaranto. [en línea] (Consultado el 11 de abril de 2011). Disponible en www.amaranto.com.mx/elamaranto/historia/historia.html.

Barrales J, E Barrales, E Barrales (2010) Amaranto. Recomendaciones para su producción. Plaza y Valdés Editores. México. 166 p.

Becerra R (2000) El amaranto nuevas tecnologías para un antiguo cultivo. [en línea] CONABIO. Biodiversitas 30:1-6 (Consultado el 11 de abril de 2011). Disponible en: www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv30art1.pdf.

Cárdenas R (1983) Logros y aportaciones de la investigación de recursos genéticos. Publicación especial No. 106. INIA-SARH. pp: 4-30.

Casillas F (1990) Importancia de la semilla de Alegría In: El Amaranto *Amaranthus* spp su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. Mexico. pp: 289-299.

Campos H, Seguel I (2000) Biotecnología y Recursos Genéticos Vegetales INIA Carillanca Chile Agro sur v.28 n.1.

De la Cruz, E., García, J. 2007. Mejoramiento de PSEUDOCEREALES en el ININ. En: Contacto Nuclear. [en línea] No. 48. Pag. 35-40 (Consultado 11 de abril de 2011). Disponible en: www.inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/48%20MEJORAMIENTO.pdf.

Espitia E (1994) Breeding of grain amaranth. In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 23-38.

Espitia Rangel E, C Mapes Sánchez, D Escobedo López, M De la O Olán, P Rivas Valencia, G Martínez Trejo, L Cortés Espinoza, J Hernández Casillas (2010) Conservación y Uso de los Recursos Genéticos de Amaranto en México. SINAREFI-INIFAP-UNAM, Centro de Investigación Regional Centro. Celaya, Guanajuato, México. 201 p.

Frías R (2010) El amaranto, el mejor alimento de origen vegetal del mundo. [en línea] (Consultado el 11 de octubre de 2012). Disponible en <http://suite101.net/article/el-amaranto-el-mejor-alimento-de-origen-vegetal-en-el-mundo-a15231>.

Fé C de la, M Romero, R Ortiz, M Ponce (2000) Radiosensibilidad de semillas de soya a los rayos gamma ^{60}Co . [en línea] Cultivos Tropicales, vol. 21, núm. 2, abril-junio, 2000, pp 43-47 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) La Habana, Cuba. (consultado el 22 de abril de 2011). Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=193215024008>.

García J, C Valdés, R García, G Aviña (2010) Generalidades del cultivo de Amaranto. In: El Amaranto, Investigación Agronómica en el Norte de México. J García, G Alejandro, C Valdés, H Medrano (eds) Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango, México. pp: 11-46.

Hernández R, G Herrerías (1998) Amaranto: historia y promesa. In: Tehuacán: Horizonte del Tiempo Vol. 1 México. pp: 66-88.

Kulakow P, H Hauptli (1994) Genetic characterization of grain amaranth. In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 9-22.

Lozoya-Gloria E (1994) Biotechnology for an ancient crop: Amaranth. In: Amaranth Biology, Chemistry, and Technology. O Paredes-López (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute, Irapuato, México. pp: 1-8.

Manrique de Lara B (2006) Explotación estratégica del recurso amaranto en México. San Miguel es Amaranto [en línea] (Consultado el 22 de octubre de 2012). Disponible en http://www.sanmiguel.com.mx/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=24&Itemid=49.

Mazón N, E Peralta, M Rivera, C Subía, C Tapia (2003) Catálogo del banco de germoplasma de amaranto (*Amaranthus* spp.) de INIAP – ECUADOR [CD-ROM]: Windows 95 o posterior. Ecuador.

Montero C, C Nieto, C Caicedo, M Rivera, C Vimos (1994) “INIAP – Alegría”. Primera variedad mejorada de amaranto para la sierra ecuatoriana. INIAP, E.E. Santa Catalina. Boletín Divulgativo No. 246. Quito, Ecuador. 24 p.

Morales Guerrero J, N Vásquez, R Bressani (2009) El Amaranto. Características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutricional. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México. 269 p.

More G A, G B Collins (1986) New challenges confronting plant breeders. In: Isoenzymes in Plant Genetics and Breeding. S Tanksley, T Orton (eds) Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands. pp: 25-58.

Mujica A (1997) El cultivo del amaranto *Amaranthus* spp. Producción, mejoramiento genético y utilización en Cultivos Andinos. Manual de cultivos FAO. Versión 1.0 (Consultado el 20 de abril de 2011) Disponible en www.ric.fao.org/es/agricultura/produccion/cdrom/contenido/libro01/home1.html.

Novak F, H Brunner (1992) Plant breeding: induced mutation technology for crop improvement. IAEA bulletin. 4:25-33.

Peralta E, E Villacrés, N Mazón, M Rivera, C Subía (2008) El Ataco, Sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en Ecuador. INIAP, E.E. Santa Catalina. Publicación Miscelánea No. 143. Quito, Ecuador. 63 p.

SIAP (2012) Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera [en línea] (Consultado el 22 de octubre de 2012). Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=18.

CAPÍTULO II

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA DE POBLACIONES

NATIVAS DE AMARANTO

RESUMEN

El amaranto (*Amaranthus* spp.) es importante por su valor nutritivo, histórico y cultural, principalmente en las zonas de origen, como México y Sudamérica, pero sus poblaciones nativas no han sido suficientemente evaluadas en su valor agronómico, adaptación y características morfológicas. En la presente investigación se evaluó y caracterizó agronómicamente la diversidad de 27 poblaciones de amaranto provenientes de 7 regiones del país. Dos experimentos se establecieron en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados con base en un DBCA con tres repeticiones y se registraron 11 variables cuantitativas y 14 cualitativas. Las variables cuantitativas se analizaron en un modelo combinado por localidades, para grupos poblacionales y poblaciones individuales (Tukey, 0.05); con las medias de las poblaciones se realizaron los análisis de componentes principales (ACP) y de conglomerados. De las características cualitativas se determinó la frecuencia y se realizó el análisis de Coordenadas Principales (EMD). Entre poblaciones y grupos de origen se observó amplia variación. Las poblaciones de Guerrero fueron las más precoces; las de Michoacán las más tardías; los grupos de Tlaxcala, DF y Estado de México presentaron mejor adaptación y dentro de ellos se identificaron poblaciones sobresalientes. Días a la floración y a la madurez, altura de planta y tamaño de hoja fueron las características de mayor importancia en la explicación de la variación. Las variedades mejoradas se agruparon de acuerdo a su lugar de origen y los grupos formados con las poblaciones nativas diferenciaron claramente las especies y razas. Se observó variabilidad de colores en diferentes estructuras de la planta. Se observó congruencia entre la distribución de las poblaciones en los planos del ACP y EMD, obtenidos con las variables cuantitativas y cualitativas, respectivamente.

Palabras clave: *Amaranthus* spp., adaptación, caracterización, diversidad.

AGRONOMIC EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF NATIVE POPULATIONS OF AMARANTH

SUMMARY

Amaranth (*Amaranthus* spp.) is an important crop because of its nutritional, historic and cultural values in its native areas, like Mexico and South America. However, native populations have been scarcely explored, and their agronomical value, adaptability and morphological characteristics have seen little assessment. Diversity, by agronomic characterization, of 27 amaranth populations, from 7 regions of the country, was evaluated. Two experiments were established at Campus Montecillo at Colegio de Postgraduados. A completely randomized block design was used, with three repetitions. 11 quantitative and 14 qualitative variables were recorded. Quantitative variables were analyzed with a combined-by-location model, for population groups and individual populations (Tukey, 0.05). Population means were employed in the Principal Component Analysis (PCA) and cluster analysis. From the qualitative characteristics, frequency was calculated and a Principal Coordinates Analysis used. Among populations and groups of origin there was ample variability. Populations from Guerrero were the most precocious, while Michoacan populations were the latest. Groups from Tlaxcala, D.F. and State of Mexico showed better adaptation, and outstanding populations were identified. Days to flower, days to maturity, plant height, and leaf size were the characteristics of greater weight in explaining variability. Improved varieties were grouped according to their place of origin, and the native population groups differed clearly among species and races. Color variability on different plant structures was observed. There was congruency between population distribution of the populations on the ACP and Principal Coordinates Analysis planes generated with the quantitative and qualitative variables, respectively.

Keywords: *Amaranthus* spp., adaptation, characterization, diversity.

INTRODUCCIÓN

La familia *Amaranthaceae* (Dicotiledóneas, orden *caryophyllales*) se compone de 60 géneros y cerca de 800 especies. Aproximadamente 60 especies tienen una distribución cosmopolita y son particularmente abundantes como maleza en campos cultivados y sitios perturbados. Debido a que muchas de las especies se comportan como maleza y que frecuentemente las semillas son transportadas por el hombre, tanto de manera intencional como desapercibida, es difícil definir los lugares de origen de las especies (Mapes, 1990). Las especies *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* que se cultivan en México y Centroamérica y *A. caudatus* que se cultiva en los Andes (Morales *et al.*, 2009) producen grandes inflorescencias con semillas comestibles y han sido domesticadas independientemente de las especies arbustivas.

El género *Amaranthus* se encuentra distribuido en todos los climas, desde el nivel del mar hasta los 3600 m de altitud. Actualmente es cultivado en la Zona Andina, México, Estados Unidos, India, Paquistán, Nepal y China para la explotación de grano y verdura; y en Malasia e Indonesia solamente para verdura (Mazón *et al.*, 2003).

El valor nutritivo del amaranto (*Amaranthus* spp.) es conocido principalmente por la cantidad y calidad de proteína (14–18%), sin embargo el cultivo es aún considerado subutilizado en muchos países.

El amaranto en México se cultiva en los estados de Guerrero, Morelos, México, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Nayarit, Veracruz y D.F.; y a nivel de huerto familiar en la zona serrana de Sinaloa, Sonora, Chihuahua y Durango (Alejandre y Valdés, 2010)

La erosión genética del amaranto ha sido intensa desde el descubrimiento de América, debido a que los cultivos tradicionales han sido substituidos por cultivos del viejo mundo. Sin

embargo, las poblaciones humanas nativas con profundas raíces culturales procuran mantener estos cultivos y variedades; desafortunadamente en regiones como la Andina la dispersión de las poblaciones autóctonas dificulta la conservación de estos recursos fitogenéticos (Sumar *et al.*, 1992). Debido a que el cultivo de esta especie está sufriendo una rápida disminución (Feine, 1980), la conservación del germoplasma de amaranto en México, Centro y Sudamérica es extremadamente importante.

Aunque en México se han explorado los recursos genéticos de algunas especies cultivadas, no ha ocurrido lo mismo con especies de las regiones tropicales húmedas o áridas y semiáridas, como en el caso del amaranto (Alejandre y Gómez, 1990).

Al momento en México se tiene un gran número de colectas con mucha diversidad morfológica, como resultado de un alto grado de cruzamiento; sin embargo, la caracterización del germoplasma es escasa e incompleta. El país ocupa el segundo lugar por el número de colectas, pero el germoplasma no está completamente representado y es necesario ampliar la colección debido a que es el más importante centro de diversidad (Espitia *et al.*, 2010).

Debido a la variabilidad existente dentro de las especies se ha propuesto una subdivisión en razas; para *A. hypochondriacus* los tipos Nepal, Mercado, Mixteco, Azteca y Picos; para *A. cruentus* el Mexicano, Africano y Guatemalteco; para *A. hybridus* el Prima y para *A. caudatus* el sudamericano y *edulis* (Kauffman y Reider, 1984).

La caracterización se inicia con el registro de los caracteres altamente heredables de una planta que pueden ser distinguidos a simple vista y se expresan en todos los ambientes. La evaluación preliminar, se realiza simultáneamente con la identificación de un conjunto de características adicionales deseables de un cultivo en particular (Gruben y Van Sloten, 1981).

El éxito del mejoramiento genético del amaranto en el futuro dependerá del valor y el respeto que se confiera a los agricultores antiguos y actuales responsables de la propagación

de este grano. La rápida selección de unas cuantas variedades mejoradas y el reemplazo de las variedades antiguas podría conducir a un éxito a corto tiempo, no obstante, estas acciones conducirán a la reducción de la base genética cultivada. A largo plazo el mejoramiento de la especie dependerá de la variabilidad genética disponible para responder a las necesidades del mejoramiento (Kulakow y Hauptli, 1994), conservando y aprovechando la riqueza genética contenida en las poblaciones nativas.

La presente investigación se llevó a cabo con el objetivo de evaluar y caracterizar un conjunto de poblaciones nativas de amaranto provenientes de 7 regiones del país, con base en su diversidad morfológica y otros atributos de interés agronómico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 27 poblaciones nativas provenientes de los estados del centro de México además de cinco variedades comerciales empleadas como testigos (Cuadro 1). De las poblaciones nativas, 14 provenientes del DF, Estado de México, Guerrero y Michoacán fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ); adicionalmente, 13 poblaciones fueron colectadas directamente en los estados de Morelos y Tlaxcala. De las variedades mejoradas dos fueron proporcionadas por el Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala - ITAT (DGETA y Gabriela); además de tres variedades comerciales (Dorada, Nutrisol y Revancha) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Las 32 poblaciones se evaluaron en el ciclo verano–otoño 2011, bajo un diseño de Bloques Completos al Azar con tres repeticiones, en dos experimentos localizados en el Campus Montecillo, del Colegio de Postgraduados, Estado de México (19° 27' 38'' N, 98° 54' 11'' O;

altitud 2250 m). En la localidad predomina el clima templado sub-húmedo, con una precipitación promedio anual de 645 mm. En el ciclo de cultivo la temperatura promedio fue de 17.8 °C, con temperaturas máximas superiores a 30 °C y las mínimas inferiores a -4 °C; en las etapas finales del cultivo la humedad relativa promedio fue 64.7 % (Estación Agrometeorológica Campus Montecillo, 2011).

Cuadro 1. Origen y nombre de 32 poblaciones de amaranto evaluadas. Montecillo, 2011.

Origen	Cantidad	Nombre de origen
Distrito Federal	3	Mixquic 09-02, Rojo Azteca, Tulyehualco
Estado de México	3	Acoyotepec, Ameca 03, Ameca 04
Guerrero	5	Acapetla M1, Acapetla M2, Acapetla M3, Ocoatepec, Sabino Alto
Michoacán	3	Mich A1, Mich A3, Mich A6
Morelos	6	Amarilla, Amilcingo, Blanca, Mor 09-M1, Mor 09-M3, Payasita
Tlaxcala	7	Criolla, Huazulco, Laguna, Mixco2, Mixco3, Rosa Criolla, Sabino
Variedades mejoradas	5	DGETA, Gabriela, Dorada, Nutrisol, Revancha

Las unidades experimentales se integraron con 3 surcos de 5 m de largo distanciados a 0.8 m. La fertilización se realizó antes de la siembra con la dosis de 80N-60P-00. Al momento de la siembra 4 g de semilla se depositaron a lo largo del surco, a los 21 días, se ajustó la población para dejar 4 plantas cada 0.4 m (125 000 plantas/ha). El control de malezas se realizó manualmente y con cultivadoras de tracción animal (yunta). Se aplicaron riegos complementarios cada 8 o 15 días dependiendo de las condiciones ambientales y precipitación. No fue necesario el control de plagas y enfermedades.

Las características cuantitativas y cualitativas que se presentan en el Cuadro 2, se registraron en 10 plantas con competencia completa en cada unidad experimental. Los días al panojamiento se registraron cuando 50% de las plantas presentaron el inicio de la

inflorescencia de 1 cm, y los días a la floración se registraron cuando 50% de las plantas presentaron anthesis floral. Área foliar, largo y ancho máximo de la hoja se registraron en centímetros de una hoja completamente desarrollada y expuesta del inicio del tercio más alto de las plantas seleccionadas en etapa de floración, la medición se realizó con un medidor portátil de área foliar (LI-COR LI 3000C). Altura de planta de inicio de panoja y longitud de panoja se registraron en centímetros, diámetro del tallo se registró en milímetros en las plantas seleccionadas cuando presentaron madurez fisiológica; el rendimiento de las 10 plantas seleccionadas se registró en gramos y el peso hectolítrico en kg/Hl al momento de la cosecha. Las características cualitativas se registraron en las diferentes etapas fenológicas con base en el manual gráfico para la descripción varietal en amaranto (Carballo *et al.*, 2006).

Cuadro 2. Características morfológicas cuantitativas y cualitativas registradas en campo de poblaciones nativas de amaranto. Montecillo, 2011.

Características cuantitativas	Unidades	Características cualitativas
Días al panojamiento	días	Coloración antociánica del coltiledón
Días a la floración	días	Coloración antociánica del hipocótilo
Área foliar	cm ²	Intensidad Coloración antociánica del hipocótilo
Longitud de la hoja	cm	Color principal en el haz de la hoja
Ancho máximo de la hoja	cm	Color del tallo
Altura de planta	cm	Color de las estrías del tallo
Altura de Inicio de la panoja	cm	Inflorescencia Axilar
Longitud de la panoja	cm	Color de la Inflorescencia
Diámetro del tallo	mm	Densidad de la Inflorescencia
Rendimiento de 10 plantas	g	Tipo de Inflorescencia
		Tamaño de las brácteas con relación al utrículo
		Postura de la Inflorescencia
		Color de la semilla
		Pureza de la población

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2012). Las variables cuantitativas se analizaron con base en un modelo combinado por localidades, para grupos poblacionales y poblaciones individuales. La comparación entre medias se realizó con base en Tukey ($p \leq 5\%$). El rendimiento se analizó con datos desbalanceados debido a que se perdieron parcelas por las heladas. Adicionalmente se aplicó un análisis de componentes principales (ACP) con base en la matriz de correlaciones de los promedios de las características cuantitativas estandarizadas; en este análisis se agregaron datos de las variedades ecuatorianas Alegría (*A. caudatus*) y Chimborazo (*A. hybridus*) obtenidos de los descriptores varietales en Ecuador (Montero *et al.*, 1994; Peralta *et al.*, 2008), debido a que no se adaptaron a las condiciones de Montecillo.

La dispersión de las poblaciones se graficó sobre el plano determinado por los dos primeros componentes principales. Las relaciones de similitud se determinaron con el análisis de conglomerados de los datos estandarizados y con base en las distancias euclidianas como coeficiente de disimilitud; para la agrupación jerárquica se aplicó el método de ligamiento promedio (UPGMA) y se realizó el análisis de varianza multivariado de los grupos formados.

Se determinaron las frecuencias de las características cualitativas de las poblaciones, se aplicaron las medidas de similitud propuestas para variables binarias, cuando las variables cualitativas multiestados son reemplazadas por pseudovariables binarias que toman el valor de cero si la característica está ausente y el valor de 1 si está presente (Demmey *et al.*, 2011) y se realizó el análisis de Coordenadas Principales (EMD) con las variables cualitativas no estandarizadas (datos no mostrados) y con los dos primeros ejes de cada análisis de ordenamiento (ACP y EMD), aplicando la técnica de Procrustes Generalizado se realizó el análisis de congruencia de la distribución de las poblaciones en los planos determinados por sus componentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características cuantitativas

Los análisis de varianza combinado de localidades para grupos poblacionales no presentaron diferencias estadísticas entre localidades ni en la interacción localidad por origen, debido a que las localidades, por su cercanía, presentaron condiciones ambientales muy similares para el cultivo de amaranto, lo que se demostró en un efecto aditivo de las localidades respecto del origen de las poblaciones. Entre grupos poblacionales se presentaron diferencias altamente significativas en todas las características.

Los promedios y la significancia de seis características cuantitativas principales se presentan en el Cuadro 3. Los grupos de Tlaxcala, D.F. y Michoacán fueron los más tardíos, de mayor altura de planta, altura de inicio de panoja y diámetro de tallo. En longitud de panoja sobresalieron los grupos del D.F. y Estado de México, mientras que en las dimensiones de la hoja, los mayores tamaños correspondieron a los grupos de Tlaxcala, Morelos y variedades comerciales. Los mejores rendimientos se presentaron en los grupos del DF, Tlaxcala y Estado de México. El grupo de Guerrero se caracterizó por tener las accesiones más precoces, plantas de menor tamaño y rendimiento más bajo.

El análisis de varianza combinado por localidades para poblaciones no presentó diferencias estadísticas entre localidades; entre poblaciones y en la interacción se observó significancia estadística en todas las variables estudiadas. Las poblaciones con mayor potencial de rendimiento (superior a 325 g) y adaptación a las condiciones de Montecillo, fueron Mixquic 09-02 y Rojo Azteca del DF; Mixco 2 de Tlaxcala; Mor 09-M1 de Morelos; Ameca 04 del Estado de México; y la variedad DGETA, lo que demuestra que existen poblaciones nativas con mejor potencial que las variedades comerciales, bajo las condiciones del área de estudio.

Cuadro 3. Promedios y significancia ($p \leq 0.05$) de seis características cuantitativas de grupos poblacionales de amaranto. Montecillo, 2011.

ORIGEN	Días a la floración	Altura de planta	Longitud de panoja	Diámetro del tallo	Área Foliar	Rendimiento de 10 plantas
TLAXCALA	117.1 a	239.3 a	62.1 b	25.6 a	129.3 a	301.6 ab
D.F.	112.2 a	241.6 a	69.5 a	24.5 ab	119.0 b	339.3 a
MICHOACÁN	118.5 a	242.7 a	54.8 c	25.9 a	89.3 d	76.8 e
MORELOS	95.1 b	212.5 b	61.1 b	24.1 b	128.1 ab	234.0 c
EDO.MÉXICO	87.6 b	194.4 c	64.8 ab	21.9 c	102.5 c	283.1 abc
GUERRERO	73.0 c	154.4 d	61.0 c	19.8 d	96.3 cd	183.9 d
VARIEDADES	94.6 b	205.9 bc	61.1 b	23.4 b	124.3 ab	261.9 bc
Media	100.0 cm	212.7 cm	62.2 cm	23.7 mm	116.1 cm ²	249.4 g
Coefficiente de variación (%)	13.4	11.5	12.1	10.2	13.6	33.2
DMS	7.5	13.8	4.2	1.4	8.9	47.9

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

En el análisis de Componentes Principales (ACP) se incluyeron los promedios de las variedades de amaranto ecuatorianas, Chimborazo y Alegría, y se agregó el peso hectolítrico al conjunto de características analizadas. En el análisis los dos primeros componentes explicaron 70 % de la variación total (Cuadro 4).

Las características de mayor importancia en la explicación de estos componentes fueron: en el componente 1, días al panojamiento y a floración, altura de planta, altura al inicio de panoja y diámetro de tallo y en el componente 2, las características de las hojas (área foliar, y longitud y ancho máximo de hoja).

Cuadro 4. Valores y vectores propios de los tres primeros componentes principales de 34 poblaciones de amaranto con base en 11 variables cuantitativas. Montecillo, 2011.

Característica	CP1	CP2	CP3
Días a panojamiento	0.394	- 0.215	- 0.112
Días a floración	0.375	- 0.299	- 0.002
Altura de planta	0.412	- 0.136	0.149
Altura de inicio de panoja	0.404	- 0.215	0.058
Longitud de panoja	0.071	0.383	0.470
Diámetro de tallo	0.399	- 0.103	- 0.052
Área foliar	0.269	0.435	- 0.276
Longitud de hoja	0.187	0.445	- 0.272
Anchura máxima de hoja	0.207	0.423	- 0.152
Rendimiento de 10 plantas	0.230	0.267	0.300
Peso hectolítrico	0.051	0.070	0.689
Valor propio	5.276	2.426	1.370
Variación explicada (%)	48.000	22.000	12.500
Variación acumulada (%)	48.000	70.000	82.500

La distribución espacial de las poblaciones, con base en los dos primeros componentes principales (Figura 1), mostró seis agrupamientos definidos por características de planta y fenológicas. Las poblaciones tardías y altas, originarias de Tlaxcala y D.F. se ubicaron en el extremo positivo del CP1 (Cuadrante I). En contraste, las poblaciones precoces y de baja altura de planta, como las de Guerrero, se agruparon en el extremo opuesto (Cuadrantes III y IV). Las poblaciones restantes, incluyendo a las ecuatorianas se ubicaron en posición intermedia en fenología y morfología de planta. El grupo poblacional de Michoacán se diferenció de otros grupos por sus hojas pequeñas, por lo que se ubicó en el extremo inferior del Cuadrante II. Las poblaciones de Morelos y Estado de México se aglutinaron en diferentes grupos, como resultado de la mayor variación morfológica y fenológica entre

poblaciones dentro de estos grupos, y como consecuencia de una mayor diferenciación geográfica entre orígenes de las poblaciones.

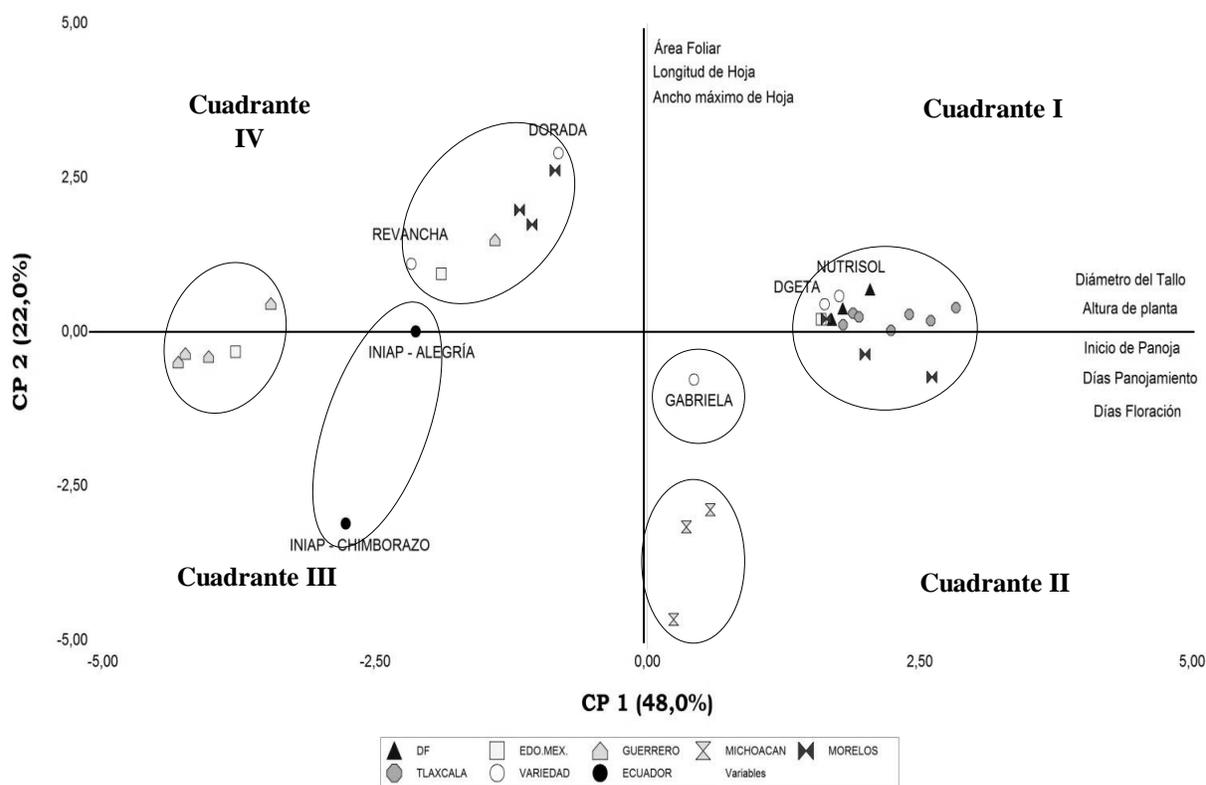


Figura 1. Dispersión de 27 poblaciones nativas de amaranto, 5 variedades mexicanas y 2 variedades ecuatorianas de amaranto con base en los dos primeros componentes principales de 11 variables morfológicas cuantitativas. Montecillo, 2011.

Las variedades mejoradas se diferenciaron por sus características fenológicas y en menor grado por sus características de hoja. Las variedades se ubicaron en tres grupos diferenciados por precocidad, en un grupo Nutrisol y DGETA como las más tardías, Gabriela en una posición intermedia; Dorada y Revancha como las más precoces. Este agrupamiento está muy relacionado con el origen de las variedades mejoradas, ya que Nutrisol, DGETA y Gabriela son selecciones de poblaciones de Tlaxcala, mientras que Dorada y Revancha tienen su origen en poblaciones de Morelos (Espitia *et al.*, 2010). Las poblaciones ecuatorianas se ubican en el

cuadrante III, se separan de los demás grupos y entre ellas, INIAP-Alegría comparte características que se encuentran en accesiones de Guerrero y Morelos, con hoja de tamaño medio y semi precoz (Figura 1); INIAP-Chimborazo se diferencia notablemente de los otros grupos poblacionales. Estos resultados muestran que la diferenciación entre poblaciones de diferente origen ocurre con base en ocho características relevantes: diámetro de tallo; altura de planta; altura la inicio de panoja; días al panojamiento y a floración; área foliar; longitud y anchura máxima de hoja.

En el análisis de conglomerados (Figura 2), a la distancia euclidiana de 3.5, se formaron seis grupos, lo que mostró concordancia con el análisis de componentes principales. Este análisis separó a la variedad INIAP-Chimborazo del resto de las poblaciones, diferenciando a *A. hybridus* de las otras especies. En el análisis de los grupos restantes se consideró la clasificación de las variedades y razas descritas por INIFAP (Espitia *et al.*, 2010), además, se identificaron dos grandes grupos en la parte superior del dendrograma, el primero conformado por las poblaciones de Michoacán, a la especie *A. hypocondriacus*, raza Mixteca, y un segundo grupo se integró con las poblaciones de Tlaxcala y DF, junto con la variedad Nutrisol que pertenecen a la raza Azteca, estos resultados confirman, que Mixteca y Azteca son razas similares; pero la primera es más tardía (Espitia *et al.*, 2010). En los grupos restantes se integran las poblaciones de mayor precocidad.

En la parte inferior del dendrograma los grupos aparecen con mayor similitud morfológica, a pesar de corresponder a diferentes especies. *A. caudatus* representado por la variedad INIAP-Alegría, se separa de los otros dos grupos. El quinto grupo en orden descendente integró poblaciones del Estado de Morelos y a la variedad Dorada (*A. cruentus*) de la raza Mexicana. El último grupo conjuntó poblaciones de Guerrero y a la variedad Revancha de la raza Mercado. La ubicación de las poblaciones de acuerdo a su origen dentro de las diferentes

especies, confirma los resultados de Hauptli y Berkeley (1990), quienes señalan que *A. hypochondriacus* se distribuyen en Tlaxcala y el D.F., y que *A. cruentus* se encuentra en los estados de Morelos y Puebla.

De esta manera, los seis conglomerados en orden descendente corresponden a las especies y razas siguientes: 1. *A. hybridus*; 2., *A. hypochondriacus* Mixteca; 3, *A. hypochondriacus* Azteca; 4., *A. caudatus*, 5., *A. cruentus* Mexicana, y 6. *A. hypochondriacus* raza Mercado.

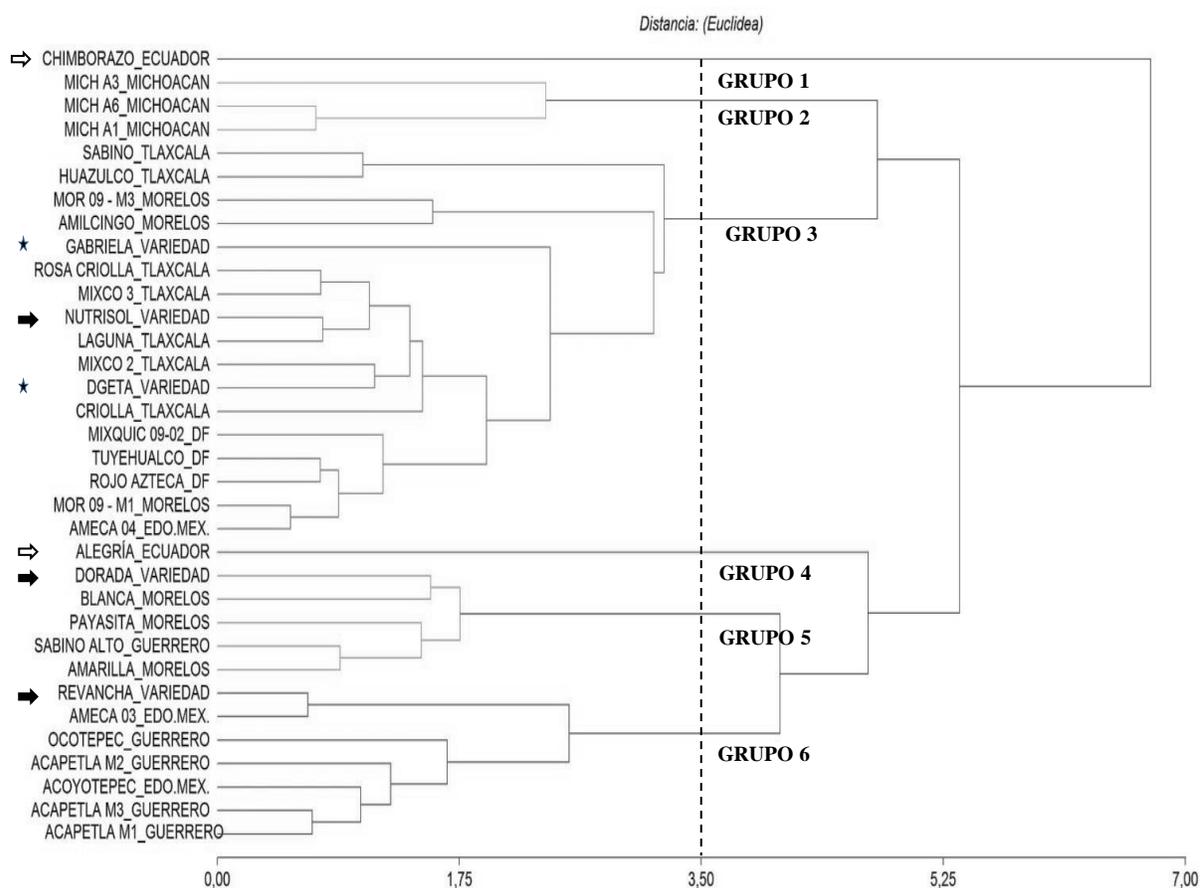


Figura 2. Dendrograma de 27 poblaciones nativas, 5 variedades mexicanas y 2 variedades ecuatorianas, con base en el análisis de conglomerados con 11 variables morfológicas cuantitativas. Montecillo, 2011.

Características Cualitativas

Algunas características morfológicas fueron comunes en la mayoría de las poblaciones evaluadas, con algunas excepciones; por ejemplo, la variedad INIAP-Chimborazo fue la única que presentó tipo de panoja amarantiforme, las restantes fueron glomeruladas; en postura de planta sólo la variedad INIAP-Alegría fue semierecta, las demás fueron erectas, y sólo la variedad Dorada no presentó coloración antociánica del hipocótilo. Las frecuencias en las restantes variables cualitativas presentaron mayor variación entre las poblaciones (Cuadro 5).

De las poblaciones 70% presentaron coloración antociánica del cotiledón (CAC); sólo Dorada no presentó coloración antociánica del hipocótilo y la intensidad de la coloración antociánica del hipocótilo (ICH) en las restantes fue media (53%) a fuerte (44%). La mitad de las poblaciones presentaron hojas de color verde (CH), las restantes presentan una gama de color verde, excepto dos poblaciones que fueron de hojas rojas.

El 70% de las accesiones presentaron tallo color verde (CT), 24% fueron de color rojo, la variedad Dorada presentó tallo color dorado, y el tallo de INIAP-Alegría fue color rosa. El 38% de accesiones no presentó color en las estrías del tallo (CE), 50% presentó estrías rojas y las restantes otros colores. El 76% de las poblaciones no desarrollaron inflorescencia axial (IA).

En el color de panoja (CP) se observó amplia gama de colores independientemente del origen, predominando las plantas con inflorescencia color verde (41%) y púrpura (26%), en menor frecuencia se registraron panojas de color pardo, rosa, dorada y payasita (panojas con dos colores principalmente verde y rojo). La densidad de inflorescencia (DI) más común fue intermedia (22%) y algunas poblaciones presentaron panoja compacta, lo que fue más frecuente en poblaciones de Tlaxcala.

El tamaño de las brácteas (TB) que le da la característica de espinosa a la inflorescencia de amaranto se presentó en 65% de las poblaciones estudiadas, pero 36% de las poblaciones no tuvieron espinas, estas poblaciones se encontraron en los grupos de Guerrero y Morelos y es común encontrar brácteas pequeñas en las variedades comerciales.

Cuadro 5. Frecuencias de 11 variables cualitativas de poblaciones amaranto. Montecillo, 2011.

Característica [†]	Categoría	FA ^{††}	FR ^{††}	Característica [†]	Categoría	FA ^{††}	FR ^{††}
CAC	Ausente	10	0.29	IA	No	26	0.76
	Presente	24	0.71		Si	8	0.24
ICH	Débil	1	0.03	CP	Verde	14	0.41
	Media	18	0.53		Púrpura	9	0.26
	Fuerte	15	0.44		Parda	7	0.21
CH	Verde	17	0.50	DI	Rosa	2	0.06
	Verde Dorado	1	0.03		Dorada	1	0.03
	Verde Intenso	3	0.09		Payasita	1	0.03
	Verde Rojizo	7	0.21		Compacta	6	0.18
	Verde Limón	4	0.12		Intermedia	22	0.65
	Roja	2	0.06		Laxa	6	0.18
CT	Verde	24	0.71	TB	Mayor	22	0.65
	Rojo	8	0.24		Igual	6	0.18
	Rosa	1	0.03		Menor	6	0.18
	Dorado	1	0.03		CS	Crema	16
CE	No	13	0.38	PP	Blanco	12	0.35
	Rojo	17	0.50		Amarillo	5	0.15
	Púrpura	1	0.03		Negro	1	0.03
	Rosa	1	0.03		Alta	15	0.44
	Verde	1	0.03		Media	7	0.21
	Amarillo	1	0.03		Baja	12	0.35

[†] CAC = Coloración antociánica del cotiledón; ICH = Intensidad de la coloración antociánica del hipocótilo; CH = Coloración antociánica del hipocótilo; CT = Color de tallo; CE = Color de estrías; IA = Inflorescencia axilar; CP = Color de panoja; DI = Densidad de inflorescencia; TB = Tamaño de brácteas; CS = Color de semilla; PP = Pureza de panoja. ^{††} FA = Frecuencia absoluta; FR = Frecuencia relativa

El color blanco de la semilla (CS) predominó, aunque se presentaron diferencias en tonalidad entre blanco opaco o crema (47%) y blanco brillante (35%); también, se encontraron granos amarillos o dorados (15%), provenientes principalmente de Guerrero. INIAP-Chimborazo presentó grano negro, esta es una característica común en esta especie, sin embargo, en la mayoría de las poblaciones nativas, se encuentran granos de color oscuro en bajas proporciones.

En relación con la pureza o uniformidad de las poblaciones, 15 poblaciones presentaron alta pureza, incluyendo las variedades mejoradas y 8 poblaciones nativas cultivadas por los agricultores; 7 poblaciones presentaron un grado intermedio de pureza y 12 tuvieron poca homogeneidad. Estos valores reflejan los diferentes niveles de selección

La distribución de las poblaciones en el espacio de las Coordenadas Principales (EMD) determinadas por las variables cualitativas (no presentado) fue similar a la obtenida en el ACP, para cuantificar el grado de similitud entre matrices se realizó el análisis de Procrustes Generalizado, que analiza la congruencia de dos configuraciones cuando la orientación de las dimensiones es arbitraria, o cuando se han obtenido varias configuraciones sobre la misma muestra de elementos ya sea porque se realizaron en diferentes momentos o se utilizaron diversas técnicas de ordenamiento (Balzarini *et al.*, 2008). Se observó que el consenso entre ambas matrices fue de 86.9%, lo que indica que las distribuciones de las poblaciones obtenidas con las características cuantitativas y cualitativas son congruentes.

CONCLUSIONES

La variabilidad entre las poblaciones fue mayor entre los grupos poblacionales que dentro de ellos. Las poblaciones más tardías, de mayor altura de planta y diámetro de tallo se presentaron en los grupos de Tlaxcala, Michoacán y D.F. Poblaciones nativas de Tlaxcala, D.F. y Estado de México con potencial agronómico se adaptaron a las condiciones de Montecillo, presentando las panojas más grandes y los mayores rendimientos potenciales. La correlación entre las variables precocidad y altura de planta, así como entre los indicadores de tamaño de hoja fue alta y contribuyeron en mayor proporción a los dos primeros componentes principales. El agrupamiento con base en características cuantitativas diferenció claramente a las especies y dentro de ellas a las razas. Las poblaciones del Estado de México y Morelos presentaron mayor diversidad distribuyéndose entre los diferentes grupos raciales formados por el análisis de conglomerado. Las variedades mejoradas que fueron obtenidas por selección de poblaciones nativas, se agruparon de acuerdo a su lugar de origen. Las poblaciones de Tlaxcala y DF fueron similares formando un solo grupo, y separándose de los grupos de Michoacán, Guerrero y un pequeño grupo de poblaciones de Morelos. Las características cualitativas presentaron variabilidad de colores de las diferentes estructuras de la planta, predominando las plantas de color verde completo. En las poblaciones nativas se encuentran características agronómicas deseables para la producción y mejoramiento de la especie. La distribución de las poblaciones en el plano de los componentes y coordenadas para características cuantitativas y cualitativas fueron congruentes. La diversidad morfológica de las poblaciones de amaranto evaluadas está relacionada con el origen.

BIBLIOGRAFÍA

Alejandro G, F Gómez (1990) Variabilidad en tipos de criollo de amaranto (*Amaranthus* spp.) en la región central de México. In: El Amaranto *Amaranthus* spp. su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. México. pp: 242-261.

Alejandro G, C Valdés (2010) Potencial de mejora para rendimiento de grano en variedades criollas de (*Amaranthus cruentus* L.) en Marin, N.L. In: El Amaranto, Investigación Agronómica en el Norte de México. J García, G Alejandro, C Valdés, H Medrano (eds) Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango, México. pp: 89-100.

Balzarini M, L Gonzalez, M Tablada, F Casanoves, J Di Rienzo, C Robledo (2008) Infostat software estadístico. Manual de Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina. 336 p.

Carballo A, M Ramírez, M Gil (2006) Manual Gráfico para la Descripción Varietal en Amaranto, (*Amaranthus* spp) Colegio de Postgraduados, SNICS. 43 p.

Demmey J, L Pla, J Vicente-Villardón, J Di Rienzo, F Casanoves (2011) Medidas de distancia y de similitud. In: Validación y Análisis de la Diversidad Funcional y su Relación con los Servicios Ecosistémicos. F Casanoves, L Pla, J Di Rienzo (eds). CATIE, Costa Rica. pp:47–59.

Di Rienzo J, F Casanoves, M Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, C Robledo (2012) InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Espitia Rangel E, C Mapes Sánchez, D Escobedo López, M De la O Olán, P Rivas Valencia, G Martínez Trejo, L Cortés Espinoza, J Hernández Casillas (2010) Conservación y Uso de los Recursos Genéticos de Amaranto en México. SINAREFI-INIFAP-UNAM, Centro de Investigación Regional Centro. Celaya, Guanajuato, México. 201 p.

Estación Agrometeorológica. Campus Montecillo (2011) [en línea] Consultado en Septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.cm.colpos.mx/meteoro/>.

Feine L (1980) An Ethnobotanical observation and collection of grain amaranth in Mexico. In: Proceedings of the Second Amaranth Conference. Rodale Press, Inc. pp:111-117.

Gruben G, V Sloten (1981) Genetics resources of amaranths: A global plan of action. ACP:IBPGR/80/2. International Board for Plant Genetic Resources. FAO – ONU. Rome, Italy. 57 p.

Hauptli H, CA Berkeley (1990) Sumario de la colección de amaranto en América Latina desde el punto de vista de variación genética. In: El Amaranto *Amaranthus* spp su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. Mexico. pp:239-242.

Kaufman C, Reider C (1984) Rodale amaranth germplasm collection. Rodale Research Report NC-83-2. Rodale Press, Inc., Emmaus, Pennsylvania, USA. 81 p.

Kulakow P, H Hauptli (1994) Genetic characterization of grain amaranth. In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp:9-22.

- Mapes, C. (1990)** Una revisión sobre la utilización del género *Amaranthus* en México. Origen, clasificación y uso. In: El Amaranto *Amaranthus* spp. su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. Mexico. pp:65-76.
- Mazón N, E Peralta, M Rivera, C Subía, C Tapia (2003)** Catálogo del banco de germoplasma de amaranto (*Amaranthus* spp.) de INIAP – ECUADOR [CD-ROM]: Windows 95 o posterior. Ecuador.
- Montero C, C Nieto, C Caicedo, M Rivera, C Vimos (1994)** “INIAP – Alegría”. Primera variedad mejorada de amaranto para la sierra ecuatoriana. INIAP, E.E. Santa Catalina. Boletín Divulgativo No. 246. Quito, Ecuador. 24 p.
- Morales Guerrero J, N Vásquez, R Bressani (2009)** El Amaranto. Características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutricio. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México. 269 p.
- Peralta E, E Villacrés, N Mazón, M Rivera, C Subía (2008)** El Ataco, Sangorache o amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en Ecuador. INIAP, E.E. Santa Catalina. Publicación Miscelánea No. 143. Quito, Ecuador. 63 p.
- Sumar L, J Pacheco, A Inca, G Castelo, R Aedo, Y Callo, E Valdeiglesias (1992)** Grain amaranth research in Peru. In: Food Reviews International. R Teranishi, I Hornstein (eds) 8:87–124 pp.

CAPÍTULO III

VALOR BROMATOLÓGICO DE POBLACIONES NATIVAS DE AMARANTO

RESUMEN

El grano del amaranto (*Amaranthus* spp.) tiene un gran potencial como alimento por sus propiedades nutritivas y nutracéuticas, sin embargo, el cultivo no ha sido valorado porque es considerado subutilizado. Las especies de amaranto presentan una gran diversidad morfológica y genética. Dado que esta diversidad puede encontrarse en la composición química del grano, es necesario determinar la extensión de esta diversidad a este nivel. El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de evaluar 30 poblaciones nativas de amaranto con base en sus propiedades bromatológicas. En el Laboratorio de Nutrición Animal del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, se determinaron los contenidos de ceniza, grasa, fibra cruda, proteína y almidón de 22 poblaciones nativas de amaranto provenientes del D.F. y de los estados de México, Michoacán, Guerrero, Morelos y Tlaxcala, cinco variedades comerciales y tres genotipos originarios de Ecuador. Los análisis químicos se realizaron con dos repeticiones. El contenido de ceniza, grasa, fibra cruda, proteína y almidón se analizó estadísticamente con base en un diseño completamente al azar; además, se hizo un análisis de correlación y el análisis de conglomerados. El ANAVA de los grupos poblacionales detectó diferencias únicamente en proteína y entre poblaciones detectó diferencias significativas en todas las características evaluadas, excepto en almidón. La mayor parte de los genotipos mexicanos, pertenecientes a las especies *A. hypochondriacus* y *A. cruentus*, presentaron valores similares en sus características nutritivas y mayor contenido de proteína que *A. caudatus*. La variedad Chimborazo de grano negro (*A. hybridus*) se diferenció de las otras especies por sus mayores contenidos de cenizas, grasa y fibra cruda. Las características evaluadas no estuvieron correlacionadas. Se identificaron poblaciones con alto contenido de proteína y almidón. El análisis de conglomerados agrupó a las poblaciones en seis grupos y, diferenció claramente a las especies sudamericanas de las mexicanas con base en sus contenidos de ceniza, grasa, fibra cruda, proteína y almidón. Las poblaciones mexicanas se integraron en cuatro grupos, y agrupamiento no mostró relación con el origen.

Palabras clave: *Amaranthus* spp., bromatológico, especies, poblaciones nativas, variedades.

BROMATOLOGICAL ANALYSIS OF NATIVE AMARANTH POPULATIONS

SUMMARY

Amaranth (*Amaranthus* spp.) grain has great potential as food stock because of its nutraceutical and nutritional properties. It is, however, an underutilized crop. Amaranth species have great morphological and genetic diversity. Such diversity occurs also on the chemical grain composition, thus it is necessary to assess the degree of diversity. The objective of this work was to evaluate 30 native amaranth populations based on their bromatological properties. In the Animal Nutrition Lab at Colegio de Postgraduados, ash, fat, raw fiber, protein and starch contents were determined; samples were taken from 22 populations from D.F., Estado de México, Michoacán, Guerrero, Morelos and Tlaxcala, plus five commercial varieties and three genotypes introduced from Ecuador. Sample readings were taken from two repetitions of each chemical analysis. Data was analyzed using a Completely Randomized Analysis. Correlation analysis was performed on the variables and population means used for cluster analysis. ANOVA for the population groups detected differences only in protein content; ANOVA among populations detected significant differences in all variables evaluated, except in starch content. Most of the Mexican genotypes, which belong to species *A. hypochondriacus* and *A. cruentus*, have similar nutritional values and greater protein content than *A. caudatus*. The black grain variety, Chimborazo (*A. hybridus*), had highest ash, fat and raw fiber contents. No correlation was obtained with the variables tested. Populations with high protein and starch content were identified. Cluster analysis grouped populations into six groups, and it clearly showed differences between South American and Mexican populations based on ash, fat, raw fiber and starch contents. Within the Mexican population, four groups were identified, but no association to origin was identified.

Keywords: *Amaranthus* spp., bromatological, species, native populations, varieties.

INTRODUCCIÓN

En la Encuesta Nacional de Nutrición (1999), se indica que 25.2% de los niños menores de 5 años en México sufren algún tipo de desnutrición, y 5% sufren de desnutrición de alto riesgo. En el caso de Ecuador (Programa Mundial de Alimentos, 2009) 26% de niños menores de 5 años sufren algún tipo de desnutrición, aunque las causas de esta desnutrición son diversas, el acceso a alimentos de buena calidad y bajo costo puede ser parte de la solución. En esta estrategia el amaranto representa una opción.

El amaranto es un producto que se ha integrado a varios de los programas de apoyo alimentario operados por el Gobierno Federal y algunos Gobiernos Estatales con la finalidad de mejorar la alimentación y nutrición de la población mexicana marginada. De igual forma, diversas organizaciones, como México Tierra de Amaranto, Puente de Salud Comunitaria y Alternativa promueven el desarrollo sustentable del amaranto en comunidades donde se le utiliza para abatir la desnutrición y la pobreza; una de las estrategias para tal fin consiste en la promoción e incorporación del amaranto en la dieta de la población (Morales *et al.*, 2009).

Hasta hace poco tiempo el estudio de la diversidad vegetal se enfocó a la caracterización de atributos de interés agronómico, con el objetivo de que los mejoradores modifiquen el comportamiento de las plantas para lograr incrementos en el rendimiento, principalmente. En la actualidad una corriente cada vez más fuerte busca la obtención de variedades biofortificadas, con buenas características agronómicas y con alto valor nutritivo.

El amaranto es una especie considerada como uno de los mejores productos de origen vegetal, porque la cantidad de proteína de la semilla es mayor que la de los cereales; contiene más del doble de proteínas que el maíz (9%) y arroz (7%), y 60 a 80% más que el trigo (13%). Además, los valores del extracto (lípidos), fibra cruda y cenizas superan a los cereales. El

principal hidrato de carbono es al almidón, con pequeñas cantidades de sacarosa y rafinosa. En cuanto a los aminoácidos, contiene el doble de lisina que el trigo y el triple que el maíz, característica que hace del amaranto un alimento valioso para complementar las dietas basadas en cereales. El balance de aminoácidos es cercano al requerido para la nutrición humana y el aminoácido más limitante es la leucina que permite que la proteína de *A. caudatus* se absorba y se utilice hasta en 70%, cifra que puede llegar a 79% según las variedades. El cómputo aminoacídico, (relación entre los mg de aminoácidos en 1 g de nitrógeno de la proteína del alimento estudiado y los mg de aminoácidos en 1 g de nitrógeno de la proteína de referencia) es de 86% en *A. hypochondriacus* y de 77% en *A. cruentus* (García *et al.*, 2010).

La grasa del amaranto es predominantemente insaturada (76%) y tiene alto contenido de ácido linoléico, que es esencial en la nutrición humana; además, el aceite de amaranto tiene 7% de escualeno, porcentaje que es mucho más alto que los encontrados en los aceites vegetales comunes. El escualeno es un material altamente valorado que usualmente se extrae del hígado del tiburón y es usado en productos cosméticos (Kauffman, 1992). El amaranto contiene altos niveles de fibras no fermentables, lo que sugiere que el consumo del grano puede disminuir los niveles de colesterol y LDL (colesterol malo) sin aumentar los riesgos de cáncer de colon (Schnetzler y Breene, 1994).

El almidón de amaranto con grano de color amarillo pálido, tiene mejor digestibilidad y composición que los amarantos con granos de color pardo oscuro. Las harinas de amaranto contienen más proteína, grasas, fibra cruda, cenizas y menos carbohidratos que otras, además carece de gluten por lo que es necesario utilizarla en mezclas con harina de trigo (Alejandre y Gómez, 1999).

El uso potencial del almidón de amaranto en la industria con base en sus propiedades funcionales, puede ser orientado al desarrollo de nuevos productos como espesantes, mejoradores de sabor, humectantes, preventivos de la cristalización de azúcar, edulcorantes y reemplazantes de grasas (López *et al.*, 1994).

Además de las características bromatológicas comúnmente analizadas, Devadas y Saroja (1980), señalan que las especies de amaranto son excelentes fuentes de hierro y β -caroteno, por lo tanto, recomiendan la inclusión de amaranto en la dieta diaria de niños, para aliviar las deficiencias de hierro y vitamina A, además de ser una excelente fuente de ácido fólico.

Varios autores (Devadas y Saroja, 1980; Bourgues, 1990; Morales *et al.*, 2009) señalan al amaranto como una especie con propiedades nutraceuticas, que puede ayudar a combatir la anemia, debido al hierro y vitamina C que se encuentran en las hojas y en la semilla. También, revierte los procesos de desnutrición relacionados con el bajo consumo de alimentos ricos en proteínas, ya que contiene un balance casi perfecto de aminoácidos y tiene abundancia de lisina; es excelente comparado con otros alimentos de origen animal o vegetal como la carne, leche, huevo, frijol, chile y otros más. Se puede consumir la hoja del amaranto que contiene más hierro que la espinaca por lo que se recomienda para personas que padecen cierto grado de anemia, especialmente entre mujeres y niños. Las hojas tienen vitaminas y minerales esenciales como calcio, fósforo, hierro y ácido (Morales *et al.*, 2009). El consumo de amaranto en adultos mayores mejora la calidad de vida y promueve la longevidad debido al alto contenido de triptófano, un aminoácido esencial para el organismo que ayuda a regular los niveles de serotonina en el cerebro (Guzmán, 2009). La planta tiene potencial nutraceutico que actúa de manera directa en células de mamíferos afectadas por cáncer y reduce la transformación celular y la proliferación de células enfermas (Vega, 2009).

Bourgues (1990) señala que a más de las diferencias en la composición química entre especies y entre partes de la planta, otros factores alteran sus propiedades, como la variedad, el suelo y clima en el que se cultivó, el momento de la cosecha y hasta la imprecisión de los métodos empleados en la determinación de la composición química. Por lo anterior, en este estudio se planteó como objetivo evaluar la diversidad de las poblaciones de amaranto con base en la composición química del grano.

MATERIALES Y MÉTODOS

La semilla de amaranto analizada en este estudio (Cuadro 1), correspondió a los orígenes siguientes: 22 poblaciones nativas provenientes de los estados del centro de México; cinco variedades comerciales de INIFAP y Tlaxcala; y tres variedades provenientes de Ecuador, una de grano negro de la especie *A. hybridus* (Chimborazo) y dos de grano blanco de la especie *A. Caudatus* (Alegría y Perucho).

Cuadro 1. Origen y nombre de 30 poblaciones de amaranto evaluadas en su composición química. Montecillo, 2012.

Origen	Cantidad	Poblaciones
Distrito Federal	3	Mixquic 09-02, Rojo Azteca, Tulyehualco
Estado de México	3	Acoyotepec, Ameca 03, Ameca 04
Guerrero	4	Acapetla M1, Acapetla M3, Ocotepec, Sabino Alto
Michoacán	3	Mich A1, Mich A3, Mich A6
Morelos	4	Amarilla, Amilcingo, Mor 09-M3, Payasita
Tlaxcala	5	Criolla, Huazulco, Laguna, Mixco 2, Sabino
Variedades	5	DGETA, Gabriela, Dorada, Nutrisol, Revancha
Ecuador	3	Chimborazo, Alegría, Perucho

El análisis químico proximal de las semillas de amaranto se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal, del Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería, del Colegio de Postgraduados, para determinar contenidos de ceniza, grasa, fibra cruda, proteína total y porcentaje de almidón. Para las determinaciones se trabajó con el sistema de análisis químico proximal de alimentos desarrollado por Hennenberg y Stohman publicado por la A.O.A.C en 1975, citado por Mendoza *et al.* (2005) y en caso del almidón se determinó con la metodología presentada por Herrera y Huber (1989).

Se tomaron muestras de 30 g de semilla de cada una de las poblaciones, las que se molieron por aproximadamente un minuto en un molinillo de café marca BRAUN Aromatic KSM2. La harina obtenida se sometió a los diferentes análisis con dos replicas para cada determinación, con base en las técnicas y equipos que se describen a continuación:

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Los crisoles a utilizar se colocaron en la estufa a 100°C durante toda la noche, se les sacó y enfrió a temperatura ambiente en los desecadores. Se etiquetaron y pesaron los crisoles en la balanza analítica marca OHAUS Adventurer (precisión 0.0001 g). Se colocó aproximadamente 1 g de muestra en cada crisol; se registró el peso nuevamente y se les colocó en la estufa a 110 °C por 24 horas; se sacaron y enfriaron los crisoles en los desecadores para registrar el peso del crisol con la muestra seca y se calculó el porcentaje de materia seca. Luego se colocaron en una mufla marca LINDBERG a 550 °C durante toda la noche; se dejó enfriar la mufla y cuando marcó 100 °C se sacaron los crisoles a los desecadores, una vez fríos se registró el peso del crisol con las cenizas.

La cantidad de cenizas, en porcentaje, se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso crisol} + \text{cenizas}) - \text{Peso crisol}}{(\text{Peso crisol} + \text{muestra seca}) - \text{Peso crisol}} \times 100$$

DETERMINACIÓN DE GRASA

Varios autores también citan el contenido de grasa como porcentaje de Lípidos o Extracto Etéreo. En papel filtro de 10 cm de diámetro se pesaron muestras previamente secadas de 1.5 g, las que se colocaron dentro de dedales limpios y etiquetados. Los vasos para grasa, junto con los porta dedales de vidrio se secaron en la estufa a 110 °C durante una hora para luego enfriarlos, pesarlos con ayuda de pinzas metálicas (*PV*) y etiquetarlos. Se colocaron los dedales con las muestras en los porta dedales que les correspondían de acuerdo a las etiquetas y estos se fijaron en los soportes metálicos del aparato de Goldfish marca LABCONCO. En cada vaso para grasa se añadieron 30 mL de éter de petróleo y usando un anillo con rosca y empaque de caucho se fijaron al condensador apretando lo mejor posible para evitar fugas. Se permitió la circulación de agua en el equipo para enfriar los condensadores y se levantaron las parrillas hasta tocar los vasos; se encendieron las parrillas eléctricas y se observó constantemente que al hervir el éter y condensarse no se tuvieran fugas.

El tiempo de extracción fue de 8 horas para cada corrida de 12 muestras, es decir 6 poblaciones con dos repeticiones; transcurrido este tiempo se apagó el aparato y se dejó enfriar con el agua circulante. Se separaron los dedales con las muestras desengrasadas de los vasos de grasa. Los porta-dedales, los vasos de grasa y el éter se colocaron en la estufa durante la noche para permitir su volatilización. Los vasos con los porta dedales y la grasa, se sacaron con las pinzas de la estufa y se colocaron en los desecadores para enfriarlos a temperatura ambiente y registrar los pesos finales.

Para calcular el porcentaje de extracto etéreo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% EE (base seca) = \frac{(PV + Extracto) - PV}{Peso muestra seca} \times 100$$

Las muestras desengrasadas resultantes de este proceso fueron usadas para la determinación de fibra cruda.

DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

De las muestras libres de grasa y humedad, resultantes de la determinación de extracto etéreo, se pesó aproximadamente 1 g (*Pmuestra seca*) que se colocó en los vasos Berzelius, a los que se agregó 200 mL de H₂SO₄ al 1.25% previamente calentado y se les colocó en el aparato para fibra cruda marca LABCONCO. Se encendieron las parrillas hasta que la solución entró en ebullición, controlando el ascenso de la espuma por agitación de los vasos, para evitar pérdidas de muestra. En los embudos del equipo para filtrar al vacío se colocaron los círculos de papel filtro marca WHATMAN 541 de 12.5 cm de diámetro, previamente etiquetados, secados en la estufa y pesados (*Ppapel*).

Transcurridos 30 minutos de ebullición de la solución de H₂SO₄ con la muestra, se retiraron los vasos y se agregaron 200 mL de agua destilada, lo que fue cuidadosamente filtrado al vacío en los círculos de papel filtro. Estos círculos con los residuos de la muestra filtrada se colocaron en los vasos que les correspondían, junto con 200 mL de sosa al 1.25% previamente calentada, cuidando de que toda la muestra llegase al fondo de la solución. Se procedió a la digestión colocando los vasos en el aparato para fibra cruda y manteniendo en ebullición durante otros 30 minutos, al final de los cuales se quitaron los vasos del aparato, se agregaron 200 mL de agua destilada y 25 mL de H₂SO₄.

Se volvió a filtrar en el mismo papel la solución resultante que se descargó del vaso y se concentró en el papel con ayuda de agua destilada; al final en el embudo con el papel se añadió un poco de alcohol etílico. Una vez que se terminó de filtrar, se dobló el papel con la muestra y se colocó en un crisol previamente identificado y pesado, se le puso a secar en la estufa durante la noche y al siguiente día se registró el peso (*Pestufa*). El crisol, con el papel y la muestra ya pesados, se colocaron en la mufla a 600 °C por una hora, para luego enfriarlos a temperatura ambiente en los desecadores y registrar los pesos finales (*Pmufla*).

Para calcular el porcentaje de fibra cruda se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Fibra cruda (base seca)} = \frac{P_{\text{estufa}} - P_{\text{mufla}} - P_{\text{papel}}}{P_{\text{muestra seca}}} \times 100$$

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

Se trabajó con el método de Microkjeldahl, para lo que se pesó una muestra de cada una de las poblaciones de 0.3 g aproximadamente y se las colocó en los tubos de vidrio. Se añadió 0.5 g de la mezcla catalizadora (96 g Na_2SO_4 , 3.5 g $CuSO_4$, 0.5 g Selenio - finamente molido -) y 3 mL de H_2SO_4 concentrado. Se colocaron los tubos en las parrillas del digestor a 300 °C por aproximadamente 50 minutos dentro de la campana de extracción marca LABCONCO, hasta que la solución tomó un color verde pálido, luego se les dejó enfriar manteniendo encendido el extractor de gases. Al enfriarse se solidificó la solución resultante y fue disuelta con la mínima cantidad de agua posible; el contenido del tubo se transfirió al micro destilador marca LABCONCO, lavándolo con poca agua destilada. En el extremo del condensador se colocó un matraz Erlenmeyer de 50 mL de capacidad con 6 mL de solución de ácido bórico al 4%, siempre con el condensador sumergido en la solución. Se adicionaron 10 mL de NaOH al 40% para destilar hasta obtener 20 mL del destilado.

La titulación se realizó con la solución valorada de ácido clorhídrico (HCl) al 0.1027 Normal y se registró la cantidad de mililitros gastados. El factor de ajuste para nitrógeno fue de 1.4 (*0.014 miliequivalentes x 100*) para obtener el dato en porcentaje.

Para el cálculo de la cantidad de nitrógeno total se trabajó con la siguiente fórmula:

$$\% N = \frac{(ml \text{ gastados})(Normalidad HCl)(Factor de ajuste para nitrógeno)}{Pmuestra} \times 100$$

Morales *et al.* (2009) indican que los factores para la conversión de nitrógeno a proteínas crudas han sido de 5.2 a 5.6 y 6.2, de ahí las posibles diferencias en los valores de la concentración de proteínas informados por diversos autores. Sin embargo, cálculos elaborados a partir de los análisis de aminoácidos mostraron que el factor de conversión correcto es 5.7, que fue el que se aplicó en el presente estudio (*%PT = %N x 5.7*).

DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN

El almidón es el principal componente de la semilla de amaranto que se almacena en el perispermo. Para su determinación se pesaron 100 mg de muestra dentro de un tubo de 50 mL con tapa; con un dosificador a todos los tubos se agregaron 25 mL de acetato buffer 0.1 M (*8.2 g acetato de sodio anhidro en 800 mL ácido benzoico al 0.2%; agregado 2.23 mL de ácido acético glacial y ajustado el pH a 5.0 con HCl o NaOH, aforado a 1 litro con ácido benzoico al 0.2%*). Se agregaron 100 µL de enzima Thermozyme L-340, se les tapó y agitó en un vortex.

Los tubos se colocaron en baño maría a 95 °C por 30 minutos, luego de 5 minutos se aseguró la tapa y se agitaron los tubos durante la incubación, para luego bajar la temperatura hasta 60 °C en agua fría. Se agregaron 100 µL de la enzima Glucozyme L-400, se volvió agitar

los tubos y se les colocó en una estufa a 60 °C durante toda la noche; se agitaron ligeramente los tubos durante la incubación para luego retirarlos y transferir una alícuota (5 mL) dentro de un tubo de centrifuga; durante 10 minutos se centrifugó a 2000 rpm y se realizó una dilución 1:20. De esta solución se tomaron 200 µL y se mezcló con 2 mL de Glucosa oxidasa (BioSystems REF 11538; 1x1L).

Los tubos se leyeron en el espectrofotómetro CARYE 1E marca VARIAN a 505 nm y se registró el dato. El porcentaje de almidón se calculó con la siguiente fórmula, donde el factor de dilución es igual a 2 y el factor de dilución de glucosa a almidón es la lectura del equipo:

$$\% \text{ Almd} = \frac{\text{Factor de dilución (500)} * (0.9 \text{ Factor de dilución de glucosa a almidón}) * (\mu\text{g/mL})}{1000 * 0.2 * \text{peso de la muestra en mg}} \times 100$$

Posteriormente se ajustaron los porcentajes de almidón a base seca.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2012). Con las lecturas de las muestras de las cinco variables estudiadas, se realizaron análisis de varianza bajo un Diseño Completamente al Azar con dos repeticiones, tanto para las poblaciones como para el origen de los genotipos y se utilizó DGC al 5% (Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves) que es un método de comparaciones múltiples basado en la técnica de conglomerados para las medias, como prueba de significación que evita la falta de transitividad de otros métodos (Di Rienzo *et al.*, 2002). Se realizó el Análisis de Correlación de las variables evaluadas y se graficó la distribución de las poblaciones en base de las principales características. La clasificación de los genotipos por su similitud se realizó con el Análisis de Conglomerado tomando a la distancia Euclidiana como coeficiente de disimilitud

y el algoritmo de agrupamiento jerárquico del encadenamiento promedio (UPGMA) como método de clasificación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de varianza por grupos poblacionales, por procedencia, detectaron diferencias estadísticas ($p = 0.0133$) entre grupos únicamente en la variable proteína (Cuadro 2), las variedades de origen ecuatoriano presentaron valores abajo de 13%, mientras que las poblaciones procedentes de México alcanzaron valores entre el 15 y 16%. Sin diferenciarse estadísticamente en ceniza, las poblaciones de Tlaxcala y Ecuador presentaron valores menores a 3; en grasa, fibra cruda y almidón el grupo procedente de Ecuador supera a los grupos poblacionales mexicanos.

Cuadro 2. Composición química proximal del grano en porcentaje de nueve grupos poblacionales de amaranto. Montecillo, 2012.

Procedencia	CENIZA	GRASA	PROTEÍNA	FIBRA CRUDA	ALMIDÓN
Distrito Federal	3.17	5.76	15.26 a	2.33	57.44
Estado de México	3.36	7.01	15.76 a	2.32	57.61
Guerrero	3.62	6.72	16.08 a	2.23	55.31
Michoacán	3.52	6.03	15.52 a	2.32	55.99
Morelos	3.12	6.27	15.33 a	2.19	56.12
Tlaxcala	2.97	6.85	15.72 a	2.35	56.62
Variedades	3.17	6.58	15.15 a	2.73	54.26
Ecuador	2.96	7.75	12.92 b	3.55	62.08
Media	3.22	6.62	15.26	2.48	56.64
Coefficiente de Variación (%)	14.00	18.08	9.49	45.58	10.12

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

Los promedios generales en esta muestra de grupos poblacionales se ubicaron entre los márgenes encontrados por Nieto (1990) quien determinó en ceniza de 3.0 a 3.3 %, en grasa de 6.1 a 8.1 y proteína de 12 a 19; mientras que los contenidos de fibra cruda fueron mayores

a los encontrados en esta investigación (3.5 a 5.0), así como los valores de almidón reportados por Morales *et al.* (2009) entre 62 y 69 %.

Los análisis de varianza por poblaciones individuales presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.0001$) en todas las variables estudiadas, excepto en almidón, como resultado de la diferencias en los contenidos de ceniza, grasa, proteína y fibra cruda entre poblaciones (Cuadro 3).

En ceniza se definieron dos grupos con base en la prueba de rango múltiple, el primero con contenidos superiores a 3.5%, en el que se ubicaron las poblaciones Tulyehualco, Ameca 04, Ocotepec, Sabino Alto, Mich A1, Amarilla y las variedades Dorada de INIFAP y Chimborazo de Ecuador.

Las poblaciones Amarilla y la variedad Chimborazo destacaron por su contenido de grasa. Los menores contenidos de proteína se encontraron en las poblaciones Tulyehualco, Amilcingo, la variedad mejorada Nutrisol y las poblaciones de *A. caudatus* de Ecuador.

En fibra cruda superó el amaranto de grano negro (Chimborazo) con 6.17% a las restantes poblaciones que registraron contenidos menores a 3%, resultados que concuerdan con los de Sumar (1990) quien encontró que los granos de color oscuro contienen más fibra cruda y ceniza que otros tipos de grano.

En el contenido de almidón no se registraron diferencias estadísticas, sin embargo, se observó un amplio intervalo de variación que fue del 49% en la población Huazulco al 65% en la variedad Alegría de origen ecuatoriano. Estas diferencias numéricas en ausencia de significancia estadística sugieren la necesidad de incrementar la precisión del análisis incluyendo la forma de muestreo.

Los intervalos de variación en los componentes de la semilla en este estudio son similares a los de Bourgues (1990) quien obtuvo en base seca de 62 a 69% de almidón, de 13 a 17.8%

de proteína cruda de 3.2 a 4.1% de ceniza, sin embargo difiere en el mayor contenido de fibra cruda de 3.2 a 6.4%, en contraste con los valores menores de 2 de este estudio.

Cuadro 3. Composición química proximal del grano en porcentaje de 30 poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.

Nombre	Origen	CENIZA	GRASA	PROTEÍNA	FIBRA CRUDA	ALMIDÓN
MIXQUIC 09-02	DF	2.94 b	6.10 b	14.84 a	1.85 b	54.17
ROJO AZTECA	DF	2.98 b	5.71 b	14.18 a	1.43 b	65.67
TULYEHUALCO	DF	3.58 a	3.83 c	12.42 b	3.02 b	52.48
ACOYOTEPEC	EMEX	3.30 b	5.59 b	14.08 a	2.76 b	55.44
AMECA 03	EMEX	3.07 b	6.98 b	14.19 a	1.86 b	52.81
AMECA 04	EMEX	3.70 a	6.60 b	14.58 a	1.71 b	64.58
ACAPETLA M2	GUER	3.25 b	5.59 b	14.25 a	2.10 b	56.85
ACAPETLA M3	GUER	3.37 b	6.85 b	14.67 a	1.60 b	52.84
OCOTEPEC	GUER	3.80 a	6.14 b	15.29 a	3.04 b	55.68
SABINO ALTO	GUER	4.05 a	5.49 b	13.26 a	1.22 b	55.87
MICH A1	MICH	4.03 a	5.89 b	13.83 a	1.81 b	52.73
MICH A3	MICH	3.25 b	4.62 c	13.74 a	1.89 b	54.61
MICH A6	MICH	3.28 b	5.92 b	14.73 a	2.61 b	60.62
AMARILLA	MOR	3.65 a	7.63 a	14.05 a	1.14 b	54.06
AMILCINGO	MOR	3.14 b	3.84 c	11.47 b	2.57 b	55.33
MOR 09-M3	MOR	2.74 b	5.82 b	15.27 a	1.68 b	61.69
PAYASITA	MOR	2.97 b	5.44 b	14.77 a	2.52 b	53.40
CRIOLLA	TLAX	2.79 b	6.53 b	14.67 a	1.90 b	57.91
HUAZULCO	TLAX	3.24 b	4.92 c	13.24 a	3.08 b	49.69
LAGUNA	TLAX	2.81 b	7.23 b	14.28 a	0.87 b	60.46
MIXCO2	TLAX	3.16 b	6.74 b	14.93 a	2.81 b	63.40
SABINO	TLAX	2.87 b	5.48 b	13.85 a	1.76 b	51.66
DGETA	VAR	2.81 b	6.31 b	13.37 a	2.11 b	50.89
DORADA	VAR	4.30 a	6.42 b	15.26 a	3.21 b	56.68
GABRIELA	VAR	2.92 b	6.81 b	14.42 a	2.71 b	55.75
NUTRISOL	VAR	3.17 b	6.79 b	12.18 b	1.91 b	51.43
REVANCHA	VAR	2.68 b	3.51 c	13.49 a	2.43 b	56.56
CHIMBORAZO	ECU	3.51 a	7.78 a	12.84 a	6.17 a	60.84
ALEGRÍA	ECU	2.65 b	6.36 b	11.31 b	1.95 b	65.08
PERUCHO	ECU	2.72 b	6.38 b	10.08 b	1.30 b	60.33
Promedio		3.22	6.62	15.26	2.48	56.64
Coefficiente de Variación %		8.99	9.65	7.87	22.43	9.36

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

Los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables bromatológicas, determinaron que las características químicas evaluadas, no estuvieron correlacionadas (Cuadro 4), por lo tanto el ACP no permitió asociar las variables dentro de los componentes y cada uno de ellos representó a una variable independiente, de tal manera que la distribución espacial en el plano de los dos primeros componentes principales no ordenaron de forma clara a las poblaciones estudiadas.

Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson \ p-valor de cinco componentes químicos del grano de amaranto. Montecillo, 2012.

Procedencia	CENIZA	GRASA	PROTEÍNA	FIBRA CRUDA	ALMIDÓN
CENIZA	1.00	0.53	0.09	0.06	0.90
GRASA	0.08	1.00	0.21	0.76	0.18
PROTEÍNA	0.22	0.16	1.00	0.86	0.30
FIBRA CRUDA	0.24	0.04	0.02	1.00	0.74
ALMIDÓN	-0.02	0.18	0.13	0.04	1.00

Se realizó la distribución de las poblaciones respecto de su contenido de proteína y almidón, debido al interés agroindustrial que existe en amaranto (Figura 1). Se observó que las poblaciones nativas: Mor 09-M3, Mixco 2, Mich A6, Laguna, Ameca 04 y Rojo Azteca, provenientes de cinco estados presentaron los mayores valores proteína y almidón, es decir tiene mayor potencial para desarrollo de productos elaborados; las accesiones provenientes de Ecuador, presentaron altos valores de almidón, pero bajos en proteína; las poblaciones Tulyehualco (DF), Amilcingo (Morelos) y la variedad comercial Nutrisol, se agruparon con los menores valores de estas características. Las restantes poblaciones nativas en conjunto con cuatro variedades comerciales liberadas en México, presentaron altos valores de proteína pero bajo contenido de almidón. Lo que permitió identificar que existen poblaciones nativas en cada estado con mejores propiedades agroindustriales.

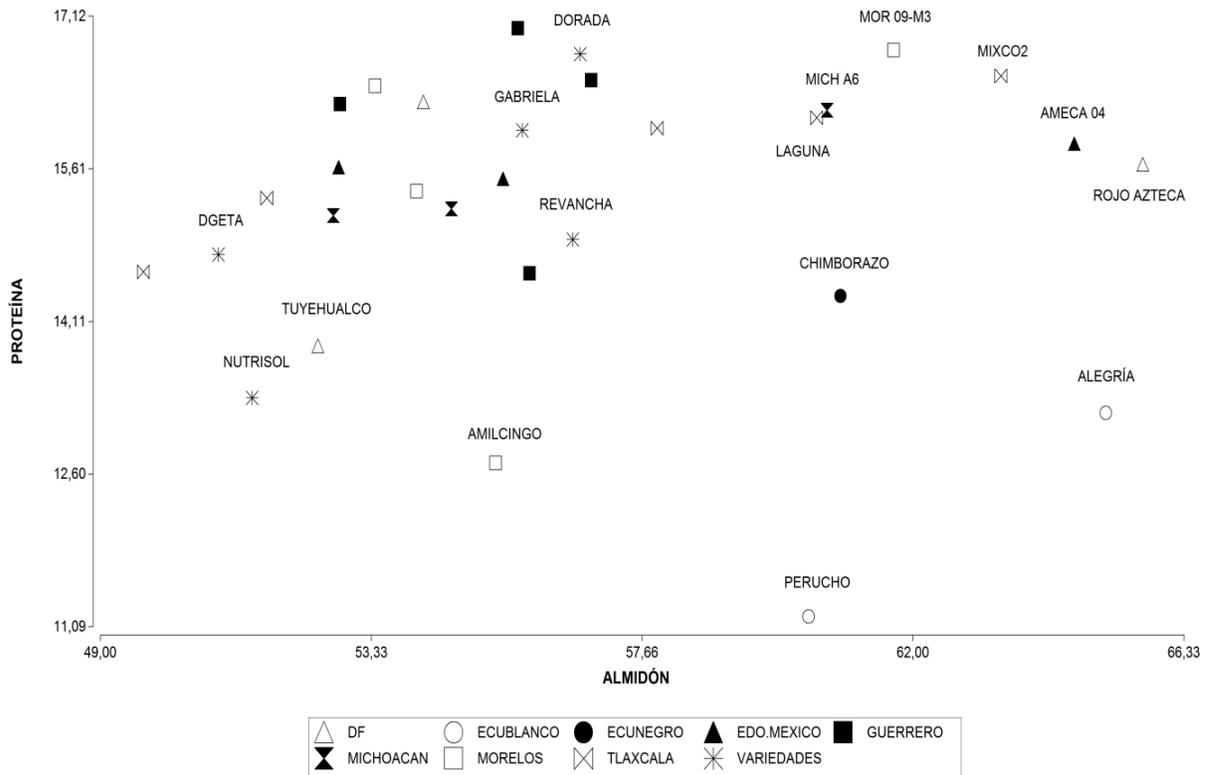


Figura 1. Distribución de 30 poblaciones de amaranto en base al contenido de proteína y almidón. Montecillo, 2012.

En el análisis de conglomerados (Figura 2) a la distancia euclidiana de 2.6, el patrón de clasificación formó 6 grupos. Los dos primeros grupos ocuparon la parte alta del dendrograma distanciadas ampliamente de los restantes y correspondieron a las especies *A. hybridus*, con la variedad Chimborazo (ECN) y *A. caudatus* con las variedades Alegría y Perucho (ECB).

En los grupos restantes las poblaciones y variedades mexicanas no se diferenciaron de acuerdo a su procedencia, de tal manera que en el conglomerado más grande, ubicado en la parte baja de la figura (MX4), se encontraron las variedades Nutrisol, DGETA y Gabriela, todas originarias de Tlaxcala, posiblemente de la raza Azteca; pero agrupadas con poblaciones colectadas en otros estados. El grupo en que se encontró Dorada de la especie *A. cruentus* y originaria de Morelos (MX2), incluyó a dos poblaciones de Guerrero y una de Michoacán, las

que agronómicamente tienen comportamientos muy diferentes. No se observó relación entre la coloración de grano de las poblaciones mexicanas con su agrupamiento, ya que las poblaciones de grano dorado: Ocoteppec, Acoyotepec y Acapetla M2 quedaron distribuídas en los grupos (MX2 y MX4) y a una distancia euclidiana considerable entre ellas. Los grupos MX1 y MX3, fueron conformados por poblaciones procedentes de todos los sitios de colecta en México, excepto de Guerrero. Por lo tanto, no es posible asumir diferencias basadas en las propiedades bromatológicas entre las especies *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* y menos determinar diferencias entre las razas a las que posiblemente pertenece cada genotipo mexicano.

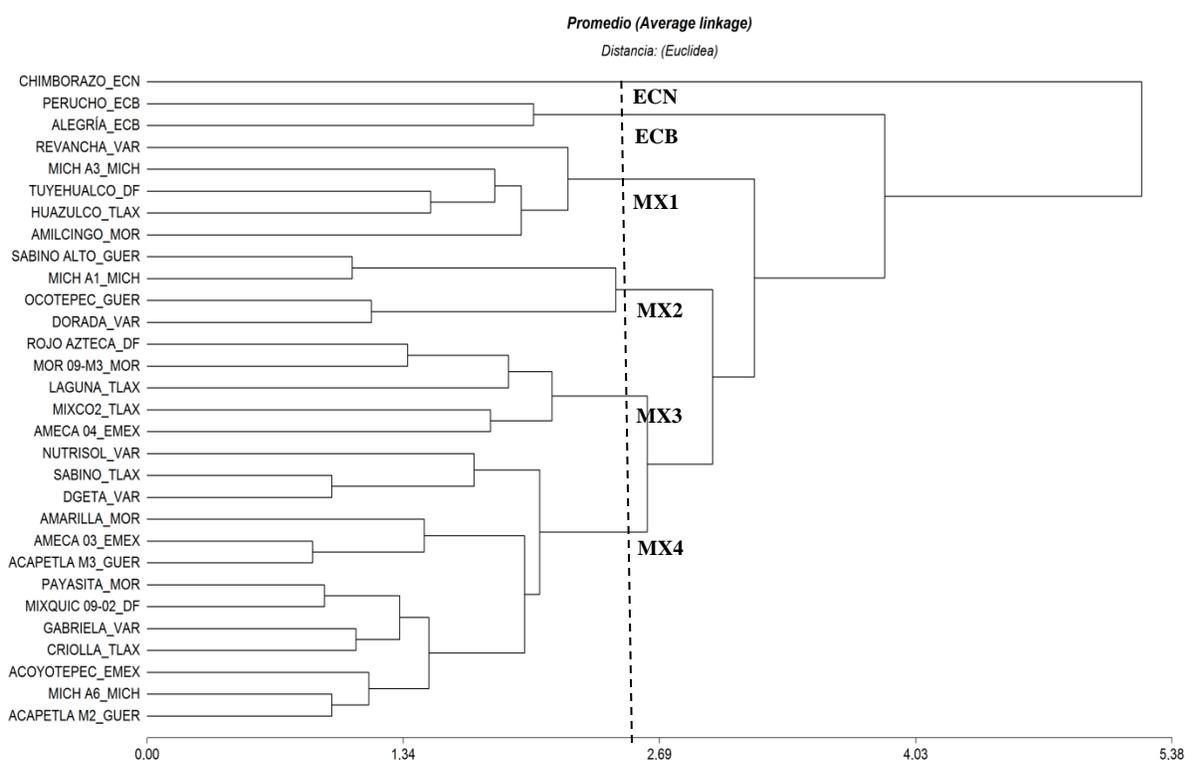


Figura 2. Dendrograma de 30 poblaciones de amaranto, con base en el análisis de conglomerados de sus características bromatológicas. Montecillo, 2012.

Para el análisis de varianza multivariado de los grupos formados, se los denominó de arriba hacia abajo de acuerdo a su país de origen: ECN (variedad de Ecuador de grano negro), ECB (variedades de Ecuador de grano blanco), MX1 (Revancha, Mich A3, Tulyehualco, Huazulco y Amilcingo); MX2 (Sabino Alto, Mich A1, Ocotepéc, Dorada); MX3 (Rojo Azteca, Laguna, Mor 09-M3, Mixco2, Ameca 04) y MX4 que correspondió al conglomerado más grande, incluyó poblaciones procedentes de todos los estados y tres variedades comerciales, originarias de Tlaxcala.

El análisis presentó diferencias altamente significativas para los conglomerados, de acuerdo a los índices de Wilks y Roy, y ordenó los grupos de acuerdo a las medias de sus variables como se presentan en el Cuadro 5. El método de comparación de Hotelling asignó un rango diferente a cada grupo. A pesar de que se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, los altos valores de proteína son similares en los grupos MX2, MX3 y MX4, mientras que el grupo ECB (*A. caudatus*) se caracterizó por su bajo contenido de proteína; ECN sobresalió por su alto contenido de fibra cruda; y MX1 se distinguió por su bajo contenido de grasa y almidón.

Cuadro 5. Promedios de seis grupos formados con base en la composición bromatológica de poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.

GRUPO	Número de Poblaciones	Ceniza	Grasa	Proteína	Fibra Cruda	Almidón
MX2	4	4.05	6.59	15.87	2.56	55.24
MX3	5	3.08	7.11	16.19	1.93	63.16
MX4	13	3.11	6.97	15.66	2.28	54.45
ECB	2	2.69	7.27	12.20	1.87	62.70
ECN	1	3.51	8.70	14.36	6.89	60.84
MX1	5	3.18	4.59	14.26	2.88	53.73

CONCLUSIONES

La calidad bromatológica de las poblaciones de amaranto mostró variación amplia, más no se registró diferencias entre los grupos poblacionales, de acuerdo al análisis de varianza. Se observaron diferencias significativas entre las poblaciones en contenido de ceniza, grasa, proteína y fibra cruda. Las especies originarias de México muestran mayor contenido de proteína respecto principalmente de *A. caudatus*. No se encontraron diferencias estadísticas entre poblaciones en el contenido de almidón a pesar del amplio intervalo de variación. No se registró correlación entre las características evaluadas y en la distribución espacial de las poblaciones en el plano formado por contenido de proteína y almidón, se identificaron poblaciones nativas con potencial para la agroindustria. El análisis de conglomerados (AC) identificó seis grupos y separó a las especies sudamericanas (*A hybridus* y *A. caudatus*) de las especies mexicanas. Las poblaciones mexicanas se integraron en cuatro grupos conformados por poblaciones procedentes de los diferentes estados. Dentro de las poblaciones mexicanas no se detectó asociación entre el origen y sus valores nutricionales. La variedad de grano negro formó un conglomerado que no se diferenció de las especies mexicanas en el contenido de proteína pero sus valores altos de grasa y fibra cruda duplicaron al de las especies de grano blanco. El conglomerado más grande (MX4) agrupó a tres variedades comerciales originarias de Tlaxcala y 10 poblaciones nativas procedentes de los seis sitios de colecta. El análisis de varianza multivariado de los grupos formados por el AC detectó diferencias estadísticas significativas y el método de comparación determinó un rango diferente para cada grupo.

BIBLIOGRAFÍA

Alejandro G, F Gómez (1999) Cultivo del amaranto en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 245 p.

Balzarini M, L Gonzalez, M Tablada, F Casanoves, J Di Rienzo, C Robledo (2008) Infostat software estadístico. Manual de Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina. 336 p.

Bourgues H (1990) Perfil bromatológico del amaranto In: El Amaranto *Amaranthus* spp su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. México. pp: 331-343.

Devadas R, S Saroja (1980) Availability of iron and β -carotene from amaranth to children In: Proceedings of The Second Amaranth Conference. Rodale Press, Inc. (ed). Emmaus. pp: 15-21.

Di Rienzo J, F Casanoves, M Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, C Robledo (2012) InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Di Rienzo, J.A.; Guzmán A.W.; Casanoves F. (2002). A Multiple Comparisons Method based on the Distribution of the Root Node Distance of a Binary Tree. Journal of Agricultural, Biological, and Environment Statistics, 7(2): pp: 1-14.

Encuesta Nacional de Nutrición (1999) [en línea] Consultado en Octubre de 2012. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/nutricion.pdf>

García J, C Valdés, R García, G Aviña (2010) Generalidades del cultivo de Amarantho. In: El Amarantho, Investigación Agronómica en el Norte de México. J García, G Alejandro, C Valdés, H Medrano (eds) Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango, México. pp: 11-46.

Guzmán A (2009) Amarantho, ese otro vegetal casi desconocido es extraordinario. [en línea] (Consultado el 25 de octubre de 2012). Disponible en <http://filatina.wordpress.com/2009/03/28/aseguran-que-consumir-amaranto-favorece-longevidad/>

Herrera y Saldaña R, J Huber (1989) Influence of varying protein and starch degradability on performance of lactating cow. J, Dairy Sci. 72:1477-1483.

Kauffman C (1992) Realizing the potential of grain amaranth. In: Food Reviews International. R Teranishi, I Hornstein (eds) Marcel Dekker, INC. Vol.8:1 pp: 5-21.

López M, L Belio-Pérez, O Paredes-López (1994) Amaranth carbohydrates In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 107-131.

Mendoza G, M Crosby, J Lee (2005) Manual del Laboratorio de Nutrición Animal. Orientación Ganadería. Colegio de Postgraduados. 58 pp.

Morales Guerrero J, N Vásquez, R Bressani (2009) El Amarantho. Características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutricional. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México. 269 pp.

Nieto C (1990) El cultivo de amarantho (*Amaranthus* spp.) una alternativa agronómica para Ecuador. INIAP, EE. Santa Catalina. Publicación Miscelánea No 52. Quito, Ecuador. 24 p.

Schnetzler K, W Breene (1994) Food uses and amaranth product research: a comprehensive review In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 155-184.

Sumar L (1990) Avances en el programa de investigación de Amaranthus del CICA-CUSCO, PERÚ. In: El Amaranto (Amaranthus spp) su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. México. pp 141-151

Vega V (2009) Purificación y caracterización de la proteína tipo lunasin de amaranto. Premiación de investigaciones y tecnología de alimentos [en línea] Consultado en Septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.invdes.com.mx/suplemento-noticias/357-premian-investigaciones-y-tecnologia-en-alimentos>

CAPÍTULO IV

DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA EN POBLACIONES NATIVAS DE AMARANTO

RESUMEN

La diversidad genética del amaranto (*Amaranthus* spp.) ha sido estudiada principalmente con base en características morfológicas. La fuerte influencia del ambiente sobre estas características y alta alogamia en el género, no permiten una clara diferenciación entre y dentro de especies. En contraste los marcadores bioquímicos se presentan como una alternativa de bajo costo y confiable para caracterizar genéticamente un gran número de individuos. El objetivo del presente trabajo fue analizar con isoenzimas la diversidad genética de poblaciones de amaranto. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Marcadores Genéticos del Colegio de Postgraduados en 22 poblaciones nativas, cinco variedades comerciales y tres accesiones de origen sudamericano; con 11 isoenzimas y nueve plantas de 45 días de edad por población. Con base en las 11 isoenzimas analizadas, se identificaron 15 loci con un total de 37 alelos. Se observaron 13 loci polimórficos y 2 monomórficos lo que representó el 86.6% de polimorfismo entre poblaciones. El número de alelos por locus varió entre uno y cuatro, con un promedio de 2.46 alelos/locus. La variabilidad genética dentro de poblaciones fue de 33.33 a 66.67%, con 1.33 a 1.67 alelos por locus. El análisis de componentes principales con base en el origen de las poblaciones separó los grupos poblacionales de México de los sudamericanos. Los dos primeros componentes del análisis de las poblaciones explicaron el 36.7% de la variabilidad total. La distribución de las poblaciones en el plano de los dos primeros componentes separó a las variedades mejoradas entre ellas, y de las poblaciones nativas. En el análisis de conglomerados ocho poblaciones individuales se diferenciaron de los grupos formados por la especie *A. caudatus* y de cuatro grupos integrados con poblaciones nativas. Se identificaron enzimas y alelos específicos en las especies y en las poblaciones.

Palabras clave: *Amaranthus* spp., diversidad genética, isoenzimas, polimorfismo.

ISOENZYMATIC DIVERSITY IN NATIVE AMARANTH POPULATIONS

SUMMARY

Genetic diversity of amaranth (*Amaranthus* spp.) has been studied mainly based on morphological characteristics. However, such characteristics are highly influenced by the environment, and their high genus allogamy does not allow for a clear differentiation between and among species. Biochemical markers are a low-cost, accurate alternative for genetic characterization of a high number of individuals. This work analyzed genetic diversity, using isoenzymes, of amaranth populations in Central Mexico. Analyses were carried out at the Genetic Markers Lab at Colegio de Postgraduados. 22 native populations, five commercial varieties and three South American accessions were analyzed with 11 isoenzymatic systems. Samples from nine 45-days old plants per populations were taken. 15 loci and 37 alleles were identified. 86.6 % of the polymorphism among populations was made up of 13 polymorphic loci and 2 monomorphic loci. The number of alleles per locus varied between one and four, averaging 2.46. Genetic variability within populations was 33.33 to 66.67 % with 1.33 to 1.67 alleles per locus for the genotypes under study. ACP separated population groups of Mexican origin from South American ones. The first two components of the analysis of the populations explained 36.7 % of total variability. In CP1, the alleles that contributed more were EST A, GOT-1 and GOT-1 B; in CP2, it was DIA-2. Population distribution on the plane separated mainly the improved varieties, among them and with respect to the native populations. In cluster analysis, eight populations were separated from the groups formed by *A. caudatus* and from four native population groups. Specific enzymes and alleles were identified in the species and populations.

Keywords: *Amaranthus* spp., genetic diversity, isoenzymes, polymorphisms.

INTRODUCCIÓN

El género *Amaranthus* es considerado un grupo complicado desde el punto de vista taxonómico. Se ha intentado diferenciar a las especies con base en caracteres morfológicos fácilmente distinguibles, pero dada la plasticidad de la forma de crecimiento, dependiente de la duración del día así como de otras variables ambientales, estos criterios han sido poco útiles. En la actualidad se considera a los caracteres florales como esenciales para la clasificación, aunque requieren mucha experiencia y el conocimiento de las especies (Mapes, 1990).

El alto grado de alogamia es otro problema en la caracterización de la especie, fenómeno que permite la obtención de híbridos interespecíficos de forma natural y en muchos casos se ha encontrado hibridación introgresiva, así como inviabilidad y esterilidad en híbridos interespecíficos (Pal y Khoshoo, 1972)-

La caracterización de la variabilidad genética de las especies de amaranto se ha enfocado en la fenología, altura de planta, resistencia al acame y enfermedades, androesterilidad, tamaño de semilla y resistencia a sequía (Lozoya, 1994). Dado que las características morfológicas no son suficientes para una caracterización robusta, las técnicas moleculares como RFLPs y RAPDs han permitido diferenciar y agrupar genéticamente las especies cultivadas de amaranto (Transue *et al.*, 1994; Legaria, 2010), pero el acceso a estas técnicas es difícil, por lo que el uso de isoenzimas representa una alternativa factible.

El uso de geles de almidón y la tinción histoquímica de proteínas mostraron la presencia de las isoenzimas, que son formas moleculares múltiples que catalizan una misma reacción dentro de un organismo. El efecto de una modificación alélica puede ser detectado con certeza, debido a un cambio de movilidad electroforética. La sensibilidad electroforética revolucionó los estudios de diversidad genética en muchas especies. Las principales

características de las isoenzimas incluyen la simplicidad, mínima cantidad del material en estudio, bajo costo, una cobertura del genoma de 10 a 20 loci por especie, y ausencia de epistásis e influencias ambientales. Dado que la expresión alélica es codominante, es posible comparar entre especies y poblaciones de una misma especie y detectar la presencia de híbridos e introgresión de genes (Paredes y Gepts, 1995).

Los pocos estudios publicados de amaranto con isoenzimas, muestran resultados contrastantes debido a la variabilidad de los genotipos estudiados, y no explican las técnicas empleadas ni las enzimas evaluadas.

Un estudio con nueve sistemas enzimáticos (Hauptli y Berkeley, 1990) mostró un alto grado de polimorfismo entre y dentro de poblaciones de amaranto, y determinó que algunas poblaciones vecinas pueden ser caracterizadas por diferentes alelos o aloenzimas. Kulakow y Hauptli (1994) estudiaron los patrones geográficos de la diversidad de aloenzimas en amarantos silvestres y cultivados, y encontraron que las especies cultivadas están más estrechamente relacionadas entre ellas que con las especies silvestres, con excepción de *A. caudatus* y *A. quitensis* en las que se validó la hipótesis de que la especie cultivada proviene de la especie silvestre. La variación isoenzimática en muestras de grano y hojas de amaranto en la India, mostraron polimorfismo en los loci de Esterasa y otras cuatro isoenzimas fueron monomórficas en casi todas las poblaciones; además se distinguieron dos grupos genéticos con base en la fijación de alelos de las aloenzimas, uno para producción de grano y otro para uso de la hoja (Joshi y Rana, 1992). En relación con el patrón de variación isoenzimática en las principales razas cultivadas de amaranto de grano en México, en las especies *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* el análisis de 21 isoenzimas (30 loci) en una población de 790 individuos de 79 accesiones mostró un polimorfismo muy bajo (Molina, 1995).

El presente estudio se llevó a cabo con el objetivo de evaluar el grado de diversidad genética mediante isoenzimas en 30 poblaciones nativas de amaranto cultivadas en los estados centrales de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

En mayo de 2012, en un lote del Colegio de Postgraduados en parcelas de dos surcos por 5 m de largo, se sembró el germoplasma de amaranto colectado en el ciclo anterior compuesto por 22 poblaciones nativas provenientes de los estados del centro de México además de cinco variedades comerciales mexicanas, así como tres variedades de Ecuador, dos de grano blanco y una de grano negro (Cuadro 1). A los 45 días después de la siembra, de cada población se muestrearon 12 plántulas que presentaban al menos 4 hojas verdaderas desarrolladas.

Cuadro 1. Procedencia y nombre de 30 poblaciones de amaranto analizadas con isoenzimas. Montecillo, 2012.

Procedencia	Abreviatura	Número	Poblaciones
Distrito Federal	DF	3	Mixquic 09-02, Rojo Azteca, Tulyehualco
Estado de México	EMEX	3	Acoyotepec, Ameca 03, Ameca 04
Guerrero	GUER	4	Acapetla M1, Acapetla M3, Ocotepec, Sabino Alto
Michoacán	MICH	3	Mich A1, Mich A3, Mich A6
Morelos	MOR	4	Amarilla, Amilcingo, Mor 09-M3, Payasita
Tlaxcala	TLAX	5	Criolla, Huazulco, Laguna, Mixco 2, Sabino
Variedades	VAR	5	DGETA, Gabriela, Dorada, Nutrisol, Revancha
Ecuador	ECU	3	Chimborazo, Alegría, Perucho

Con el objetivo de validar los métodos de extracción e identificar los tejidos vegetales y los sistemas isoenzimáticos a utilizar se realizaron dos ensayos preliminares. En todos los corrimientos se usaron extractos enzimáticos de la variedad de frijol ICA PIJAO como testigos.

En el primer ensayo exploratorio se evaluó tejido de raíz y hoja de 15 individuos de la población Rojo Azteca que son plantas de crecimiento rápido, en tres tipos de geles y con 15 isoenzimas con base en el protocolo modificado de Stuber *et al.* (1988) del Laboratorio de Marcadores Genéticos del Colegio de Postgraduados, y se observaron bandeos claros en nueve sistemas. En el segundo ensayo exploratorio se intercambiaron geles con 14 isoenzimas; se trabajó con tres individuos de siete poblaciones nativas y tres variedades mejoradas donde se obtuvieron zimogramas con buena resolución en 11 isoenzimas, que fueron seleccionadas para el estudio completo. En el Cuadro 2, se presentan los sistemas isoenzimáticos, el tipo de gel de acuerdo con la clasificación de Stuber *et al.* (1988) y el tejido estudiado de las poblaciones de amaranto.

Cuadro 2. Sistemas enzimáticos, tipo de gel y tejido vegetal analizado de 30 poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.

Código	Enzima	Sistema	Tejido
CAT	Catalasa	C	Hoja
DIA	Diaforasa	D	Raíz
EST	Esterasa	C	Hoja
GOT	Glutamato oxalacetato transaminasa	C	Hoja
IDH	Isocitrato deshidrogenasa	D	Hoja
MDH	Malato deshidrogenasa	D	Hoja
PGD	6-Fosfogluconato deshidrogenasa	D	Raíz
PGM	Fosfoglucomutasa	D	Hoja
PHI	Fosfato isomerasa	D	Hoja
RB	Ribulato bibosfato carboxilasa	C	Hoja
SAD	Shikimato deshidrogenasa	D	Raíz

Extracción de enzimas.- Las plántulas seleccionadas se lavaron, se utilizaron cortes de 2 cm de raíz y 1 cm de diámetro de las hojas; los tejidos se colocaron en tubos Eppendorf® de 1.5

mL con 100 μ L de solución de extracción, los que fueron macerados por tres segundos con un taladro eléctrico adaptado con una punta plástica, para luego agregarles 50 μ L de solución extractora y conservarlos en hielo. Los tubos con la muestra macerada se centrifugaron por 20 minutos a 14000 rpm y a 4 °C (Centrífuga marca Beckman GS-15R); al final del ciclo con una micropipeta se extrajo el sobrenadante y se colocó en tubos Eppendorf® de 0.5 mL para mantenerlos en el congelador del laboratorio a -28 °C.

Preparación de geles.- Para la electroforesis se utilizaron los sistemas C y D con las soluciones buffer preparadas con base en el protocolo del laboratorio. Para la preparación del gel tipo C, se colocaron 250 mL de solución buffer en un matraz de 1 litro que fue calentado en el microondas por 4 minutos hasta punto de ebullición; la solución caliente se vació sobre otro matraz que contenía 100 mL de solución buffer con 14 g de azúcar refinada, 32 g de almidón (Sigma COD 4501) y 10 g de almidón (Sigma COD 5651), que fue nuevamente calentado en microondas por 2 minutos, al final de los cuales se vertió el contenido sobre los moldes previamente nivelados. Para la preparación del gel tipo D, se colocaron 350 mL de solución buffer en un matraz de 1 litro, que fue calentado en microondas por 4 minutos hasta punto de ebullición; la solución caliente se vació sobre otro matraz que contenía 100 mL de solución buffer con 14 g de azúcar refinada, 42 g de almidón (Sigma COD 4501) y 20 g de almidón (Sigma COD 5651), que fue nuevamente calentado en microondas por 2 minutos, al final de los cuales se vertió su contenido sobre los moldes previamente esterilizados y nivelados.

En ambos casos los moldes con el gel se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 1 hora, se cubrieron con película auto adherible y se dejaron en reposo a temperatura ambiente por 12 horas. Antes de cargar las muestras se mantuvieron los moldes en refrigeración a 4 °C por 20 minutos.

Previo al cargado de las muestras en los geles, los tubos con las enzimas fueron descongeladas en el refrigerador a 4 °C por 30 minutos. Se trabajaron con muestras de raíz y hoja de 9 individuos de cada población; en cada gel se evaluaron tres poblaciones y se colocaron como testigos a los extremos del gel y entre las poblaciones, muestras de enzimas de frijol (ICA PIJAO). En los extremos de los geles se colocaron dos tirillas de azul de bromofenol para observar el avance de la electroforesis. Para la colocación de las muestras con las enzimas se utilizaron tirillas de papel filtro No 4 de 12 mm de largo por 2 mm de ancho, sumergidas en el extracto isoenzimático.

Electroforesis.- Los geles con las muestras se colocaron en el refrigerador en sus respectivas cámaras de corrimiento electroforético que contenían 350 mL de buffer electrodo del tipo del gel usado. Dado que el movimiento de las enzimas ocurre en dirección negativo positivo, el ánodo (-) y el cátodo (+) fueron conectados de acuerdo a la ubicación de las muestras. Se colocó una bolsa de agua con hielo sobre los geles, para evitar el sobrecalentamiento, y se calibraron las fuentes de poder a 240 y 140 voltios para los geles C y D, respectivamente. Los tiempos de corrimiento fueron de 4 a 5 horas en el sistema C y de 5 a 6 horas en el sistema D.

Revelado.- Una vez que se observó la llegada de las columnas de azul de bromofenol al extremo positivo de los geles, se les desconectó y se procedió al rebanado de los geles, de los que se obtuvieron de 4 a 6 rebanadas por molde, las que fueron colocadas en diferentes cajas, según la enzima a revelar. El proceso de tinción fue específico para cada tipo de enzima y se trabajó con los reactivos de acuerdo a los protocolos establecidos en el laboratorio.

Cada enzima tuvo diferente tiempo y ambiente de revelado, en la forma siguiente: 1 h en estufa para PGM y PHI; 12 h en estufa para EST, IDH, MDH, PGD y SAD; 12 h en ambiente para CAT y RB; 12 h en ambiente oscuro para GOT; y 12 h 4 °C en el refrigerador para DIA. Luego del revelado los geles se lavaron con agua corriente y se mantuvieron en solución

fijadora por un día, se volvieron a lavar los geles y se les colocó en glicerol por otro día, para luego proceder a empaquetarlos con papel celofán natural sobre placas de vidrio. Se dejó secar las placas por 3 días y se terminó etiquetando los zimogramas para fotografiarlos.

Lectura y registro de información.- La lectura de los bandeos isoenzimáticos se realizó colocando los zimogramas sobre una lámpara luminosa de luz blanca que permitió una mejor identificación de las bandas propias de la expresión de los alelos en cada uno de los loci identificados. La nomenclatura de cada locus fue dada con base en el código de la enzima y su número ordinal correspondiente, y dentro de ellos a cada alelo se le asignó la categoría que le correspondió de acuerdo a su desplazamiento. Se partió de los alelos más frecuentes, a los que se les asignó la categoría 100 y con base en ellos se establecieron valores entre 90 (bajo) y 110 (sobre), de acuerdo a la ubicación de la banda del otro alelo en cada locus. Los datos fueron tabulados en una hoja electrónica; los valores asignados para cada alelo fueron reemplazados por las primeras letras del alfabeto; y se juntaron los alelos para la identificación de cada locus en cada individuo estudiado.

Las frecuencias alélicas y las distancias genéticas de los grupos poblacionales y de las poblaciones individuales, se analizaron en los programas POPGENE (Yeh y Yang, 1999) y NTSYSpc (Rohlf, 1998), respectivamente. Previamente los datos en nomenclatura alfabética, se guardaron en formato TXT delimitado por tabulaciones, para ser trabajados con estos programas (González, 2012). Como indicadores de la variabilidad genética de las poblaciones se usó el porcentaje de polimorfismo y el número de alelos por locus. Con las frecuencias alélicas calculadas para cada población y sin estandarizar los datos, se realizó el análisis de componentes principales con base en la matriz de varianzas y covarianzas; con las distancias genéticas y euclidianas, con el método del ligamiento promedio (UPGMA) se realizó el análisis de conglomerados en el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2012)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 11 isoenzimas analizadas (Cuadro 3), se identificaron 15 loci con un total de 37 alelos. Se obtuvieron 13 loci polimórficos y 2 monomórficos lo que representó el 86.6% de polimorfismo. El número de alelos por locus varió entre uno y cuatro, con un promedio de 2.46 alelos/locus.

Cuadro 3. Sistemas enzimáticos, loci y número de alelos identificados en 30 poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.

ENZIMA	LOCUS	Número de alelos
Catalasa	CAT	3
Diaforasa	DIA – 1	3
	DIA – 2	3
Esterasa	EST	4
Transaminasa glutámico-oxalacética	GOT – 1	2
	GOT – 2 *	1
Isocitrato deshidrogenasa	IDH *	1
Malato deshidrogenasa	MDH – 1	2
	MDH – 2	3
Phosphogluconato deshidrogenasa	PGD	3
Phosphoglucomutasa	PGM	3
Phosphohexosa isomerasa	PHI – 1	2
	PHI – 2	2
Rubisco	RB	3
Ácido shikímico deshidrogenasa	SAD	2

* *Locus monomórfico*

En las enzimas DIA, GOT, MDH y PHI se observaron dos loci y en las restantes un locus por enzima. Los loci IDH y GOT-2 fueron monomórficos. GOT-1, MDH-1, PHI-1, PHI-2 y SAD presentaron dos alelos. En los loci CAT, DIA-1, DIA-2, MDH-2, PGD, PGM y RB se identificaron tres alelos y EST presentó cuatro alelos.

Las frecuencias alélicas para los grupos poblacionales (Cuadro 4), presentaron comportamientos distintos para las enzimas de acuerdo a cada grupo poblacional. En CAT se observó que 5 grupos fueron monomórficos para CAT A, los genotipos provenientes de Tlaxcala y del Estado de México presentaron el alelo CAT B, las variedades presentaron el alelo CAT C y en las de Guerrero se observaron los tres alelos. Para el locus DIA-1 fue alta la frecuencia del alelo DIA-1 A en todos los grupos, el alelo DIA-1 B apareció en cuatro grupos, mientras que DIA-1 C fue característico únicamente del grupo de variedades. En la misma enzima en el segundo locus cinco grupos fueron monomórficos para el alelo DIA-2 A; los grupos de Tlaxcala, Morelos y Guerrero presentaron el alelo DIA-2 B y únicamente en las variedades se observó DIA-2 C.

EST fue la enzima que presentó mayor polimorfismo al identificarse cuatro alelos, predominando los alelos EST A y EST B en todos los grupos poblacionales; en baja frecuencia se observó al alelo EST C en las poblaciones provenientes de Morelos, DF y las variedades, al igual que el alelo EST D en las poblaciones de Tlaxcala, Estado de México y Michoacán. En GOT 1 se registró de media a alta frecuencia de los dos alelos identificados en todos los grupos, excepto en la especie *A. caudatus* representada por el grupo de Ecuador de grano blanco que solo presentó el alelo GOT-1 A. En el locus MDH-1 se observó que las poblaciones de Ecuador fueron monomórficas para el alelo A, mientras que el alelo B se presentó en todas los grupos poblacionales mexicanos.

El grupo de Morelos fue monomórfico para MDH-2 y el Estado de México para PGD. Las frecuencias alélicas de PGM A y PGM B fueron similares dentro de las poblaciones mexicanas, en tanto que PGM C es característico de los genotipos ecuatorianos.

Cuadro 4. Frecuencias alélicas de los grupos poblacionales de 30 genotipos de amaranto. Montecillo, 2012.

ALELOS	ORIGEN*								
	ECUN	ECUB	VAR	TLAX	EMEX	MOR	GUER	DF	MICH
CAT A	1,00	1,00	0,90	0,91	0,74	1,00	0,82	1,00	1,00
CAT B	0,00	0,00	0,00	0,09	0,26	0,00	0,06	0,00	0,00
CAT C	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00
DIA-1 A	0,89	0,94	0,51	1,00	1,00	1,00	0,97	1,00	1,00
DIA-1 B	0,11	0,06	0,27	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
DIA-1 C	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
DIA-2 A	1,00	1,00	0,76	0,77	1,00	0,69	0,44	1,00	1,00
DIA-2 B	0,00	0,00	0,00	0,23	0,00	0,31	0,56	0,00	0,00
DIA-2 C	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
EST A	0,50	0,75	0,60	0,44	0,46	0,38	0,63	0,33	0,46
EST B	0,50	0,25	0,30	0,50	0,50	0,50	0,38	0,59	0,50
EST C	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,13	0,00	0,07	0,00
EST D	0,00	0,00	0,00	0,06	0,04	0,00	0,00	0,00	0,04
GOT-1 A	0,72	1,00	0,76	0,56	0,50	0,53	0,50	0,59	0,54
GOT-1 B	0,28	0,00	0,24	0,44	0,50	0,47	0,50	0,41	0,46
GOT-2 A	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
IDH-A	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
MDH-1 A	1,00	1,00	0,89	0,68	0,65	0,75	0,93	0,70	0,72
MDH-1 B	0,00	0,00	0,11	0,32	0,35	0,25	0,07	0,30	0,28
MDH-2 A	0,89	0,89	0,98	0,91	0,83	1,00	0,81	0,09	0,93
MDH-2 B	0,11	0,11	0,00	0,07	0,00	0,00	0,14	0,00	0,07
MDH-2 C	0,00	0,00	0,02	0,02	0,17	0,00	0,06	0,11	0,00
PGD A	0,78	0,89	0,71	0,91	1,00	0,94	0,92	0,63	0,96
PGD B	0,11	0,11	0,29	0,09	0,00	0,00	0,00	0,07	0,04
PGD C	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,08	0,30	0,00
PGM A	0,11	0,00	0,51	0,50	0,50	0,54	0,50	0,50	0,52
PGM B	0,00	0,00	0,49	0,50	0,50	0,46	0,50	0,50	0,48
PGM C	0,89	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PHI-1 A	1,00	1,00	1,00	0,96	1,00	0,75	0,82	0,96	1,00
PHI-1 B	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,25	0,18	0,04	0,00
PHI-2 A	0,56	0,56	0,68	0,32	0,54	0,71	0,61	0,56	0,59
PHI-2 B	0,44	0,44	0,32	0,68	0,46	0,29	0,39	0,44	0,41
RB A	0,11	0,78	0,71	0,73	0,85	0,92	0,72	0,74	0,59
RB B	0,89	0,06	0,29	0,09	0,00	0,00	0,11	0,26	0,33
RB C	0,00	0,17	0,00	0,18	0,15	0,08	0,17	0,00	0,07
SAD A	0,56	0,89	0,84	0,81	0,63	0,68	0,90	1,00	0,52
SAD B	0,44	0,11	0,16	0,19	0,37	0,32	0,10	0,00	0,48
% Polimorfismo	60.0	46.7	80.0	80.0	60.0	66.7	86.7	60.0	60.0

* ECUN Ecuador grano negro, ECUB Ecuador grano blanco

El locus PHI-1 presentó dos alelos, y el alelo PHI-1 B se expresó en baja frecuencia sólo en los grupos de Tlaxcala, Morelos, Guerrero y DF. En el locus PHI-2 se observaron frecuencias similares de los dos alelos identificados en todos los grupos de procedencia. RB presentó los tres alelos en cuatro grupos poblacionales; en las poblaciones de ECUN, variedades mexicanas y DF no se presentó el alelo RB C; Estado de México y Morelos no presentaron el alelo RB-B. Para SAD se observó alta frecuencia del alelo SAD A en todos los sitios de procedencia y DF presentó sólo este alelo. La alta frecuencia de loci monomórficos en los grupos poblacionales es un indicador de la preponderancia de la homocigosidad lo que puede deberse a la autogamia de la especie (Hauptli y Berkeley, 1990).

Los grupos poblacionales de Guerrero, Tlaxcala y Variedades presentaron los mayores porcentajes de polimorfismo, es decir mayor diversidad entre las accesiones que conformaron estos grupos.

Con las frecuencias alélicas de los grupos poblacionales se realizó el ACP y se observó que los dos primeros componentes explicaron 60% de la variabilidad (Figura 1). El CP1 estuvo altamente correlacionado con los sistemas enzimáticos GOT, PGM y RB, mientras que el CP2 tuvo mayor aporte de la variabilidad proveniente de DIA, EST y MDH (datos no presentados). La distribución espacial de lugares de procedencia en el plano de los dos primeros componentes claramente separa los grupos de Ecuador de los materiales mexicanos que se aglomeran en la parte central de los cuadrantes, y entre los grupos ecuatorianos se pudo identificar la separación de los genotipos de grano blanco del genotipo de grano negro.

Contrario a lo obtenido por Molina (1995) quién concluyó que existe poca diferenciación genética y que las distancias de Nei son muy cercanas a cero, en el presente estudio se registraron distancias genéticas que permitieron separar las especies. Además se observó que los grupos poblacionales están muy correlacionados con la designación de las razas,

agrupándose Guerrero y Morelos como estados de origen de la raza Mexicana; Tlaxcala, Estado de México y DF como origen de la raza Azteca y Michoacán correspondiente a la raza Mixteca (Espitia *et al.*, 2010).

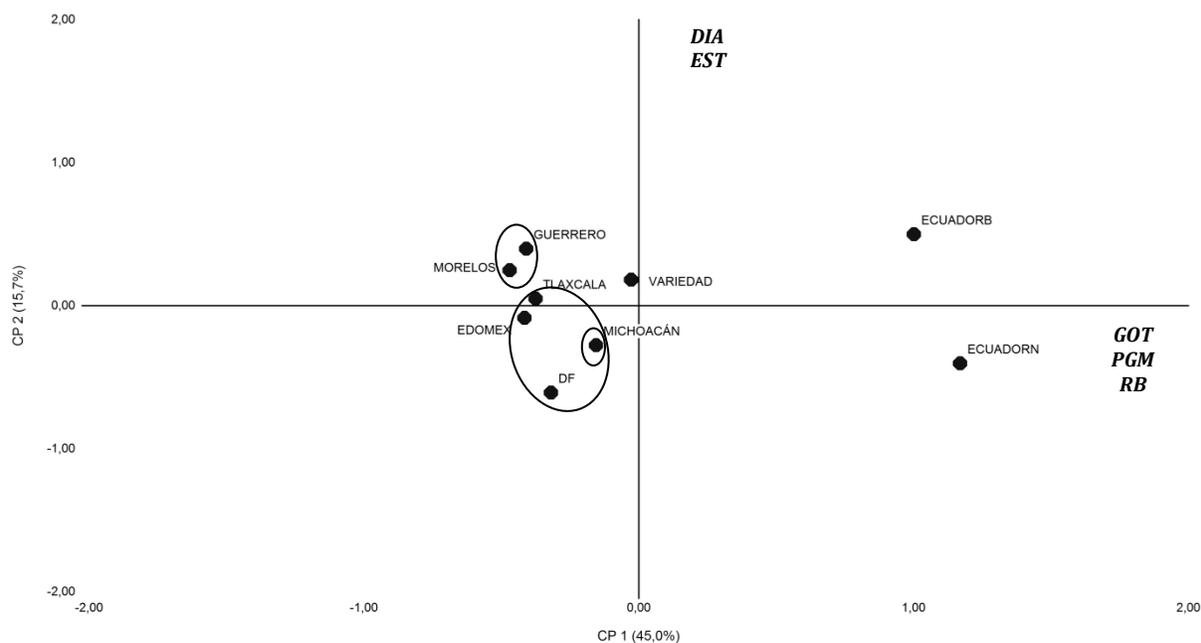


Figura 1. Distribución espacial de grupos poblacionales de accesiones de amaranto por origen con base en las frecuencias alélicas de 11 isoenzimas. Montecillo, 2012.

En el análisis dentro de las poblaciones (Cuadro 5) se observó polimorfismo entre 33.33 y 66.67% con 1.33 y 1.67 alelos por locus para los genotipos estudiados, rango que coincide con el 44% de polimorfismo determinado por el estudio de Hauptli y Berkeley (1990) y en base a estos indicadores se determinó que existió menor variabilidad dentro de poblaciones principalmente de la especie *A. caudatus*, de tres variedades mexicanas y de las poblaciones Acoyotepec y Amarilla, en tanto que en las poblaciones de Guerrero se observó mayor variabilidad, principalmente dentro de Ocotepc y Sabino Alto; las variedades Chimborazo y Gabriela también presentaron altos valores de polimorfismo, lo cual puede estar asociado con el grado de mejoramiento genético y de alogamia. El porcentaje de polimorfismo entre

poblaciones (86.66%) fue mayor que dentro de ellas, lo que coincide con los resultados obtenidos por Gudu, citado por Joshi y Rana (1992).

Cuadro 5. Porcentaje de polimorfismo y número de alelos por locus en poblaciones de amaranto. Montecillo, 2012.

% Polimorfismo	Alelos / Locus	Poblaciones
33.33	1.33	Alegría. Perucho (ECU). Nutrisol (VAR). Acoyotepec (EMEX). Amarilla (MOR)
40.00	1.47	Revancha. DGETA (VAR)
46.67	1.47	Huazulco. Mixco 2 (TLAX). Ameca 04 (EMEX). MOR 09-M3. Payasita. Amilcingo (MOR)
46.67	1.53	Criolla (TLAX). Ameca 03 (EMEX)
46.67	1.60	Mixquic 09-02 (DF). MICH A1 (MICH)
53.33	1.53	Dorada (VAR). Sabino (TLAX). MICH A3 (MICH). Rojo Azteca . Tulyehualco (DF)
53.33	1.60	Acapetla M2 (GUER)
60.00	1.60	Acapetla M3 (GUER). MICH A6 (MICH)
60.00	1.67	Chimborazo (ECU). Gabriela (VAR). Laguna (TLAX)
66.67	1.67	Ocotepec. Sabino Alto (GUER)
86.66	2.37	TOTAL

Con las frecuencias alélicas de las poblaciones estudiadas se realizó el ACP, y debido al alto número de alelos que intervinieron en la caracterización de las poblaciones con los dos primeros componentes, se explicó 36.7% de la variabilidad total. En el CP1 los alelos de mayor contribución fueron EST A, GOT-1 A y GOT-1 B; en el CP2 los alelos de mayor importancia fueron los del locus DIA-2.

Cuadro 6. Valores y vectores propios de los dos primeros componentes del ACP de poblaciones de amaranto con base en 11 enzimas (35 alelos en 13 loci). Montecillo, 2012.

Alelos	e1	e2	Alelos	e1	e2
CAT A	-0.04	0.04	MDH-2 A	0,02	0,01
CAT B	-0.04	-0.01	MDH-2 B	0,01	0,01
CAT C	0.08	-0.03	MDH-2 C	-0,03	-0,01
DIA-1 A	-0.28	0.03	PGD A	-0,28	0,08
DIA-1 B	0.09	0.02	PGD B	0,30	-0,02
DIA-1 C	0.20	-0.05	PGD C	-0,02	-0,06
DIA-2 A	-0.16	0.46	PGM A	-0,13	-0,21
DIA-2 B	-0.09	-0.41	PGM B	-0,14	-0,05
DIA-2 C	0.25	-0.06	PGM C	0,27	0,26
EST A	0.32	0.07	PHI-1 A	0,04	0,28
EST B	-0.28	0.03	PHI-1 B	-0,04	-0,28
EST C	-0.01	-0.09	PHI-2 A	0,02	-0,10
EST D	-0.03	-0.01	PHI-2 B	-0,02	0,10
GOT-1 A	0.31	0.08	RB A	0,10	-0,20
GOT-1 B	-0.31	-0.08	RB B	-0,04	0,25
MDH-1 A	0.21	-0.09	RB C	-0,06	-0,05
MDH-1 B	-0.21	0.09	SAD A	0,06	-0,28
			SAD B	-0,06	0,28
Valor Propio				0.25	0.24
Variación explicada %				18.5	18.2
Variación acumulada %				18.5	36.7

La distribución de las poblaciones en el plano de los dos primeros componentes (Figura 2) mostró al igual que con los grupos poblacionales, la separación de los genotipos de origen ecuatoriano que se ubicaron en el Cuadrante I. También se observó la amplia separación de las poblaciones Nutrisol, Dorada, Amarilla. En el Cuadrante III predominan las poblaciones de Guerrero. En el Cuadrante IV se agruparon mayor número de poblaciones procedentes de Michoacán y DF, principalmente. La mayor variabilidad se observó en las poblaciones de

Morelos, Tlaxcala y en el grupo de variedades mejoradas, ya que se distribuyeron a lo largo y ancho del espacio estudiado.

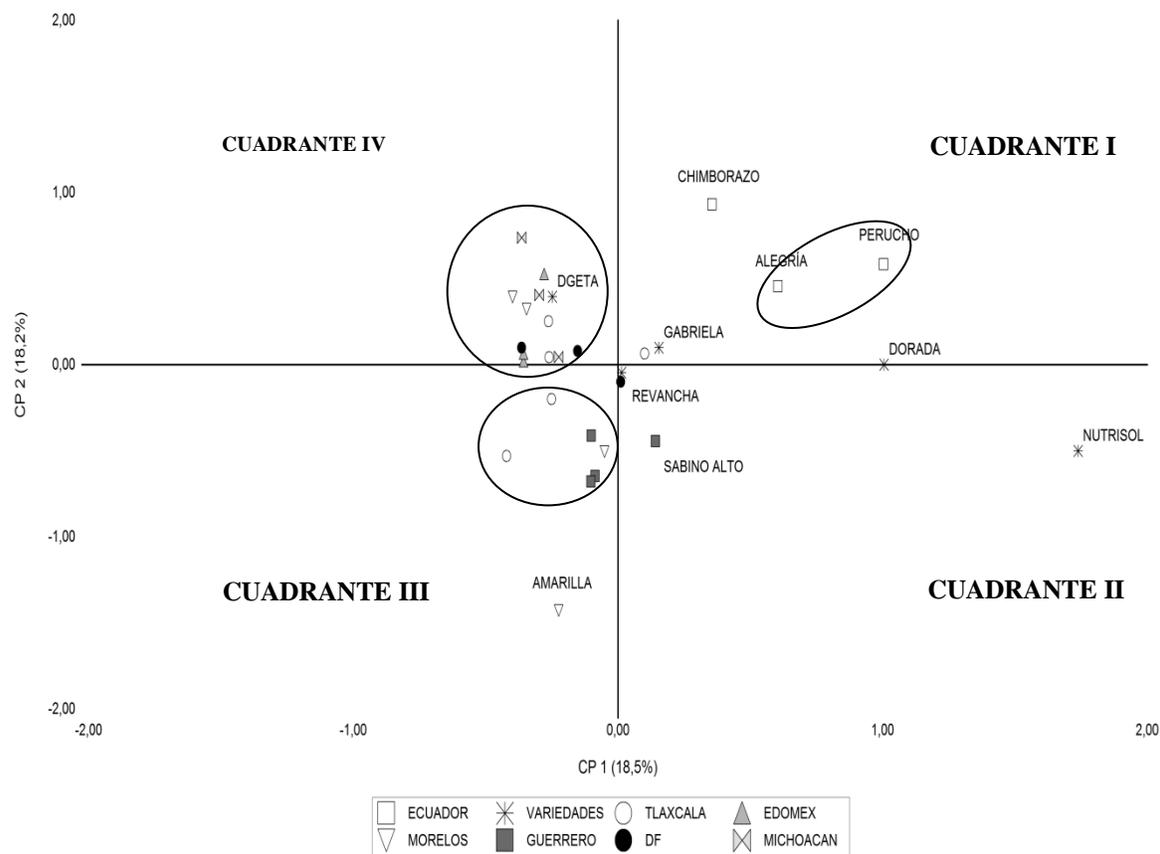


Figura 2. Dispersión de 30 poblaciones de amaranto en el plano de los dos primeros componentes principales en base a las frecuencias alélicas determinadas por el análisis de 11 isoenzimas. Montecillo, 2012.

En el análisis de conglomerados a la distancia euclidiana de 1.24 se obtuvieron 11 grupos (Figura 3) de los que ocho, ubicados en la parte alta del dendrograma, fueron integrados por una sola población, es decir, que genéticamente fueron diferentes de todas las poblaciones estudiadas. Las poblaciones con esta característica fueron: Nutrisol, Dorada, Gabriela, DGETA (variedades comerciales), la variedad Chimborazo proveniente de Ecuador, además de tres poblaciones nativas procedentes de los estados de México, Guerrero y Morelos. En un

conglomerado distinto, pero cercano a Chimborazo, se ubicaron las variedades de la especie *A. caudatus*; otro conglomerado (6POB) agrupó las poblaciones Sabino, Laguna (Tlaxcala), Amilcingo (Morelos), Ocoteppec, Acapetla M3 y Acapetla M2 (Guerrero). El conglomerado más grande (14POB) fue conformado por la variedad comercial Revancha y 13 poblaciones nativas provenientes de todos los estados estudiados excepto las de Guerrero y de Ecuador.

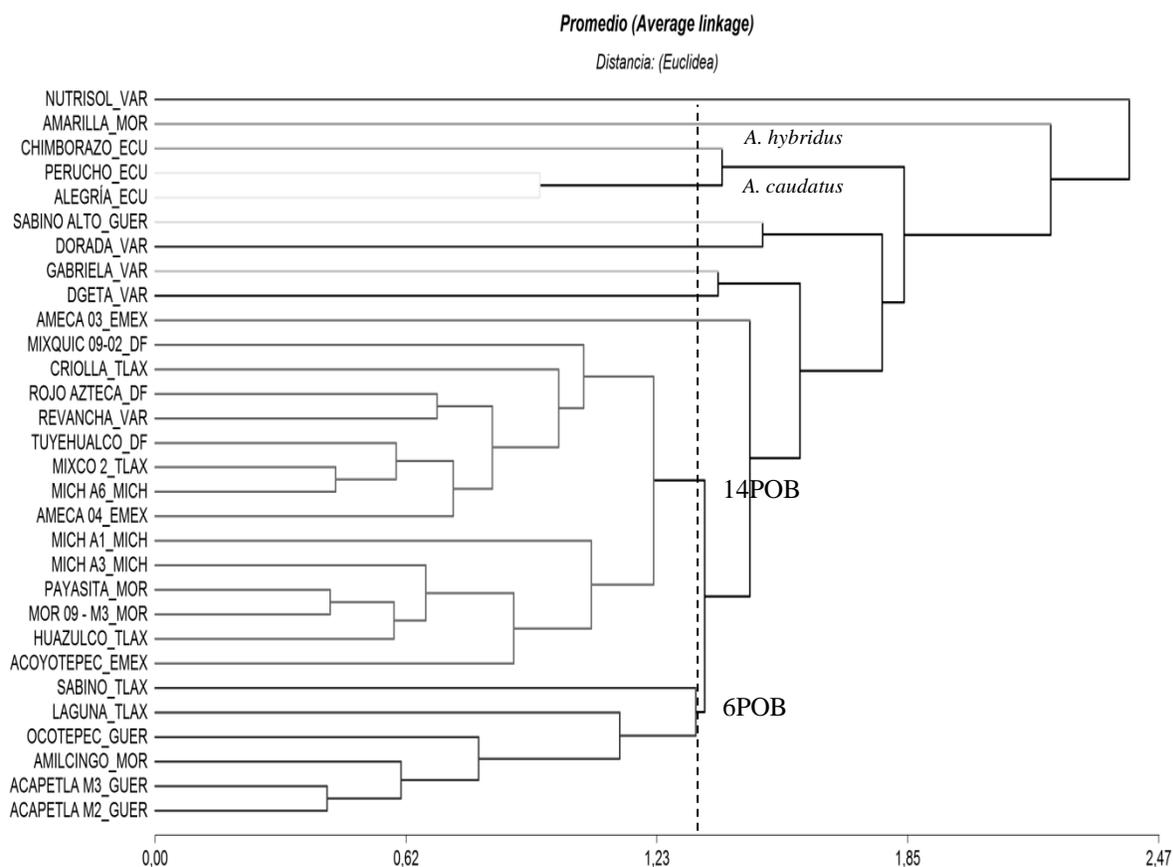


Figura 3. Dendrograma de 30 poblaciones de amaranto en base a las distancias euclidianas estimadas a partir de las frecuencias alélicas y con el método UPGMA. Montecillo, 2012.

Con base en las frecuencias alélicas, se identificaron alelos discriminantes para los conglomerados (Cuadro 7). Se observó que PGM C estuvo presente únicamente en las especies provenientes de Sudamérica y para separar dentro de las especies sudamericanas se

observó diferente frecuencia de RB A. Las poblaciones y variedades mexicanas se diferenciaron por la presencia de los alelos: CAT B, CAT C, DIA-1 C, DIA-2 B, EST C que se expresaron en determinados grupos; o se diferenciaron también por la ausencia de alelos como es el caso de PH-1 A y RB A para Amarilla y DGETA, respectivamente. Los conglomerados formados 6 y 14 poblaciones se diferenciaron entre ellos por la presencia del alelo DIA-2 B.

Cuadro 7. Frecuencia de los alelos discriminantes para la formación de conglomerados de poblaciones de amaranto de acuerdo a las distancias euclidianas. Montecillo, 2012.

Conglomerado	ALELOS								
	CAT B	CAT C	DIA-1 C	DIA-2 B	DIA-2 C	EST C	PGM C	PHI-1 A	RB A
Nutrisol	---	---	0.78	---	0.78	---	---	1.00	1.00
Amarilla	---	---	---	0.61	---	0.50	---	---	1.00
<i>A. hybridus</i>	---	---	---	---	---	---	0.89	1.00	0.11
<i>A. caudatus</i>	---	---	---	---	---	---	1.00	1.00	0.78
Sabino Alto	---	0.50	---	0.50	---	---	---	0.67	0.89
Dorada	---	0.50	---	---	0.44	---	---	1.00	1.00
Gabriela	---	---	0.33	---	---	0.50	---	1.00	0.56
DGETA	---	---	---	---	---	---	---	1.00	---
Ameca 03	0.78	---	---	---	---	---	---	1.00	1.00
14POB	0.02	---	---	---	---	0.02	---	0.99	0.75
6POB	0.06	---	---	0.58	---	---	---	0.90	0.72

CONCLUSIONES

Las isoenzimas presentaron la resolución suficiente para caracterizar la variabilidad genética de las poblaciones de amaranto. Se identificaron 37 alelos en 15 loci de 11 sistemas enzimáticos. Se observó variabilidad en las frecuencias alélicas de los grupos poblacionales y entre las poblaciones individuales. Los grupos de Guerrero, Tlaxcala y variedades presentaron sobre el 80% de polimorfismo. La distribución de los grupos poblacionales en el espacio determinado por los dos primeros componentes principales mostró una clara separación genética entre las especies y entre razas de acuerdo al lugar de procedencia. El polimorfismo entre poblaciones fue mayor que dentro de ellas. Las variedades se separaron de las poblaciones nativas de acuerdo a su ubicación en el plano de los primeros componentes y su mayor variabilidad se expresó a lo largo del CP1. Las poblaciones provenientes de Morelos y Tlaxcala mostraron mayor variabilidad al distribuirse a lo largo del CP2. El uso de distancias euclidianas permitió una mejor identificación de los grupos respecto a las distancias genéticas de Nei. El análisis de conglomerado definió 11 grupos, ocho de los cuales correspondieron a una sola variedad o población; las variedades de la especie *A. caudatus* formaron un grupo diferente de los restantes; las poblaciones nativas se clasificaron en dos grupos grandes, uno de seis poblaciones donde predominaron las accesiones de Guerrero y el conglomerado más grande agrupó poblaciones provenientes de todos los estados y a la variedad Revancha. Se identificaron enzimas y alelos específicos para la diferenciación de poblaciones.

BIBLIOGRAFÍA

Di Rienzo J, F Casanoves, M Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, C Robledo (2012)

InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

URL <http://www.infostat.com.ar>

Espitia Rangel E, C Mapes Sánchez, D Escobedo López, M De la O Olán, P Rivas

Valencia, G Martínez Trejo, L Cortés Espinoza, J Hernández Casillas (2010)

Conservación y Uso de los Recursos Genéticos de Amaranto en México. SINAREFI-INIFAP-UNAM, Centro de Investigación Regional Centro. Celaya, Guanajuato, México. 201 pp.

González A (2012) Guía rápida del programa POPGENE. Ver 1.32. Curso Intensivo de Postgrado. UACH, México. 14 p.

Hauptli H, CA Berkeley (1990) Sumario de la colección de amaranto en América Latina

desde el punto de vista de variación genética. In: El Amaranto *Amaranthus* spp su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. Mexico. pp 239-242.

Joshi BD, RS Rana (1992) Grain amaranths: the future food crop. National Bureau of Plant Genetic Resources. Regional Station, Phagli. India. 152 pp.

Kulakow P, H Hauptli (1994) Genetic characterization of grain amaranth. In: Amaranth.

Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 9-22.

- Legaria P (2010)** Diversidad genética en algunas especies de amaranto (*Amaranthus* spp.). *Fitotecnia Mexicana*. 33 (2): 89-95.
- Lozoya E (1994)** Biotechnology for an ancient crop: Amaranth. In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 1-8.
- Mapes C (1990)** Una revisión sobre la utilización del género *Amaranthus* en México. Origen, clasificación y uso. In: El Amaranto *Amaranthus* spp. su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. México. pp 65-76
- Molina F (1995)** Variación isoenzimática en razas cultivadas de amaranto de grano. Resúmenes del XII Congreso Mexicano de Botánica. Cuernavaca, Morelos. México. 139 p.
- Nei M (1973)** Analysis of gene diversity in subdivided populations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 70:3321-3323.
- Pal M, T.N. Khoshoo (1972)** Evolution and improvement of cultivated amaranths. V. Inviability, weakness, and sterility in hybrids. *The Journal of Heredity* 63:78-82
- Paredes M, P Gepts (1995)** Extensive introgression of Middle American germplasm into Chilean common bean. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 42:29-41
- Rohlf J F (1998)** NTSYSpc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. (Ver. 2.2). Stony Brook, N.Y. USA.

Stuber C W, J F Wendel, M M Goodman, J S C Smith (1988) Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.) Technical Bulletin 286. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina. 87 pp.

Transue D, D Fairbanks, L Robison, W Andersen (1994) Species identification by RAPD Analysis of Grain Amaranth Genetic Resources. *Crop Science* 34:1385-1389.

Yeh C F, R C Yang (1999) Population Genetic Analysis (POPGENE Ver. 1.32): Quick user guide. University of Alberta, Edmonton Canada. 29 pp.

CAPÍTULO V

ESTUDIO DE RADIOSENSIBILIDAD DE POBLACIONES NATIVAS DE

AMARANTO

RESUMEN

El mejoramiento genético por inducción de mutaciones, es un método ampliamente probado en cultivos de importancia agrícola con buenos resultados. Este método permite generar variabilidad para acelerar el proceso en la obtención de variedades mejoradas para una característica determinada. La respuesta que se observa depende de la especie, de la variedad y de las condiciones del material irradiado. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de 10 genotipos de amaranto (*Amaranthus* spp.) de ocho orígenes a las dosis de 0, 100, 200, 300 y 400 Gy. Se registraron datos de altura de planta en tres fechas de muestreo, peso fresco y seco a los 45 días, sobrevivencia y frecuencia de malformaciones. Se observó correlación entre altura y peso de planta. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre genotipos, dosis y en la interacción genotipo x dosis. Con base en la línea de regresión de altura de planta a los 45 días de cada genotipo con las dosis evaluadas se clasificaron las poblaciones desde tolerantes a susceptibles a la radiación. La dosis de 542 Gy generó una pérdida de altura del 30% en poblaciones medianamente susceptibles y la de 304 Gy en susceptibles. La variedad Revancha fue la más susceptible a la radiación en la dosis de 300 Gy, con una mortalidad superior a 90%; las poblaciones nativas presentaron una DL_{50} cerca de los 300 Gy. En la dosis de 400 Gy en todos los genotipos se observó un efecto de estimulación de altura y peso de plántula en comparación con la dosis de 300 Gy, sin embargo, presentó alta frecuencia de malformaciones. La malformación más frecuente fue la de ahorcamiento en la base del tallo que afectó el crecimiento de las plantas y produjo una postura rastrera. La variedad Chimborazo de la especie *A. hybridus* de grano negro, proveniente de Ecuador fue la más resistente a la radiación gamma.

Palabras clave: *Amaranthus* spp., DL_{50} , malformaciones, mortalidad, radiación gamma.

RADIOSENSIBILITY OF NATIVES AMARANTH POPULATIONS

SUMMARY

Crop improvement via mutation induction is a method widely used in important crops around the World. It has good success rates. This method generates variability within a genotype, which can accelerate improved varieties creation for a specific characteristic. Response to radiation depends on the species, variety and general conditions of the material to be treated. This work evaluated the response of 10 amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes from 8 sites, treated with 0, 100, 200, 300 and 400 Gy dosages. Plant height in three sampling dates, green and dry weight at 45 days, plant survival and malformations frequency were recorded. Analysis of variance showed statistical significant differences for genotypes, dosage, and statistical significance for the interaction. High correlation between plant height and weight was observed. Populations were classified according to their susceptibility to radiation, based on the regression line of plant height at 45 days for each genotype and the dosages applied. 542 Gy dosages generated a 30 % reduction in plant height for mildly susceptible populations, while 304 Gy were sufficient to cause the same effect in susceptible populations. The Revancha commercial variety was the most susceptible to radiation at the 300 Gy dosage level (90 % mortality). Native populations had an LD50 close to 300 Gy. The 400 Gy dosage in all the genotypes showed an stimulation effect of the variables under study when compared to the 300 Gy dosage. However, high malformation frequency was also recorded. The most frequent defect was chocking at the stem base that affected plant growth and caused plants to become crawlers. The black grain variety, Chimborazo (*A. hybridus*), from Ecuador, was the most resistant to gamma radiation.

Keywords: *Amaranthus* spp., LD50, malformations, mortality, gamma radiation.

INTRODUCCIÓN

La generación y recuperación de mutantes para ampliar la base genética de las plantas cultivadas es denominado “mejoramiento por mutación”. Aunque se han registrado varios éxitos, ésta técnica ha sido menospreciada por la falta de especificidad de las mutaciones inducidas, el alto número de plantas que deben ser estudiadas para encontrar la mutación deseada y la mayor frecuencia con que aparecen plantas quimeras (Moore y Collins, 1986).

La mutagénesis inducida en especies vegetales es una estrategia de mejoramiento utilizada desde hace más de ochenta años, donde se emplea la radiación para reorganizar la composición genética sin modificar el genoma de las plantas y de esta manera aumentar y mejorar su rendimiento (Novak y Brunner, 1992)

Los tipos de radiación potencialmente disponibles para mutagénesis son la radiación ultravioleta (UV) y la ionizante (rayos X y gamma, partículas alfa, beta, protones y neutrones). De estas fuentes de radiación, los rayos X y rayos gamma han sido los tipos de radiación ionizante más efectivos y más utilizados para el mejoramiento genético, porque penetran profundamente en los tejidos e inducen diferentes cambios (Predieri, 2001).

Las técnicas nucleares en el mejoramiento de plantas son utilizadas para inducir mutaciones. Desde el descubrimiento de los rayos X hasta el uso de las radiaciones ionizantes. Como los rayos gamma y los neutrones, se han establecido metodologías para inducir variación en el mejoramiento de cultivos propagados por semilla como arroz, trigo, cebada, algodón (Ahloowalia y Maluszynski, 2001).

La Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA) ha recogido en un banco de datos, junto con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

(FAO), información sobre más de 3000 mutaciones inducidas en 170 variedades distintas de plantas que se cultivan en 60 países (IAEA, 2008).

La división conjunta FAO/IAEA (2005) señala que muchos cultivares mutantes de plantas propagadas por semilla son de alto rendimiento. En China, cultivares exitosos basados en mutantes se siembran en millones de hectáreas; en Checoslovaquia, casi toda la cebada maltera es producida sobre la base de cultivares obtenidos por mutaciones; en Perú han obtenido mutantes de cebada precoces, con altura reducida y mayor número de granos (Chávez, 1991; Romero y Gómez, 1996). También, se han encontrado cambios por mutaciones en contenido de aceite en girasol y soya; así como en la composición de ácidos grasos del aceite de lino y colza (Robbelen, 1990).

De acuerdo con la División Conjunta FAO/IAEA en Agricultura, se han liberado oficialmente 2252 cultivares obtenidos mediante mutagénesis en 59 países de todo el mundo, principalmente en Asia (1142), Europa (847) Norte América (162). Casi la mitad de estos cultivares (1019) fueron liberados después de 1985. El número de variedades mejoradas por mutagénesis fue de 175 en el año 2000, teniéndose un significativo aumento en comparación con el año 1995 cuando se obtuvieron 154, lo que indica una dinámica creciente en la aplicación contemporánea de ésta técnica en el fitomejoramiento. La lista de variedades mejoradas incluye cultivos importantes como arroz, trigo, algodón, colza, girasol, ajonjolí y toronjas. De las 2252 variedades, 75% (1700) corresponden a cultivos alimenticios y 552 a plantas ornamentales y decorativas. En plantas propagadas sexualmente existen 1603 cultivares mutantes dominando los cereales (1072), seguidos por las leguminosas (311), cultivos industriales (81), verduras (66), oleaginosas (59) y otros (111). Cerca del 70% de los cultivares de este grupo se obtuvieron como mutantes directos, el resto se generaron como mutantes recombinantes. De las 1585 variedades mutantes directamente obtenidas la gran

mayoría (1411) se seleccionaron a partir de generaciones mutadas obtenidas por radiación, siendo el mutágeno fundamental la radiación gamma (Maluzynski *et al.*, 2000)

Este tipo de mutaciones no puede ser dirigido a un gene específico y solamente se limita al genoma pre-existente, lo que diferencia a la estrategia de mutagénesis inducida de la transgénesis. Los mutágenos afectan la estructura molecular del ADN, pero muchos de estos cambios inducidos pueden ser reparados antes de que se manifiesten como mutaciones (Novak, 1991)

La radiosensibilidad del tejido es estimada a través de la respuesta fisiológica del material irradiado. Se debe determinar la dosis que causa un 50% de reducción (GR_{50}) del crecimiento vegetativo del material tratado cuando es comparado con el testigo en el primer ciclo vegetativo después del tratamiento (Predieri y Zimmerman, 2001). La radiosensibilidad varía con la especie y la variedad, con la condición fisiológica de la planta u órganos, y con la manipulación del material irradiado antes y después del tratamiento mutagénico (Briggs y Constantin, 1977)

En quinua, especie considerada como pseudocereal, se encontraron mutaciones en caracteres morfológicos y fisiológicos en dosis de 150 y 250 Gy de rayos gamma, y se han identificado mutaciones útiles como reducción de altura de planta, cambio en el ciclo de vida y color de grano (Gómez *et al.*, 2010). En el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), se diseñó un programa de mutagénesis radioinducida para generar cambios en el genoma de la planta de quinua y reducir el contenido de saponinas de la semilla (De la Cruz, 2004), en el que se han definido las dosis de irradiación y se cuenta con mutantes de bajo contenido de saponina entre otras características deseables; en este proyecto también se incluyen a la chía y el amaranto (De la Cruz y García, 2007).

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la dosis que genere mutaciones en las especies de amaranto y el grado de sensibilidad de los genotipos a la irradiación de rayos gamma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó en colaboración con el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, para acceder al irradiador experimental GAMMACELL 220, que usa como fuente de emisión de rayos gamma lápices tubulares, en los que cada uno contiene siete lingotes de Cobalto-60.

En un ensayo preliminar se irradiaron una variedad comercial y una población nativa con intervalos de dosis de 200 Gy desde 0 hasta 800 Gy, observándose un efecto significativo de la reducción en desarrollo de plántulas a los 20 días con la dosis de 400 Gy, mientras que, en dosis superiores a los 600 Gy no se desarrollaron las plántulas; por lo que se decidió en el presente trabajo irradiar con cuatro dosis en escala de 100 hasta 400, más un testigo sin irradiar por cada población evaluada.

Para alcanzar las dosis de rayos gamma propuestas, 50 g de semilla de cada población se expusieron por tiempos diferentes en el irradiador que se encontraba en la dosis de radiación de 1695 Gy/h en ese momento, de tal manera que los tiempos de exposición fueron de 212.31, 424.62, 636.94 y 849.25 segundos para las dosis de 100, 200, 300 y 400 Gy, respectivamente.

Se evaluaron 10 genotipos de amaranto de diferentes sitios de origen (Cuadro 1) caracterizados en las etapas previas de este trabajo; siete poblaciones fueron originarias de los estados del centro de México, una variedad comercial mexicana y dos variedades comerciales provenientes de Ecuador.

Cuadro 1. Principales características de 10 poblaciones de amaranto evaluadas en el ensayo de radiosensibilidad. Montecillo, 2012.

No.	Población	Origen.	Características
1	Rojo Azteca	DF	Grano crema, planta alta y tardía
2	Acoyotepec	EDO. MÉXICO	Grano dorado, planta pequeña y precoz
3	Ocoatepec	GUERRERO	Grano dorado, planta pequeña y precoz
4	Sabino Alto	GUERRERO	Grano crema, planta mediana y precoz
5	Mich A1	MICHOACÁN	Grano crema, planta alta y tardía
6	Amarilla	MORELOS	Grano crema, planta mediana y precoz
7	Mixco 2	TLAXCALA	Grano blanco, planta alta y tardía
8	Revancha	VAR. INIFAP	<i>A. hypochondriacus</i> , grano blanco y precoz
9	Alegría	VAR. ECUADOR	<i>A. caudatus</i> , grano blanco y semi tardía
10	Chimborazo	VAR. ECUADOR	<i>A. hybridus</i> , grano negro y tardía

De la interacción de las 10 poblaciones con las cinco dosis de irradiación (0, 100, 200, 300 y 400 Gy), se obtuvieron 50 tratamientos que fueron sembrados en un invernadero perteneciente al Laboratorio de Marcadores Genéticos en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados. El experimento se distribuyó bajo un diseño de Bloques Completos al Azar con cinco repeticiones; cada unidad experimental (U.E.) correspondió a un vaso plástico de 16 onzas, con una mezcla de turba y tezontle en proporción 3:1, donde se colocaron 10 semillas de cada población, para luego de la emergencia ajustar a 5 plantas por U.E. Los vasos se colocaron en mesas de hierro a un metro de altura y se realizaron riegos periódicos cada tres o cinco días según los niveles de humedad del sustrato.

El experimento fue evaluado durante seis semanas desde la siembra; se registró la altura de planta (cm) en tres fechas de muestreo; peso verde y peso seco de la parte aérea de las plantas (g), número de plantas muertas y número de plantas con malformaciones a los 45 días.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2012). A partir del análisis de correlación entre las características evaluadas, se identificaron las variables más importantes y estas se analizaron bajo el modelo de bloques en arreglo factorial de 10x5 con DGC al 5%, que es un método de comparaciones múltiples basado en la técnica de conglomerados para las medias, como prueba de significación que evita la falta de transitividad de otros métodos (Di Rienzo *et al.*, 2002). Se agruparon las poblaciones de acuerdo a la tendencia de la respuesta a las dosis de irradiación y se estimó la curva de regresión, para altura de planta a los 45 días, de los grupos formados con cada dosis de rayos gamma. Para las variables referentes a malformaciones se establecieron las frecuencias de estas mutaciones y se realizaron análisis de varianza únicamente con las dosis que presentaron este tipo de aberraciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó altura de planta a los 9, 23 y 45 días después de la siembra y se observó alta correlación entre las diferentes mediciones, alrededor del 0.90, excepto entre la primera lectura realizada a los 9 días con la última a los 45 días ya que su valor del coeficiente de correlación fue de 0.59; todos los casos fueron altamente significativos. También se correlacionó el peso verde con el peso seco de las plantas ($r= 0.90$) y éstas variables con la altura de planta final y se observó correlación significativa ($r=0.65$), por lo tanto las poblaciones, las dosis y su interacción respondieron de igual manera en esas variables.

En los análisis de varianza para las variables altura de planta a los 9, 23, 45 días y para peso verde de las plantas (Cuadro 2), se observaron diferencias significativas para poblaciones y dosis en todas las variables; únicamente en la interacción genotipo x dosis en altura de planta

a los 9 días no hubo significación, es decir que las dosis de radiación siguen la misma tendencia en altura de planta a la semana de siembra de cada variedad. La interacción significativa en las otras variables indicó que las variedades presentaron diferente respuesta en altura de planta y en peso verde a las dosis de rayos gamma aplicadas.

Cuadro 2. Cuadrados medios y significación de los análisis de varianza de altura de planta en tres fechas de muestreo y de peso verde a los 45 días, del estudio de cinco dosis de radiación en 10 genotipos de amaranto. Montecillo, 2012.

Fuente de Variación.	Altura 9D	Altura 23D	Altura 45D	Peso Verde
Repetición	1.02 *	4.79 **	9.16 **	3.95 **
Genotipo (G)	1.36 **	16.76 **	58.37 **	1.56 **
Dosis (D)	9.53 **	62.8 **	62.46 **	16.95 **
G x D	0.45 ^{ns}	1.94 **	4.69 **	0.97 **
Error	0.34	0.25	1.01	0.50
CV	26.56	11.02	11.83	18.78
Media	2.14 cm	4.52 cm	8.45 cm	3.78 g

*, ** Diferente de cero a una probabilidad de 0.05 y 0.01, respectivamente. ^{ns} No significativo

Los efectos principales de las dosis estudiadas se pueden observar en las curvas de crecimiento de las plantas en el periodo estudiado (Figura 1), donde se presentó un crecimiento normal en los testigos sin irradiar. A los nueve días las plantas presentaron crecimiento similar para las dosis evaluadas, pero conforme avanzó el tiempo se observó un incremento en las diferencias entre dosis. Las dosis de 100 y 200 Gy afectaron levemente, diferenciándose del testigo, pero no entre ellas; la dosis de 300 Gy fue la que más afectó en el crecimiento de las plantas, en tanto que la dosis de 400 Gy también disminuyó el crecimiento de las plantas de manera significativa con menor intensidad que la dosis anterior.

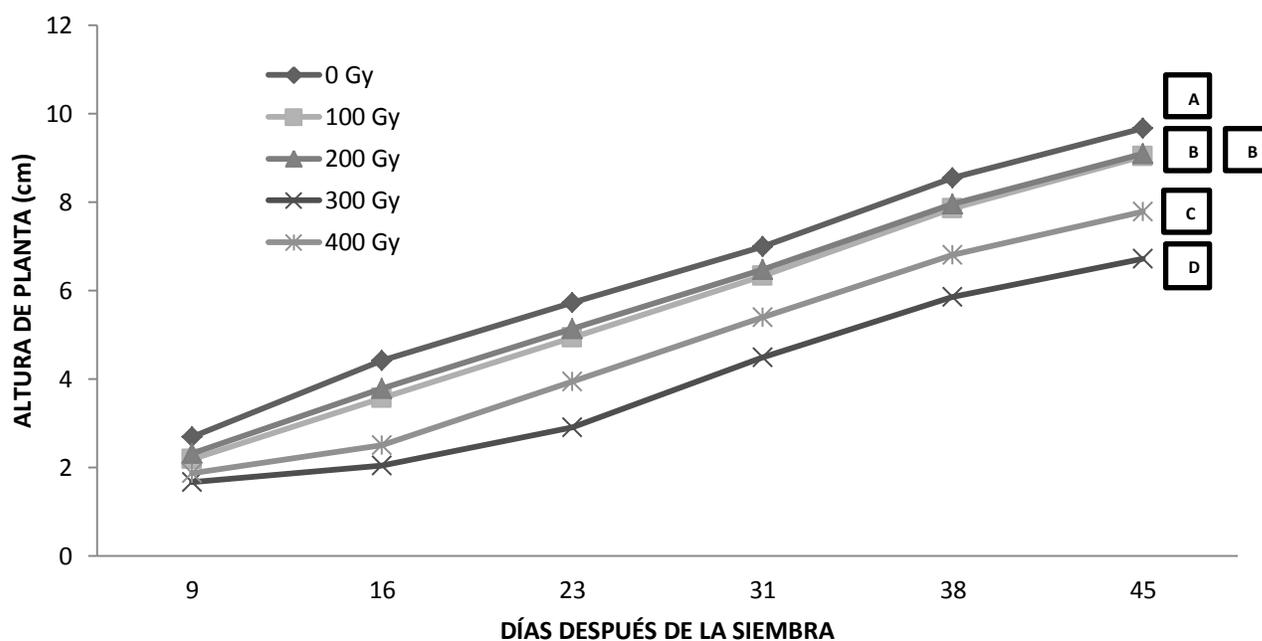


Figura 1. Curvas de crecimiento de plantas de amaranto con 4 dosis de rayos gamma y un testigo sin irradiar. Montecillo, 2012.

Debido a la respuesta de los genotipos a las dosis de rayos gamma en altura de planta a los 45 días, es decir con significancia estadística para la interacción de los factores en estudio, se realizó el análisis de regresión para variedades (Cuadro 3) con base en la función “ $Y = a+bx$ ”, en el que se estableció como nivel de significancia $\alpha=0.05$, para las hipótesis de que la pendiente es distinta de cero, y que la línea se ajusta al modelo de la regresión (p-valor de falta de ajuste). Los valores de “a” representan las medias de las poblaciones y se observó la diferencia de altura de las plantas de acuerdo a su genotipo, lo que fue indicado en el análisis de varianza como efecto principal del factor mencionado. Las ecuaciones de regresión de las variedades, los valores de p de la pendiente y de la prueba de ajuste, establecieron tres tipos de respuesta, lo que permitió agrupar a las poblaciones.

Cuadro 3. Análisis de la regresión para altura de planta a los 45 días de 10 genotipos de amaranto con cinco dosis de radiación. Montecillo, 2012.

Variedad	GRUPO	Ecuación de Regresión	p – valor	Falta de ajuste
Chimborazo	1	Y = 6.773 - 0.001 (dosis)	0.1420	0.5520
Mich A1	1	Y = 8.814 - 0.002 (dosis)	0.3310	0.9236
Sabino Alto	1	Y = 8.497 - 0.001 (dosis)	0.6172	0.2686
Acoyotepec	2	Y = 9.808 - 0.007 (dosis)	0.0052	0.5563
Alegría	2	Y = 6.503 - 0.002 (dosis)	0.0156	0.2723
Amarilla	2	Y = 10.112 - 0.005 (dosis)	0.0013	0.4275
Ocotepec	2	Y = 9.702 - 0.006 (dosis)	0.0003	0.0475
Mixco 2	3	Y = 12.368 - 0.013 (dosis)	< 0.0001	< 0.0001
Revancha	3	Y = 9.740 - 0.009 (dosis)	0.0098	<0.0001
Rojo Azteca	3	Y = 14.466 - 0.015 (dosis)	< 0.0001	< 0.0001

El primer grupo estuvo conformado por los genotipos cuya pendiente no es estadísticamente diferente de cero (p -valor > 0.05) y el modelo propuesto no presenta falta de ajuste ($p > 0.05$); el grupo dos lo conformaron los genotipos con pendiente significativa y su regresión se ajusta al modelo; mientras que, las poblaciones del grupo tres presentaron los valores más altos de sus pendientes significativamente distintas de cero, sin embargo, no tuvieron buen ajuste al modelo de la regresión (Cuadro 3).

Una vez identificados los grupos, se juntaron las poblaciones pertenecientes a cada tipo de respuesta y se establecieron las líneas de regresión (Figura 2). Se observó que el Grupo 1, conformado por Chimborazo (*A. hybridus*), Mich A1 y Sabino Alto, corresponden a los materiales cuya altura de planta no fue afectada por las dosis usadas, por lo tanto su ecuación no permitió proyectar la dosis en que la planta reduce la expresión de una característica hasta 70% (GR_{70}) (Ramírez *et al.*, 2006). El segundo grupo estuvo conformado por las poblaciones que presentaron mediana tolerancia a la irradiación, éstas fueron: Alegría (Variedad Ecuador-

A. caudatus), Amarilla y Ocotepec, Acoyotepec, su ecuación estimó una GR₇₀ de 542 Gy; y el Grupo 3 que juntó a Mixco 2, Rojo Azteca y Revancha (Variedad INIFAP), presentó la mayor pendiente y su función de regresión determinó una GR₇₀ de 304 Gy, es decir son poblaciones más susceptibles a la irradiación.

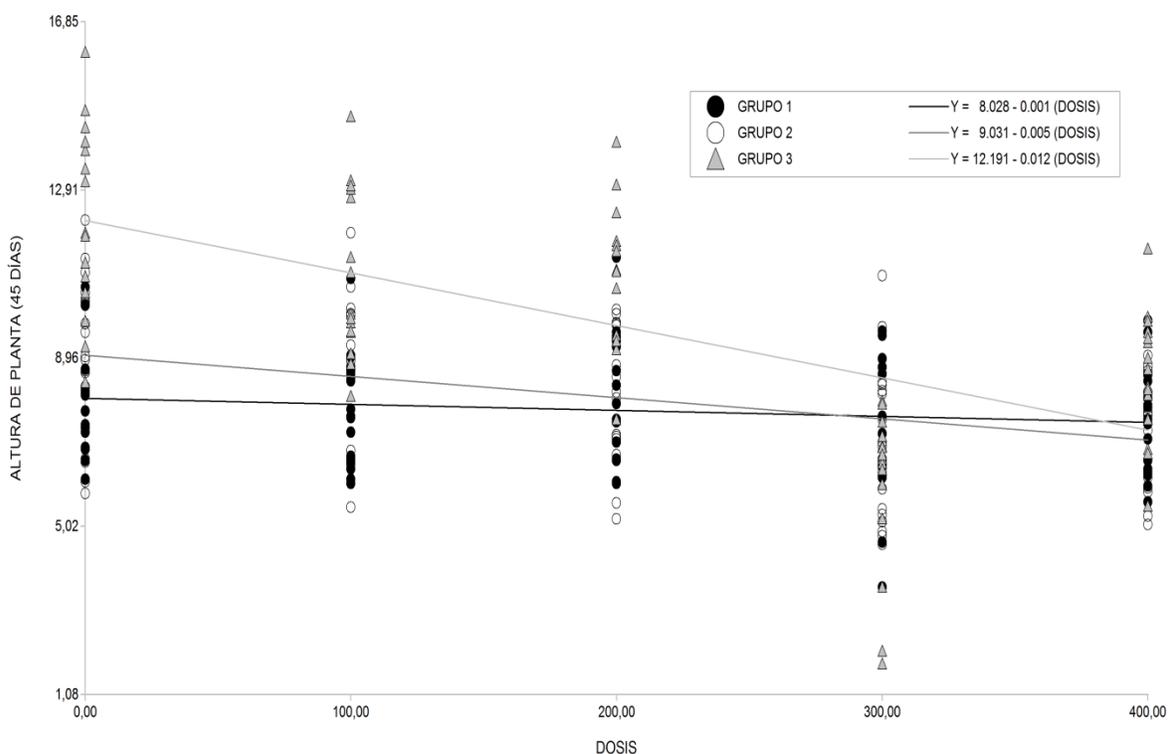


Figura 2. Puntos de dispersión y líneas de ajuste de la regresión de tres tipos de respuesta en altura de planta a los 45 días de poblaciones de amaranto irradiadas con cinco dosis de rayos gamma. Montecillo, 2012.

El testigo sin irradiar y las dosis de 100 y 200 Gy, no presentaron mortalidad de plantas ni malformaciones, por lo que se realizaron los análisis de varianza para estas variables, únicamente considerando los datos registrados con los genotipos en las dosis de 300 y 400 Gy. El análisis de varianza para porcentaje de mortalidad presentó diferencias estadísticas significativas para variedades, dosis y significancia estadística en su interacción. Para porcentaje de plantas malformadas el análisis de varianza presentó diferencias estadísticas

para variedades y dosis, pero estos factores actuaron de manera independiente en esta variable, ya que su interacción no fue significativa estadísticamente.

En la Figura 3 se presentan las medias del porcentaje de mortalidad de las poblaciones y sus dosis, donde se observó que la variedad Revancha fue la más afectada con la dosis de 300 Gy, en la que murió cerca del 90% de plantas; y la variedad Chimborazo (*A. hybridus*) fue la más tolerante a las dosis de radiación con una mortalidad inferior a 5% tanto con la dosis de 300 como con la de 400 Gy; esta respuesta se relaciona con el color de la semilla, ya que los granos de color negro tienen el episperma muy duro (Nieto, 1990). Los restantes genotipos con la dosis de 300 Gy presentaron mortalidad entre 35 y 60%, por lo tanto, se pudo estimar que para estas poblaciones la DL_{50} está alrededor de los 300 Gy. En la dosis de 400 Gy no se observó diferencias en el porcentaje de plantas muertas entre las poblaciones estudiadas y este fue inferior a 10%, pero se diferenció significativamente de los 300 Gy; un comportamiento similar se observó en altura de planta, es decir, en la dosis de 400 Gy las plantas presentaron una respuesta distinta al comportamiento esperado, ya que se presentan mutaciones pero la mortalidad disminuyó.

En la misma figura se presenta el porcentaje de plantas con malformaciones, que consistían básicamente en el ahorcamiento de la base del tallo, lo que no permitió el desarrollo erecto de las plántulas. Las poblaciones Rojo Azteca, Mixco 2 y Acoyotepec fueron más propensas a ser afectadas en su respuesta fisiológica; Chimborazo (*A. hybridus*) al igual que en la variable de mortalidad, fue la menos afectada; y las otras poblaciones presentaron entre 50 y 70% de plantas malformadas. Otro tipo de mutaciones observadas en dichas dosis de irradiación (300 y 400 Gy), aunque con muy baja frecuencia, fueron: hojas dobles, cambios en la forma de las hojas (tipo aserradas) y en los genotipos precoces se pudo observar la aparición de panojas dobles.

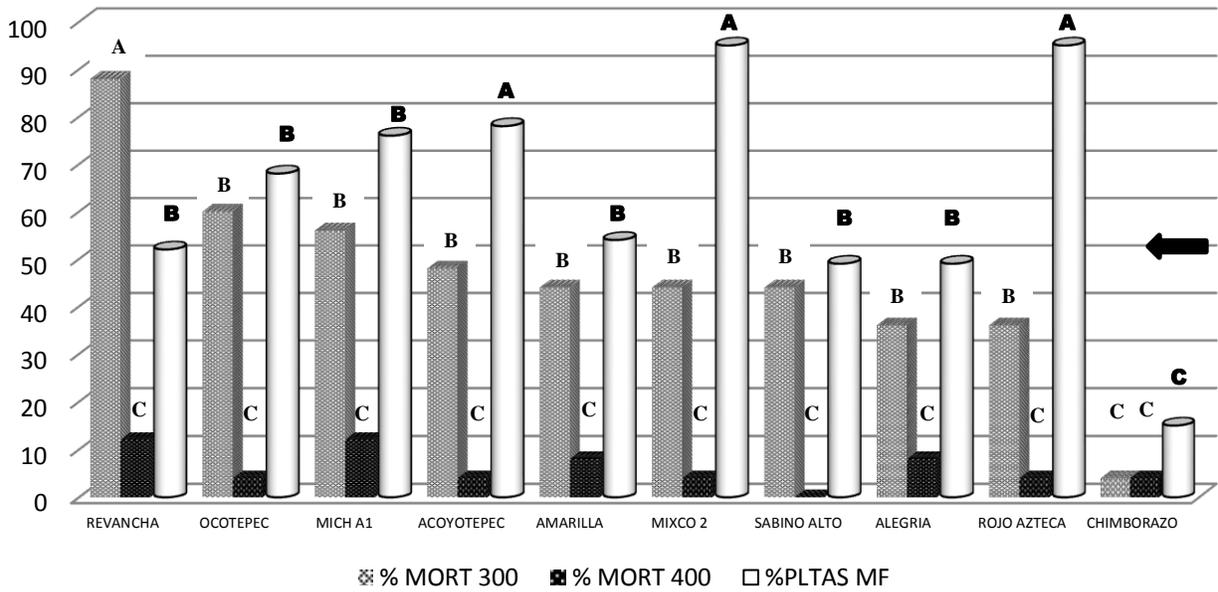


Figura 3. Porcentaje de mortalidad y porcentaje de plantas malformadas en poblaciones de amaranto con dos dosis de irradiación. Montecillo, 2012.

En las variables analizadas la variedad Revancha se ubicó en el grupo de las poblaciones más susceptibles con base en altura de planta y porque presentó mayor mortalidad en la dosis de 300 Gy. Las poblaciones Rojo Azteca y Mixco 2, también pertenecientes al grupo de susceptibles en altura de planta, se asemejaron en mortalidad a las poblaciones restantes, pero fueron las de mayor número de plantas malformadas con dosis altas de rayos gamma. Las otras poblaciones nativas mexicanas y la variedad Alegría (*A. caudatus*) presentaron cierto grado de tolerancia a la radiación, y fueron afectadas por las dosis más altas. A pesar de que los genotipos Sabino Alto y Mixco 2 no fueron afectados en altura de planta por las dosis aplicadas, estas poblaciones presentaron niveles de susceptibilidad en mortalidad y en porcentaje de plantas malformadas similares a la mayoría de poblaciones estudiadas. La variedad Chimborazo por ser de grano negro (*A. hybridus*) fue tolerante a las dosis evaluadas, y su semilla se caracteriza por el contenido de compuestos fenólicos (incluyendo taninos

condensados) y por presentar testas de mayor grosor y dureza, color más oscuro, probablemente menos permeable al agua y más resistente al ataque de patógenos, en relación con la testa de la variedad blanca (Suárez, 1990), pero la diferente respuesta de las plantas con granos negros u oscuros, a la radiación puede deberse a que han sido menos domesticadas, y la viabilidad reducida así como menor respuesta de los mecanismos de reparación de daño genético son considerados efectos del síndrome de domesticación y por ello las variedades blancas son más susceptibles a la radiación (Comunicación personal Dr. Eulogio de la Cruz).

CONCLUSIONES

Las poblaciones de amaranto estudiadas presentaron diferentes niveles de tolerancia a las dosis de irradiación. Al incrementarse la dosis de rayos gamma (100 – 400), se observó mayor reducción de altura de planta, menor peso de materia verde, incremento de la mortalidad y mayor número de plantas malformadas. Los efectos de la irradiación se incrementan con la edad de la planta, ya que las diferencias entre las curvas determinadas para cada dosis fueron más notorias en el tiempo. En altura de planta se observaron tres tipos de respuesta con base en las líneas de regresión para cada población, lo que permitió agrupar a las poblaciones en tolerantes, medianamente susceptibles y susceptibles a la irradiación. Se registraron diferencias en altura de planta para los testigos sin irradiar y las dosis de 100 y 200 Gy, pero no entre dichas dosis. No se observaron mortalidad ni malformaciones en las dosis de 100 y 200 Gy. La dosis de 300 Gy fue la que más afectó el desarrollo y la sobrevivencia en la mayoría de las poblaciones estudiadas. En dosis de 400 Gy se observó cierta estimulación en altura de planta y menor mortalidad respecto a la dosis de 300 Gy. Las plantas con malformaciones tienden a incrementar los niveles de mortalidad ya que el mayor problema es el ahorcamiento de la base del tallo, lo que induce a un crecimiento de tipo rastro y plantas

muy débiles. Las curvas de crecimiento para las dosis evaluadas, determinaron que entre 200 – 300 Gy se registran cambios considerables en el desarrollo de las plantas y la mortalidad entre 30 y 60% de las plantas registradas con 300 Gy, permitieron estimar que la dosis óptima para inducir mutaciones se encuentra entre 200 y 300 Gy. No se observaron diferencias claras en la respuesta a las dosis de radiación de las poblaciones nativas y la variedad ecuatoriana Alegría (*A. caudatus*). La variedad comercial Revancha fue la más susceptible porque presentó una clara disminución de altura de planta y mortalidad superior a 90%, principalmente con la dosis de 300 Gy. La variedad Chimborazo fue la más tolerante y en ninguna de las características registradas presentó respuesta diferenciada respecto de las dosis aplicadas.

BIBLIOGRAFÍA

Ahloowalia B, M Maluszynsky (2001) Induced mutations – A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118(2): 167-173 p.

Briggs R, C Constantin (1977) Radiosensitivity and radiation sources. *Manual on Mutation Breeding*. 2ª Ed. IAEA. Vienna, Australia. 7-21 p.

Chávez B (1991) Efecto comparativo de diferentes fuentes mutagénicas en cebada (*Hordeum vulgare*) var. Buenavista. Tesis UNALM – Facultad de Agronomía. 112 p.

De la Cruz T E (2004) Aprovechamiento de las técnicas nucleares en el mejoramiento genético de SEUDOCEREALES. *Contacto Nuclear*. No. 35: 35-37.

De la Cruz T E, J M García (2007) Mejoramiento de PSEUDOCEREALES en el ININ. En: *Contacto Nuclear*. [en línea] No. 48. Pag. 35-40 (Consultado 11 de abril de 2011). Disponible en: www.inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/48%20MEJORAMIENTO.pdf

Di Rienzo, J.A.; Guzmán A.W.; Casanoves F. (2002). A Multiple Comparisons Method Based on the Distribution of the Root Node Distance of a Binary Tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environment Statistics*, 7(2): pp: 1-14.

Di Rienzo J, F Casanoves, M Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, C Robledo (2012) *InfoStat* versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2005) *Commodities and trade division food and agriculture organization of the United Nations Rome-Italia*. [en línea] Consultado en Octubre de 2012. Disponible en: <http://www.fao.org>

Gómez L, A Eguiluz, J Falconi (2010) Mejoramiento genético de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) variedad Pasankalla empleando inducción de mutaciones. Universidad Nacional Agraria La Molina. Programa de Cereales y Granos Nativos. Lima, Perú. p. 43

IAEA – International Atomic Energy Agency (2008) Radiaciones para provocar mutaciones en los alimentos [en línea] Consultado en Septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.gastronomiaycia.com/2008/08/14/radiaciones-para-provocar-mutaciones-en-los-alimentos/>

Maluszynski M, K Nichterlein, L van Zanten, B S Ahloowalia (2000) Officially released mutant varieties – the FAO/IAEA Database. Mutation Breeding Review 12: 1–84.

Nieto C (1990) El cultivo de amaranto (*Amaranthus* spp.) una alternativa agronómica para Ecuador. INIAP, EE. Santa Catalina. Publicación Miscelánea No 52. Quito, Ecuador. 24 p.

Moore G, G Collins (1986) New challenges confronting plants breeders. In: Isozymes in Plant Genetics and Breeding. S Tanksley, T Orton (eds). Elsevier Science Publisher. Amnsterdam, The Netherlands. 25-59 pp.

Novak F (1991) *In vitro* mutation system for crop improvement. In: Plant mutation breeding for crop improvement. IAEA. Vienna, Australia 2: 327-342 pp.

Novak F, H Brunner (1992) Plant breeding: induced mutation technology for crop improvement. IAEA bulletin. 4: 25-33 pp.

Predieri S (2001) Mutation induction and tissue culture in improving fruits. Plant cell, Tissue and Organ Culture 64:185 - 210.

Predieri S, R.H. Zimmerman (2001) Pear mutagenesis: In vitro treatment with gamma rays and field selection for productivity and fruit traits. *Euphytica* 3: 217-227 pp.

Ramírez R, L González, Y Camejo, N Zaldivar, Y Fernández (2006) Estudio de radiosensibilidad y selección del rango de dosis estimulante de rayos X en cuatro variedades de tomate. *Cultivos Tropicales. Cuba.* 27(1): 63-67 pp.

Robbelen G (1990) Mutation breeding for quality improvement a case of study for oilseed crops. In: *Mutation Breeding Reviews*, No.6. IAEA, Vienna. 1-43 pp.

Romero M, L Gómez (1996) Cultivo de la cebada en el Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. Programa de Cereales. Lima, Perú. p. 43

Suárez G (1990) Importancia de los estudios morfológicos, anatómicos y fisiológicos del amaranto. In: *El Amaranto *Amaranthus* spp su Cultivo y Aprovechamiento.* A Trinidad, F Gómez, G Suárez (comps). Colegio de Postgraduados. México. pp: 77-90.

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN GENERAL

El cultivo de amaranto presenta dificultades técnicas asociadas con sus características morfológicas además de costos de producción que limitan su expansión. Debido a las características nutricionales y adaptación a condiciones ambientales limitantes, la especie debe considerarse una buena opción de cultivo y ser promovida en varias regiones de México, porque representa una alternativa viable para contribuir a la solución de problemas de desnutrición en el país. En la actualidad la especie se produce sólo en 1.5% de la superficie agrícola mexicana debido a la poca demanda de los consumidores quienes desconocen sus virtudes como alimento. Agronómicamente esta especie demanda de los productores muchas horas de trabajo, lo que favorece su sustitución por otros cultivos que pueden producirse de manera más cómoda y con menores costos, aunque con un alto impacto ecológico y a la salud humana (Barrales *et al.*, 2010).

1. Variabilidad de las poblaciones de amaranto

México como centro de origen de especies de amaranto (*Amaranthus* spp.) dispone de amplia variación fenotípica y genética. Parte de la variabilidad ha sido colectada y se encuentra en los bancos de germoplasma, pero su caracterización y documentación es escasa (Hauptli *et al.*, 1980). El presente estudio corroboró y documentó la diversidad de la especie, entre poblaciones y variedades, así como la diversidad dentro de las poblaciones nativas. Se observó amplia variabilidad en los niveles agronómico, morfológico, bromatológico e isoenzimático, así como en la respuesta a la radiación. Agronómicamente se identificaron poblaciones precoces y tardías, que alcanzan la madurez de cosecha entre cinco y ocho meses, y de diferente altura de planta, entre 1 y 3 m. En las características morfológicas se observó

diversidad de colores, la variabilidad entre poblaciones se expresó en la combinación de colores de las diferentes estructuras de la planta. La especie presentó características de adaptabilidad y la respuesta diferenciada de los genotipos a las condiciones ambientales permitió identificar poblaciones con mejor adaptación. El análisis químico demostró que la composición nutritiva además de las condiciones ambientales depende también del genotipo y se observó variabilidad en el contenido de proteína, grasa y fibra cruda, identificándose poblaciones con mayor potencial para la agroindustria y para el desarrollo de productos elaborados, observándose un intervalo considerable de variación. El análisis genético por medio de enzimas, mostró diferencias en las frecuencias alélicas dentro y entre poblaciones, y se identificaron alelos propios de una especie o población.

Entre las estrategias empleadas para caracterizar las poblaciones de amaranto, la mayor variación se observó en las características agronómicas de precocidad, altura de planta y en la frecuencia alélica determinadas con el análisis de isoenzimas. Los resultados obtenidos en la muestra evaluada documentan las afirmaciones de diversos autores en el sentido de que el amaranto es una especie con amplia variabilidad (Espitia *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2009; Joshi y Rana, 1992)

2. Niveles de caracterización

Caracterización Agronómica

La evaluación agronómica permitió la clasificación de las poblaciones de amaranto por su origen y se observó que en cada zona de producción, los agricultores tienen claramente identificados los genotipos de su preferencia. Se corroboró y documentó la clasificación que se ha hecho de las especies de amaranto por razas, mismas que fueron definida principalmente por su origen y por las características fenotípicas fácilmente distinguibles en esta especie (Espitia, 1994). La fortaleza del presente estudio radica en que a la vez que se caracterizan las

poblaciones, se evalúa la adaptación de las poblaciones a un ambiente determinado. Dada la amplitud de la diversidad y la plasticidad fenotípica de la especie, se observaron poblaciones nativas con mejores características que las variedades mejoradas en las condiciones del Campus Montecillo, localizado en los Valles Altos de México.

Caracterización Bromatológica

Por el potencial que tiene el amaranto en sus cualidades nutritivas, es importante complementar los estudios de caracterización agronómica con análisis de laboratorio, ya que se ha observado que existen diferencias en los valores nutritivos por genotipo, aunque estos contenidos son altamente afectados por el ambiente. Las especies de origen mexicano presentan mayores valores de proteína respecto de los sudamericanos, contrario a lo expresado por Segura-Nieto *et al.*, (1992) y la especie *A. hybridus* sobresale en el contenido de fibra, este hallazgo es importante ya que esta especie merece particular atención debido a que en México las poblaciones de amaranto negro son consideradas malezas. Estudios similares realizados con accesiones del banco de germoplasma y con las variedades liberadas en Ecuador coinciden con los resultados de este estudio ya que se confirmó la variabilidad amplia dentro de esta especie en su contenido nutricional (Villacrés, 2010).

Una vez que se han caracterizado las poblaciones por el contenido de los principales componentes nutritivos, es recomendable la evaluación de la calidad de los mismos, como es el caso de los aminoácidos de la proteína, pero al momento son técnicas de elevado costo económico, por lo que es necesaria la identificación de pocos materiales con altos valores nutritivos adecuados para esta caracterización más fina.

Caracterización Isoenzimática

Dentro de los estudios a nivel molecular, es una técnica que se adapta muy bien para trabajar con poblaciones grandes ya que representa bajos costos en relación con los beneficios que se

obtienen (Acquaah, 1992). En este estudio se observó amplia variabilidad y los resultados son comparables a los obtenidos con los métodos usados con marcadores moleculares como RAPDs y RFLPs. Aunque no es una técnica que identifica a los genes a nivel de ADN, como se ha logrado ya con estudios con técnicas más modernas y costosas, si permite entender mejor la variabilidad existente en la especie en conjunción con la evaluación de las plantas directamente en campo.

Todas las fases que componen el presente trabajo son y deben manejarse como complementarias para obtener una caracterización integral de la diversidad y conocer mejor el comportamiento de las poblaciones de amaranto bajo diferentes ambientes y su potencial.

3. Tendencia de agrupamientos

En los diferentes niveles en que se caracterizaron las poblaciones de amaranto, los agrupamientos diferenciaron claramente a las especies sudamericanas de las mexicanas y se observó también separación entre *A. caudatus* y *A. hybridus*, pero entre las especies de origen mexicano (*A. cruentus* y *A. hypochondriacus*) no fue tan evidente esta separación. Las características agronómicas asociaron a las poblaciones con su origen hasta nivel de razas. Las isoenzimas de los grupos poblacionales permitieron inferir las diferencias existentes entre las especies sudamericanas y mexicanas, pero no en el caso de las especies originarias de México. Este resultado podría ser consecuencia de la movilización de germoplasma de una región a otra.

4. La mutagénesis en el mejoramiento de amaranto

Son estrategias de mejoramiento con las que se puede alterar directamente a nivel de cromosomas e inclusive cambios en la combinación de las bases nitrogenadas en el ADN. La desventaja de estas técnicas es que son métodos totalmente aleatorios y la generación e identificación de mutantes requiere la irradiación de muchos individuos. En otras especies ya

se han obtenido grandes logros con estas técnicas, por lo que el amaranto no debe estar excluido de la aplicación de estos métodos. En este estudio se observó diferente respuesta de las poblaciones a la exposición de rayos gamma, aceptándose la hipótesis de que las variedades liberadas son más susceptibles, comportamiento que puede deberse principalmente a la composición genética de las poblaciones nativas que pueden estar integradas por grupos de líneas, lo que aumenta la variabilidad y permite una mejor respuesta a fenómenos como el de la radiación.

5. Patrón de regionalización de la diversidad

Se observó que la caracterización agronómica es un método que permite agrupar a los fenotipos, ya que se pudo inferir a partir de determinada combinación de características la relación de las poblaciones con su lugar de procedencia, sin embargo es necesario complementarla con la evaluación de la morfología floral que es considerada como de gran importancia en la taxonomía del amaranto, aunque este aspecto requiere mucha experiencia y amplio conocimiento de la especie. En contraste, la evaluación bioquímica es una estrategia de apoyo y mayor precisión en este tipo de estudios, ya que las isoenzimas se consideran características neutrales.

6. Representatividad de la muestra

El banco de germoplasma de amaranto en México consta de 642 accesiones y únicamente el 45% ha sido caracterizado (Espitia *et al.*, 2010), y en los últimos años se han realizado varias colectas, llegando a un total de 1200 accesiones (De la O, 2011) por lo que la muestra de 30 poblaciones parecería no ser representativa de la variabilidad existente. No obstante, al ser colectas de los principales estados de origen de la especie se probó la amplia variabilidad. Sin embargo, con el objeto de llegar a conclusiones de mayor amplitud en estudios futuros sería importante disponer de una colección núcleo del banco, ya que para la presente investigación

se puede considerar como importante la ausencia de accesiones originarias de Puebla, que es el principal estado para la producción de amaranto (García *et al.*, 2010). Con este propósito sería conveniente que las instituciones que estudian el amaranto en sus diferentes niveles, mejoren la calidad y accesibilidad a la información así como mejorar la comunicación y el intercambio de información.

Los resultados de esta investigación confirman la hipótesis de la presencia de variabilidad amplia en las poblaciones nativas de amaranto, que se manifiesta en características agronómicas, morfológicas y genéticas, y aun a nivel bioquímico por la composición del grano, así como en la sensibilidad a la radiación, Aunque el estudio comprendió un número limitado de poblaciones este grupo tuvo la robustez suficiente para representar a la diversidad existente en México y la investigación constituye uno de los estudios más completos realizados hasta la fecha para el estudio de la variación y diversidad de las poblaciones de amaranto. Además, fue capaz de detectar poblaciones con características agronómicas y nutricionales superiores con un gran potencial para su incorporación a programas de mejoramiento, y al mismo tiempo plantea posibles estrategias de aprovechamiento de la diversidad de este cultivo en México y otros países.

BIBLIOGRAFIA

Acquaah G (1992) Practical protein electrophoresis for genetic research. Langston University. Dioscoridies Press. Oregon, USA. 118 p.

Barrales J, E Barrales, E Barrales (2010) Amaranto. Recomendaciones para su producción. Plaza y Valdés Editores. México. 166 p.

De la O M (2011) Recursos genéticos de amaranto *Amaranthus* spp. En: Ciclo de conferencias del área de genética. Colegio de Postgraduados.

Espitia E (1991) Estabilidad del rendimiento de amaranto. In: Memorias del Primer Congreso Internacional del Amaranto. Oaxtepec, Morelos, México, 22-27 de septiembre. 65 p.

Espitia E (1994) Breeding of grain amaranth. In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 23-38.

Espitia E (2008) La investigación y la transferencia de tecnología en amaranto. Curso-Taller: Formación de líderes comunitarios, organizado por México Tierra de Amaranto, AC y Región Centro del INIFAP, 14 – 16 de febrero.

Espitia Rangel E, C Mapes Sánchez, D Escobedo López, M De la O Olán, P Rivas Valencia, G Martínez Trejo, L Cortés Espinoza, J Hernández Casillas (2010) Conservación y Uso de los Recursos Genéticos de Amaranto en México. SINAREFI-INIFAP-UNAM, Centro de Investigación Regional Centro. Celaya, Guanajuato, México. 201 p.

García J, C Valdés, R García, G Aviña (2010) Generalidades del cultivo de Amaranto. In: El Amaranto, Investigación Agronómica en el Norte de México. J García, G Alejandre, C Valdés, H Medrano (eds) Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango, México. pp: 11-46.

Hauptli H, R Lutz, S Jain (1980) Germ plasm exploration in central and south America. In: Amaranth. Proceedings of The Second Amaranth Conference. Rodale Press, Inc. (ed). Emmaus. pp: 117-122.

Joshi BD, RS Rana (1992) Grain amaranths: the future food crop. National Bureau of Plant Genetic Resources. Regional Station, Phagli. India. 152 pp.

Segura-Nieto M, A Barba de la Rosa, O Paredes López (1994) Biochemistry of amaranth protein. In: Amaranth. Biology, Chemistry and Technology. Paredes O (ed) Department of Biotechnology and Biochemistry. Center of Research and Advanced Studies. National Polytechnic Institute. Irapuato, México. pp: 76-101.

Villacrés E (2010) Revalorización Cultural y Alimenticia del Amaranto. En: I Encuentro Nacional del Amaranto. Ecuador.