



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, CONTENIDO DE ADN  
NUCLEAR Y CRUZAMIENTO NATURAL EN LA CHÍA  
(*Salvia hispanica* L.)**

**JOSÉ ALFONSO HERNÁNDEZ GÓMEZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

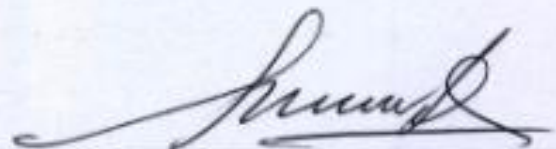
**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

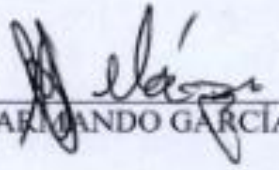
2008

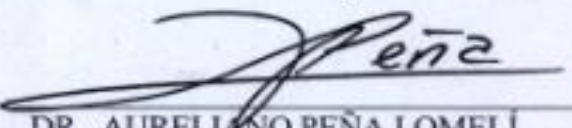
La presente tesis, titulada: “**Caracterización morfológica, contenido de ADN nuclear y cruzamiento natural en la chía (*Salvia hispanica* L.)**”, realizada por el alumno: **José Alfonso Hernández Gómez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

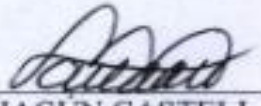
DOCTOR EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA

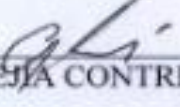
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:   
DR. SALVADOR MIRANDA COLÍN

ASESOR:   
DR. ARMANDO GARCÍA VELÁZQUEZ

ASESOR:   
DR. AURELIANO PEÑA LOMELÍ

ASESOR:   
DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS

ASESOR:   
DR. J. APOLINAR MEJÍA CONTRERAS

Montecillo, Texcoco, México, Noviembre de 2008

# CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, CONTENIDO DE ADN NUCLEAR Y CRUZAMIENTO NATURAL EN LA CHÍA (*Salvia hispanica* L.)

José Alfonso Hernández Gómez, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2008

La chía (*Salvia hispanica*) es una especie de origen Mesoamericano. Su amplia distribución y diversidad genética en México, aunado a su valor alimenticio, medicinal e industrial la convierten en un recurso vegetal promisorio. Con la finalidad de salvaguardar el patrimonio genético, tecnológico y cultural de *S. hispanica* se evaluó su variabilidad morfológica en materiales silvestres y cultivados, se determinó su número cromosómico y su tamaño del genoma y se caracterizó su sistema reproductivo. El análisis multivariado de 23 características morfológicas permitió la conformación de seis grupos de origen geográfico diferente: Norte de México, Jalisco, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Centroamérica, según el ancho y largo de la flor, el ancho del cáliz, la dehiscencia de la semilla, el diámetro del tallo, los días a inicio de floración y el número de ramas. Las características morfológicas que se modificaron en los materiales cultivados, con respecto a los silvestres fueron: La flor, la inflorescencia, la semilla, el tipo de cáliz al madurar y el ciclo biológico; sin embargo, la diferenciación morfológica en *S. hispanica* ha sido un proceso discontinuo. Se observaron diferencias en el tamaño del genoma, sin modificar su número cromosómico. El número cromosómico ( $2n=12$ ,  $x=6$ ) y el promedio de  $2C$  de ADN (0.849 pg) en *S. hispanica* son de los más pequeños en el género *Salvia*. El material silvestre de Sinaloa presentó un sistema de apareamiento preferentemente autógeno y se observó un incremento en la tasa de alogamia en el material cultivado de Acatic, Jalisco; un factor asociado a esta diferencia es la modificación de la estructura floral. No existe aislamiento reproductivo entre la chía silvestre de Sinaloa y la chía cultivada de Acatic, Jalisco; los híbridos obtenidos de su cruce son vigorosos, como el progenitor cultivado, pero presentan frutos dehiscentes, como el progenitor silvestre.

**Palabras clave:** *Salvia hispanica*, chía silvestre, chía cultivada, tamaño del genoma, estructura floral, fecundación natural.

# MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION, NUCLEAR DNA CONTENT AND NATURAL OUTCROSSING IN CHIA (*Salvia hispanica* L.)

José Alfonso Hernández Gómez, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2008

Chia (*Salvia hispanica*) is a plant of Mesoamerican origin. Its wide distribution and genetic diversity in Mexico, together with its nutritional, medicinal and industrial value turn it into a promising vegetable resource. In order to save the genetic, technological, and cultural patrimony of *S. hispanica* its morphological variability was evaluated in wild and cultivated accessions, its chromosomal number and size of genome was determined, and its reproductive system was characterized. The multivariate analysis of 23 morphological characteristics allowed the conformation of six groups of different geographical origin: North of Mexico, Jalisco, Puebla, Guerrero, Oaxaca and Central America, according to the width and length of the flower, width of calyx, the dehiscence of seed, diameter of stem, days at beginning of flowering, and number of branches. The morphological characteristics that were modified in the cultivated accessions, with respect to the wild were: The flower, the inflorescence, the seed, the type of calyx at ripening, and the biological cycle; however, the morphological differentiation in *S. hispanica* has been a discontinuing process. Differences in the size of genome were observed, without modifying its chromosomal number. The chromosomal number ( $2n=12$ ,  $x=6$ ) and the average of  $2C$  of DNA (0.849 pg) in *S. hispanica* are of the smallest ones in the *Salvia* genus. The wild accession of Sinaloa presented a mating system preferably autogamic and an increase in the rate of allogamy in the cultivated accession of Acatic, Jalisco was observed; a factor associated to this difference is the modifications of the floral structure. Reproductive isolation between wild chia of Sinaloa and cultivated chia of Acatic, Jalisco does not exist; the hybrids obtained from their cross are vigorous, as the cultivated ancestor, but they present dehiscent fruits, as the wild ancestor.

**Key words:** *Salvia hispanica*, wild chia, cultivated chia, size of genome, floral structure, natural fertilization.

## AGRADECIMIENTOS

Al **pueblo de México** por el apoyo económico que, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**), hizo posible mis estudios de Doctorado en Ciencias.

A la Universidad Autónoma Chapingo (**UACH**) y al Departamento de Fitotecnia por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados (**CP**) y al Programa de Genética del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad (**IREGEP**) por haberme brindado la oportunidad de capacitarme en áreas de mi interés.

Al **Dr. Salvador Miranda Colín**, por su acertada dirección en el presente trabajo, por compartir su visión sobre la Agricultura Mexicana y por ser un ejemplo a seguir en mi vida profesional.

A mis asesores, los **Doctores: Armando García Velázquez, Aureliano Peña Lomelí, Jaime Sahagún Castellanos y J. Apolinar Mejía Contreras** por su colaboración y disponibilidad en la realización y revisión de esta investigación.

A la **M. C. Teresa Cervantes Martínez** por su asesoría para la obtención y digitalización de las preparaciones del número cromosómico de la chía (*Salvia hispanica*).

A la **Dra. Guadalupe Palomino Hasbach** por entrenarme en la obtención del tamaño del genoma en *S. hispanica*, por permitirme utilizar el citómetro de flujo del Laboratorio de Citogenética del Instituto de Biología de la UNAM y por la revisión del capítulo sobre “Número cromosómico y contenido de ADN en la chía (*Salvia hispanica*)”.

A la **Bióloga Miriam Ladd Otero** por su apoyo en los aspectos técnicos de la cuantificación del ADN.

## DEDICATORIA

A los **productores de Chía** que han conservado la tradición agrícola y cultural de una planta de origen Mesoamericano.

A mi madre: **Micaela Gómez Rodríguez** y a la memoria de mi padre: **José de la Luz Hernández Peña**, por haberme apoyado en todas mis decisiones.

A mi esposa **Fausta Cruz Vázquez** quien ha sido un apoyo en todo momento.

A mis hijos: **Alfonso Centli** y **Yolotl Fausto**, por ser el motivo principal para mi superación.

A todos **mis amigos y compañeros**, con quienes he compartido compromisos, responsabilidades y momentos de alegría.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Taxonomía, citología, morfología y distribución geográfica.....	3
Usos de la chía.....	12
Valor nutrimental.....	13
Conocimiento tecnológico.....	15
LITERATURA CITADA.....	20
<b>II. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LA CHÍA</b> <b>(<i>Salvia hispanica</i>).....</b>	 <b>23</b>
RESUMEN.....	23
SUMMARY.....	24
INTRODUCCIÓN.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
Asociación y agrupamiento de los materiales de chía.....	30
Diferencias entre chía silvestre y cultivada.....	35
Diferencias entre chías cultivadas.....	38
CONCLUSIONES.....	43
LITERATURA CITADA.....	44
<b>III. NÚMERO CROMOSÓMICO Y CONTENIDO DE ADN</b> <b>NUCLEAR EN LA CHÍA (<i>Salvia hispanica</i>).....</b>	 <b>47</b>
RESUMEN.....	47
SUMMARY.....	47
INTRODUCCIÓN.....	48

Citología, taxonomía y distribución geográfica de <i>S. hispanica</i> .....	48
Contenido nuclear de ADN y variaciones entre géneros y especies.....	50
Mecanismos de cambio en el contenido de ADN.....	57
Citómetro de flujo.....	59
MATERIALES Y MÉTODOS.....	62
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	66
Conteo de cromosomas.....	66
Análisis del tamaño del genoma.....	66
CONCLUSIONES.....	78
LITERATURA CITADA.....	79
<b>IV. CRUZAMIENTO NATURAL DE LA CHÍA (<i>Salvia hispanica</i>).....</b>	<b>84</b>
RESUMEN.....	84
SUMMARY.....	85
INTRODUCCIÓN.....	85
MATERIALES Y MÉTODOS.....	89
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	92
Cruzamiento natural intrapoblacional.....	92
Cruzamiento natural interpoblacional.....	95
CONCLUSIONES.....	101
AGRADECIMIENTOS.....	101
LITERATURA CITADA.....	102
<b>V. DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>104</b>
<b>VI. CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>110</b>
LITERATURA CITADA.....	111
<b>APÉNDICE.....</b>	<b>114</b>



## LISTA DE CUADROS

	Página
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Cuadro 2.1</b> Procedencia, condición y ubicación geográfica de las 22 muestras de <i>S. hispanica</i> utilizadas en el análisis de la variación morfológica.....	29
<b>Cuadro 2.2</b> Valores medios, $R^2$ y significancia de los contrastes de 23 características entre Chía silvestre vs. cultivada de Acatic, Puebla y Centroamérica (S vs. CU); Chía silvestre vs. cultivada de Guerrero (S vs. GRO); y Chía cultivada de Guerrero vs. cultivada de Acatic, Puebla y Centroamérica (GRO vs. CU).....	36
<b>Cuadro 2.3</b> Valores medios, $R^2$ y significancia de los contrastes de 23 características entre Chía cultivada de Acatic vs. cultivada de Puebla (A vs. P); Chía cultivada de Acatic vs. cultivada de Centroamérica (A vs. Ce); Chía cultivada de Puebla vs. cultivada de Centroamérica (P vs. Ce); y Chía de Guerrero zona cálida vs. Guerrero zona templada (Gcal vs. Gtem).....	39
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>Cuadro 3.1</b> Procedencia, condición, ubicación geográfica y ciclo biológico de las ocho muestras de <i>S. hispanica</i> utilizadas en el análisis del contenido de ADN nuclear.....	62
<b>Cuadro 3.2</b> Valores medios del contenido nuclear de ADN en las ocho muestras de <i>S. hispanica</i> (2n=12).....	70
<b>Cuadro 3.3</b> Análisis de varianza del contenido nuclear de ADN de ocho muestras de <i>S. hispanica</i> .....	73
<b>Cuadro 3.4</b> Prueba de rango múltiple de Tukey de las medias del contenido 2C-ADN de las muestras de <i>S. hispanica</i> evaluadas.....	73
<b>Cuadro 3.5</b> Valores medios y significancia del contenido 2C-ADN de los contrastes entre muestras silvestres, cultivadas y de Guerrero de <i>Salvia hispanica</i> .....	77
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>Cuadro 4.1</b> Frecuencia de fecundación cruzada natural entre dos genotipos de chía (flor blanca x flor morada) de la variedad cultivada de Acatic, Jalisco, evaluada en 50 progenies de flor blanca.....	93

<b>Cuadro 4.2</b>	Frecuencia de fecundación cruzada natural en dos poblaciones de chía (Silvestre de Sinaloa, flor azul x Cultivada de Acatic, flor morada), evaluada en 42 progenies de chía de flor azul.....	96
<b>Cuadro 4.3</b>	Variables de la estructura floral de la población de chía silvestre de Sinaloa y de la variedad de chía cultivada de Acatic.....	97
<b>Cuadro 4.4</b>	Variables de los híbridos en progenies de plantas de chía silvestre de Sinaloa cruzadas, en forma natural, con chía cultivada de Acatic, Jalisco y significancia de los contrastes (chía silvestre de Sinaloa vs. Híbrido y chía cultivada de Acatic vs. Híbrido).....	99
 <b>APÉNDICE</b>		
<b>Cuadro 1A</b>	Valores de las cuatro repeticiones para 23 variables medidas en 22 muestras de chía ( <i>Salvia hispanica</i> ) utilizadas en el estudio sobre caracterización morfológica.....	115
<b>Cuadro 2A</b>	Contenido de ADN nuclear de ocho muestras de <i>Salvia hispanica</i> , obtenido por citómetro de flujo, utilizando cinco plantas/población y tres repeticiones/planta.....	121
<b>Cuadro 3A</b>	Número de plantas con flor blanca, azul o morada y frecuencia de fecundación cruzada, obtenidas en las 50 progenies de flor blanca seleccionadas de la cruce de dos genotipos de chía (flor blanca x flor morada), de la variedad cultivada de Acatic, Jalisco.....	122
<b>Cuadro 4A</b>	Número de plantas con flor azul o morado y frecuencia de fecundación cruzada obtenidas en las 42 progenies de flor azul seleccionadas de la cruce de dos poblaciones de chía (Silvestre de Sinaloa, flor azul x Cultivada de Acatic, flor morada).....	123

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>CAPITULO I</b>	
<b>Figura 1.1</b> Principales estructuras morfológicas de la chía ( <i>Salvia hispanica</i> ).....	6
<b>Figura 1.2</b> Aspectos morfológicos y de cultivo de la chía ( <i>Salvia hispanica</i> ).....	7
<b>Figura 1.3</b> Límites geográficos de Mesoamérica y áreas de distribución natural de <i>Salvia hispanica</i> .....	11
 <b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Figura 2.1</b> Primera (CP1) y segunda (CP2) componente principal del análisis de 22 materiales de chía ( <i>Salvia hispanica</i> ). En el análisis se usaron los valores medios de 23 características. La primera y segunda componente principal contabilizan 30 y 26 % de la variación total, respectivamente.....	33
<b>Figura 2.2</b> Dendrograma de 22 colectas de chía ( <i>Salvia hispanica</i> ). Análisis de agrupamiento de mínima varianza de Ward, basado en 23 características morfológicas. Las letras muestran los grupos formados. A, Norte de México; B, Guerrero; C, Puebla; D, Centroamérica; E, Oaxaca y F, Acatic.....	34
 <b>CAPÍTULO III</b>	
<b>Figura 3.1</b> Cromosomas somáticos en ocho muestras de <i>Salvia hispanica</i> (2n=12): A) Chihuahua; B) Sinaloa; C) Acatic, Jalisco; D) San Mateo Coatepec, Puebla; E) Temalacatzingo, Guerrero; F) Chiepetlán, Guerrero; G) El Salvador; H) Honduras.....	67
<b>Figura 3.2</b> Histogramas de los núcleos de eritrocitos de pollo utilizados para calibrar el citómetro de flujo. El histograma 1 representa la fase G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> del ciclo celular (2C) y los histogramas 2 y 3 representan la agregación de núcleos dobles y triples.....	68
<b>Figura 3.3</b> Estimación del contenido de ADN nuclear en ocho muestras de <i>Salvia hispanica</i> (2n=12). A) Chihuahua; B) Sinaloa; C) Acatic, Jalisco; D) San Mateo Coatepec, Puebla; E) Temalacatzingo, Guerrero; F) Chiepetlán, Guerrero; G) El Salvador; H) Honduras. El histograma 1 representa la etapa G <sub>1</sub> (2C) de los núcleos de las poblaciones de <i>S. hispanica</i> y los histogramas 2 y 3 representan la etapa G <sub>1</sub> (2C) y G <sub>2</sub> (4C) de los núcleos de <i>Lycopersicon esculentum</i> (planta de referencia), respectivamente.....	69

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una planta que tuvo gran importancia en la época prehispánica. Su cultivo fue considerado un elemento esencial en la cultura mesoamericana y fue una característica que definía los límites de esta región, que abarcaba México, Guatemala, El Salvador, Honduras y porciones de Nicaragua, al momento de la conquista española.

La semilla entera, la harina o el aceite de la chía fueron apreciados por sus usos medicinales, alimenticios y artísticos. Junto con el maíz (*Zea mays*), el frijol (*Phaseolus* spp.) y el huautli (*Amaranthus leucocarpus*) eran los granos básicos de la alimentación para el nativo mesoamericano. Las especies de mayor importancia en la dieta presentaban una extensa adaptación geográfica, de tal forma que, prácticamente en todas las regiones el hombre podía producir sus propios alimentos.

El área de distribución natural de la chía se ubica en la zona montañosa de la vertiente del Océano Pacífico, desde Chihuahua hasta Centroamérica, sobre el Eje Neovolcánico Transversal y las Sierras: Madre Occidental, del Sur y de Chiapas; en estas áreas existía una amplia variedad de climas y las altitudes variaban entre los 1400 y los 2200 m. Estas condiciones generan aislamiento geográfico y condiciones microambientales que han favorecido la diversidad genética en los genotipos silvestres de chía. En esta región también

se han desarrollado numerosas culturas que iniciaron el proceso de introducción de la chía a condiciones de cultivo, utilizando diferentes técnicas de manejo agrícola; el transporte de semilla y su dispersión a nuevos ambientes, el intercambio de germoplasma y las continuas hibridaciones entre materiales cultivados y silvestres incrementaron la diversidad genética de la chía, la cual sirvió para aumentar sus áreas de cultivo.

La colonización española estuvo acompañada de una reducción drástica, y en algunas áreas fue eliminado el cultivo de la chía. Esto contribuyó, indudablemente, al deterioro de la diversidad genética, a la pérdida de la tradición tecnológica y cultural y estimuló el desinterés por la investigación científica en *S. hispanica*. En la actualidad, la chía se conserva como un cultivo marginal en las siguientes regiones de México: Acatic, Jalisco; Atzitzihuacan, Puebla y Olinalá, Guerrero. La producción de semilla de chía se enfrenta a una demanda nacional cada vez más restringida, estacional y su aceite está siendo desplazado por el aceite de linaza, en la elaboración de las lacas artesanales.

La semilla de chía contiene más proteína y aceite que otros granos; es la fuente vegetal con el mayor contenido de ácido linolénico omega-3; al hidratarse, secreta un polisacárido que es útil como fibra soluble, dietética y su aceite contiene antioxidantes naturales. Estas características han incrementado el interés comercial y de investigación científica en la semilla de *Salvia hispanica*, con la cual se están elaborando diferentes productos alimenticios y medicinales. En la actualidad, el mercado mundial de semilla de chía está controlado por compañías agroexportadoras de países de Sudamérica; las cuales se han apropiado de material genético nativo de México y están desarrollando su producción de forma intensiva y altamente

tecnificada. Para salvaguardar el patrimonio genético, tecnológico y cultural de *Salvia hispanica*, se requiere un programa nacional de rescate y valoración, de esta especie nativa, para planificar mejor su producción, aprovechamiento y conservación.

## **OBJETIVOS**

- a) Evaluar e identificar la variabilidad morfológica en poblaciones silvestres y cultivadas de *Salvia hispanica*.
- b) Determinar el número cromosómico y el tamaño del genoma en muestras de *S. hispanica*.
- c) Generar información sobre el sistema reproductivo de *S. hispanica*.

## **HIPÓTESIS**

El aislamiento geográfico y la diversidad de condiciones ambientales presentes en el área de distribución de *S. hispanica* y el proceso constante de domesticación a que estuvo sometida la especie, en la época prehispánica, han generado una amplia variación en sus características morfológicas, en el tamaño del genoma y modificaciones en su sistema reproductivo.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

### **Taxonomía, citología, morfología y distribución geográfica**

La “chía” es un vocablo utilizado por los nahuas para describir varias especies, cuyo cultivo y utilización fueron considerados como característica esencial de la cultura en Mesoamérica

(Kirchhoff, 1960). Los nahuas utilizaban la morfología, la función y la utilidad similares de las especies vegetales para su clasificación taxonómica. Simeon (1984) registra las características que posiblemente utilizaron los nahuas para identificar las especies de chía; menciona que el vocablo está referido a plantas cuya semilla proporciona aceite y de su semilla entera o de su harina, en infusión, se elabora una bebida mucilaginoso muy agradable, nutritiva y refrescante. Debido a que el vocablo de chía se encuentra en varias lenguas indígenas y a que existen descripciones precisas de sus formas de uso, es probable que el conocimiento y la domesticación de estas plantas se remonte a una etapa previa a la época prehispánica (Gillet, 1981).

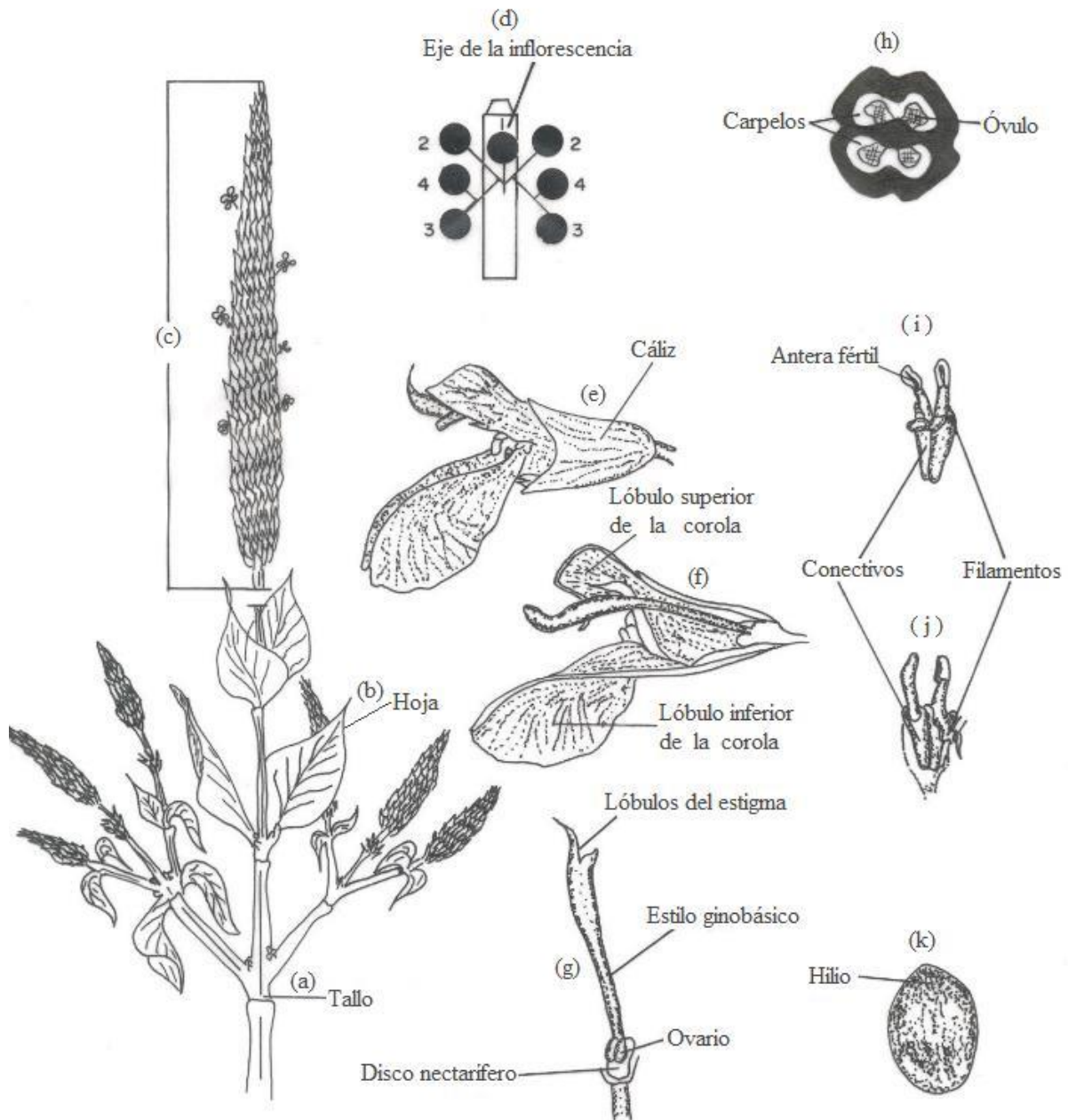
*Salvia hispanica* L. es la especie cultivada dentro del grupo de las “chías”. Su morfología se describe a continuación, según información reportada por Urbina (1983), Martínez (1959), Gillet (1981) y Ramamoorthy (1985). Adicionalmente, sus principales estructuras morfológicas se representan en las Figuras 1.1 y 1.2.

La planta es herbácea, anual y de un metro o más de altura. Los tallos son cuadrangulares, con caras acanaladas, pubescentes y numerosas ramas; en materiales silvestres, el tallo presenta estrías verticales de pigmentación. Las hojas son simples, opuestas, decusadas y lanceolado-ovadas. La inflorescencia es un verticilastro axilar o terminal. Las flores pediceladas se encuentran reunidas de seis o más en verticilos sobre la inflorescencia, las flores de cada grupo se desarrollan en forma de una cima dicotómica compuesta y en su base hay una bráctea. El cáliz es persistente, bilabiado, pubescente y estriado; al madurar, puede ser abierto y expulsar la semilla (dehiscente) o cerrado y retener la semilla (indehiscente). La

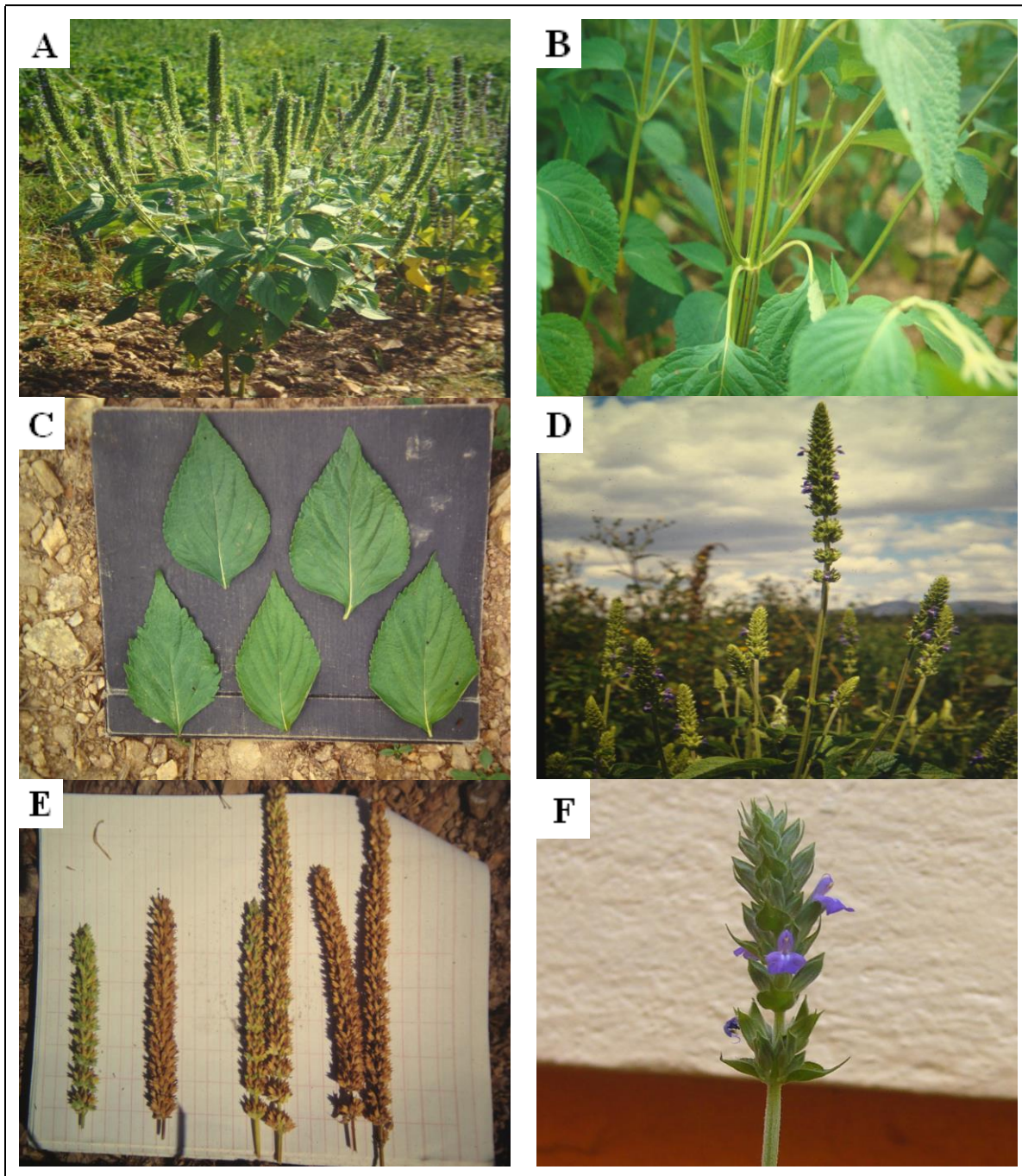
corola, de color morado, azul o blanco, es monopétala y bilabiada; el labio superior es arqueado, en forma de casco o gálea; el inferior se expande hacia afuera y abajo. Los estambres fértiles son dos y se encuentran unidos por un conectivo, el cual se articula a filamentos que se insertan en el tubo de la corola. El ovario es súpero, bicarpelar y tetralocular, sobre un disco nectarífero; el estilo ginobásico es glabro, glanduloso en la base y bífido. El fruto es un esquizocarpo y, al madurar, se separa en cuatro frutos individuales o mericarpios. Cada fruto es oval, la parte redondeada está opuesta al hilio; sus caras son lisas, brillantes, de color blanco o moreno-grisáceo, con manchas irregulares y de cerca de 2 mm de longitud. Los frutos puestos en agua se hinchan rápidamente y se rodean de una capa mucilaginosa, la cual se forma del rompimiento de las células epiteliales; en 15 minutos son capaces de absorber agua equivalente a 5 ó 6 veces su peso. Según Urbina (1983), la variación en el desarrollo de la capa epitelial y, por tanto, en la cantidad de mucílago producido, depende de la variedad.

Las características morfológicas que identifican a *S. hispanica* se expresan con rangos de variación. Cahill (2005) y Hernández y Miranda (2008) identificaron el patrón de variación morfológica entre los tipos silvestres y cultivados. Los materiales cultivados, en comparación con los silvestres, han desarrollado cálices cerrados, las semillas de mayor tamaño, menor pubescencia, la inflorescencia terminal más larga y compacta, las corolas más largas y expuestas, mayor altura de planta y número de ramas y una tendencia a uniformizar el tiempo de floración y la maduración de la semilla.



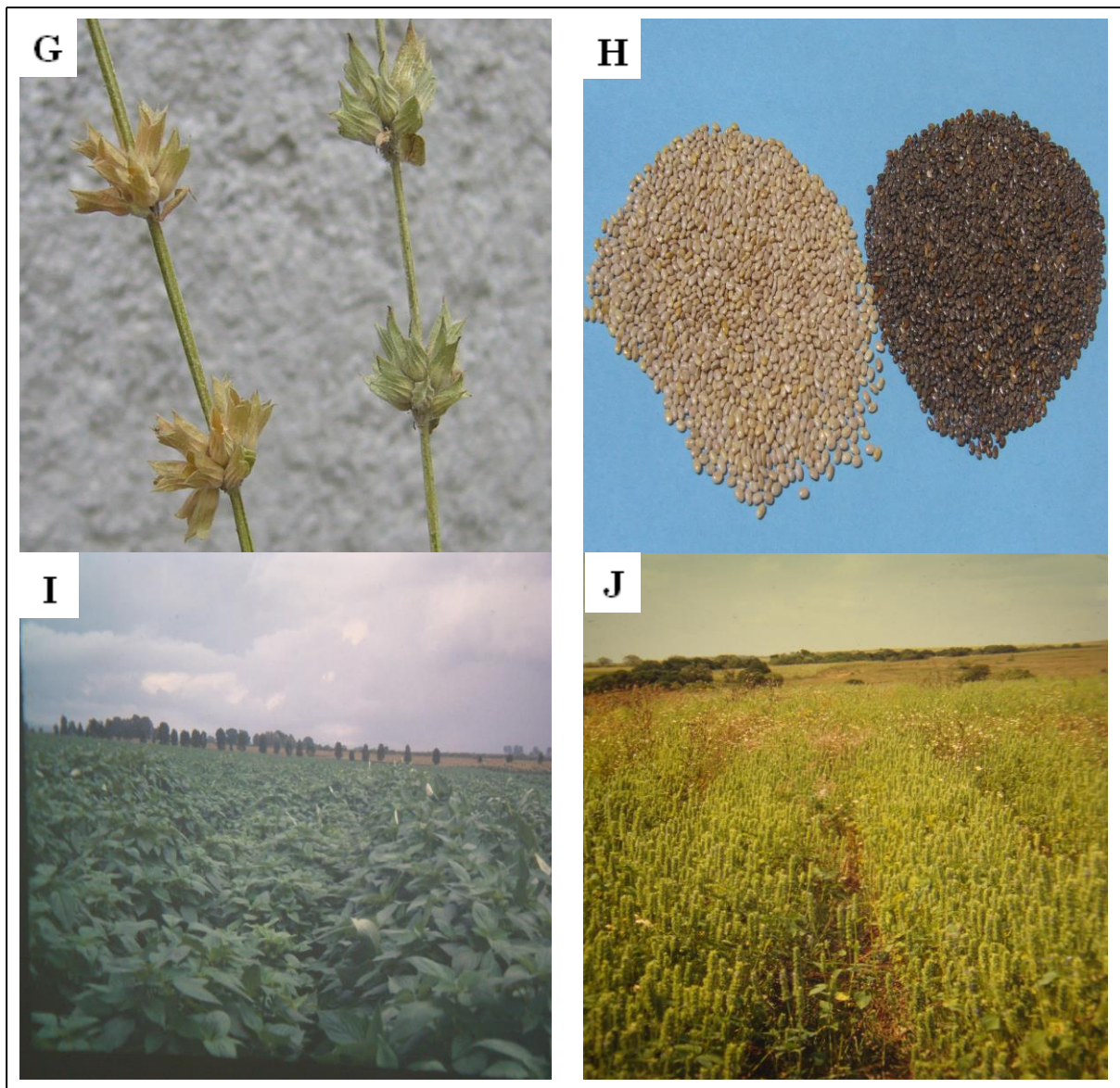


**Figura 1.1.** Principales estructuras morfológicas de la chía (*Salvia hispanica*). (a) Tallo. Cuadrangular, caras acanaladas, pubescente, numerosas ramas; (b) Hojas (0.2x). Simples, opuestas, decusadas, lanceolado-ovadas; (c) Inflorescencia terminal (verticilastro) (0.4x). (d) Cima dicotómica axilar en el verticilo de la inflorescencia. Las flores están numeradas por orden de aparición; (e) Vista lateral de la flor (4x); (f) Corte longitudinal de la flor (4x); (g) Gineceo (4x); (h) Corte transversal del ovario, mostrando los dos carpelos y los cuatro lóculos; (i) Vista anterior de los estambres (4x); (j) Vista posterior de los estambres (4x); (k) Cara ventral del fruto (mericarpio) (10x).



**Figura 1.2.** Aspectos morfológicos y de cultivo de la chía (*Salvia hispanica*). A) Planta de chía en condiciones de cultivo, B) Tallo. Cuadrangular, caras acanaladas y bandas de coloración oscura, C) Variación morfológica en el tamaño y forma de la hoja, D) Inflorescencia terminal en etapa de floración, E) Variación morfológica en la longitud y densidad de la inflorescencia, F) Flor. El labio superior de la corola en forma de casco o gálea y el labio inferior trilobado en forma de pista de aterrizaje.





**Figura 1.2.** Continuación...G) Tipo de cáliz al madurar. A la izquierda, cáliz abierto y tira la semilla (dehiscente) y a la derecha, cáliz cerrado y retiene la semilla (indehiscente), H) Rango de coloración de la semilla, I) Cultivo de chía en Acatic, Jalisco; J) Cultivo de chía en San Mateo Coatepec, Puebla.

*S. hispanica* es una especie diploide con  $2n=12$  y  $x=6$ ; tiene el número cromosómico más bajo registrado en el género *Salvia*; sus cromosomas son pequeños, su cariotipo asimétrico, se presentan cromosomas metacéntricos, submetacéntricos y telocéntricos y con constricciones secundarias en un par de cromosomas (Haque y Ghoshal, 1980; Mercado *et al.*, 1989; Estilai y Hashemi, 1990). Según Mercado *et al.* (1989), el cariotipo de *S. hispanica* es una serie aneuploide y para Palomino *et al.* (1986), el origen de las especies con  $2n=12$  pudo haber sido un ancestro con  $x=7$ . El posible origen del género *Salvia* es América Central (Harley y Heywood, 1992).

Se ha supuesto que *S. hispanica* es una especie alógama y entomófila, como la mayoría de las especies de *Salvia*, por el color de sus pétalos, por la forma del labio inferior de la corola, por la articulación de los estambres a la corola y por la presencia de néctar (Martínez, 1959; Ramamoorthy, 1985). En cambio, Haque y Ghoshal (1981) indican que las flores de *S. hispanica* son pequeñas y homostílicas, lo que favorece la autofecundación; además, suponen que la especie es autocompatible porque casi todas las plantas producen semilla en condiciones de polinización abierta o incluso en plantas aisladas.

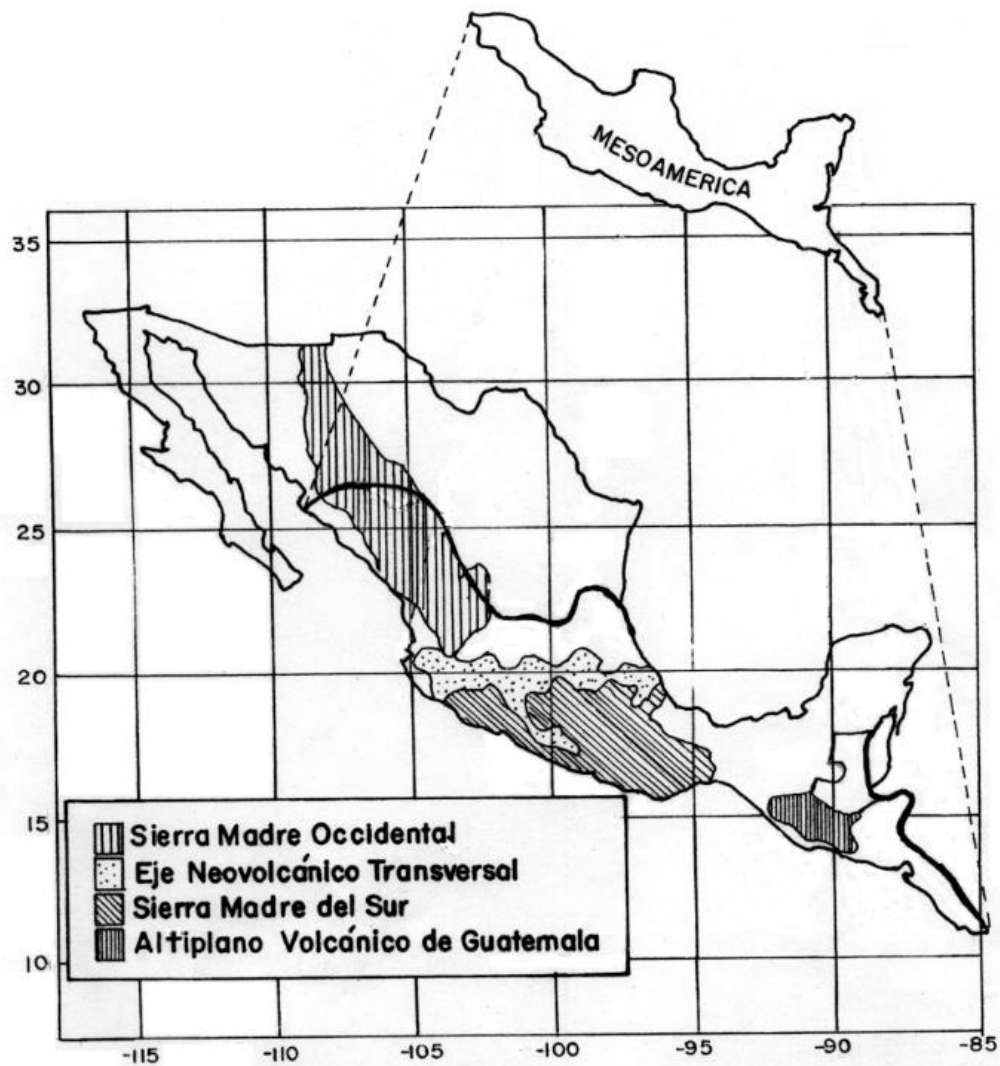
Con relación a la genética y heredabilidad de algunos caracteres en *S. hispanica*, Cahill y Provance (2002) indican que el color de la testa de la semilla, la pigmentación del tallo y la dehiscencia son algunos cambios morfológicos debidos al cultivo y domesticación de la especie. Al respecto, mencionan que el color blanco de la testa de la semilla está controlado por un gene recesivo simple; las estrías verticales de pigmentación de antocianinas en los tallos es un carácter que presenta dominancia completa sobre los tallos no pigmentados; en

cambio, más de un gene simple controla la apertura o cierre del cáliz al madurar. Este conocimiento es aplicable para el mejoramiento dirigido a incorporar características benéficas de los tipos silvestres en líneas domesticadas para incrementar su valor agronómico y comercial. Por otro lado, Cahill y Ehdaie (2005) observaron variación genotípica y alta heredabilidad (0.75) en el volumen de la semilla de diferentes materiales de *S. hispanica* y concluyeron que es posible obtener ganancias en la selección de esta característica cuando la selección masal se conduce en generaciones tempranas.

El centro de diversidad genética de *S. hispanica* se encuentra en las tierras altas del Oeste de México y Guatemala (Miranda, 1978; Cahill, 2004). Su hábitat es montañoso, las poblaciones silvestres crecen a lo largo de los ríos, arroyos o flujos de agua, en bosques de pino y pino-encino y se distribuye en ambientes semicálidos y templados del Eje Neovolcánico Transversal y de las Sierras: Madre Occidental, del Sur y de Chiapas en México, y en la zona volcánica de Guatemala, en altitudes de 1400 a 2200 m (Figura 1.3). Para Ramamoorthy y Elliot (1998), estas condiciones generan fragmentación y diferenciación de las poblaciones. Las poblaciones silvestres de *S. hispanica* son preservadas por el aislamiento geográfico en lugares alejados que aún no han visto alterado su hábitat. En la actualidad, la diversidad genética en *S. hispanica* es mayor en las variedades silvestres que en todas las variedades domesticadas y, dentro de las silvestres, los materiales colectados en el Eje Neovolcánico Transversal exhiben los más altos niveles de diversidad genética (Cahill, 2004).

Las características morfológicas distintivas desarrolladas por el aislamiento geográfico y reproductivo con relación a otras especies de *Salvia*, particularmente con respecto a las

anteras, el cáliz y la morfología de la semilla, han ubicado taxonómicamente a *S. hispanica* como única representante de la sección Potiles del subgénero Calosphace (Epling, 1939).



**Figura 1.3.** Límites geográficos de Mesoamérica y áreas de distribución natural de *Salvia hispanica*. Elaborado a partir de Cahill (2004) y Kirchhoff (1960).

## Usos de la Chía

En la época prehispánica, los principales usos de la chía eran: Medicinales, alimenticios y artísticos (Cahill, 2003). La importancia de la chía en la medicina prehispánica era debida a la característica mucilaginosa de sus semillas y a la acción suave de su aceite. Algunos de los usos medicinales registrados son: La semilla o su harina en agua, o cocida y tomada en atole es eficaz contra la fiebre, diarrea, estreñimiento y regulación de la secreción biliar; la chía es también útil como reconstituyente para convalecientes; en cataplasmas, para aliviar el dolor de las heridas; en disolución de medicamentos; en infusiones como ingrediente estimulante; en la extracción de impurezas y tratamiento de infecciones de los ojos; como emoliente en inyecciones, gargarismos y colirios. La semilla de chía, molida con un poco de la cola del tlacuache, y mezclada en agua, facilita el parto; su raíz verde y cruda, mezclada con la raíz del sauce, después molidas y consumidas en atole, es buena contra la tos (Sahagún, 1977; Urbina, 1983; Hernández, 1976; Gillet, 1981; Bukasov, 1963; Whistler, 1982; Cahill, 2003). A pesar de que los usos medicinales han decrecido en complejidad a partir de 1600, Cahill (2003) plantea la hipótesis de que los usos medicinales fueron el móvil inicial para la domesticación de la especie.

Como alimento, se utilizaba fundamentalmente la harina o la semilla entera de *S. hispanica*. De la semilla tostada y molida se obtenía la harina o “chianpinolli”, que en algunas ocasiones, se procesaba simultáneamente con las semillas de maíz. El chianpinolli se incorporaba a tortillas, tamales o a varias bebidas conocidas como “chianatolli”. En forma de harina, podía cargarse fácilmente en largas travesías o guardarse para ser utilizado a lo largo del año

(Bukasov, 1963; Gillet, 1981; Torres, 1985). Whistler (1982) destaca el valor refrescante y energético de las bebidas preparadas con chía. A partir de 1600, las bebidas hechas con harina de chía han decaído en importancia; en cambio, la bebida elaborada con semilla entera, mezclada con agua, a la que se añade jugo de fruta y azúcar logró gran popularidad (Cahill, 2003).

En la época prehispánica, los usos artísticos se restringieron al uso del aceite extraído de la semilla para cosméticos, barnices y pintura (Cahill, 2003). En algunas regiones, las plántulas de chía se utilizan para la decoración de figuras zoomórficas de barro (Gillet, 1981). Actualmente, las lacas y pinturas se mantienen como los usos artísticos predominantes de *S. hispanica*. En Olinalá, Guerrero, los artesanos utilizaban el aceite de chía en la preparación de las lacas para pintar jícaras (*Crescentia* spp.), guajes (*Lagenaria siceraria*) o muebles elaborados con madera de linoloé (*Bursera aloexylom* Engl.) (Torres, 1985). En la actualidad, los artesanos señalan que el aceite de chía es excelente y superior al de la linaza. La calidad del aceite de chía se debe a su alto contenido de ácido linolénico de tipo poliinsaturado que permite una oxigenación rápida del aceite y, con esto, un secado rápido y mayor duración de la pintura (Urbina, 1983; Martínez, 1959).

### **Valor nutrimental**

La semilla de chía contiene entre un 32 a un 39 % de aceite; de éste, entre 60 a 63 % lo constituye el ácido  $\alpha$ -linolénico omega-3, un aceite esencial que suministrado en la dieta reduce el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (Ayerza y Coates, 2002a); posee 19-



23 % de proteína, porcentaje superior a otros granos, y sus aminoácidos no tienen factores limitativos en la dieta de las personas adultas (Weber *et al.*, 1991); la semilla de chía también es una buena fuente de vitamina B, calcio, fósforo, potasio, cinc y cobre (Ayerza y Coates, 2002a). El aceite extraído de la semilla de chía tiene una fuerte actividad antioxidante; la actividad antioxidante es antiinflamatoria, antimutagénica, anticarcinogénica y antiviral (Taga *et al.*, 1984). Una vez que el aceite se ha extraído, el material remanente contiene un 50-60 % de fibra; de la cual, un 5 % es fibra soluble que aparece como mucílago al colocar la semilla en agua (Bushway *et al.*, 1981). Finalmente, la biomasa de la planta de chía tiene aceites esenciales en abundancia con importancia en las industrias de saborizantes y fragancias (Amhed *et al.*, 1994).

En el mercado existen otros productos que son ricos en ácidos grasos omega-3, como la semilla de linaza, el aceite/harina de pescado y algas marinas. La semilla de chía presenta muchas ventajas comparativas sobre estos productos, por ejemplo: Tiene historia como producto alimenticio; la mayor concentración de ácidos grasos omega-3 y la más baja concentración de grasas saturadas; alta concentración de antioxidantes naturales que le proporciona estabilidad a su aceite y le reduce los problemas de almacenamiento; no contiene factores tóxicos o antinutricionales; no contiene colesterol ni sodio y su sabor ligero le permite mezclarla con otros alimentos. Debido a estas ventajas, se está incrementando la comercialización de sus productos. Las semillas de chía pueden consumirse directamente o mezclarse con yogurt, jugos, ensaladas, cereales, etc.; la semilla entera o su harina se utiliza como ingrediente para hacer pan, barras energéticas, suplementos dietéticos para personas o

para alimento de caballos, cerdos, gatos, perros, en dietas de aves para la producción de huevo y carne y en dietas de vacas para la producción de leche (Ayerza y Coates, 2005).

## **Conocimiento tecnológico**

### **Antecedentes**

Existen evidencias de que el riego, las técnicas de captación de agua de lluvia y del subsuelo, las diversas formas de fertilización y conservación de los suelos y la gran diversidad y amplia adaptación ecológica de las especies contribuyeron al aumento de la complejidad de la agricultura mesoamericana. Este nivel alcanzado fue producto de un proceso largo de domesticación de numerosas especies, de la creación de variedades que fueron colonizando nuevos ambientes y del desarrollo de técnicas y métodos de cultivo intensivo; sus instrumentos eran sencillos, pero contaban con una organización social que favorecía la eficiencia en el trabajo (Rojas, 1985).

El inicio de la domesticación de plantas de cultivo ocurrió entre 7 500 y 5 000 A. C.; hacia 1500 A. C., aparecieron las primeras aldeas permanentes con la agricultura como principal actividad económica; un factor que favoreció el surgimiento del cultivo, en una región, fue la riqueza de su vegetación natural, debido a su diversidad ambiental. Los primeros agricultores escogieron los nichos ecológicos más favorecidos por su humedad, blandura y riqueza de sus suelos en las orillas de los ríos, en las barrancas, en tierras con alto nivel freático, o en sitios libres de heladas o de humedad excesiva (Rojas, 1990).

La información acerca del cultivo de la chía en la época prehispánica es escasa, debido a que, a partir de la llegada de los españoles, esta especie fue desplazada y se perdió su tradición tecnológica (Rojas, 1983). Evidencias actuales indican que, a mediados del siglo XVI, la chía seguía cultivándose en el Valle de México y en los estados de Morelos, Puebla y Guerrero. Según Rojas (1985 y 1990), en regiones del oriente del estado de Morelos, la chía se sembraba en tierras de secano, con un ciclo agrícola por año; en terrenos con grandes acequias, con cultivos todo el año; o en arenales, vegas de los ríos, lagunas estacionales y terrenos húmedos. Se sembraba principalmente en asociación, en intercalación o en rotación con otros cultivos, como: maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus* spp.), chile (*Capsicum annuum*), algodón (*Gossypium* spp.), huautli (*Amaranthus leucocarpus*), calabaza (*Cucurbita* spp.), tomate (*Physalis ixocarpa*), entre otros.

En las orillas de los lagos del Valle de México, donde la presencia de heladas y el régimen de lluvias reducen el periodo de crecimiento de las plantas, la chía se sembraba al final de la época invernal utilizando el riego o en terrenos de humedad de las chinampas; de esta forma, la estación de crecimiento pudo ampliarse sin riesgo de sequía o de bajas temperaturas. Armillas (1971) estimó que la superficie de las chinampas abarcaba cerca de 9 000 ha de terreno. Cahill (2005) sostiene que el efecto ecológico de la reducción o eliminación de las limitantes de humedad, combinada con la ampliación del periodo de crecimiento, pudo conducir a la selección de características asociadas a las variedades de chía domesticadas. Con esto, la chía se convirtió en uno de los granos más importantes en la alimentación en Mesoamérica. Ortiz de Montellano (1978) reporta que Tenochtitlan recibía anualmente, como tributo, 4 410 Tons. de semilla de chía.

## **Situación actual**

Existen tres regiones de producción de chía en México: Temalacatzingo, Olinalá, en Guerrero; San Mateo Coatepec, Atzitzihuacan, en Puebla y Acatic, en Jalisco. En la zona de Guerrero, la chía se produce a baja escala y en condiciones de temporal; se siembra en julio, florea en septiembre, desarrolla la semilla en octubre y se cosecha a finales de noviembre. Los terrenos que principalmente se usan son los recién desmontados y quemados o “tlacololes”, en donde la chía se asocia con maíz; se siembra al “voleo” y la semilla no se cubre; el crecimiento de la maleza es reducido; la escasa lluvia, en algunos años, afecta el desarrollo del fruto. Una vez que el cultivo ha madurado, las inflorescencias se cortan, se hacen manojos dejándolos secar en el terreno; después se sacuden sobre un lienzo, donde se recoge la semilla (Rojas, 1985; Hernández, 1994). La producción de chía está orientada a la extracción de aceite para la elaboración de lacas artesanales; sin embargo, la tendencia es a reducir la producción de chía porque los artesanos prefieren el aceite de linaza, de menor calidad, pero más barato.

En San Mateo Coatepec, Puebla, la chía se siembra en terrenos utilizados año con año, en monocultivo, en surcos, de forma mateada y con aplicación de fertilizante; aunque, también se usan terrenos barbechados después de dos o tres años de descanso (Hernández, 1994). Se cultivan aproximadamente de 20 a 30 ha anuales, con un rendimiento estimado de 750 kg/ha (Brechas, 2008). Su semilla se puede encontrar en los mercados de Puebla, Morelos y D. F. La Secretaría de Desarrollo Rural del estado de Puebla plantea desarrollar un proyecto para internacionalizar la chía orgánica, con la participación de 22 productores de San Mateo Coatepec y se destinarán 25 ha para su cultivo. Se plantea capacitar a los productores sobre el

uso y elaboración de abonos orgánicos, construir un centro de acopio y transformación de la semilla de chía y adquirir máquinas trilladoras (SDR, 2008).

Hernández (1994) informa que en Acatic, Jalisco, la chía se siembra en surcos, a “chorrillo” y la cosecha y limpieza de la semilla es mecanizada. En el periodo 1999-2003, se reporta una superficie sembrada por año de 300 ha, con un rendimiento promedio de una ton/ha (OEIDRUS, 2004). La semilla producida en esta región abastece los principales mercados del Occidente, Centro y Sur de México. Acatic, Jalisco es el mayor productor de chía en México y está incursionando en el mercado internacional con exportaciones de semilla que van en aumento.

En 1991, se inicia un proyecto de investigación y desarrollo denominado “Northwestern Argentina Regional Project”, con la participación de grupos de productores, entidades comerciales y personal técnico y científico de los Estados Unidos y países de Sudamérica. Su finalidad fue poner en el mercado productos enriquecidos con ácidos omega-3, antioxidantes y fibra soluble, a través de la utilización de la chía como materia prima esencial. Los trabajos incluyeron la adaptación de la semilla colectada en Acatic, Jalisco a una agricultura moderna, la determinación de las áreas de producción, el diseño de maquinaria agrícola, la limpieza y conservación de semilla y su comercialización. La producción de chía se desarrolla exclusivamente por contrato, con productores que poseen de 50 a 300 ha y se siembra en una superficie aproximada de 5 000 ha en Argentina, Bolivia, Colombia y Perú. El mercado de consumo de la semilla de chía se encuentra en países como Nueva Zelanda, Estados Unidos,

Japón, Canadá y Europa, preocupados por la prevención de las enfermedades cardiovasculares (Ayerza y Coates, 2002b).

La práctica agronómica común con relación a la producción de chía en esos países es: La semilla se siembra mecánicamente a razón de seis a ocho kg/ha, la semilla no se trata químicamente antes de la siembra; pero, el herbicida Trifluralina, a una dosis de dos l/ha, se aplica al suelo antes de la siembra. No se aplican insecticidas. A la siembra, se aplica mecánicamente, en surcos, el fertilizante fosfato diamónico; entre 30 y 45 días después de la siembra, se aplica mecánicamente, en surcos, 150 kg/ha de urea. El cultivo se deja madurar en forma natural; sin embargo, cuando hay necesidad de acelerar la maduración, se aplica paraquat a una dosis de 1 l/ha. Los rendimientos pueden variar entre localidades, pero generalmente son entre 500 a 800 kg/ha. La semilla se cosecha usando una cosechadora combinada modificada de grano. En poscosecha, la semilla es limpiada mecánicamente y no está sujeta a ningún tratamiento químico. Las semillas se almacenan en costales dentro de almacenes completamente cerrados, facilitando la preparación para el transporte (Craig, 1997).

Debido al incremento de la demanda de semilla de chía en el mercado internacional, se vislumbra la monopolización de la producción y comercialización de chía por las compañías agroexportadoras de Sudamérica. La mayor superficie cultivada y la total mecanización del cultivo en estos países, les permitirán establecer los precios internacionales.

## LITERATURA CITADA

- Ahmed M, I P Ting, R W Scora (1994)** Leaf oil composition of *Salvia hispanica* L. from three geographical areas. *J. Essentials Oil Res.* 6:223-228.
- Armillas P (1971)** Gardens on swamps: archeological research verifies historical data on Aztec land reclamation in the valley of Mexico. *Science* 174:653-661.
- Ayerza R (h), W Coates (2002a)** [En línea] Semillas de chia: nueva fuente natural de ácidos grasos omega-3, antioxidantes y fibra dietética. Dirección URL: <http://eatchia.crosswinds.net/chiasourcespa.htm> [Consulta: Mayo, 2007].
- Ayerza R (h), W Coates (2002b)** [En línea] Productos enriquecidos en omega-3 sobre la base de dietas animales con chía: producción y comercialización. Dirección URL: <http://eatchia.crosswinds.net/omegaeggspa.htm> [Consulta: Mayo, 2007].
- Ayerza R(h), W Coates (2005)** Chia: Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs. University of Arizona Press, Tucson, Arizona. 197p.
- Brechas (2008)** [En línea] Chía. Dirección URL: <http://www.brechas.org/index.php/chia> [consulta: julio, 2008].
- Bukasov S M (1963)** Las Plantas Cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Publicación miscelánea # 20. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Zona Andina, Lima, Perú. pp:193-194.
- Bushway A A, P R Belyea, R J Bushway (1981)** Chia seed as source of oil, polysaccharide, and protein. *J. Food Sci.* 46:1349-1350.
- Cahill J P (2003)** Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L. *Econ. Bot.* 57:604-618.
- Cahill J P (2004)** Genetic diversity among varieties of chia (*Salvia hispanica* L.). *Gen. Res. Crop Evol.* 51:773-781.
- Cahill J P (2005)** Human selection and domestication of chia (*Salvia hispanica* L.). *J. Ethnobiol.* 25:155-174.
- Cahill J P, M C Provance (2002)** Genetics of qualitative traits in domesticated Chia (*Salvia hispanica* L.). *Heredity* 93:52-55.
- Cahill J P, B Ehdaie (2005)** Variation and inheritance of seed mass in chia (*Salvia hispanica* L.). *Gen. Res. Crop Evol.* 52:201-207.
- Craig R (1977)** [En línea] Application for approval of whole chia (*Salvia hispanica* L.) seed and round whole chia as novel food ingredients. Dirección URL: <http://www.food.gov.uk/multimedispdfs/chiaapplication.pdf> [Consulta: Mayo, 2007].
- Epling C (1939)** A revision of *Salvia* subgenus Calosphace. *Repert. Spec. Nov. Sp. Beih.* 110:1-383.

- Estilai A, A Hashemi (1990)** Chromosome number and meiotic behavior of cultivated chia, *Salvia hispanica* (Lamiaceae). HortScience 25:1646-1647.
- Gillet H (1981)** Le chia, graine mucilagineuse mexicaine, fait son apparition en France. J. Agric. Trad. Bot. Appl. 28:183-187.
- Haque M S, K K Ghoshal (1980)** Karyotypes and chromosome morphology in the genus *Salvia* Linn. Cytologia 45:627-640.
- Haque M S, K K Goshal (1981)** Floral biology and breeding system in the genus *Salvia* L. Proc. Indian Nat. Sci. Acad. B47:716-724.
- Harley R M, C A Heywood (1992)** Chromosome numbers in Tropical American Labiatae. In: Advances in Labiatae Science. R M Harley, T Reynolds (eds). The Royal Botanic Gardens. Kew, Richmond, Surrey, UK. Great Britain. pp:211-246.
- Hernández F (1976)** Historia Natural de la Nueva España. Obras Completas. Tomo II. UNAM, México, D. F. pp:69-72.
- Hernández G J A (1994)** Chía (*Salvia hispanica*): antecedentes y perspectivas en México. In: Memorias del I Simposium Internacional sobre Etnobotánica en Mesoamérica. J A Cuevas S, E Estrada L, E Cedillo P (eds). Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. pp:173-180.
- Hernández G J A, S Miranda C (2008)** Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). Rev. Fitotec. Mex. 31:105-113.
- Kirchhoff P (1960)** Mesoamérica: Sus Límites Geográficos, Composición Étnica y Caracteres Culturales. Supl. Rev. Tlatoani (3). Escuela Nacional de Antropología e Historia. México. D. F. 15 p.
- Martínez M (1959)** Plantas Útiles de la Flora Mexicana. Ediciones De Botas. México. pp:198-202.
- Mercado P, T P Ramamoorthy, G Palomino (1989)** Karyotypes of five Mexican species of *Salvia* subgenus Calosphace (Lamiaceae). Cytologia 54:605-608.
- Miranda C S (1978)** Evolución de cultivares nativos de México. Ciencia y Desarrollo 3:130-131.
- OEIDRUS Jalisco (2004)** [En línea] Series históricas por municipio y cultivo. Dirección URL: [http://oeidrus.jalisco.gob.mx/estadistica/pro\\_agr13.asp](http://oeidrus.jalisco.gob.mx/estadistica/pro_agr13.asp) [Consulta: julio de 2008].
- Ortiz de Montellano B R (1978)** Aztec cannibalism: an ecological necessity? Science 200:611-617.
- Palomino G, P Mercado, T P Ramamoorthy (1986)** Chromosomes of *Salvia* Subgenus Calosphace (Lamiaceae), a preliminary report. Cytologia 51:381-386.



- Ramamoorthy T P (1985)** *Salvia* L. *In: Flora Fanerógama del Valle de México. Volumen II (Dicotiledóneas)*. J Rzedowski, G C de Rzedowski (eds). Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. pp:298-310.
- Ramamoorthy T P, M Elliot (1998)** Lamiaceae en México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. *In: Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución*. T P Ramamoorthy, R Bye, A Lot, J Fa (eds). Primera ed. en español. Universidad Autónoma de México, México, D. F. pp:501-526.
- Rojas R M T (1983)** La Agricultura Chinampera. Compilación Histórica. UACH, Dirección de Difusión Cultural. Colección Cuadernos Universitarios. Agronomía # 7. Chapingo, México. pp:181-203.
- Rojas R M T (1985)** La tecnología agrícola mesoamericana en el siglo XVI. *In: Historia de la Agricultura. Época Prehispánica-Siglo XVI. Colección Biblioteca del INAH. Tomo I*. México, D. F. pp:129-231.
- Rojas R M T (1990)** La agricultura en la época prehispánica. *In: La Agricultura en Tierras Mexicanas desde sus Orígenes hasta Nuestros Días*. M T Rojas R (Coordinadora). Primera ed. Editorial Grijalbo. Colección Los Noventa. México, D. F. pp:15-138.
- Sahagún C B (1977)** Historia General de las Cosas de la Nueva España. Tomo III. Segunda ed. Editorial Porrúa, México, D. F. pp:321.
- SDR (2008)** [En línea] Proyecto de internacionalización de la chía orgánica. Dirección URL: <http://www.sdr.gob.mx/beta1/noticia.php?id=10> [Consulta: julio, 2008].
- Simeon R (1984)** Diccionario de la Lengua Náhuatl o Mexicana. Cuarta ed. Editorial Siglo XXI. México, D. F. 783 p.
- Taga M S, E E Miller, D E Pratt (1984)** Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61:928-931.
- Torres W B (1985)** Las plantas útiles en el México antiguo según las fuentes del siglo XVI. *In: Historia de la Agricultura. Época Prehispánica-Siglo XVI*. T Rojas R, S Williams T (eds). Colección Biblioteca del INAH. Primera ed. Tomo I. pp:53-128.
- Urbina M (1983)** La chía y sus aplicaciones. *Revista de Geografía Agrícola. Análisis Regional de la Agricultura*. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 4:123-133.
- Weber C W, H S Gentry, E A Kohlhepp, P R McCrohan (1991)** The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecol. Food Nutr.* 26:119-125.
- Whistler R L (1982)** Industrial gums from plants: guar and chia. *Econ. Bot.* 36:195-202.

## II: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LA CHÍA (*Salvia hispanica*)\*

### MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF CHIA (*Salvia hispanica*)

José Alfonso Hernández Gómez<sup>1¶</sup> y Salvador Miranda Colín<sup>2</sup>

#### RESUMEN

La diversidad genética en torno a la chía (*Salvia hispanica* L.) se ha reducido; por tanto, se requiere valorar la diversidad actual de esta especie nativa de Mesoamérica para planificar mejor su conservación y aprovechamiento. En este estudio, se evaluó la variación morfológica de 22 muestras de tipo silvestre y cultivado de *S. hispanica*. En 1999 se estableció un ensayo en un diseño de bloques completos al azar con dos plantas por bolsa y cuatro repeticiones, en condiciones de invernadero, en Chapingo, México. Se registraron 23 características morfológicas de hoja, tallo, inflorescencia, flor y semilla. Los análisis de componentes principales y de agrupamiento permitieron establecer seis grupos principales de las poblaciones de chía que se asociaron por similitudes en el ancho y largo de la corola, el ancho del cáliz, la dehiscencia de semilla, el diámetro del tallo, los días a inicio de la floración y el número de ramas. Los grupos de chía cultivada procedentes de Jalisco, Puebla y América Central, en comparación con el grupo de chía silvestre, desarrollaron la corola más ancha, más grande y expuesta; la inflorescencia más larga, más ancha y compacta; la semilla de mayor peso e indehiscente. En cambio, el grupo de chía cultivada colectada en Guerrero mostró el tamaño de la corola, el peso de la semilla y la dehiscencia de semilla similares al grupo de chía silvestre.

**Palabras clave:** *Salvia hispanica*, germoplasma, Mesoamérica.

---

\* Publicado en la Revista Fitotecnia Mexicana Vol. 31 (2):105-113, 2008. <sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. 56230, Chapingo, Estado de México. Tel. y Fax: 01 (595) 952-1642. <sup>2</sup>Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. Tel. y Fax: 01 (595) 952-0200. <sup>¶</sup>Autor para correspondencia (alhdezg2@hotmail.com)

## SUMMARY

The genetic variability of chia (*Salvia hispanica* L.) has been decreasing. Thus, it is important to valorize the present diversity of Mesoamerican native chia species for a better conservation and use planning. In this study, the morphological variation of 22 cultivated and wild *S. hispanica* accessions was evaluated in 1999. Two plants of each chia accession were transplanted in a randomized blocks design with four replications, under greenhouse conditions at Chapingo, México. Twenty three morphological characters of leaf, stem, inflorescence, flower and seed were recorded. Principal components and cluster analyses indicated six groups of chia accessions which were associated considering the similarity to width and length of corolla, width of calyx, seed scatter habit, stem thickness, time of flowering and branching. The cultivated chia groups from Jalisco, Puebla and Central America developed bigger, wider and more exposed corollas, longer, wider and compact inflorescences, indehiscent seeds and heavier seeds than wild chia group. On the other hand, the size of corolla, weight of seed and shatter habit of the cultivated group from Guerrero were similar to the wild chia group.

**Index words:** *Salvia hispanica*, germplasm, Mesoamerica.

## INTRODUCCIÓN

“Chía” o “Chan” es un vocablo náhuatl que agrupa varias especies botánicas de los géneros *Salvia*, *Hyptis*, *Amaranthus* y *Chenopodium*; su cultivo y utilización fueron considerados por Kirshhoff (1960) como un elemento esencial de la cultura mesoamericana. Debido a que su denominación es en lengua indígena y a que existen descripciones precisas de sus formas de uso, es probable que el conocimiento y la domesticación de estas plantas se remonte a una etapa previa a la época prehispánica (Gillet, 1981).

*Salvia hispanica* L. es una especie cultivada de ese grupo. En la época prehispánica fue una planta importante y sus semillas, su harina o su aceite fueron apreciados por sus usos medicinales, alimenticios, artísticos y religiosos (Cahill, 2003). Actualmente, su semilla entera se usa en la preparación de una bebida nutritiva y refrescante; con el aceite extraído de sus cotiledones se elaboran lacas artesanales. *S. hispanica* es originaria de Mesoamérica y su mayor diversidad genética se presenta en la vertiente del Océano Pacífico (Miranda, 1978; Cahill, 2004). Se encuentra en áreas de bosque de encino o de pino-encino y se distribuye en ambientes semicálidos y templados del Eje Neovolcánico Transversal, de las Sierras Madre Occidental, del Sur y de Chiapas, en altitudes entre los 1400 y 2200 m. Al considerar su extensa área de distribución, su sistema de polinización altamente autógeno asociado con sus flores diminutas y homostílicas (Haque y Ghoshal, 1981) y la topografía accidentada de las montañas que da origen a un aislamiento geográfico de las áreas donde crece (Ramamoorthy y Elliot, 1998), es probable que exista una amplia diversificación entre poblaciones naturales de *S. hispanica*. Sin embargo, sólo se han descrito dos ideotipos: *S. hispanica* var. *chionocalyx* Fernald, con localidad tipo en Uruapan, Michoacán, y *S. hispanica* var. *intosa* Fernald, cuya localidad tipo es Buena Vista, Departamento de Sta. Rosa, Guatemala (Fernald, 1907).

Las especies cultivadas de mayor importancia en la dieta del nativo mesoamericano presentaban amplia adaptación geográfica, de tal forma que prácticamente en todas las regiones el hombre podía producir sus propios alimentos. Según Rojas (1985), existía una amplia diversidad ecológica en donde se sembraban maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus* spp.), huautli (*Amaranthus leucocarpus*), calabaza (*Cucurbita* spp.), chíá (*Salvia hispanica*) y chile (*Capsicum annuum*). A pesar de su enorme importancia y diversidad de usos en la época prehispánica, la superficie cultivada y la tradición tecnológica y cultural de *S. hispanica* fue

reduciéndose rápidamente a partir del periodo colonial (Rojas, 1983). En 1777, la chía todavía se sembraba en Chiepetlán, Guerrero, para utilizar su aceite en la decoración de jícaras, que son recipientes elaborados a partir del fruto de *Crescentia cujete* (Hurtado, 1946); en Chiapas, el aceite de chía mezclado con aje (*Coccus axin*) se usaba en la elaboración de lacas (Miranda, 1952). En El Salvador, por lo menos hasta hace poco tiempo, la semilla de *S. hispanica* o “Chan” se empleaba para preparar refrescos o para las enfermedades del hígado (Calderón, 1941). En el periodo de 1932-1935, el cultivo de la chía en México ocupaba una superficie promedio anual de 74 ha en los Estados de Jalisco, Puebla, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas (Rulfo, 1937). Actualmente, se cultiva en Acatic, Jalisco, en Atzitzihuacan, Puebla, y en Olinalá, Guerrero.

La semilla de chía contiene más proteína y aceite que otros granos, por lo que sería una fuente de alimento muy atractiva en países en desarrollo (Weber *et al.*, 1991); su aceite posee un alto contenido de ácido linolénico omega-3, esencial en la alimentación y efectivo para disminuir las afecciones cardiovasculares (FAO, 1978); los antioxidantes naturales de su aceite evitan los procesos oxidativos en alimentos (Taga *et al.*, 1984); el mucílago de la testa de la semilla es un polisacárido útil como fibra soluble y dietética (Bushway *et al.*, 1981); los aceites esenciales pueden usarse en la industria de saborizantes y fragancias (Ahmed *et al.*, 1994); además, los ácidos grasos saturados y el colesterol del huevo se reducen cuando se adiciona semilla de chía a la dieta de gallinas (Ayerza y Coates, 2001). Las anteriores características han incrementado el interés comercial por *Salvia hispanica*, la que se ha introducido a varios países como cultivo promisorio (Coates y Ayerza, 1996) y se han industrializado diferentes productos alimenticios y medicinales preparados con semilla de chía.

La domesticación es un proceso evolutivo que opera bajo la influencia de actividades humanas. Varios autores han definido los cambios morfológicos asociados con la domesticación de algunas especies vegetales (Pernés, 1983; Harlan, 1992; Zohary y Hopf, 1994). Aunque se desconocen los orígenes de su cultivo y los procesos de su domesticación, la selección humana en *S. hispanica* ha sido una fuerza poderosa en su evolución, dada la capacidad de la planta de producir miles de semillas, combinada con su ciclo de vida anual, su sistema de polinización altamente autógamo y la alta heredabilidad para algunas características fenotípicas (Cahill y Ehdai, 2005). Las características morfológicas y fenológicas que identifican a las variedades domesticadas de *S. hispanica* son: cálices cerrados, semilla de mayor tamaño, inflorescencias más compactas, flor más larga, presencia de dominancia apical y uniformidad en los periodos de floración y maduración (Cahill, 2005). Como en la mayoría de las plantas cultivadas, en la chíá ha existido una ligera pérdida de variabilidad genética en el proceso de domesticación; en la actualidad, los esfuerzos se han dirigido a la selección de plantas domesticadas, a partir de una porción pequeña del total de la diversidad genética (Cahill, 2004).

Para reducir el deterioro genético y cultural de *S. hispanica*, se requiere un programa de rescate y valoración de esta especie nativa a fin de planificar mejor su manejo, aprovechamiento y conservación. Los objetivos de esta investigación fueron: a) identificar los patrones de variación morfológica entre poblaciones de *S. hispanica*, y b) analizar las similitudes y diferencias morfológicas dentro y entre los tipos silvestres y cultivados de *S. hispanica*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se hizo en condiciones de invernadero en la Universidad Autónoma Chapingo, México, en el año de 1999. El acopio de muestras de chíá fue durante recorridos de campo, compra de semilla a productores y en mercados regionales o mediante intercambio de material con otros investigadores. Se utilizaron 22 muestras de chíá, de diversa procedencia, condición y ubicación geográfica (Cuadro 2.1), las que están depositadas en el Banco de Germoplasma “Salvador Miranda Colín” de la Universidad Autónoma Chapingo.

Las semillas de las 22 muestras se sembraron en charolas de germinación el 26 de julio de 1999; a los 28 días de haber sido sembradas, las plántulas fueron trasplantadas a bolsas de polietileno negro de 45 x 45 cm, que contenían aproximadamente 18 kg de sustrato. Se establecieron cuatro repeticiones por muestra de chíá (dos plántulas x bolsa x repetición), en un diseño de bloques completos al azar. Se aplicaron riegos periódicos y a partir de la segunda quincena de octubre se reguló el termostato a una temperatura mínima de 9° C.

Durante el desarrollo de las plantas se midió: diámetro de tallo al primer nudo (cm); largo y ancho del limbo de la hoja ubicada en el quinto nudo a partir de la base (cm); altura de la planta (cm), número de ramas, días a inicio de la floración y periodo de floración (días). En la primera flor abierta y completamente desarrollada de cada planta se midió: largo y ancho del cáliz (mm), longitud total del tubo de la corola, ancho del labio inferior de la corola (mm), y largo y ancho de la bráctea basal (mm).

**Cuadro 2.1.** Procedencia, condición y ubicación geográfica de las 22 muestras de *S. hispanica* utilizadas en el análisis de la variación morfológica.

Clave	Procedencia <sup>†</sup>	Condición	Lat. N	Long. W	Altitud (m)
01	Chihuahua. Jardín Botánico, UNAM	S	27° 03'	107° 58'	1620
02	Chihuahua. Jardín Botánico, UNAM	S	26° 46'	106° 45'	2200
03	Sonora, México. UC-Riverside	C	28° 13'	109° 45'	250
04	Sinaloa, México. UC-Riverside	S	25° 53'	107° 26'	1100
05	Bosque de Pino-Encino de Tapalpa, Jalisco	S	19° 56'	103° 45'	2052
06	Productores de chía de Acatic, Jalisco	C	20° 46'	102° 54'	1680
07	Acatic. Universidad de Arizona	C	32° 13'	110° 55'	751
08	Acatic. Mercado Sonora, D. F.	C	19° 23'	99° 07'	2240
09	Acatic, semilla negra. Chapingo, México	C	19° 29'	98° 53'	2250
10	Acatic, semilla blanca. Chapingo, México	C	19° 29'	98° 53'	2250
11	Productores de San Mateo Coatepec, Puebla	C	18° 48'	98° 39'	2045
12	Mercado de Cuernavaca, Morelos	C	18° 55'	99° 13'	1500
13	Mercado de Tepalcingo, Morelos	C	18° 54'	98° 26'	1845
14	Mercado Sonora, D. F.	C	19° 23'	99° 07'	2240
15	Productores de Temalacacingo, Guerrero	S/C	17° 53'	98° 40'	1480
16	Productores de Temalacacingo, Guerrero	S/C	17° 53'	98° 40'	1480
17	Áreas de cultivo en Cuescomapa, Guerrero	S/C	17° 34'	98° 55'	1980
18	Chiepetlán. Artesanos de Olinalá, Guerrero	S/C	17° 43'	98° 36'	1720
19	Mercado de la Ciudad de Oaxaca, México	C	17° 03'	96° 43'	1560
20	Mercado de la Ciudad de Guatemala, Guatemala	C	14° 37'	90° 31'	1514
21	Mercado de San Salvador, El Salvador	C	13° 42'	89° 12'	690
22	Mercado de Tegucigalpa, Honduras	C	14° 05'	87° 12'	940

<sup>†</sup>Procedencia: Los materiales 01 y 02 fueron donados por el Dr. Robert Bye; los 03 y 04 por el Dr. Joseph P. Cahill, provenientes de la colección de Howard Gentry y el 07 por el Dr. Wayne Coates. El resto fueron obtenidos por el primer autor de esta investigación. S=Silvestre; C=Cultivada; S/C=Cultivada con cáliz abierto al madurar (dehiscente) como en silvestres.

En la inflorescencia principal de cada planta se registró: ancho de su parte media (cm), longitud total a partir del primer verticilo (cm), número de verticilos y de flores en el primer verticilo. En dos muestras de cada planta se obtuvo el peso promedio de 100 semillas (g). Se identificó el tipo de cáliz de cada muestra, en los de tipo abierto, que al madurar expulsan la semilla (dehiscente), o tipo cerrado, que retendrán la semilla (indehiscente). Además, se generaron cuatro variables adicionales: relación largo/ancho del limbo, relación largo/ancho de la bráctea, distancia entre verticilos (cm), obtenida como el cociente entre la longitud de la



inflorescencia y el número de verticilos, y la exposición de la corola estimada como la diferencia entre el largo del tubo de la corola y el largo del cáliz; valores positivos en esta variable indican que la corola sobresale del cáliz y valores negativos indican que la corola se encuentra envuelta por el cáliz.

El análisis estadístico se efectuó con el paquete SAS versión 6.12 (SAS Institute, 1998). La variable exposición de la corola fue normalizada con la transformación de la raíz cuadrada. Para precisar las variables que permitieran la mejor asociación y agrupamiento de los materiales de chíá, se hizo un análisis multivariado de componentes principales, y un análisis de agrupamiento, por el método Ward, con los valores poblacionales promedio de las 23 variables; los grupos definidos se representaron en un dendrograma. Además, con excepción de la variable tipo de cáliz, los grupos se sometieron a un análisis de varianza con el modelo lineal general, y a una prueba de separación de medias con el método de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Dado que el agrupamiento de las colectas separó en grupos distintos a las chías silvestres y cultivadas de diferente origen geográfico, se definieron contrastes particulares para conocer las principales diferencias y las características que permitieran una mejor diferenciación entre grupos; esos contrastes se sometieron a un análisis de varianza multivariable.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Asociación y agrupamiento de los materiales de chíá**

Del análisis de componentes principales se obtuvo que los dos primeros componentes explican 56 % de la variación total (CP1, 30%; CP2, 26%). Cinco muestras de chíá (06, 07,

08, 09 y 10) se ubicaron en el lado positivo y una muestra (19) en el lado negativo, y estas seis muestras se diferencian del resto con respecto a la CP1 (Figura 2.1). Las características y los valores propios que separan a las muestras de chía en el eje del CP1 son: ancho de la corola (0.37), largo de la corola (0.34) y ancho del cáliz (0.32). En la CP2 se observó una diferenciación más clara y un mejor ordenamiento, aunque varias muestras se ubicaron en la región intermedia al considerar sus valores en tipo de cáliz (0.37), diámetro del tallo (0.36), días a inicio de la floración (0.33) y número de ramas (0.32). Adicionalmente, el análisis de conglomerados permitió distinguir seis grupos en las 22 muestras de chía, según su origen geográfico (Figura 2.2). Los seis agrupamientos resultantes son:

**Grupo A.** Las muestras (01) y la (02) originarias de Chihuahua, la (04) de Sta. Lucía, Sinaloa, y la (05) de Tapalpa, Jalisco, se asocian en un grupo cuya procedencia se ubica al norte del país, sobre la Sierra Madre Occidental. Son materiales silvestres y presentan flores pequeñas con cáliz abierto al madurar (dehiscente); son las más precoces, con tallos delgados y desarrollan el menor número de ramas.

**Grupo B.** Las muestras procedentes de Temalacacingo (15 y 16), la de Cuescomapa (17) y la de Chiepetlán (18), en la región de la montaña de Guerrero, se asocian en un grupo y son materiales con flores pequeñas y con el cáliz abierto al madurar (dehiscente), al igual que el grupo silvestre del norte del país, pero difieren de éste por presentar ciclos biológicos más largos, tallos más gruesos y mayor número de ramas.

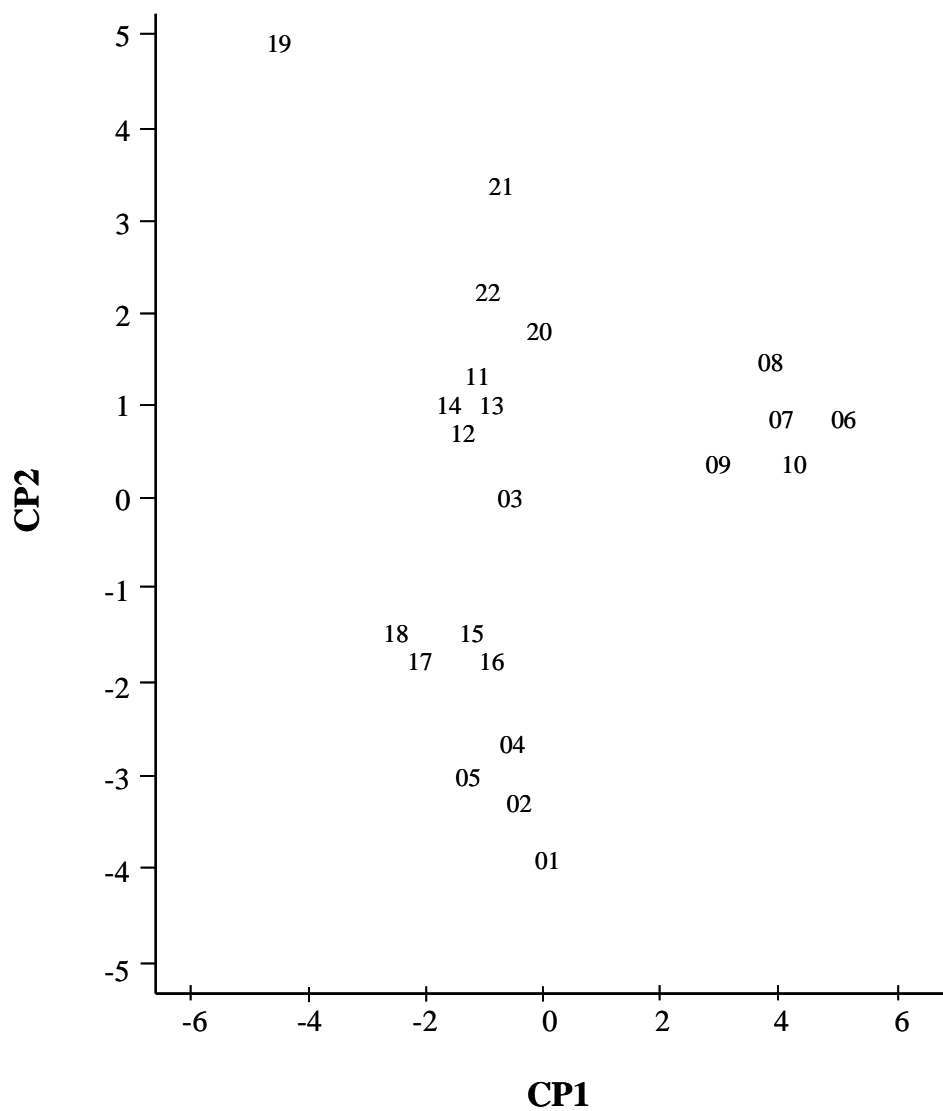
**Grupo C.** El material colectado en San Mateo Coatepec, Puebla (11) y en el Estado de Sonora (03) y los comprados en el mercado de Cuernavaca, Morelos (12), en la feria de

Tepalcingo, Morelos (13), y en el mercado de Sonora, D. F. (14) conforman el grupo identificado como chíá de Puebla, con la corola y el cáliz de tamaño intermedio que al madurar es cerrado (indehiscente); también registran valores intermedios en el diámetro del tallo, el número de ramas y los días a inicio de la floración.

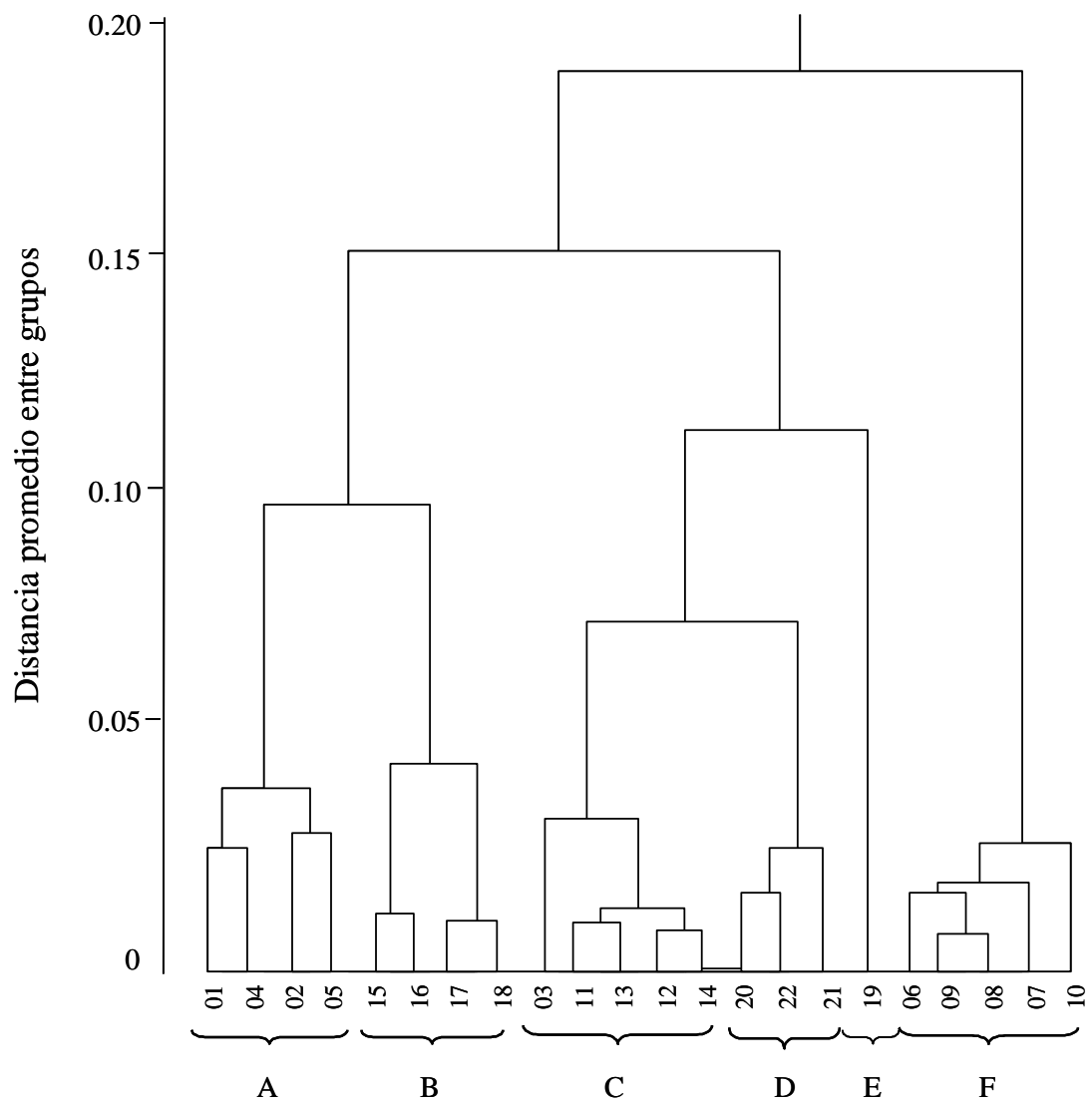
**Grupo D.** Las muestras de origen centroamericano adquiridas en los mercados de Guatemala (20), San Salvador (21) y Honduras (22) se caracterizan por tener el cáliz cerrado (indehiscente) y el tamaño de la corola y el cáliz similares al del grupo de las chíás de Puebla, pero difieren de éstas en que son plantas con más días a la floración, tallos más gruesos y mayor número de ramas.

**Grupo E.** La muestra colectada en el Mercado de Oaxaca (19) tiene flores pequeñas, cuyo cáliz al madurar es cerrado (indehiscente), su ciclo biológico es el más largo, sus tallos son los más gruesos y desarrolla el mayor número de ramas.

**Grupo F.** La muestra comprada a productores de chíá de Acatic, Jalisco (06), la colectada por el Ing. Wayne Coates (07), la adquirida en el Mercado Sonora, D. F. (08) y las selecciones de semilla negra (09) y semilla blanca (10), muestran la mayor separación con respecto a los otros grupos. A este grupo se le denomina en este trabajo como Chíá de Acatic, y se caracteriza por presentar las corolas más largas y anchas, con cálices anchos y cerrados al madurar (indehiscente), e intermedios en días a la floración, diámetro de tallo y número de ramas.



**Figura 2.1.** Primera (CP1) y segunda (CP2) componente principal del análisis de 22 materiales de chía (*Salvia hispanica*). En el análisis se usaron los valores medios de 23 características. La primera y segunda componente principal contabilizan 30 y 26 % de la variación total, respectivamente.



**Figura 2.2.** Dendrograma de 22 colectas de chía (*Salvia hispanica*). Análisis de agrupamiento de mínima varianza de Ward, basado en 23 características morfológicas. Las letras muestran los grupos formados: A, Norte de México; B, Guerrero; C, Puebla; D, Centroamérica; E, Oaxaca y F, Acatic.

## Diferencias entre chía silvestre y cultivada

Al comparar el grupo de chías silvestres del norte del país con las chías cultivadas del grupo de Acatic, Jalisco, de Puebla y de Centroamérica, se encontraron diferencias ( $P \leq 0.05$ ) en 19 de las 23 características (Cuadro 2.2). Al considerar el valor de la  $R^2$ , las variables de mayor importancia en la diferenciación de ambos grupos son: ancho de la corola (0.93), días a inicio de la floración (0.93), largo de la corola (0.85), exposición de la corola (0.84), distancia entre verticilos (0.83), ancho del cáliz (0.75), peso de la semilla (0.67) y número de verticilos/inflorescencia (0.60).

Las chías cultivadas se caracterizan por desarrollar flores más grandes y corolas que sobresalen del cáliz, con inflorescencias compactas debido a un mayor número de verticilos y menor distancia entre ellos; también poseen un ciclo biológico más tardío y semilla de mayor tamaño. La característica que se considera como el criterio de domesticación más importante es la indehiscencia de la semilla; la pérdida de los mecanismos naturales de dispersión de la semilla hace que las variedades domesticadas sean más dependientes del cultivo del ser humano para sobrevivir. En las chías cultivadas de Acatic, de Puebla y las de Centroamérica, el cáliz maduro permanece cerrado, lo que evita la dispersión de las semillas; en contraste, en las chías silvestres el cáliz maduro es abierto. Estos resultados concuerdan con los de Cahill (2005), quien indicó que la domesticación en chía está definida por la presencia de cálices cerrados, de semillas más grandes, de una inflorescencia más compacta y de cierto grado de gigantismo en la flor, en la hoja y en la altura de la planta.

**Cuadro 2.2.** Valores medios, R<sup>2</sup> y significancia de los contrastes de 23 características entre chía silvestre vs. cultivada de Acatic, Puebla y Centroamérica (S vs. CU); chía silvestre vs. cultivada de Guerrero (S vs. GRO); y chía cultivada de Guerrero vs. cultivada de Acatic, Puebla y Centroamérica (GRO vs. CU).

Característica morfológica	Medias de grupo			R <sup>2</sup> y significancia del contraste		
	S	CU	GRO	respectivo		
				S vs. CU	S vs. GRO	GRO vs. CU
Largo del limbo (cm)	11.12	12.71	12.56	0.26**	0.33**	0.16ns
Ancho del limbo (cm)	6.73	7.93	8.67	0.37**	0.63**	0.36**
Largo/ancho del limbo	1.66	1.61	1.44	0.23ns	0.38**	0.64**
Altura de la planta (cm)	107.54	113.86	118.72	0.46**	0.25*	0.58ns
Número de ramas	14.87	18.96	18.87	0.57**	0.63**	0.42ns
Diámetro del tallo (cm)	0.65	0.87	0.82	0.31*	0.59**	0.36ns
Ancho del cáliz (mm)	2.28	2.60	2.43	0.75**	0.13ns	0.71**
Largo del cáliz (mm)	8.06	8.04	8.31	0.05ns	0.28ns	0.35*
Largo de la corola (mm)	8.50	9.58	8.34	0.85**	0.15ns	0.82**
Ancho de la corola (mm)	4.43	5.51	4.27	0.93**	0.11ns	0.93**
Exposición de la corola (mm)	0.43	1.55	-0.03	0.84**	0.29*	0.79**
Largo de la bráctea (mm)	11.23	11.72	11.92	0.13ns	0.42**	0.61ns
Ancho de la bráctea (mm)	5.98	5.80	6.95	0.37**	0.51**	0.63**
Largo/ancho de la bráctea	1.90	2.06	1.72	0.51**	0.22**	0.61**
Largo de la inflorescencia (cm)	21.55	16.06	16.34	0.49**	0.41**	0.15ns
Ancho de la inflorescencia (cm)	1.41	1.39	1.48	0.60**	0.63**	0.64**
Verticilos/inflorescencia	18.97	21.44	20.20	0.60**	0.30ns	0.43**
Flores/verticilo	16.50	17.11	18.25	0.46**	0.35**	0.51**
Distancia entre verticilos (cm)	1.13	0.73	0.81	0.83**	0.75**	0.14**
Inicio de la floración (días)	72.34	90.16	86.35	0.93**	0.85**	0.93**
Periodo de floración (días)	38.41	38.28	27.19	0.12ns	0.67**	0.74**
Peso de 100 semillas (g)	0.101	0.122	0.105	0.67**	0.08ns	0.82**
Tipo de cáliz al madurar	Abierto	Cerrado	Abierto			

\*P ≤ 0.05; \*\*P ≤ 0.01; ns, no diferencias significativas.

Según Harlan *et al.* (1973), la presión selectiva favorece a las plantas que maduran al final de la temporada de lluvias y al inicio de la época seca; es decir, se modifica la duración del ciclo

biológico. En esta investigación, los cambios observados en días al inicio de la floración y en la duración del periodo de floración están relacionados con las condiciones ambientales que prevalecen en la región geográfica de procedencia de las muestras. El grupo de chías silvestres es más precoz que las cultivadas, presumiblemente porque en el norte del país (20° a 27° LN y de 1100 a 2200 msnm) el ciclo biológico se reduce por la presencia de bajas temperaturas en otoño e invierno; en contraste, las chías de Centroamérica tienen un ciclo de desarrollo más largo porque en su zona de origen (13° a 15° LN y de 700 a 1514 msnm) las temperaturas no son limitantes y no existe una época de sequía marcada.

Algunas adaptaciones de *S. hispanica*, bajo domesticación, se presentan en otras especies de origen mesoamericano, como: inflorescencia más compacta y retención del fruto al madurar, tal es el caso del huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Safford) (Wilson y Heiser, 1979); frutos más grandes y pesados, flores de mayor tamaño y precocidad, como ocurre en el tomate de cáscara (*Physalis philadelphica*) (Montes *et al.*, 1991); y aumento en el tamaño del fruto y número de semillas que son típicos en el chile (*Capsicum annuum*) (Rodríguez *et al.*, 1993).

Las chías cultivadas de Guerrero presentan características morfológicas particulares. El análisis de varianza mostró que este grupo de chías difieren ( $P \leq 0.05$ ) de las silvestres del norte de México, en 16 de 23 variables (Cuadro 2.2). Las de mayor relevancia en tal diferenciación, por la magnitud de las  $R^2$ , son: días al inicio de la floración (0.85), distancia entre verticilos (0.75), periodo de la floración (0.67), número de ramas y ancho de la hoja (0.63). No difieren de las silvestres en tamaño de la corola, peso de la semilla y en el cáliz abierto al madurar. El hecho de que los materiales procedentes de Guerrero conserven el cáliz



abierto, y el tamaño de la flor y de la semilla como las silvestres, pero con un ciclo biológico más largo, inflorescencia más compacta y mayor número de ramas, permite inferir que estos materiales han tenido un proceso de domesticación incipiente. Cahill (2005) afirma que las chías “domesticadas primitivas” se mantienen en cultivo y son plantas que se parecen a los ecotipos silvestres típicos.

### **Diferencias entre chías cultivadas**

Al comparar las chías cultivadas de Acatic con las de Puebla se detectaron diferencias ( $P \leq 0.05$ ) en 18 de 23 caracteres; entre la chía de Acatic y la de Centroamérica hubo 15 características diferentes, y la chía de Puebla difiere sólo en 11 características de la de Centroamérica. Las principales variables que diferencian a los tres grupos de chía cultivada son: inicio de la floración, largo y ancho de la corola, ancho de la inflorescencia y altura de la planta. Las características en donde no se observaron diferencias son: peso de la semilla, distancia entre verticilos y cáliz cerrado al madurar (Cuadro 2.3). La pérdida de la capacidad de dispersión de la semilla, el incremento en el tamaño de la semilla y las inflorescencias con verticilos más cercanos pueden considerarse como cambios morfológicos comunes en las chías domesticadas. Pero también hay diferencias entre materiales cultivados; así las chías de Acatic desarrollan corolas más grandes y expuestas, inflorescencias más anchas y poseen un ciclo biológico más corto; las chías de Puebla son de ciclo biológico intermedio, con inflorescencias más pequeñas y angostas y con tamaño y exposición de la corola menores a las de Acatic; en cambio, las chías de Centroamérica tienen ciclo biológico más largo y plantas de mayor altura, con corolas similares a las de Puebla e inflorescencias parecidas a las de Acatic.

**Cuadro 2.3.** Valores medios, R<sup>2</sup> y significancia de los contrastes de 23 características entre Chía cultivada de Acatic vs. cultivada de Puebla (A vs. P); Chía cultivada de Acatic vs. cultivada de Centroamérica (A vs. Ce); Chía cultivada de Puebla vs. cultivada de Centroamérica (P vs. Ce); y Chía de Guerrero zona cálida vs. Guerrero zona templada (Gcal vs. Gtem).

Característica morfológica	Medias de grupo					R <sup>2</sup> y significancia del contraste respectivo			
	A	P	Ce	Gcal	Gtem	A vs. P	A vs. Ce	P vs. Ce	Gcal vs. Gtem
Largo del limbo (cm)	12.25	12.24	13.65	13.06	12.06	0.04ns	0.21*	0.21*	0.68*
Ancho del limbo (cm)	7.09	8.20	8.51	9.16	8.18	0.32**	0.40**	0.10ns	0.47*
Largo/ancho del limbo	1.74	1.49	1.60	1.42	1.45	0.62**	0.31**	0.33**	0.36ns
Altura de la planta (cm)	99.07	110.01	132.51	113.12	124.31	0.38**	0.77**	0.67**	0.63*
Número de ramas	16.88	20.03	19.96	17.19	20.56	0.56**	0.45**	0.30ns	0.68**
Diámetro del tallo (cm)	0.77	0.82	1.01	0.77	0.86	0.22ns	0.45**	0.33**	0.36*
Ancho del cáliz (mm)	2.91	2.43	2.47	2.44	2.42	0.75**	0.68**	0.16ns	0.56ns
Largo del cáliz (mm)	8.18	7.69	8.24	8.59	8.03	0.31**	0.01ns	0.45**	0.49*
Largo de la corola (mm)	10.34	9.05	9.36	8.43	8.14	0.80**	0.71**	0.25ns	0.35ns
Ancho de la corola (mm)	7.20	4.70	4.62	4.25	4.28	0.93**	0.92**	0.15ns	0.43ns
Exposición de la corola (mm)	2.16	1.36	1.13	-0.16	0.11	0.50**	0.71**	0.21ns	0.35ns
Largo de la bráctea (mm)	11.51	10.36	13.29	12.50	11.33	0.38**	0.45**	0.74**	0.62ns
Ancho de la bráctea (mm)	5.01	6.21	6.18	7.44	6.46	0.48**	0.57**	0.19ns	0.80**
Largo/ancho de la bráctea	2.33	1.68	2.16	1.68	1.76	0.61**	0.09ns	0.55**	0.22ns
Largo de la inflorescencia (cm)	17.28	14.88	16.03	17.41	15.26	0.28**	0.12ns	0.08ns	0.25ns
Ancho de la inflorescencia (cm)	1.48	1.28	1.42	1.49	1.46	0.73**	0.26*	0.74**	0.05ns
Verticilos/inflorescencia	22.75	18.75	22.83	21.69	18.75	0.42**	0.07ns	0.44**	0.37**
Flores/verticilo	19.73	15.23	16.38	18.50	18.00	0.60**	0.48**	0.14ns	0.18ns
Distancia entre verticilos (cm)	0.76	0.72	0.70	0.80	0.81	0.08ns	0.19ns	0.06ns	0.28ns
Inicio de la floración (días)	77.75	88.55	104.17	82.56	90.13	0.82**	0.98**	0.87**	0.84**
Periodo de floración (días)	38.68	35.08	41.08	26.31	28.06	0.31**	0.14ns	0.54**	0.41ns
Peso de 100 semillas (g)	0.123	0.122	0.120	0.116	0.085	0.02ns	0.10ns	0.20ns	0.96**
Tipo de cáliz al madurar	Cerrado	Cerrado	Cerrado	Abierto	Abierto				

\*P ≤ 0.05; \*\*P ≤ 0.01; ns, no diferencias significativas.

Como sucede en la mayoría de las especies cultivadas, Cahill (2004) concluyó que la diversidad genética de *Salvia hispanica* es mayor en las variedades silvestres que en todas las domesticadas. Sin embargo, si se considera la amplia adaptación geográfica de *Salvia hispanica*, en condiciones de cultivo, en la época prehispánica (Rojas, 1985) y el deterioro sufrido a partir del siglo XVI (Rojas, 1983), los genotipos domesticados actuales son sólo relictos de la alta diversidad genética desarrollada en Mesoamérica. En contraste, las poblaciones silvestres han sido mejor preservadas por el aislamiento geográfico que caracteriza a su amplia área de distribución natural.

Con base en los valores de  $R^2$ , las chías cultivadas de Guerrero difieren de las cultivadas provenientes de Acatic, de Puebla y de Centroamérica en el inicio a la floración (0.93), ancho de la corola (0.93), peso de la semilla (0.82), largo de la corola (0.82), exposición de la corola (0.79), y en el periodo de floración (0.74), pero no se diferenciaron en altura de la planta, número de ramas, diámetro del tallo y longitud de la inflorescencia (Cuadro 2.2). En los materiales cultivados, las chías de Guerrero tienen flores más pequeñas, el tubo de la corola está envuelto por el cáliz, las semillas son de menor peso, el periodo de la floración es más corto y conservan el mecanismo natural de dispersión de las semillas, propio de las silvestres. Se conoce que la chía se cultivó en la época prehispánica, en la región de la montaña de Guerrero, y que en 1777 se sembraba en Chiepetlán para extraer el aceite de su semilla y usarlo en la decoración de jícaras (Hurtado, 1946). Es probable que, posterior a esta fecha, la región haya tenido una amplia erosión genética por abandono del cultivo y que los materiales cultivados actuales provengan de poblaciones silvestres o de individuos segregantes de antiguas hibridaciones entre genotipos silvestres y domesticados. La conservación del cáliz

abierto al madurar en estos materiales, podría también estar relacionada con la forma de cosechar, pues en esta región, al inicio del “amarillamiento” de las hojas las inflorescencias se cortan, se agrupan en manojos y se amarran; en esta etapa, la semilla ya alcanzó la madurez fisiológica y los cálices aún hidratados están cerrados, con lo que se evita la pérdida de semilla. Una vez que las inflorescencias están secas y los cálices abiertos, se procede a la trilla, mediante sacudidas y vibración de los manojos de inflorescencias sobre un recipiente. Según De Wet y Harlan (1975), esta forma de trilla permite seleccionar automáticamente a favor del mecanismo natural de dispersión de semillas de las plantas silvestres.

En el grupo de chías de Guerrero existen dos colectas provenientes de la región cálida de Temalacacingo (17° 53' LN y 1480 msnm) y otras dos de la región templada de Cuescomapa (17° 34' LN y 1980 msnm) y Chiepetlán (17° 43' LN y 1720 msnm). Cuando se comparan ambos subgrupos, el análisis estadístico mostró que su diferencia se debe a cambios en el peso de la semilla ( $R^2=0.96$ ), en días a inicio de la floración ( $R^2=0.84$ ), en número de ramas ( $R^2=0.68$ ) y en altura de la planta ( $R^2=0.63$ ), pero no en la forma de la hoja, tamaño de la flor, tamaño de la inflorescencia ni periodo de floración (Cuadro 2.3). Es probable que las condiciones ambientales y las técnicas de manejo del cultivo, particulares en cada región, hayan influido en las diferencias morfológicas, de manera que en Temalacacingo, con menor altitud y diferente intensidad de cultivo, se desarrollaron materiales con ciclo biológico más corto, menor número de ramas, menor altura de la planta y semillas de mayor peso, que en los materiales de la región templada. La muestra de chíá de Cuescomapa produce sólo semillas con testa de color blanco. Cahill y Provance (2002) afirman que esta característica es rara en poblaciones silvestres y su expresión genética está controlada por un gene recesivo simple, lo

que refuerza la idea de la intervención del hombre en el proceso evolutivo de los materiales de Guerrero.

Los resultados de esta investigación muestran que la flor, la inflorescencia, la semilla, el tipo de cáliz al madurar y el ciclo biológico, son las características morfológicas que han resultado modificadas en las chías cultivadas, con respecto a las silvestres. No obstante, existen materiales cultivados que han conservado ciertas características típicas de los materiales silvestres, como tamaño de la flor, peso de la semilla y tipo de cáliz, lo que indica que el proceso de diferenciación ha sido discontinuo y, por tanto, que hay un gradiente en la domesticación. La duración del ciclo biológico es la variable que representa un gran peso en todos los contrastes de diferenciación entre grupos, lo que ratifica que la diversidad de ambientes en la zona de distribución de *S. hispanica* es un importante factor en su diferenciación morfológica. Esta especie se distribuye en una amplia zona en la vertiente del Océano Pacífico, desde Centroamérica hasta el Estado de Chihuahua en México, de condiciones ambientales diversas, donde se han desarrollado numerosas culturas y se han utilizado diferentes intensidades de cultivo, por lo que es probable que el proceso de domesticación, en esta especie, se desarrollara en forma paulatina e independiente, de modo que los genotipos de chía se fueron adaptando a las condiciones ambientales, culturales y de cultivo propias de cada región. El transporte de material y su dispersión a nuevos ambientes, el intercambio de germoplasma y las hibridaciones constantes pudieron haber resultado en diferenciaciones morfológicas como las que se documentan en esta investigación.

Según Cahill (2003), el deterioro genético actual de la chía está asociado con la alteración del hábitat natural o con la migración de los residentes originarios en lugares donde prosperan las poblaciones silvestres. En México, la producción de semilla de chía se enfrenta a una demanda nacional cada vez más restringida y estacional, y su aceite está siendo sustituido por el de linaza (*Linum usitatissimum*) en la elaboración de lacas artesanales; aunque, el interés comercial y la investigación científica sobre *Salvia hispanica* ha ido en aumento. Se requiere entonces implementar un programa de colecta de gran alcance a lo largo del área de distribución de *S. hispanica*, evaluar las nuevas poblaciones silvestres y genotipos cultivados, rescatar el conocimiento sobre las técnicas de manejo agrícola y valorar los avances científicos recientes, para sentar las bases de un programa nacional de investigación y de utilización de la especie.

## CONCLUSIONES

Las características morfológicas que permiten una mejor asociación de las muestras de *S. hispanica* con su origen geográfico son: ancho y largo de corola, ancho del cáliz, tipo de cáliz, días a la floración, diámetro del tallo y número de ramas. Las estructuras morfológicas que diferencian a las muestras cultivadas de *S. hispanica* de Jalisco, de Puebla y de Centroamérica con respecto a las poblaciones silvestres, son: tamaño de la flor, densidad de verticilos en la inflorescencia, peso de la semilla, tipo de cáliz al madurar y la duración del ciclo biológico.

Estos tres grupos de chía cultivada son similares en tamaño de la semilla, en densidad de la inflorescencia y en el cáliz cerrado al madurar, pero se diferencian entre ellos en la duración

del ciclo biológico, en el largo y ancho de la corola, en el ancho de la inflorescencia y en la altura de la planta. Otro grupo de chía cultivada, procedente de Guerrero, muestra adaptaciones morfológicas propias de la selección bajo cultivo, como inflorescencias compactas, menor duración del periodo de floración y mayor número de ramas, pero mantiene el tamaño del cáliz y de la corola, el peso de la semilla y el cáliz abierto, similares a las silvestres.

### LITERATURA CITADA

- Ahmed M, I P Ting, R W Scora (1994)** Leaf oil composition of *Salvia hispanica* L. from three geographical areas. *J. Essentials Oil Res.* 6:223-228.
- Ayerza R, W Coates (2001)** The omega-3 enriched eggs: the influence of dietary linolenic fatty acid source combination on egg production and composition. *Can. J. Animal Sci.* 81:355-362.
- Bushway A A, P R Belyea, R J Bushway (1981)** Chia seed as source of oil, polysaccharide, and protein. *J. Food Sci.* 46:1349-1350.
- Cahill J P (2003)** Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L. *Econ. Bot.* 57:604-618.
- Cahill J P (2004)** Genetic diversity among varieties of chia (*Salvia hispanica* L.). *Gen. Res. Crop Evol.* 51:773-781.
- Cahill J P (2005)** Human selection and domestication of chia (*Salvia hispanica* L.). *J. Ethnobiol.* 25:155-174.
- Cahill J P, M C Provance (2002)** Genetics of qualitative traits in domesticated Chia (*Salvia hispanica* L.). *Heredity* 93:52-55.
- Cahill J P, B Ehdaie (2005)** Variation and inheritance of seed mass in chia (*Salvia hispanica* L.). *Gen. Res. Crop Evol.* 52:201-207.
- Calderón S (1941)** Flora Salvadoreña. Lista Preliminar de Plantas de El Salvador. 2a ed. Corregida y aumentada. Imprenta Nacional, San Salvador, El Salvador, C. A. 442p.
- Coates W, R Ayerza (1996)** Production potencial of chia in northwestern Argentina. *Indust. Crops Prod.* 5:229-233.

- De Wet J M J, J R Harlan (1975)** Weeds and domesticates: evolution in the man-made habitat. *Econ. Bot.* 29:99-107.
- FAO (1978)** Las Grasas y Aceites en la Nutrición Humana. Informe de Expertos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 90p.
- Fernald M L (1907)** Diagnoses of new spermatophytes from Mexico. *Proc. Amer. Acad. Arts* 43:63.
- Gillet H (1981)** Le chia, graine mucilagineuse mexicaine, fait son apparition en France. *J. d'Agric. Trad. Bot. Appl.* 28:183-187.
- Haque M S, K K Ghoshal (1981)** Floral biology and breeding system in the genus *Salvia* L. *Proc. Indian Nat. Sci. Acad.* B47:716-724.
- Harlan J R (1992)** Crops and Man. 2a ed. Am. Soc. Agron. Madison, Wisconsin, USA. 284p.
- Harlan J R, J M J de Wet, E G Price (1973)** Comparative evolution of cereals. *Evolution* 27:311-325.
- Hurtado de Mendoza J M (1946)** La relación de Chiepetlán, Guerrero (1777). *Mem. Acad. Mex. Historia* 5:239-256.
- Kirchhoff P (1960)** Mesoamérica: Sus Límites Geográficos, Composición Étnica y Caracteres Culturales. Supl. *Rev. Tlatoani* (3). Escuela Nacional de Antropología e Historia. México, D. F. 15 p.
- Miranda F (1952)** La Vegetación de Chiapas. Primera parte. Ediciones del Gobierno del Estado. Sección autográfica. Departamento de Prensa y Turismo. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp:311-312.
- Miranda C S (1978)** Evolución de cultivares nativos de México. *Ciencia y Desarrollo* 3:130-131.
- Montes H S, J R Aguirre R, E García M, F V González C (1991)** Algunos efectos de la domesticación sobre la morfología del tomate (*Physalis philadelphica*). *Agrociencia* 2:7-25.
- Pernés J (1983)** La genética de la domesticación de los cereales. *In: Mundo Científico (La Recherche, en castellano, Barcelona, España)* 29:964-974.
- Ramamoorthy T P, M Elliot (1998)** Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. *In: Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución.* T P Ramamoorthy, R Bye, A Lot, J Fa (eds). Primera ed. en español. Universidad Autónoma de México, México, D. F. pp:501-526.
- Rodríguez M R, S Miranda C, J G Salinas G (1993)** Evolución del sistema reproductivo del chile (*Capsicum annuum*). *Agrociencia* 3:121-131.



- Rojas R M T (1983)** La Agricultura Chinampera. Compilación histórica UACH, Dirección de Difusión Cultural. Colección Cuadernos Universitarios, Agronomía # 7. Chapingo, México. pp:181-203.
- Rojas R M T (1985)** La tecnología agrícola mesoamericana en el siglo XVI. *In*: Historia de la Agricultura. Época Prehispánica-Siglo XVI. Colección Biblioteca del INAH, Tomo 1. México, D. F. pp:129-231.
- Rulfo J M (1937)** La chía. Agricultura (México) 1:28-37.
- SAS Institute (1998)** SAS/STAT User's Guide. Version 6.12. SAS Inst., Inc. Cary, NC.
- Taga M S, E E Miller, D E Pratt (1984)** Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 61:928-931.
- Weber C W, H S Gentry, E A Kohlhepp, P R McCrohan (1991)** The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. Ecol. Food Nutr. 26:119-125.
- Wilson H D, C B Heiser (1979)** The origin and evolutionary relationships of "huauzontle" (*Chenopodium nuttalliae* Safford), domesticated chenopod of Mexico. Amer. J. Bot. 66:198-206.
- Zohary D, M Hopf (1994)** Domestication of Plants in the Old World. 2nd Ed. Oxford University Press, New York. 279 p.

### III. NÚMERO CROMOSÓMICO Y CONTENIDO DE ADN NUCLEAR EN LA CHÍA (*Salvia hispanica*)

#### CHROMOSOME NUMBER AND NUCLEAR DNA CONTENT IN CHIA (*Salvia hispanica*)

#### RESUMEN

El conocimiento del contenido de ADN es importante para determinar los cambios en el genoma durante la evolución de las plantas. En esta investigación se determinó el número somático de cromosomas y la variación en el tamaño del genoma en ocho muestras de *Salvia hispanica* de diferente origen geográfico y nivel de domesticación. El conteo del número cromosómico se hizo en células de la raíz de plántulas crecidas en cajas de petri con papel filtro y el contenido de ADN nuclear se estimó mediante el citómetro de flujo en núcleos aislados de parénquima de hojas jóvenes teñidas con yoduro de propidio. Las ocho muestras evaluadas fueron diploides con  $2n=12$  y un número básico de cromosomas  $x=6$ ; pero tuvieron un 11.2 % de variación en el tamaño del genoma. El contenido promedio de  $2C$  de ADN nuclear fue de 0.849 pg, con un intervalo de 0.827 pg en la muestra de Temalacatzingo, Guerrero y 0.921 pg en la muestra centroamericana de Honduras. El valor promedio de  $1C_x$  fue igual a 0.425 pg. No se observó correlación entre el contenido de ADN y la latitud, altitud, y ciclo biológico. Se encontró diferencias en el tamaño del genoma debido al grado de domesticación de las muestras. Esto representa el primer estudio del contenido de ADN nuclear en *Salvia hispanica*.

**Palabras clave:** *Salvia hispanica*, contenido de ADN nuclear, citómetro de flujo.

#### SUMMARY

The knowledge of nuclear DNA content is a key character to determine the variation of genome during evolution of plants. In this research, somatic chromosome number and variation of genome size were determined from eight accessions of *S. hispanica* with different

geographic origin and domestication levels. Chromosome counts were made on root cells of grown seedlings in petri dishes, lined with moist filter paper and the nuclear DNA content was estimated by flow cytometry using isolated nuclei from young leaf parenchyma stained by propidium iodine. All accessions studied were diploid with  $2n=12$  and a chromosome basic number  $x=6$ , but their genome size displayed an 11.2 % variation. The mean  $2C$ -DNA content was 0.849 pg, which ranged from 0.827 pg for Temalacatzingo, Guerrero accession to 0.921 pg for Central American accession from Honduras. The mean  $1C_x$  value was equal to 0.425 pg. No correlation was observed between DNA content and latitude, altitude or biological cycle; nevertheless, differences in genome size were found among domestication levels of accessions. This represents the first study of nuclear DNA content in *Salvia hispanica*.

**Index words:** *Salvia hispanica*, nuclear DNA content, flow cytometry.

## INTRODUCCIÓN

### **Citología, taxonomía y distribución geográfica de *S. hispanica***

*Salvia* L. es el género más importante de la familia Lamiaceae y uno de los más abundantes del reino vegetal con cerca de 900 especies (Harley y Heywood, 1992).

El género *Salvia* en América pertenece generalmente al subgénero Calosphace e incluye unas 500 especies; en México, *Salvia* cuenta con 312 especies que representan el 62 % de las especies de este género presentes en el Nuevo Mundo y el 64 % de las Lamiaceae en México; esta diversidad de especies ubica a *Salvia* como el género más abundante en nuestro país. Se ha considerado a *Salvia* como un género polibásico con  $x= 6, 7, 9, 10, 11$  y  $16$ ; pero, el número cromosómico básico más frecuente en el subgénero Calosphace es  $x=11$ . Los niveles de ploidía registrados son de  $2n=6x=66$  en *S. lavanduloides* y de  $2n=4x=44$  en *S. gesneriflora*.

En cuanto a su morfología, se presentan cromosomas metacéntricos, submetacéntricos y telocéntricos, y en algunas especies se ha observado entre uno a seis cromosomas B y entre uno a dos pares de cromosomas con satélites y constricciones secundarias (Palomino *et al.*, 1986; Mercado *et al.*, 1989; Harley y Heywood, 1992; Ramamoorthy y Elliott, 1998).

La variación en cuanto al número y morfología de sus cromosomas sugiere que el género *Salvia* se encuentra en un proceso activo de evolución y se plantea que América Central es el posible origen de *Salvia* subgénero Calosphace (Harley y Heywood, 1992).

*Salvia hispanica* L., con  $2n=12$ , tiene el número cromosómico somático más bajo registrado en el género y un número cromosómico básico  $x=6$ , sus cromosomas son de tamaño pequeño, cuyas longitudes varían entre 1.55 y 5.0  $\mu\text{m}$  (Haque y Ghoshal, 1980; Mercado *et al.*, 1989; Estilai y Hashemi, 1990). Mercado *et al.* (1989) observaron un par de cromosomas metacéntricos y cinco submetacéntricos, con una constricción secundaria en un par submetacéntrico en un material colectado en Atlixac, Guerrero; mientras que, Estilai y Hashemi (1990) registraron un par de cromosomas metacéntricos, cuatro submetacéntricos y uno telocéntrico en un material comprado en mercados de Guatemala, México y Sur de California. Lo anterior sugiere que *S. hispanica* presenta un cariotipo asimétrico.

*S. hispanica* es una especie originaria de Mesoamérica y en la época prehispánica fue un producto importante y sus semillas, su harina o su aceite fueron apreciados por sus usos medicinales, alimenticios, artísticos y religiosos (Cahill, 2003). Su extensa área de distribución natural se ubica en la zona montañosa de la vertiente del Océano Pacífico de México y Guatemala (Miranda, 1978), y ocupa zonas con vegetación de Pino y Pino-encino del Eje

Neovolcánico Transversal, de las Sierras Madre Occidental, del Sur y de Chiapas (Cahill, 2004). Para Ramamoorthy y Elliot (1998) estas condiciones generan aislamiento geográfico que motivan la fragmentación y diferenciación de las poblaciones.

Considerando su ubicación geográfica (Cahill, 2004), su número cromosómico único de  $2n=12$ , el más bajo conocido en el género (Haque y Ghoshal, 1980; Mercado *et al.*, 1989; Estilai y Hashemi, 1990) y su sistema de polinización altamente autógeno asociado con sus flores diminutas y homostílicas (Haque y Ghoshal, 1981), podemos inferir que *Salvia hispanica* presenta aislamiento reproductivo con otras especies de *Salvia*, por lo que Ramamoorthy y Elliot (1998) plantean que los híbridos interespecíficos son raros. Las características morfológicas distintivas desarrolladas por el aislamiento reproductivo la han ubicado taxonómicamente en la sección Potiles del subgénero Calosphace, dentro de la cual, *S. hispanica* es la única especie que la integra (Epling, 1939).

### **Contenido nuclear de ADN y variaciones entre géneros y especies**

El término usado para representar el contenido de ADN de un genoma holoploide no replicado con el número de cromosomas  $n$  es  $1C$  y para un genoma monoploide no replicado con el número básico de cromosomas  $x$  es  $1C_x$ ; por otra parte, el contenido de ADN en un núcleo con dos copias del genoma no replicado es  $2C$  (Greilhuber *et al.*, 2005). El contenido de ADN se cuantifica en picogramos,  $1\text{pg}=10^{-12}\text{g}$  o en millones de pares de nucleótidos,  $1\text{Mpb}=10^6$  pares de base de nucleótidos; siendo  $1\text{pg}$  equivalente a aproximadamente  $980\text{Mpb}$  (Bennett *et al.*, 2000b).

En angiospermas, el número cromosómico en el genoma gamético ( $n$ ) varía de 2 a por lo menos 250; la longitud media del cromosoma varía de 0.6  $\mu\text{m}$  a más de 14 $\mu\text{m}$  y la longitud cromosómica total del genoma diploide varía de 14.6  $\mu\text{m}$  a más de 250  $\mu\text{m}$ . Los niveles de ploidía varían de  $2x$  a  $20x$ , al menos el 58 % de las monocotiledóneas y 43% de las dicotiledóneas son poliploides. Sin embargo, el valor  $1C$  de ADN es más variable que el número cromosómico y no existe correlación entre ellos (Bennett, 1987).

Los valores de ADN nuclear han sido reunidos y publicados en una página electrónica (<http://www.rbgekew.org.uk/cval/database.html>). Según Bennett *et al.* (2000b), para el año 2000, esta página incluía el 31.8 % de las familias, el 5.7 % de los géneros y sólo el 1.1 % de las especies (2 802 de un total de 250 000) reconocidas en las angiospermas. Los valores  $1C$  del ADN nuclear entre las angiospermas difieren en aproximadamente 1 000 veces, fluctuando de cerca de 0.1 pg en *Arabidopsis thaliana*, con  $2n=2x=10$ , a cerca de 125 pg en *Fritillaria assyriaca*, con  $2n=4x=48$ , y tienden a ser característicos de un taxón.

Para Leitch *et al.* (1998), los valores  $1C$  de ADN de las 2802 especies de angiospermas incluidas en la página electrónica tienen una moda de 0.7 pg, con un valor mínimo de 0.1 pg y un máximo de 127.4 pg. Definen que el valor  $C$  en los genomas muy pequeños es de  $\leq 1.4$  pg, en los genomas pequeños de  $\leq 3.5$  pg, en los genomas grandes de  $\geq 14.0$  pg y en los genomas muy grandes de  $\geq 35.0$  pg y el 51.7% de las especies tienen valores de  $C$  pequeños entre 0.1 y 3.5 pg. Con estos resultados concluyen que las angiospermas ancestrales tuvieron genomas pequeños y que se han retenido en la mayoría de los taxa. Sin embargo, los datos están altamente concentrados pues tres familias (Fabaceae, Poaceae y Asteraceae) contabilizan más

del 34 % del número total de los valores de C y sólo 47 familias tienen diez o más valores de C, mientras que 51 familias están representadas por sólo un dato.

Las características citológicas como el número cromosómico, el tamaño del cromosoma, el volumen nuclear y el contenido de ADN en la célula, presentan relación con algunos aspectos del desarrollo y la adaptación de las plantas. Stebbins (1938) plantea que, el número cromosómico básico presenta correlación con el hábito de crecimiento; las especies leñosas tienen un número cromosómico más alto, con cromosomas más pequeños y menor variabilidad que las herbáceas, dentro del mismo género. Para Bennett (1972), el contenido medio de ADN nuclear en especies anuales es significativamente menor que en especies perennes; las especies anuales con una menor duración desde la germinación a la maduración de la semilla tienen un ciclo celular más corto. Los géneros que se localizan en zonas tropicales tienen cromosomas más uniformes de tamaño pequeño a intermedio; en contraste, los de zonas templadas, con mayor volumen del núcleo y mayor contenido de ADN, tienen un ciclo mitótico más lento (Stebbins, 1966); el tamaño del genoma de las especies templadas es mayor en más de dos veces que el de las plantas tropicales (Levin y Funderburg, 1979). En angiospermas, se ha detectado tanto el incremento como la disminución del tamaño de los cromosomas, pero la tendencia dominante es hacia el incremento de la asimetría de los cariotipos; los cariotipos asimétricos desarrollan la mitosis más rápido que los simétricos, lo que le proporciona a la célula una mayor capacidad de proliferación (Stebbins, 1971).

Leitch *et al.* (1998) indican que, los genomas pequeños de la mayoría de los taxa en angiospermas han permitido una gran flexibilidad evolutiva y ventajas competitivas con otras plantas en la colonización de nuevos ambientes; mientras que, genomas grandes tienen una

distribución más restringida porque presentan desventajas selectivas en ambientes extremos. Altos contenidos de ADN están restringidos a plantas que crecen en áreas con relativamente alta precipitación y con suelos bien desarrollados (Price *et al.*, 1981b); Grime y Mowforth (1982) y Moore (1985) observaron que los grandes genomas han desarrollado bajo condiciones en las que el crecimiento inicial de la planta está limitado por los efectos de las bajas temperaturas sobre la velocidad de la división celular. Por su parte, para Cavallini *et al.* (1993) el contenido de ADN nuclear presenta una correlación positiva con la tasa de crecimiento de la raíz y el tallo, en las primeras etapas de desarrollo de la planta.

Se ha reportado amplia variación en el contenido de ADN entre especies vegetales de ciertos géneros. La variación del ADN nuclear, entre especies diploides con el mismo número cromosómico de *Lathyrus*, fue de 3.5 veces; en *Vicia* de, 7 veces; en *Lolium*, en cerca de 30 % y al menos algo de esta variación se explica por la duplicación de segmentos del cromosoma (Rees *et al.*, 1966). Existen diferencias, en el contenido de 2C nuclear, del orden de dos veces entre 25 especies diploides de *Allium* y las variaciones se pueden explicar por la duplicación longitudinal o la pérdida de segmentos de cromosomas (Jones y Rees, 1968). Se detectó una variación en el contenido de 2C nuclear de 7.7 veces en 13 especies diploides ( $2n=18$ ), miembros de la subtribu Microseridinae, de la familia Compositae. Los valores más altos fueron de las especies perennes y los más bajos de especies anuales autógamas. Han existido tanto los incrementos como las reducciones evolutivas, en el contenido de ADN, durante la diferenciación de la subtribu, por lo que, las vías evolutivas no son unidireccionales (Price y Bachmann, 1975). En 22 especies de *Crepis*, Jones y Brown (1976) observaron un rango de variación, en el ADN nuclear, de 9 veces y correlación negativa entre la cantidad de ADN



nuclear y el grado de avance evolutivo. Las especies anuales avanzadas tienen menos ADN, cromosomas más simétricos, ciclos de vida más cortos y células más pequeñas que las perennes primitivas. Poggio y Hunziker (1986), en 8 especies de *Bulnesia*, registraron una diferencia en el contenido 2C de 6 veces (0.362-2.269 pg). Las diferencias están correlacionadas con la morfología del cariotipo y el tamaño del cromosoma. Las especies con el contenido más alto de ADN tienen también el más alto contenido de heterocromatina. Por otra parte, en 42 especies de *Allium*, se encontró un rango de valores 4C de 41.19 a 142.78 pg; esta diferencia no está relacionada con el número cromosómico básico, poliploidía o grupo taxonómico, sino con el tiempo de floración, de manera que las especies que florecen temprano poseen más ADN (Labani y Elkington, 1987) y en siete especies anuales de *Cicer*, Ohri y Pal (1991) detectaron una variación de 1.95 veces en el valor 2C nuclear; el cariotipo con menor cantidad de ADN fue el más asimétrico.

A partir de las primeras investigaciones sobre la medición del tamaño del genoma, muchos investigadores plantearon que los valores de ADN, dentro de una especie, eran relativamente constantes considerando un mismo número básico de cromosomas. Esto fue confirmado por algunos trabajos, en los que no hubo diferencias en el valor de ADN entre cultivares o sus parientes silvestres, de algunas especies cultivadas (Bennett y Leitch, 1995); en trigos cultivados no hubo evidencia de cambios en el ADN nuclear después de los eventos de hibridación y poliploidía que les dieron origen (Rees y Walters, 1965); Ohri y Pal (1991) confirmaron la constancia intraespecífica en el contenido medio del ADN nuclear de cinco cultivares de *Cicer arietinum*; para Greilhuber y Ebert (1994), la especie *Pisum sativum* tiene un tamaño de genoma estable y para Bennett *et al.* (2000a), no existen diferencias en el

tamaño del genoma entre seis cultivares de *Allium cepa*, de lugares geográficos y ambientes muy diferentes.

Generalmente, el número cromosómico ( $2n$ ), el nivel de ploidía y el valor C de ADN son constantes para muchas especies, por lo que, estos caracteres pueden tener valor taxonómico; sin embargo, ellos no son inmutables y muchas especies pueden exhibir variación (Stebbins, 1971). Se acepta, en la actualidad, que la variación intraespecífica de ADN, aún con un número cromosómico constante, no es rara (Bennett, 1987).

Son varios los autores que han reportado variación intraespecífica en el contenido de ADN nuclear. Greenlee *et al.* (1984) encontraron un rango de 7.35 a 28.56 pg de ADN nuclear entre 12 poblaciones de *Collinsia verna* (Scrophulariaceae); el aislamiento genético y las diferencias en su microhábitat son las causas que sugieren el alto grado de diferenciación genética y posible especiación incipiente. La variación encontrada por Price *et al.* (1981a) fue cerca del 20 % entre cuatro poblaciones de *Microseris bigelovii*, y de 14 % en 24 poblaciones de *Microseris douglasii* (Price *et al.*, 1981b), ambas especies son diploides con  $2n=18$ ; los valores más bajos fueron para las poblaciones que crecen en los extremos latitudinales del rango de la especie, en ambientes de alta tensión o de periodos de crecimiento limitados. La variación en el pasto *Milium effusum*, con un número cromosómico constante ( $2n=28$ ) y sin obvias diferencias en el cariotipo, fue de un 35.6 %; las diferencias son debidas quizás a la adaptación microclimática (Bennett y Bennett, 1992). En *Arachis hypogaea* ( $2n=4x=40$ ), la variación encontrada fue de 15.2 %; las especies con un ciclo biológico más largo tuvieron un ADN significativamente mayor y la variación pudo haber resultado de la selección para tamaño de genoma favorable en condiciones ambientales particulares (Singh *et al.*, 1966). El

tamaño del genoma (1C) y la composición de bases de 14 ecotipos, de dos especies de *Medicago* tetraploide y diploide, variaron entre y dentro de especies (Blondon *et al.*, 1994).

También se han detectado diferencias en el contenido de ADN nuclear entre razas, líneas endogámicas, variedades de polinización libre o en híbridos comerciales, en maíz. Laurie y Bennett (1985) reportaron una diferencia del 37 % (9.48-13.49 pg) y Rayburn *et al.* (1985), de 23 % (9.83-12.12 pg). En ambos casos, se postula que la variación en heterocromatina contribuye a las diferencias en el contenido de ADN nuclear. Por otra parte, se establece una correlación entre el contenido de ADN y la zona de madurez, la altitud de adaptación y la longitud de la estación de crecimiento efectiva, en maíz; las poblaciones desarrolladas a mayores latitudes o en altitudes menores o mayores a 1 500 m, tienen menores cantidades de ADN, una maduración temprana, un ciclo mitótico más corto y un periodo de generación mínimo (Rayburn *et al.*, 1985; Bullock y Rayburn, 1991).

En girasol, se han encontrado diferencias, en el contenido de ADN nuclear, entre los embriones desarrollados en la periferia de la cabezuela con respecto a los del centro (Cavallini *et al.*, 1989) y un 32 % de variación, entre líneas y variedades cultivadas (Michaelson *et al.*, 1991). Estas diferencias soportan el concepto de que una porción considerable del genoma de la planta es inestable y sujeto a rápidos cambios en la cantidad de ADN o como respuesta a los microambientes en los que la embriogénesis tiene lugar.

La precisión y reproducibilidad de los estudios sobre la variación intraespecífica del tamaño del genoma sigue siendo controversial. Greilhuber (1998) menciona ciertos errores técnicos o metodológicos como causas posibles de la variación, como la no adecuada reacción de tinción,

la insuficiente estandarización, ciertos problemas de contaminación del material vegetal o el registro de ciertos valores excesivamente altos o bajos en el análisis estadístico. Las estimaciones que discrepan grandemente para un mismo taxón, con el mismo número de cromosomas, pueden sugerir un error técnico o el uso de diferentes plantas de referencia en la determinación (Bennett y Leitch, 2005a; Dolezel *et al.*, 1998).

Para el caso de *S. hispanica* no existen datos publicados sobre el tamaño del genoma. En la familia a la que pertenece, Lamiaceae, se tiene registrado el valor de ADN nuclear (2C) de 22 especies, con una media de 3.09 pg, un mínimo de 0.65 pg y un máximo de 11.70 pg (Bennett y Leitch, 2005b). Del género *Salvia*, sólo se ha reportado el tamaño del genoma de *Salvia splendens* Ker-Gawl, una especie anual con  $2n=4x=32$ , cuyo valor 2C es de 1.7 pg y 1C= 0.85 pg (Olszewska y Osiecka, 1983).

### **Mecanismos de cambio en el contenido de ADN**

Se ha establecido que el tamaño del genoma no está correlacionado con la complejidad de los organismos; muchos organismos simples pueden tener más ADN que los organismos multicelulares más complejos. Varias investigaciones revelaron que las diferencias en el contenido de ADN son originadas por secuencias de ADN que no codifican funciones y son con frecuencia repetitivas. Se conocen actualmente diferentes tipos de ADN repetitivo, como los elementos móviles o transposones, las secuencias repetitivas particulares, los pseudogenes y los microsatélites (Petrov, 2001).

Los cambios en el tamaño del genoma implican mecanismos mutacionales de adición o pérdida de ADN, entre ellos: la inserción y proliferación de los elementos móviles o

transposones; la expansión o disminución de microsátélites y heterocromatina; la acumulación gradual de inserciones o deleciones espontáneas, como las inversiones, las translocaciones o intercambios cromosómicos; alteraciones regionales durante la replicación del ADN; aneuploidía o poliploidía; la polisomía y la formación de cromosomas accesorios ( Stebbins, 1966; Price, 1976; Greilhuber, 1998; Cavallini y Natali, 1991; Petrov, 2001).

Para algunos autores el ADN repetitivo o adicional es de “deshecho o egoísta”, o sea, es inútil, es fijado de manera fortuita, es mantenido pasivamente en los cromosomas y trasmite poca o nula ventaja adaptativa al organismo (Orgel y Crick, 1980; Petrov, 2001); aunque Bennett y Leitch (1995) sostienen que la capacidad mutagénica de las secuencias repetitivas contribuye al potencial evolutivo de la población.

En cambio, otros investigadores postulan la función adaptativa del ADN repetitivo. Bennett (1972) sugiere que el ADN influye en el desarrollo en dos vías, directamente a través de su información genética, e indirectamente por los efectos físico-mecánicos de su masa. Plantea el término “nucleotipo” para describir las condiciones del núcleo que afecta al fenotipo independientemente de la información genética contenida en el ADN. Existe evidencia de numerosas observaciones sobre correlaciones entre el tamaño del genoma y varias características fenotípicas, de aparente significancia selectiva, como son el tamaño celular y nuclear (Price *et al.*, 1973; Gregory y Hebert, 1999); la duración de la mitosis y meiosis (Stebbins, 1966; Bennett, 1987); el tiempo de generación mínima, o sea, la duración del periodo desde la germinación a la producción de semilla (Bennett, 1972); la tasa de crecimiento, el peso de semilla y el tipo de ciclo de vida (Bennett, 1987); el ambiente óptimo y el rango de cultivo de una especie (Price, 1976; Bennett y Leitch, 1995); la respuesta de

plantas anuales al CO<sub>2</sub> (Jasienski y Bazzaz, 1995). Estas correlaciones sugieren que la selección natural ha tenido un papel importante en la evolución del tamaño del genoma (Petrov, 2001).

### **Citómetro de Flujo**

El citómetro de flujo es considerado el método más adecuado, preciso y rápido en la estimación del contenido de ADN nuclear. Los métodos bioquímicos no pueden detectar subpoblaciones porque los tejidos que utilizan contienen células en diferentes fases del ciclo celular y con diferentes cantidades de ADN. Otras metodologías que miden el ADN en núcleos individuales, como la densitometría de Feulgen, la microespectrofotometría de absorción o el análisis de imagen no pueden competir con el citómetro de flujo en rapidez y sensibilidad (Dolezel, 1997).

Los métodos citométricos de flujo son excepcionalmente rápidos, seguros, convenientes y sensibles para el análisis del genoma de las plantas (Galbraith *et al.*, 1983). Han sido usados por la precisión y reproducibilidad del análisis, la facilidad en la preparación y por la rapidez en la lectura de las muestras, entre 500 y 1 000 núcleos por segundo, y sólo se requiere una pequeña cantidad de material (Greilhuber, 1998). Otra fortaleza del citómetro de flujo es la seguridad en la detección de pequeñas diferencias en el tamaño del genoma; sin embargo, los valores del contenido de ADN obtenidos tienen un valor limitado si se desconoce el número cromosómico del tejido o planta medida (Bennett y Leitch, 1995).

El citómetro de flujo está basado en el análisis de la intensidad de fluorescencia y las propiedades de dispersión de la luz de partículas individuales teñidas con un fluorocromo y

forzadas, hidrodinámicamente, a pasar a través de una cámara con una corriente de flujo líquida que recibe un haz de luz intensa. El fluorocromo ligado al ADN de las partículas absorbe la luz proporcionada por el citómetro y emite fluorescencia. Un sistema detector óptico, separado por filtros, colecta la fluorescencia emitida y la convierte en pulsos eléctricos que son amplificados, digitalizados y almacenados en un sistema computarizado; los resultados del análisis son expuestos en forma de un histograma que muestra la intensidad de la fluorescencia en las partículas de la muestra (Dolezel, 1991; Dolezel y Bartos, 2005).

Las mediciones de la cantidad de ADN por medio del citómetro de flujo emplea los siguientes pasos: 1) Los núcleos son aislados usualmente de tejido de parénquima de la hoja, por cortes con una navaja, colocándolo en buffers hipotónicos, 2) Los núcleos aislados son teñidos con un fluorocromo intercalar, como el yoduro de propidio; se le añade RNAasa para neutralizar el ARN de mitocondrias y cloroplastos, 3) La muestra es pasada por el citómetro de flujo y la fluorescencia relativa emitida por cada núcleo es proporcional al contenido de ADN, es medida y analizada. Con la inclusión de una planta de referencia o testigo, con valor C conocido, la fluorescencia relativa se convierte en valores absolutos, 4) La fluorescencia emitida por los núcleos genera dos histogramas, uno corresponde a las fases celulares  $G_0+G_1$  (con un valor 2C de ADN) y el otro corresponde a las fases  $G_2+Metafase$  (con un valor 4C) y 5) Los histogramas de fluorescencia deberán ser bien determinados y tener bajos coeficientes de variación, no mayores a 5 %, para validar la muestra (Bennett y Leitch, 1995; Dolezel, 1997). La cantidad absoluta de ADN de la muestra es calculada basándose en los valores de las medias del histograma de  $G_1$  (Dolezel, 1991).

Contenido 2C de ADN de la muestra

= [(media del histograma  $G_1$  de la muestra) / (media del histograma  $G_1$  de referencia)]

× contenido 2C de ADN de la planta de referencia (pg).

El conocimiento del tamaño del genoma puede ser usado en los campos de la Taxonomía, Ecología, Fitogeografía, Fitomejoramiento, Biotecnología y Biología molecular y celular (Bennett y Leitch, 1995). Dicho conocimiento es importante en estudios que pretenden resolver relaciones filogenéticas y evolutivas, analizar la correlación entre el tamaño del genoma y características agronómicas o fisiológicas, y estimar el efecto de los factores ambientales sobre el tamaño del genoma (Dolezel, 1997), la determinación de la cantidad de ADN nuclear en plantas es también útil para predecir las respuestas de la vegetación a cambios en el uso del suelo y clima, estableciendo su relación con los patrones y procesos ecológicos (Grime, 1998), y la diversificación en el tamaño del genoma es un proceso importante durante la especiación; por lo que, es un parámetro útil para la diferenciación taxonómica y las técnicas para medir el tamaño del genoma constituyen una herramienta para la investigación en biodiversidad y conservación (Greilhuber, 1998).

Considerando que los valores de ADN son un parámetro importante para determinar los cambios del genoma en las especies vegetales y que falta información sobre el contenido de ADN nuclear en *Salvia hispanica*, los objetivos de esta investigación fueron: a) Determinar los valores de ADN en ocho poblaciones de *S. hispanica* y explorar la amplitud de la variación intraespecífica y b) Comparar los contenidos de ADN entre y dentro de poblaciones silvestres y cultivadas de *S. hispanica*.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Vegetal

En un trabajo anterior sobre caracterización morfológica (Hernández y Miranda, 2008), se distinguieron seis grupos, según su origen geográfico y grado de domesticación, en 22 muestras de *S. hispanica* evaluadas. Para esta investigación se seleccionaron ocho muestras representativas de los grupos anteriormente obtenidos, cuya procedencia, ubicación geográfica y grado de domesticación se anotan en el Cuadro 3.1.

**Cuadro 3.1.** Procedencia, condición, ubicación geográfica y ciclo biológico de las ocho muestras de *S. hispanica* utilizadas en el análisis de contenido de ADN nuclear.

Clave	Procedencia <sup>†</sup>	Condición	Lat. N	Long. W	Altitud (m)	Ciclo (días)
A	Chihuahua. Jardín Botánico, UNAM	S	27° 03'	107° 58'	1620	105.6
B	Sinaloa, México. UC-Riverside	S	25° 53'	107° 26'	1100	110.3
C	Productores de chíá de Acatic, Jalisco	C	20° 46'	102° 54'	1680	119.0
D	Productores de San Mateo Coatepec, Puebla	C	18° 48'	98° 39'	2045	122.4
E	Productores de Temalacatzingo, Guerrero	S/C	17° 53'	98° 40'	1480	108.5
F	Chiepetlán. Artesanos de Olinalá, Guerrero	S/C	17° 43'	98° 36'	1720	118.9
G	Mercado de San Salvador, El Salvador	C	13° 42'	89° 12'	690	146.8
H	Mercado de Tegucigalpa, Honduras	C	14° 05'	87° 12'	940	144.0

<sup>†</sup>Procedencia: El material A fue donado por el Dr. Robert Bye y el B por el Dr. Joseph P. Cahill, proveniente de la colección de Howard Gentry. El resto fueron obtenidos por el autor de esta investigación. S= Silvestre; C= Cultivada; S/C= Cultivada con cáliz abierto al madurar (dehiscente), como en silvestres.

### Conteo del número somático de cromosomas

Las observaciones fueron hechas en células de ápices de raíz de semillas germinadas en cajas de petri, a temperatura ambiente. Después de 48 hrs, las raíces de aproximadamente 1 cm de longitud fueron pretratadas en una solución de 8-hidroxiquinoleína (0.002 M) por cinco

horas a 16 °C, en la obscuridad; posteriormente, fueron fijadas en Farmer 3:1 (alcohol absoluto:ácido acético glacial), por lo menos durante 24 hrs. Después las raíces fueron sometidas a hidrólisis en ácido clorhídrico 1N a 60 °C por 8 minutos y teñidas siguiendo la técnica de Feulgen por 10 min a 60 °C. Se utilizó la técnica de aplastado en ácido propiónico al 45 % en la elaboración de las preparaciones. Se revisaron por lo menos 10 preparaciones de cada población y las mejores preparaciones se observaron en un microscopio compuesto AXIO Imagen D1 (Carl Zeiss, Göttingen, Germany), las imágenes se capturaron en una cámara digital modelo Carl Zeiss AXIO Cam MRC5 y fueron electrónicamente procesadas mediante el software Photoshop 7.0

### **Determinación del contenido de ADN por citómetro de flujo**

En cada muestra se identificaron cinco plantas de entre uno y dos meses de edad, se seleccionaron las hojas expuestas más jóvenes y se midieron tres diferentes hojas por planta. Se usó *Lycopersicon esculentum* cv. Stupické polní rané (2C=1.96 pg) como planta testigo o control (Dolezel *et al.*, 1992).

Para el análisis en el citómetro de flujo, se prepararon suspensiones de núcleos intactos de acuerdo con Otto (1990) con algunas modificaciones descritas por Dolezel y Göhde (1995), de la siguiente manera: Se obtuvieron 40 mg de tejido de hoja de *S. hispanica* y 30 mg de tejido de hoja de *L. esculentum*, que simultáneamente fueron picados finamente con una navaja de rasurar en una caja de petri que contenía 2 mL de la solución de Otto 1 (0.1M de ácido cítrico y 0.5 % Tween 20).

El material finamente picado se incubó 15 min a temperatura ambiente y después se filtró en una malla de nylon de 30 a 50  $\mu\text{m}$ . De manera inmediata, la muestra filtrada se le centrifugó por tres minutos a 1 000 rpm (90  $\times g$ ) en dos ocasiones. Después de la primera centrifugación, se eliminó el sobrenadante y al precipitado que contenía los núcleos aislados se le agregó 1 mL de la solución de Otto 1; enseguida se procedió a la segunda centrifugación, se eliminó de nueva cuenta el sobrenadante y al precipitado se le añadió 0.5 mL de la solución de Otto 1 y se le incubó por 15 minutos a temperatura ambiente.

A los núcleos, en la solución de Otto 1, se añadieron 2mL de la solución de Otto 2 (0.4M de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), y después dicha solución se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente. Esta solución fue suplementada con 125  $\mu\text{L}$  de RNAsa y 125  $\mu\text{L}$  de PI (Yoduro de propidio) como colorante fluorescente. LA RNAsa + PI a una concentración final de  $1\mu\text{L ml}^{-1}$ . La solución así obtenida se filtró en una malla de nylon de 30 a 50  $\mu\text{m}$ .

Dado que la solución de Otto 2 es muy agresiva, la solución filtrada se analizó inmediatamente en el citómetro de flujo. Se utilizó un Citómetro de flujo Partec CA II (Partec GmbH, Munster, Germany). Los núcleos aislados de eritrocitos de pollo, cuya solución fue preparada de igual forma que las muestras, se usaron para calibrar el aparato, revisando su linealidad, comparando la posición de los histogramas de los núcleos individuales o de los grupos (dobletes, tripletes, etc.), procurando tener un coeficiente de variación de entre 1 y 2 %. Esta rutina se repitió cada vez que se utilizó el citómetro de flujo en la lectura de las muestras.

Se utilizó *Lycopersicon esculentum* como planta de referencia, en función de la cual se estimó el contenido nuclear de ADN de las muestras de *S. hispanica*; para lo cual, la media del

histograma que representa a los núcleos en la etapa G<sub>1</sub>/G<sub>0</sub> (2C de ADN) de *L. esculentum* se colocó en el canal 50. Al menos 10 000 núcleos fueron analizados en cada muestra, a una velocidad de 30-50 núcleos por segundo, para no distorsionar el histograma de la muestra. La posición de los histogramas, las medias, las áreas y el coeficiente de variación fueron calculados utilizando el software DPAC (Partec GmbH). El contenido del genoma nuclear se calculó de acuerdo a Dolezel (1991), usando la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Contenido 2C ADN de } \textit{Salvia hispanica} \\ &= [(\text{media del histograma G}_1/\text{G}_0 \text{ de } \textit{S. hispanica}) / (\text{media del histograma G}_1/\text{G}_0 \text{ de } \textit{L. esculentum})] \\ & \quad \times \text{ contenido 2C de ADN de } \textit{L. esculentum} (1.96 \text{ pg}) \\ & 1 \text{ pg} = 980 \text{ Mpb (Bennett } \textit{et al.}, 2000\text{b)} \end{aligned}$$

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se efectuó con el paquete computacional SAS (Statistical Analysis System). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar y un diseño de tratamientos factorial 8x5x3; para evaluar las diferencias en el contenido 2C de ADN entre muestras y entre plantas de la misma muestra, se realizó un análisis de varianza, bajo un diseño factorial anidado, siendo los factores de variación: muestras, plantas (muestras) y error de muestreo. Se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey para detectar las diferencias en las medias del contenido de ADN de las muestras y se definieron contrastes ortogonales para conocer las diferencias entre y dentro de las muestras silvestres y cultivadas de diferente origen geográfico.

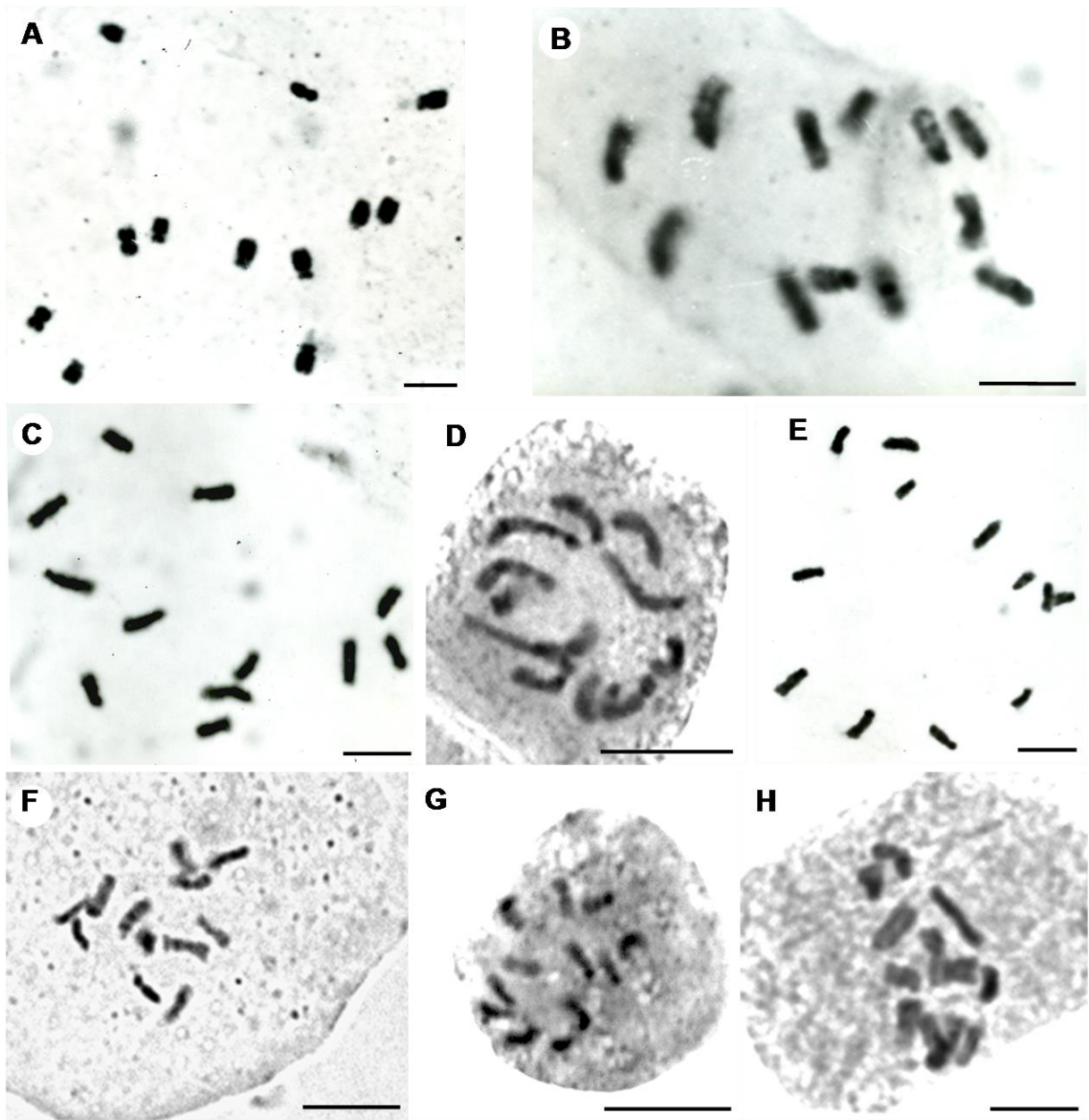
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Conteo de cromosomas

Las muestras de *S. hispanica*, utilizadas en este estudio, provienen de regiones con condiciones geográficas contrastantes dentro de la amplia zona de distribución natural de la especie (Cuadro 3.1). Independientemente del origen geográfico, se observó un mismo número cromosómico; en las ocho muestras evaluadas se obtuvo un número cromosómico somático de  $2n=12$  y un número cromosómico básico  $x=6$  (Figura 3.1). Este número cromosómico, el más bajo del género *Salvia*, es característico de *S. hispanica*, como lo han reportado Haque y Ghoshal (1980), en un material proporcionado por el Jardín Botánico de Rotterdam, Holanda; Mercado *et al.* (1989), en un material colectado en Atlixac, Guerrero y Estilai y Hashemi (1990), en materiales comprados en mercados de México, Guatemala y Sur de California.

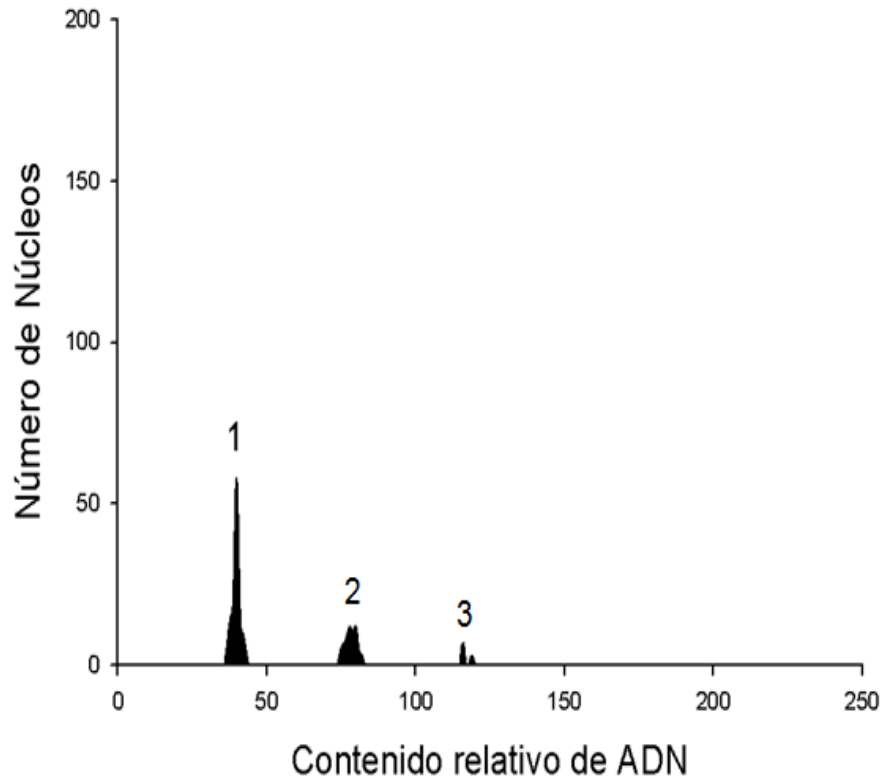
### Análisis del tamaño del genoma

En cada ocasión que se utilizó el citómetro de flujo, éste se calibró con núcleos de eritrocitos de pollo, obteniendo histogramas con un coeficiente de variación de 1.28 % (Figura 3.2). Los histogramas de los valores relativos de ADN de las muestras de *S. hispanica* provenientes de Chihuahua; Sinaloa; Acatic, Jalisco; San Mateo Coatepec, Puebla; Temalacatzingo, Guerrero; Chiepetlán, Guerrero; El Salvador y Honduras se representan en la Figura 3.3. El rango de los coeficientes de variación obtenidos en estos histogramas fue de 3.85 a 5.06 % y el número de núcleos contabilizados varió entre 10 016 a 18 602; aproximadamente el 97 % de los núcleos correspondió a la fase  $G_1$  (2C-ADN) y sólo el 3 %, a la fase  $G_2$  (4C-ADN).

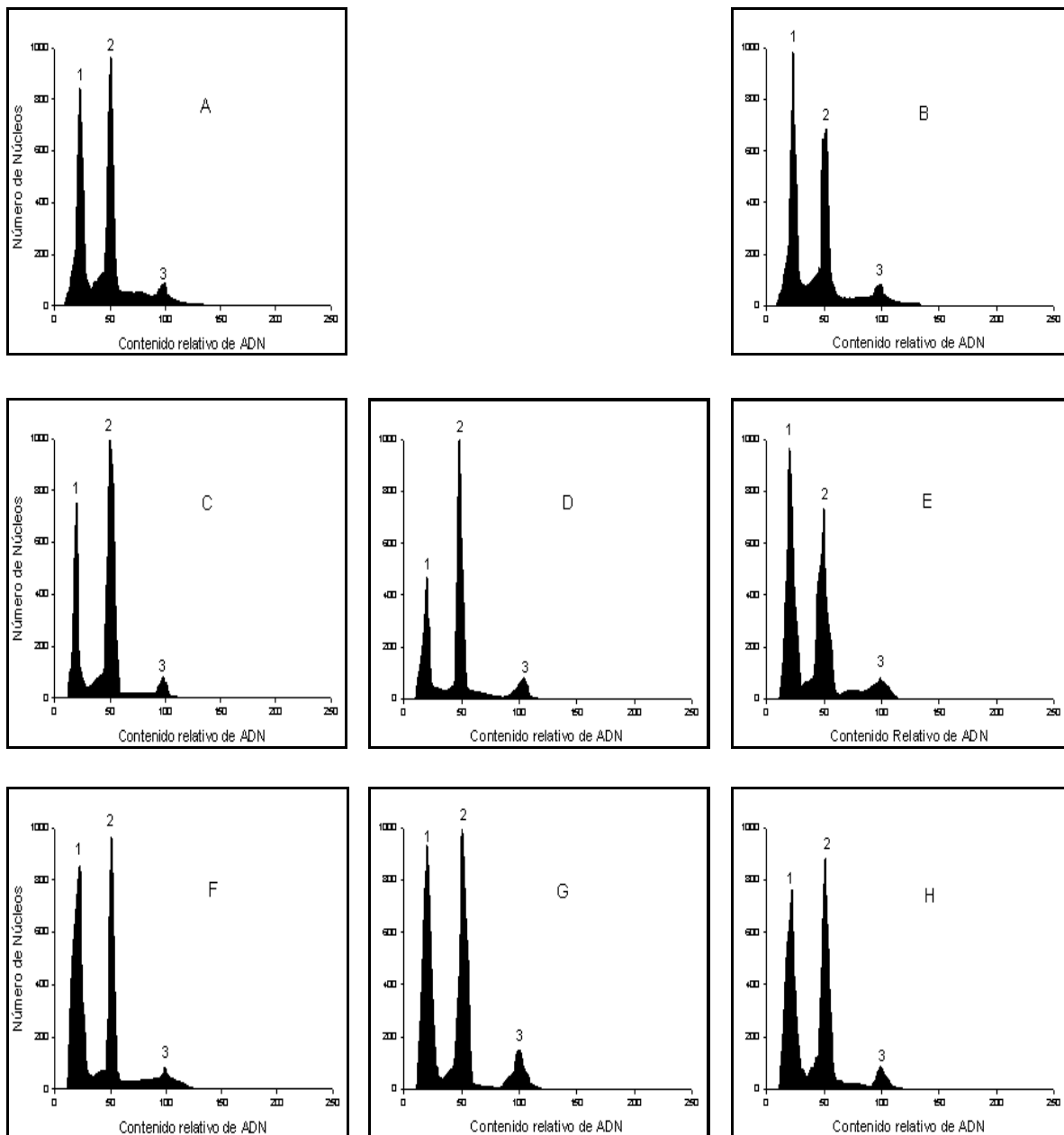


**Figura 3.1.** Cromosomas somáticos en ocho muestras de *Salvia hispanica* ( $2n=12$ ). A) Chihuahua; B) Sinaloa; C) Acatic, Jalisco; D) San Mateo Coatepec, Puebla; E) Temalacatzingo, Guerrero; F) Chiepetlán, Guerrero; G) El Salvador; H) Honduras. La escala corresponde a  $5\mu\text{m}$ .

Los valores promedio del contenido de ADN nuclear en picogramos (pg) y en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb), de las muestras de *S. hispanica* evaluadas, se presentan en el Cuadro 3.2. El contenido promedio de 2C-ADN fue de 0.849 pg y 416 Mpb ( $1C_x$ ), el valor más pequeño correspondió a la muestra de Temalacatzingo, Guerrero con 0.827 pg y 405 Mpb y el valor mayor se observó en la muestra de Honduras con 0.921 pg y 451 Mpb; el mayor contenido de ADN fue 11.2 % superior al valor más pequeño. El valor promedio de  $1C_x$  fue de 0.425 pg.



**Figura 3.2.** Histogramas de los núcleos de eritrocitos de pollo utilizados para calibrar el citómetro de flujo. El histograma 1 representa la fase  $G_0/G_1$  del ciclo celular (2C) y los histogramas 2 y 3 representan la agregación de núcleos dobles y triples.



**Figura 3.3.** Estimación del contenido de ADN nuclear en ocho muestras de *Salvia hispanica* ( $2n=12$ ). A) Chihuahua; B) Sinaloa; C) Acatic, Jalisco; D) San Mateo Coatepec, Puebla; E) Temalacatzingo, Guerrero; F) Chiepetlán, Guerrero; G) El Salvador; H) Honduras. El histograma 1 representa la etapa  $G_1$  ( $2C$ ) de los núcleos de las muestras de *S. hispanica* y los histogramas 2 y 3 representan la etapa  $G_1$  ( $2C$ ) y  $G_2$  ( $4C$ ) de los núcleos de *Lycopersicon esculentum* (planta de referencia), respectivamente.



Es la primera ocasión que se reporta el contenido de ADN nuclear de *Salvia hispanica*. En la familia Lamiaceae, a la que pertenece *S. hispanica*, sólo se ha reportado el contenido de ADN de 22 especies, entre las cuales sólo una especie es del género *Salvia*. El contenido promedio de 0.849 pg de 2C ADN de las ocho muestras evaluadas es menor al valor promedio reportado por Bennett y Leitch (2005b) para las 22 especies de la familia Lamiaceae, 2C ADN=3.09 pg y muy cercano a su valor mínimo, 2C ADN=0.65 pg. Por otra parte, *Salvia Splendens* Ker-Gawl, una especie anual con  $2n=4x=32$ , tiene un valor 2C ADN de 1.70 pg (Olszewska y Osiecka, 1983), este valor es aproximadamente dos veces superior al contenido promedio de 2C ADN de *S. hispanica*.

**Cuadro 3.2.** Valores promedio del contenido nuclear de ADN en ocho muestras de *S. hispanica* ( $2n=12$ ).

Población	Media 2C ADN (pg)* $\pm$ EE	1C <sub>x</sub> (Mpb)
Chihuahua	0.833 $\pm$ 0.0035	408
Sinaloa	0.865 $\pm$ 0.0035	424
Acatic, Jalisco	0.831 $\pm$ 0.0036	407
San Mateo Coatepec, Puebla	0.843 $\pm$ 0.0026	413
Temalacatzingo, Guerrero	0.827 $\pm$ 0.0038	405
Chiepetlán, Guerrero	0.834 $\pm$ 0.0038	408
El Salvador	0.835 $\pm$ 0.0035	409
Honduras	0.921 $\pm$ 0.0037	451

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

1 C<sub>x</sub> = genoma monoploide no replicado con el número básico de cromosomas x (Greilhuber *et al.*, 2005).

*Salvia hispanica* no sólo es de las especies con genomas muy pequeños dentro de la familia Lamiaceae sino que también entre las angiospermas. Para Leitch *et al.* (1998) las especies de angiospermas con genomas muy pequeños se caracterizan por valores de 1C-ADN entre 0.1 a 1.4 pg; además sostienen que los genomas pequeños han desarrollado gran flexibilidad

evolutiva y correlacionan con ciertas características responsables del éxito en competencia con otras plantas, como un rápido establecimiento de las plántulas, ciclos biológicos cortos y una alta tasa reproductiva.

El área de distribución natural de *S. hispanica* se ubica en la zona montañosa de la vertiente del Océano Pacífico desde el estado de Chihuahua, en México, hasta Guatemala (Miranda, 1978; Cahill, 2004); posiblemente, el bajo contenido de ADN nuclear de la especie sea uno de los factores que expliquen su capacidad para colonizar nuevos ambientes y desarrollarse en una amplia región geográfica. Ramamoorthy y Elliot (1998) calculan que sólo cerca del 10 % del género *Salvia* en México no presenta endemismo específico; entre la que se encuentra *S. hispanica*.

Los pequeños genomas están asociados con otras características citológicas. *S. hispanica* es una especie anual, originaria de Mesoamérica, con el número cromosómico más bajo ( $2n=12$ ) en el género *Salvia*, con cromosomas pequeños (entre 1.5 a 5  $\mu\text{m}$ ) y cariotipo asimétrico (Haque y Ghoshal, 1980; Mercado *et al.*, 1989; Estilai y Hashemi, 1990; Harley y Heywood, 1992). El número cromosómico en el genoma gamético no replicado ( $n$ ) varía de 2 a, por lo menos, 250 y la longitud media del cromosoma varía de 0.6 a 14.6  $\mu\text{m}$  (Bennett, 1987). En angiospermas pueden detectarse tanto el incremento como la disminución del tamaño del genoma, la tendencia evolutiva es hacia la asimetría de los cariotipos, por medio de inversiones pericéntricas y translocaciones desiguales entre cromosomas no homólogos (Stebbins, 1971).

Para Bennett (1972) el contenido medio de ADN en especies anuales es menor que en las perennes. Esto se ha observado en *Crepis* (Jones y Brown, 1976) y en la subtribu Microseridinae, de la familia Compositae (Price y Bachmann, 1975). En las *Salvias* mexicanas, Ramamoorthy y Elliot (1998) registran que cerca del 92 % son perennes, con diversos órganos perennizantes: tubérculos, estolones y raíces engrosadas; algunas de las especies anuales del género como *S. hispanica*, *S. uruapana* y *S. rhyacophila* tienen el número de cromosomas más bajo ( $2n=12$ ).

El análisis de varianza de los datos de contenido de ADN mostró que no existen diferencias ( $P=0.73$ ) entre plantas de la misma muestra, pero indicó diferencias significativas ( $P<0.0001$ ) entre las ocho muestras evaluadas (Cuadro 3.3). Las diferencias observadas entre muestras y la falta de diversidad en su progenie pueden estar ligadas con el sistema de apareamiento de la especie. *S. hispanica* es preferentemente una especie autógama (Haque y Ghoshal, 1981) y la variación entre muestras, más que dentro de ellas, es típica de este sistema de apareamiento.

Mediante la prueba de Tukey se identificó claramente la formación de tres grupos; la muestra de Honduras (grupo a) y de Sinaloa (grupo b) son diferentes ( $\alpha= 0.05$ ) de las seis muestras restantes (grupo c) (Cuadro 3.4). La diferencia significativa observada en el contenido medio de ADN nuclear, entre la muestra de Honduras (grupo a) y la de Temalacatzingo (grupo c), fue de 0.093 pg, lo que representa el 11.2 % de variación y ésta se ha desarrollado sin alterar el número cromosómico ( $2n=12$ ).

Para Bennett (1987) la variación intraespecífica de ADN no es rara, aún con un número cromosómico constante. Las variaciones en el tamaño del genoma no están asociados con

grupos taxonómicos o complejidad orgánica de las especies; en las angiospermas, el valor 1C-ADN difiere en aproximadamente 1 000 veces, su intervalo de variación es de 0.1 a 125 pg (Bennett *et al.*, 2000b). Cavallini y Natali (1991) y Ohri (1998) registran cerca de 50 reportes de la variación intraespecífica en la cantidad de ADN en especies de diferentes familias y géneros; el intervalo de variación es muy amplio, entre 5.1 % en *Secale cereale* a 294.4 % en *Collinsia verna*.

**Cuadro 3.3.** Análisis de varianza del contenido nuclear de ADN de ocho muestras de *S. hispanica*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	P > F
Muestra	7	0.10319	0.01474	92.08	< 0.0001
Planta (muestra)	32	0.00512	0.00016	0.82	0.7253
Error	80	0.01554	0.00019		
Total	119	0.12386			

R<sup>2</sup> = 0.875      CV = 1.64

**Cuadro 3.4.** Prueba de rango múltiple de Tukey de las medias del contenido 2C-ADN de las muestras de *S. hispanica*.

Población	Media de ADN (pg)	Agrupamiento de Tukey
Honduras	0.921	a
Sinaloa	0.865	b
San Mateo Coatepec, Puebla	0.843	c
El Salvador	0.835	c
Chiepetlán, Guerrero	0.834	c
Chihuahua	0.833	c
Acatic, Jalisco	0.831	c
Temalacatzingo, Guerrero	0.827	c
DMS*	0.0156	

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes con  $\alpha = 0.05$ . \*DMS = diferencia mínima significativa.

Las diferencias en el contenido de ADN son originadas principalmente por secuencias de ADN que no codifican funciones y son con frecuencia repetitivas, como elementos móviles o transposones, los microsátélites, las secuencias repetitivas particulares y los pseudogenes (Petrov, 2001); para Bennett y Leitch (1995) la capacidad mutagénica de las secuencias repetitivas contribuye al potencial evolutivo de las poblaciones. La variación intraespecífica dentro de un taxón con el mismo número cromosómico se puede generar por la proliferación de transposones; la expansión o disminución de microsátélites y heterocromatina y la acumulación gradual de inserciones o deleciones espontáneas, como la duplicación o pérdida de segmentos de cromosomas, las inversiones, las translocaciones o intercambios cromosómicos (Stebbins, 1966; Price, 1976; Rees *et al.*, 1966; Jones y Rees, 1968; Petrov, 2001).

La variación intraespecífica en la cantidad de ADN puede resultar de la selección indirecta de tamaños de genoma favorables en condiciones ambientales particulares. Bennett (1972) plantea que, independientemente de su información genética, la masa de ADN contenida en el núcleo afecta el tamaño del cromosoma, el volumen nuclear y celular, la duración de la mitosis y meiosis y el tiempo entre la germinación y la maduración de la semilla. El tamaño del genoma se ha correlacionado con la zona de madurez (Rayburn *et al.*, 1985), la altitud de adaptación y la estación de crecimiento (Bullock y Rayburn, 1991), con la temperatura (Ceccarelli *et al.*, 1992) y con la disponibilidad de agua en el suelo (Price *et al.*, 1981a, 1981b). Así, la selección simultánea para maduración temprana y tamaño de la planta puede estar relacionada con el menor contenido de ADN en variedades de maíz adaptadas a altas latitudes (Rayburn *et al.*, 1985); la selección para precocidad en maíces ubicados en altitudes menores o mayores a 1 500 m resultó en una disminución de su contenido de ADN y la

estación de crecimiento efectiva es la presión selectiva (Bullock y Rayburn, 1991), el tamaño del genoma en las poblaciones italianas de *Festuca arundinacea* correlacionan positivamente con la temperatura media y con el mes más frío de cada estación (Ceccarelli *et al.*, 1992), en *Microseris bigelovii*, las poblaciones con menores cantidades de ADN crecieron en ambientes de alta tensión de humedad y/o con periodos de crecimiento limitados (Price *et al.*, 1981a), los mayores valores de ADN en las poblaciones de *Microseris douglasii* están restringidas a plantas que crecen en áreas con relativa alta precipitación y suelos bien desarrollados (Price *et al.*, 1981b).

Aunque, la muestra de Honduras procedente del extremo sur (14° 05' LN) del rango de dispersión de la especie tuvo el contenido de ADN más alto (0.921 pg) y la muestra de Chihuahua, del extremo más al norte (27° 03' LN), presentó un valor bajo de ADN (0.833 pg); en general, se observa que el contenido de ADN no se asocia con la latitud y altitud de procedencia de las ocho muestras de *S. hispanica* evaluadas (Cuadro 3.4). Así, la muestra de Honduras y la de El Salvador, geográficamente muy cercanas tuvieron una diferencia de cerca del 10 % en su contenido de ADN nuclear; la diferencia entre la muestra de Sinaloa y Chihuahua, procedentes del norte del país en la Sierra Madre Occidental, fue de cerca del 4%; mientras que las muestras en el grupo c, con valores similares de ADN, son de diferente origen geográfico. Lo anterior se confirma pues no existió correlación significativa entre el contenido 2C-ADN y la latitud ( $r = -0.22$ ), la altitud ( $r = -0.47$ ) ni con el ciclo biológico ( $r = 0.50$ ) de las muestras.

Las muestras evaluadas son sólo una pequeña fracción de la diversidad genética presente en la zona de distribución natural de *S. hispanica*. Esta zona muestra condiciones montañosas,

que generan una variedad de microclimas, de tipos de suelo y aislamiento geográfico; esto, posiblemente explique la falta de correlación entre el contenido de ADN y la latitud o altitud de procedencia en la especie. Greenlee *et. al.* (1984) no encontraron una tendencia geográfica en la diferencia de cerca de cuatro veces en el contenido de ADN entre poblaciones naturales de *Collinsia verna* colectadas en una área de 300 millas de longitud; sugiriendo que la causa de su alto grado de diferenciación son el aislamiento geográfico y la presencia de microambientes; de igual manera, Bennett y Bennett (1992) atribuyeron a la adaptación microclimática, la alta variación de 35.6 % en el tamaño del genoma del pasto *Milium effusum*, con un número cromosómico constante; la variación intraespecífica de 25 % en el contenido de ADN en poblaciones de *Microseris bigelovii*, cuya área de distribución se extiende por más de 14° de latitud, no presentó una distribución latitudinal, debido a que las poblaciones en los extremos del área de adaptación de la especie están sujetos a limitantes ambientales más que las poblaciones en la parte central, cuyos ambientes son usualmente óptimos (Price *et al.*, 1981a). Por tanto, la variación en el contenido de ADN entre muestras de *S. hispanica* con cercanía geográfica pudiera ser una adaptación a condiciones microambientales.

Al analizar los cambios en el contenido medio de ADN considerando el nivel de domesticación (Cuadro 3.5), se obtuvieron diferencias de las muestras silvestres con las cultivadas ( $P=0.0104$ ) y con las de Guerrero ( $P<0.0001$ ); de las cultivadas con las de Guerrero ( $P<0.0001$ ); y entre las muestras cultivadas, la de Acatic, Jalisco difiere de la de Puebla ( $P=0.0245$ ) y de las de Centroamérica ( $P<0.0001$ ), y la de Puebla es diferente de las de Centroamérica ( $P<0.0001$ ). En cambio, las muestras de Temalacatzingo y Chiepetlán, originarias de Guerrero y con un nivel de domesticación incipiente, no presentaron diferencias ( $P=0.2267$ ).

**Cuadro 3.5.** Valores medios y significancia del contenido 2C ADN de los contrastes entre muestras silvestres, cultivadas y de Guerrero de *Salvia hispanica*.

Contraste <sup>†</sup>	Valores medios (pg)	Varianza del contraste	Significancia
Silvestres vs Cultivadas	0.849 vs 0.857	0.00134*	0.0104
Acatic vs Puebla	0.831 vs 0.843	0.00102*	0.0245
Acatic vs Centroamérica	0.831 vs 0.878	0.02203**	< 0.0001
Puebla vs Centroamérica	0.843 vs 0.878	0.01244**	< 0.0001
Silvestres vs Guerrero	0.849 vs 0.830	0.00532**	< 0.0001
Cultivadas vs Guerrero	0.857 vs 0.830	0.01460**	< 0.0001
Temalacatzingo vs Chiepetlán	0.827 vs 0.833	0.00029ns	0.2267

\*P<0.05; \*\*P<0.01; ns, no diferencias significativas. <sup>†</sup>El grupo de las silvestres incluye las muestras de Chihuahua y Sinaloa; el grupo de las cultivadas lo conforman las muestras de Acatic, Jalisco, San Mateo Coatepec, Puebla, El Salvador y Honduras; en el grupo de Centroamérica están incluidas las muestras de El Salvador y Honduras; y el grupo de Guerrero lo forman las muestras de Temalacatzingo y Chiepetlán.

Estos resultados indican que el proceso de domesticación modificó el tamaño del genoma en *S. hispanica*. En *Milium effusum* (2n=28), las poblaciones que crecieron en condiciones de cultivo tuvieron significativamente mayores cantidades de ADN que las plantas colectadas de poblaciones silvestres (Bennett y Bennett, 1992).

Hernández y Miranda (2008) identificaron amplia variación morfológica en el proceso de domesticación de *S. hispanica*. Las chías cultivadas, en comparación con las silvestres, presentan la corola más ancha, más grande y expuesta; la inflorescencia más larga, más ancha y compacta; la semilla de mayor peso y el cáliz maduro es cerrado (indehiscente); el grupo de chías cultivadas de Acatic, Puebla y Centroamérica se diferencian en la duración del ciclo biológico, en el largo y ancho de la corola, en el ancho de la inflorescencia y en la altura de planta; en cambio, las chías de Guerrero muestran adaptaciones morfológicas propias de la selección bajo cultivo pero, mantienen el tamaño del cáliz y de la corola, el peso de la semilla y el cáliz abierto (dehiscente) similares a las silvestres. Las modificaciones a estas estructuras



morfológicas pueden estar asociadas con las variaciones en el tamaño del genoma encontradas en esta investigación.

Harley y Heywood (1992) plantean que el género *Salvia* se encuentra en un proceso activo de evolución y que el posible origen de *Salvia* subgénero Calosphace es América Central. Considerando que *S. hispanica* es una planta anual, con el número cromosómico más bajo del género ( $2n=12$  y  $x=6$ ), su cariotipo es asimétrico, su contenido de 2C de ADN nuclear bajo (0.849 pg) y con una variación del 11.2 % entre las muestras, podemos inferir que tiene una evolución relativamente reciente.

La presencia de microambientes en su área de distribución natural y el proceso de domesticación fueron factores que influyeron en los cambios en el tamaño del genoma en *S. hispanica*. Sin embargo, es necesario coleccionar un mayor número de muestras, tanto silvestres como cultivadas, para dilucidar con precisión el proceso evolutivo de la especie.

## CONCLUSIONES

Las ocho muestras de *Salvia hispanica*, de diferente origen geográfico, presentaron el mismo número somático ( $2n=12$ ) y básico ( $x=6$ ) de cromosomas.

Se encontró variación intraespecífica en la cantidad 2C-ADN nuclear en las ocho muestras de *S. hispanica* evaluadas. El contenido promedio de ADN fue de 0.849 pg, el menor valor correspondió a la muestra de Temalacatzingo, Guerrero con 0.827 pg y el valor mayor se

observó en la muestra de origen centroamericano de Honduras, con 0.921 pg; el mayor valor fue 11.2 % superior al valor más pequeño. El valor  $1C_x$  fue de 0.425 pg.

Se observó asociación del tamaño del genoma con el nivel de domesticación de las muestras; pero, no existió correlación significativa con la latitud, la altitud o su ciclo biológico.

### LITERATURA CITADA

**Bennett M D (1972)** Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. Proc. R. Soc. Lond. B. 181:109-135.

**Bennett M D (1987)** Variation in genomic form in plants and its ecological implications. New Phytol. 106(Suppl.):177-200.

**Bennett S T, M D Bennett (1992)** Variation in nuclear DNA amount between wild and cultivated populations of *Milium effusum* ( $2n=28$ ). Genome 35:1050-1053.

**Bennett M D, I J Leitch (1995)** Nuclear DNA amounts in Angiosperms. Ann. Bot. 76:113-176.

**Bennett M D, I J Leitch (2005a)** Nuclear DNA in Angiosperms: progress, problems and prospects. Ann. Bot. 95:45-90.

**Bennett M D, I J Leitch (2005b)** Angiosperm DNA C-values database (release 5.0) (<http://www.kew.org/cvalues/homepage.html>).

**Bennett M D, S Johnston, G L Hodnetts, H J Price (2000a)** *Allium cepa* L. cultivars from four continents compared by flow cytometry show nuclear DNA constancy. Ann. Bot. 85:351-357.

**Bennett M D, P Bhandol, I J Leitch (2000b)** Nuclear DNA amounts in Angiosperms and their modern uses-807 new estimates. Ann. Bot. 86:859-909.

**Blondon F, D Marie, S Brown (1994)** Genome size and base composition in *Medicago sativa* and *M. truncatula* species. Genome 37:264-270.

**Bullock D, A Rayburn (1991)** Genome size variation in southwestern US indian maize populations may be a function of effective growing season. Maydica 36:247-250.

- Cahill J P (2003)** Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L. Econ. Bot. 57:604-618.
- Cahill J P (2004)** Genetic diversity among varieties of Chia (*Salvia hispanica* L.). Gen. Res. Crop Evol. 51:773-781.
- Cavallini, A, C Zolfino, L Natali, G Cionini, P G Cionini (1989)** Nuclear DNA changes within *Helianthus annuus* L.: origin and control mechanism. Theor. Appl. Genet. 77:12-16.
- Cavallini A, L Natali (1991)** Intraspecific variation of nuclear DNA content in plant species. Caryologia 44:93-107.
- Cavallini A, L Natali, G Cionini, D Gennai (1993)** Nuclear DNA variability within *Pisum sativum* (Leguminosae): nucleotypic effects on plant growth. Heredity 70:561-565.
- Ceccarelli M, E Falistocco, P G Cionini (1992)** Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. Theor. Appl. Genet. 83:273-278.
- Dolezel J (1991)** Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. Phytochem. Anal. 2:143-154.
- Dolezel J (1997)** Application of flow cytometry for the study of plant genomes. J. Appl. Genet. 38:285-302.
- Dolezel J, S Sgorbati, S Lucreti (1992)** Comparison of three fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. Physiol. Plant. 85:625-631.
- Dolezel J, W Göhde (1995)** Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. Cytometry 19:103-106.
- Dolezel J, J Greilhuber, S Lucreti, A Meister, M A Lysák, L Nardi, R Obermayers (1998)** Plant genome size estimation by flow cytometry: Inter-laboratory comparison. Ann. Bot. 82 (Supplement A):17-26.
- Dolezel J, J Bartos (2005)** Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. Ann. Bot. 95:99-110.
- Epling C (1939)** A revision of *Salvia* subgenus Calosphace. Repert. Spec. Nov. Sp. Beih. 110:1-383.
- Estilai A, A Hashemi (1990)** Chromosome number and meiotic behavior of cultivated chia, *Salvia hispanica* (Lamiaceae). HortScience 25:1646-1647.
- Galbraith D W, K R Harkins, J M Maddox, N M Ayres, D P Sharma, E Firoozabady (1983)** Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. Science 220:1049-1051.

- Greenlee J K, K S Rai, A D Floyd (1984)** Intraspecific variation in nuclear DNA content in *Collinsia verna* Nutt. (Scrophulariaceae). *Heredity* 52:235-242.
- Greilhuber J (1998)** Intraspecific variation in genome size: a critical reassessment. *Ann. Bot.* 82(Supplement A):27-35.
- Greilhuber J, I Ebert (1994)** Genome size variation in *Pisum sativum*. *Genome* 37:646-655.
- Greilhuber J, J Dolozel, M A Lysák, M D Bennett (2005)** The origin, evolution and proposed stabilization of the terms “genome size” and “c-value” to describe nuclear DNA contents. *Ann. Bot.* 95:255-260.
- Gregory T R, P D Hebert (1999)** The modulation of DNA content: proximate causes and ultimate consequences. *Genome Research* 9:317-324.
- Grime J P (1998)** Plant classification for ecological purposes: is there a role for genome size?. *Ann. Bot.* 82 (Supplement A):117-120.
- Grime J P, M A Mowforth (1982)** Variation in genome size-an ecological interpretation. *Nature* 299:151-153.
- Haque M S, K K Ghoshal (1980)** Karyotypes and chromosome morphology in the genus *Salvia* Linn. *Cytologia* 45:627-640.
- Haque M S, K K Ghoshal (1981)** Floral biology and breeding system in the genus *Salvia* L. *Proc. Indian Nat. Sci. Acad.* B47:716-724.
- Harley R M, C A Heywood (1992)** Chromosome numbers in Tropical American Labiatae. *In: Advances in Labiatae Science.* R M Harley, T Reynolds (eds). The Royal Botanic Gardens. Kew, Richmond, Surrey, UK. Great Britain. pp: 211-246.
- Hernández G J A, S Miranda C (2008)** Caracterización morfológica de Chía (*Salvia hispanica*). *Rev. Fitotec. Mex.* 31:105-113.
- Jasienski M, F A Bazzaz (1995)** Genome size and high CO<sub>2</sub>. *Nature* 376:559-560.
- Jones R N, H Rees (1968)** Nuclear DNA variation in *Allium*. *Heredity* 23:591-605.
- Jones R N, L M Brown (1976)** Chromosome evolution and DNA variation in *Crepis*. *Heredity* 36:91-104.
- Labani RM, T T Elkington (1987)** Nuclear DNA variation in the genus *Allium* L. (Liliaceae). *Heredity* 59:119-128.
- Laurie D A, M D Bennett (1985)** Nuclear DNA content in the genus *Zea* and *Sorghum*. Intergeneric, interspecific and intraspecific variation. *Heredity* 55:307-313.

- Leitch I J, M W Chase, M D Bennett (1998)** Phylogenetic analysis of DNA c-value provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. *Ann. Bot.* 82(Supplement A):85-94.
- Levin D A, S W Funderburg (1979)** Genome size in Angiosperms: temperate versus tropical species. *Amer. Natur.* 114:784-795.
- Mercado P, T P Ramamoorthy, G Palomino (1989)** Karyotypes of five Mexican species of *Salvia* subgenus Calosphace (Lamiaceae). *Cytologia* 54:605-608.
- Michaelson M J, H J Price, J S Johnston, J R Ellison (1991)** Variation of nuclear DNA content in *Helianthus annuus* (Asteraceae). *Amer. J. Bot.* 78:1238-1243.
- Miranda C S (1978)** Evolución de cultivares nativos de México. *Ciencia y Desarrollo* 3:130-131.
- Moore P D (1985)** Nuclear DNA content as a guide to plant growth rate. *Nature* 318:412-413.
- Ohri D (1998)** Genome size variation and plant systematic. *Ann. Bot.* 82(Supplement A):75-83.
- Ohri D, M Pal (1991)** The origin of chickpea (*Cicer arietinum* L.): karyotype and nuclear DNA amount. *Heredity* 66:367-372.
- Olszewska M J, R Osiecka (1983)** The relationship between 2C DNA content, life-cycle type, systematic position and the dynamics of DNA endoreplication in parenchyma nuclei during growth and differentiation or roots in some dicotyledonous-herbaceous species. *Biochemie und Physiologie der Pflansen* 178:581-599.
- Orgel L E, F H Crick (1980)** Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature* 284:604-607.
- Otto F (1990)** DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. *In: Darzynkiewicz Z, H A Crissman (eds.) Methods in Cell Biology* vol. 33. Academic Press Inc., New York. pp:110-115.
- Palomino G, P Mercado, T P Ramamoorthy (1986)** Chromosomes of *Salvia* subgenus Calosphace (Lamiaceae), a preliminary report. *Cytologia* 51:381-386.
- Petrov, D A (2001)** Evolution of genome size: new approaches to an old problem. *Trends in Genetics* 17:23-28.
- Poggio, L, J H Hunziker (1986)** Nuclear DNA content variation en *Bulnesia*. *J. Heredity* 77:42-48.
- Price H J (1976)** Evolution of DNA content in higher plants. *Bot. Rev.* 42:27-52.

- Price H J, A H Sparrow, A F Nauman (1973)** Correlations between nuclear volume, cell volume and DNA content in meristematic cells of herbaceous angiosperms. *Experientia* 29:1028-1029.
- Price H J, K Bachmann (1975)** DNA content and evolution in the microseridinae. *Amer. J. Bot.* 62:262-267.
- Price H J, K L Chambers, K Bachmann (1981a)** Genome size variation in diploid *Microseris bigelovii* (Asteraceae). *Bot. Gaz.* 142:156-159.
- Price H J, K L Chambers, K Bachmann (1981b)** Geographic and ecological distribution of genomic DNA content variation in *Microseris douglasii* (Asteraceae). *Bot. Gaz.* 142:415-426.
- Ramamoorthy T P, M Elliot (1998)** Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. *In: Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución.* T P Ramamoorthy, R Bye, A Lot, J Fa (eds). Primera ed. en español. Universidad Autónoma de México, México, D. F. pp:501-526.
- Rayburn AJ, H J Price, J D Smith, J R Gold (1985)** C-band heterochromatin and DNA content in *Zea mays*. *Amer. J. Bot.* 72:1610-1617.
- Rees H, M R Walters (1965)** Nuclear DNA and the evolution of wheat. *Heredity* 20:73-82.
- Rees H, F M Cameron, M H Hazarika, G H Jones (1966)** Nuclear variation between diploid angiosperms. *Nature* 211:828-830.
- Singh K P, S N Raina, A K Singh (1996)** Variation in chromosomal DNA associated with the evolution of *Arachis* species. *Genome* 39:890-897.
- Stebbins G L (1938)** Cytological characteristics associated with the different growth habits in the dicotyledons. *Amer. J. Bot.* 25:189-198.
- Stebbins G L (1966)** Chromosomal variation and evolution. *Science* 152:1463-1469.
- Stebbins G L (1971)** Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Ltd., London, G. B. 216p.

#### IV. CRUZAMIENTO NATURAL DE LA CHIA (*Salvia hispanica*)<sup>2\*</sup>

##### NATURAL OUTCROSSING OF CHIA (*Salvia hispanica*)

José Alfonso Hernández-Gómez<sup>1¶</sup>; Salvador Miranda-Colín<sup>2</sup> y Aureliano Peña-Lomelí<sup>1</sup>

#### RESUMEN

La mayor diversidad genética de *Salvia hispanica* L. se encuentra en México. Actualmente, los derivados de su semilla han despertado interés comercial; sin embargo, se conoce poco acerca de su sistema reproductivo para iniciar su mejoramiento y conservar su germoplasma. Por tal motivo, se determinó el porcentaje de cruzamiento natural en *S. hispanica*, en Chapingo, México. Se utilizó el color de la flor como marcador genético, considerando que el color morado es dominante sobre el color blanco y el azul. En 1999, se establecieron dos lotes de intercruzamiento; en el primer lote, se usó semilla de un cultivar de Jalisco y en cada surco, se alternaron plantas con flor morada y flor blanca; en el segundo, se sembró el anterior cultivar, con flor morada, alternándolo con un material silvestre, con flor azul, colectado en Sinaloa. En el 2000, se determinó el cruzamiento natural basándose en el porcentaje de plantas con flor morada en las progenies F<sub>1</sub> del cultivar con flor blanca y en las del tipo silvestre. El material cultivado de Jalisco presentó mayor cruzamiento natural (22.17%) que el material silvestre de Sinaloa (1.59 %), lo que podría indicar que el sistema de apareamiento de *S. hispanica* se ha modificado bajo condiciones de cultivo. No existe aislamiento reproductivo cuando se inter cruzan ambos genotipos, por lo que deberían ser considerados como subespecies o razas de *S. hispanica*. Los híbridos obtenidos son vigorosos, como el progenitor cultivado, y con frutos dehiscentes, como el progenitor silvestre.

**Palabras clave:** *Salvia hispanica* L., color de flor, sistema de apareamiento, híbridos intraespecíficos.

---

<sup>2\*</sup> Aceptado para su publicación en la Revista Chapingo Serie Horticultura. <sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Texcoco, Estado de México, 56230. México. Correo-e: alhdezg2@hotmail.com (¶autor responsable). <sup>2</sup>Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Estado de México, 56230.

## SUMMARY

Mexico has the largest genetic diversity of chia (*Salvia hispanica* L.). Recently chia seed derivatives has attracted commercial attention but its mating system to define a genetic improvement strategy and to preserve the germplasm resources is little known. In this study, the natural outcrossing of *S. hispanica* was determined in Chapingo, México. Flower colour was used as genetic marker, considering complete dominance of purple flower over white and blue flower. Two cross-pollination plots were established in 1999. In the first plot, seeds of purple-flowered plants and white-flowered plants of a cultivated genotype from Jalisco were sown on alternate plant arrangement; in the other, seeds of purple-flowered cultivated plants and blue-flowered wild plants from Sinaloa were also sown. The outcrossing rate assessment was based on the percentage of purple-flowered plants in both the F<sub>1</sub> progeny of white-flowered cultivated plants and blue-flowered wild plants. Outcrossing was more frequent in the cultivated genotype (22.17 %) than in the wild genotype (1.59 %), which might indicate that the mating system was modified under cultivation. Since reproductive barriers are not present, both cultivated and wild genotypes could be considered as subspecies or races of *S. hispanica*. The resultant hybrids were vigorous, similarly to the cultivated parent, and with a shatter habit, similarly to the wild parent.

**Index words:** *Salvia hispanica* L., flower colour, mating system, intra-species hybrids.

## INTRODUCCIÓN

*Salvia hispanica* L. es una especie vegetal que formó parte esencial de la cultura mesoamericana. Por su amplia distribución geográfica y porque la conocían y utilizaban diferentes grupos étnicos, parece que su cultivo se extendió desde los períodos más antiguos de la fitodomeesticación; actualmente, se conserva como cultivo marginal; su semilla se utiliza



en la elaboración de bebidas refrescantes y nutritivas, y su aceite en la preparación de lacas artesanales y pinturas (Bukasov, 1963).

El hecho de que *S. hispanica* esté ampliamente distribuida en México aunado a su diversidad genética y a su valor alimenticio e industrial, la convierte en un recurso vegetal promisorio. Cualquier programa futuro de valoración y utilización de esta especie requiere contar con el conocimiento básico de su sistema reproductivo.

La descripción de la morfología floral de *S. hispanica* fue abordada por Martínez (1959) y Ramamoorthy (1985) como sigue: Las flores pediceladas se encuentran reunidas en grupos de seis o más, en verticilos sobre el raquis de la inflorescencia. El cáliz es persistente, pubescente y bilabiado. La corola de color morado o azul es monopétala y bilabiada; el labio inferior se expande hacia afuera y abajo; el superior sigue la dirección general ascendente y se arquea en forma de casco o gálea. Los estambres fértiles son dos y están unidos por un conectivo, el cual se articula a filamentos cortos que se insertan en la corola. El ovario es súpero, bicarpelar y tetralocular; en la base del ovario se encuentra un disco nectarífero. El estilo es glabro, glanduloso en la base y su estigma tiene dos ramificaciones; la más larga está exerta a la corola y la más corta se ubica entre las anteras. Tanto las anteras como el estigma están cubiertos y protegidos por la gálea.

No se conoce con precisión el mecanismo de polinización en *S. hispanica*. Se ha supuesto que es una especie alógama y entomófila por el color de los pétalos, por la forma de pista de aterrizaje del labio inferior de la corola, por la articulación de los estambres a la corola y por la presencia de néctar en la base del ovario (Martínez, 1959; Ramamoorthy, 1985). Mann (1959)

asegura que la protandria en el género *Salvia* es el mecanismo responsable de evitar la autofecundación; por su parte Haque y Goshal (1981) registran plantas androestériles en *S. hispanica* que obligan a cierto cruzamiento natural o baja producción de semilla en ausencia de polinizadores. El mecanismo de polinización en especies entomófilas del género *Salvia* y descrito por Faegri y Pijl (1979) es el siguiente: Las abejas se posan sobre el labio inferior de la corola y presionan hacia el nectario; esto produce la inclinación de las anteras que depositan el polen en el dorso del insecto. El estigma es independiente de este mecanismo pero con cierta frecuencia, se inclina y frota el dorso del insecto visitador.

Otros autores refieren que la autofecundación puede estar presente en el género *Salvia*. Faegri y Pijl (1979) atribuyen la autofecundación a la cercanía del estigma y las anteras; Haque y Goshal (1981) indican que *S. hispanica* es autocompatible y la autofecundación es debida a que las flores son muy pequeñas y homostílicas y porque se produce semilla aún en plantas aisladas; Cahill (2004) reporta un 0.24 % de cruzamiento natural entre una población silvestre y otra domesticada de *S. hispanica* y, aunque la hibridación intraespecífica en las silvestres es rara, las cruas controladas entre poblaciones silvestres y domesticadas producen progenie completamente fértil.

Existen varios factores que influyen en el sistema de apareamiento en especies vegetales. Schoen (1982) menciona que el mejor predictor floral de la frecuencia de cruzamiento es el grado de protandria; Wolff *et al.* (1988) indican que la presencia de plantas androestériles en una especie predominantemente autógama puede incrementar la frecuencia de cruzamientos y para Schemske y Lande (1985), la morfología floral y el grado de autocompatibilidad se relacionan con la frecuencia de cruzamientos. Los polinizadores parecen ser atraídos por flores

de coloración más intensa (Ennos y Clegg, 1983); las flores pequeñas, con menos señales visuales u olfativas, están relacionadas con especies autógamias (Levin, 1971).

Las características del ambiente que influyen en el flujo de polen, y por lo tanto en la frecuencia de cruzamiento, son la densidad de población (Wolff *et al.*, 1988; Schemske y Lande, 1985) y la abundancia de los polinizadores (Clegg, 1980). El sistema de apareamiento, como otros atributos del sistema genético, es sensible a la selección; en *Nicotiana rustica*, Breese (1959) demostró que la morfología y el desarrollo de la flor pueden ser modificados por selección y afectar el sistema de apareamiento.

El color de flor en *S. hispanica* puede ser morado, azul o blanco. Aunque no existe información sobre la herencia del color de flor en esta especie, algunos resultados en otras especies vegetales señalan que el color de la flor es debido a la acción de un par de genes alelomórficos, en que el color morado o púrpura es completamente dominante sobre el blanco, como en *Vicia sativa* (Donnelly, 1958); en *Phaseolus vulgaris* (Miranda, 1969); en *Glycine sp.* (Weiss, 1949) y en *Vigna unguiculata* (Sangwan y Lodhi, 1998). Otros autores como Hartwig y Hinson (1963) y Clark y Donnelly (1964), quienes trabajaron en *Glycine sp.* y en *V. sativa*, respectivamente, afirman que los genes involucrados en la herencia del color de flor están ubicados en más de un locus, con diferente acción génica, y que el color morado domina sobre el color azul y rosa y éstos dominan sobre al blanco. Adicionalmente, Martin y Gerats (1993) han propuesto que además de los genes estructurales, que determinan el tipo de pigmento dominante en la flor, existen genes reguladores que controlan la cantidad y distribución de dicho pigmento, generando matices y tonalidades en la flor entre el color dominante y el color blanco. Para la estimación del tipo de polinización en condiciones de campo, es conveniente la

utilización del color de flor como marcador genético, pues es una característica polimórfica, heredable, de tipo monogénico u oligogénico y su registro es fácil y rápido (Bretting y Widrechner, 1995).

El conocimiento del sistema reproductivo de una especie hace posible la elección de una estrategia efectiva de mejoramiento; permite seleccionar los procedimientos óptimos de mantenimiento del germoplasma y pureza varietal y ayuda a predecir su comportamiento evolutivo. Con la finalidad de generar información sobre el tipo de reproducción en chía y su comportamiento según la variedad, la localidad y la época del año, los objetivos del presente trabajo fueron: a) Determinar el porcentaje de cruzamiento natural dentro y entre poblaciones de *S. hispanica*, utilizando como marcador el color de flor, bajo las condiciones ambientales de Chapingo, México y b) Caracterizar morfológicamente la progenie obtenida del cruzamiento natural entre una población de chía silvestre y otra de chía cultivada.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El material genético utilizado fue semilla de plantas con flor morada y con flor blanca de una variedad de chía cultivada en Acatic, Jalisco y donada por el Ing. Guillermo Orozco de Rosas. Aunque se ha observado polimorfismo en varias características de la variedad en condiciones de cultivo, no se han evaluado las proporciones de segregación en el color de la flor. Lo que sí es cualitativamente observable es la predominancia del color morado de la flor en la variedad; el color blanco de la flor fue probablemente resultado de una mutación y la planta seleccionada fue mantenida aisladamente en reproducción. Se utilizó también la semilla

de chía de un material silvestre, con flores azules, de la colección de Howard Gentry de la Universidad de California, en Riverside, y recolectada en Sta. Lucía, Sinaloa. En evaluaciones previas, los materiales se identificaron y se mantuvieron con el color de flor característico.

La investigación comprendió dos fases: La primera consistió en establecer dos lotes de polinización, en áreas distantes entre sí unos 600 m aproximadamente, dentro del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo (CAEUACH), durante el ciclo agrícola primavera-verano de 1999.

En los dos lotes de polinización se establecieron plantas de un mes de nacidas, las cuales germinaron y crecieron en charolas en invernadero y cuya semilla fue sembrada el 12 de mayo. La operación de trasplante se realizó el 12 de junio ubicando, en el primer lote, de forma alternada en surcos, plantas que darían flores de color morado con plantas que al florecer presentarían flores de color blanco, ambas de la población de chía de Acatic. El lote de polinización incluyó 8 surcos de 9 m de largo, con separación entre surcos de 0.8 m y entre plantas de 25 cm. El mismo arreglo topológico se estableció en el segundo lote con la diferencia de que en éste se pusieron de forma alternada en surcos, plantas que se sabía tendrían flores moradas, del cultivar de chía de Acatic, con otras que se conocía darían flores azules, de la población de chía silvestre de Sinaloa. En un extremo de cada lote se colocaron dos cajas de abejas para asegurar un alto flujo de polen al momento de la floración.

La segunda fase se realizó en el lote SM-17 del CAEUACH, en el ciclo primavera-verano del 2000. De la semilla cosechada en los dos lotes de polinización del ciclo anterior, se seleccionó la de 50 plantas del genotipo de flor blanca y la de 42 plantas de flor azul de Sinaloa. El 6 de

junio, de cada planta se sembraron, a “chorrillo”, tres gramos de semilla por surco; éstos fueron de 8 m de largo y 0.8 m de separación entre ellos. Con la finalidad de mantener la mayor cantidad de plantas que permitiera registrar los eventos de cruzamiento, aún en progenies de plantas con una escasa frecuencia de cruzamiento natural, no se realizó aclareo. A la floración, se registró el número total de plantas y el número de plantas de flor morada en cada surco. Por las referencias bibliográficas sobre la herencia del color de flor, se consideró el color morado como dominante sobre el color azul y blanco y, por lo tanto, como gene marcador.

Para precisar las diferencias en las características de la estructura floral entre poblaciones de chía de diferente origen geográfico y su posible efecto en la frecuencia de cruzamiento natural; así como para la caracterización morfológica de la progenie obtenida del cruzamiento natural entre la población de chía cultivada de Acatic, Jalisco y la población silvestre de Sinaloa, en una muestra de 22 plantas de cada uno de los dos progenitores y 22 plantas de su progenie, se registraron las siguientes variables: el diámetro del tallo (mm), medido a nivel del primer nudo; la longitud (L) y el ancho (A) del limbo (cm), en una hoja ubicada en el quinto nudo del tallo; la relación L/A del limbo de hoja y el número de inflorescencias en toda la planta. En dos flores de la parte media de la inflorescencia principal, de cada planta, se registró: la longitud total del cáliz (mm), medida a partir de la base del mismo; el color de la flor, la longitud total del tubo de la corola (mm); el ancho del labio inferior de la corola (mm); el largo y el ancho (mm) de las dos brácteas ubicadas en la parte basal del primer verticilo. A la inflorescencia principal de cada planta se le midió: la longitud (cm), el número de verticilos y el número de flores desarrolladas en el primer verticilo; se identificó el tipo de cáliz al

madurar: abierto y que expulsa la semilla (dehiscente) o cerrado y que retiene la semilla (indehiscente). Finalmente, en dos muestras de cada planta se obtuvo el peso promedio de 100 semillas (g) utilizando una balanza electrónica marca Ohaus modelo TS400D con precisión de 0.001 g.

La estimación de la fecundación cruzada natural se hizo mediante el registro de la frecuencia de fenotipos dominantes (flor morada) en progenies de plantas recesivas (flor blanca en la variedad cultivada de Acatic o flor azul en el material silvestre de Sinaloa). Las frecuencias de cruzamiento obtenidas fueron agrupadas en clases para observar la variación entre las progenies.

Las variables medidas en el cultivar de Acatic, en el material silvestre de Sinaloa y en sus híbridos se analizaron formando dos contrastes (contraste 1: híbrido vs. progenitor silvestre; contraste 2: híbrido vs. progenitor cultivado) utilizando una prueba de t con 0.01 de probabilidad (Infante y Zárate de Lara, 1986).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Cruzamiento natural intrapoblacional**

El intervalo de cruzamiento natural en la chíá de Acatic, observado en el color de flor, fue de 10.54 a 42.74%, y la media general de los porcentajes de cruzamiento fue 22.17 % (Cuadro 4.1). El 36 % de las progenies de plantas con flor blanca presentaron un intervalo de cruzamiento natural de 10.54 a 20 %; mientras que la mayoría de las progenies (64 %) presentaron valores mayores al 20 %, con un máximo de 42.74 %.

**Cuadro 4.1.** Frecuencia de fecundación cruzada natural entre dos genotipos de chíá (flor blanca x flor morada) de la variedad cultivada de Acatic, Jalisco, evaluada en 50 progenies de flor blanca.

Número de progenies de plantas con flor blanca	Límites de fecundación cruzada (%)	Número total de plantas		Promedio de fecundación cruzada (%)
		Con flores blancas	Con flor azul o morada	
5	10.54-15.00	1798	277	13.35 ± 1.51
13	15.01-20.00	3898	822	17.42 ± 1.81
13	20.01-25.00	2356	670	22.14 ± 1.68
10	25.01-30.00	2227	836	27.29 ± 1.51
5	30.01-35.00	926	446	32.51 ± 0.69
3	35.01-40.00	369	213	36.60 ± 0.91
1	40.01-42.74	71	53	42.74
50	10.54-42.74	11645	3317	22.17 ± 7.25

La media y el rango de cruzamiento natural obtenidos indican que el tipo de fecundación, en la variedad cultivada de *S. hispanica* de Acatic, es del tipo intermedio o mixto; en este tipo de apareamiento la autofecundación ocurre dentro de un intervalo de cruzamiento natural que varía de 20 a 80 % (Schemske and Lande, 1985) o de 10 a 90 % (Clegg, 1980).

En especies entomófilas como *S. hispanica* ciertas características del ambiente como la abundancia del polinizador, las fluctuaciones de la actividad del insecto y la densidad de plantas pueden influir en los patrones de flujo de polen y por tanto, en las frecuencias de cruzamiento (Clegg, 1980; Schemske y Lande, 1985; y Wolff *et al.*, 1988). La frecuencia de cruzamiento natural en la población de chíá de Acatic obtenida en esta investigación es



diferente a la que presenta en su zona de origen. A nivel experimental se estableció un arreglo uniforme entre plantas, que producen flores blancas y moradas alternadas a igual distancia y se le proporcionó una mayor abundancia de polinizadores (dos cajas de abejas en una superficie de 57.6 m<sup>2</sup>); en Acatic, Jalisco se ha estimado un porcentaje de cruzamiento natural entre 10 a 15 %, en siembras a “chorrillo” y con sus polinizadores nativos. En Acatic se utilizó el color de la testa de la semilla como marcador genético; el cruzamiento natural se estimó con el porcentaje de semilla de color negro en la progenie F<sub>1</sub> de plantas con semilla de color blanco, seleccionadas en las parcelas de cultivo y su semilla sembrada por separado.

La presencia de límites variables de cruzamiento natural en estos genotipos indica que hay autocompatibilidad en *Salvia hispanica* como lo sugieren Haque y Goshal (1981); en otras especies autocompatibles, ciertas características como la protandria (Mann, 1959; Schoen, 1982) o la presencia de plantas androestériles (Wolff *et al.*, 1988), pueden impedir la autofecundación. En *S. hispanica*, la presencia de plantas androestériles determina una mayor frecuencia de cruzamiento natural o baja producción de semilla en ausencia de los polinizadores (Haque y Goshal, 1981).

La presencia de tres fenotipos (flor morada, azul y blanca) en la F<sub>1</sub> del cruzamiento de plantas que producen flor blanca con plantas que producen flor morada, ambas de la variedad cultivada de Acatic, no es consistente con la hipótesis de que el color de flor es monogénico. El color morado fue completamente dominante sobre el color blanco, como lo reportan en otras especies Donnelly (1958), Miranda (1969), Weiss (1949) y Sangwan y Lodhi (1998). No pudo haber contaminación de polen de plantas de chíá tipo Sinaloa, de flores azules, ubicadas en el segundo lote de polinización; ya que, el distanciamiento establecido entre los dos lotes de

polinización está dentro del límite de aislamiento recomendado para ciertas especies entomófilas como la alfalfa (*Medicago sativa*) (100-400 m) (SARH, 1980) y además, las plantas de flor azul que aparecieron en la F<sub>1</sub> presentaron las otras características morfológicas propias de la variedad cultivada de Acatic; entre ellas el carácter indehiscente, que es recesivo. Se sugiere, por lo tanto, que probablemente los genes que determinan el color de flor en *S. hispanica* pueden estar ubicados en más de un locus, con diferente acción génica, donde el color blanco de la flor es la expresión del homocigote recesivo, como lo sugieren Hartwig y Hinson (1963) y Clark y Donnelly (1964) para otras especies. Considerando el sistema de apareamiento mixto o intermedio que caracteriza al cultivar de chíá de Acatic, es probable que el genotipo de algunas plantas de flor morada, utilizadas en el lote de polinización, fuera heterocigótico para uno o más loci, y esto generó segregación, apareciendo plantas con flor azul en las progenies. Lo planteado hipotéticamente es posible confirmarlo mediante la cruce de plantas homocigóticas para color de flor, la autofecundación de la F<sub>1</sub> obtenida y la evaluación de las frecuencias fenotípicas en la progenie de la F<sub>2</sub>.

### **Cruzamiento natural interpoblacional**

Cuando la población de chíá tipo Sinaloa se sembró alternadamente con la población de chíá de Acatic, los límites de fecundación cruzada en la chíá tipo Sinaloa fueron 0 y 7.47 %, y la media general fue 1.59 % (Cuadro 4.2). Los límites de cruzamiento natural en el 78.6 % de las progenies fueron 0.1 y 3 % y sólo en cuatro progenies, no hubo indicios de fecundación cruzada. Cahill (2004) reporta, en *S. hispanica*, un 0.24 % de cruzamiento natural entre una población silvestre colectada en Cuescomapa, Guerrero y una domesticada procedente de

Nicaragua. Los valores de cruzamiento menores al 10 % son característicos de poblaciones con un sistema de apareamiento principalmente autógamo (Clegg, 1980).

**Cuadro 4.2.** Frecuencia de fecundación cruzada natural en dos poblaciones de chíá (Silvestre de Sinaloa, flor azul x Cultivada de Acatic, flor morada), evaluada en 42 progenies de chíá de flor azul.

Número de progenies de plantas con flor azul	Límites de fecundación cruzada (%)	Número total de plantas		Promedio de fecundación cruzada (%)
		Con flores azules	Con flores moradas	
4	0.00	1148	-	0.00
19	0.01-1.50	5969	56	0.93 ± 0.43
14	1.51-3.00	3453	77	2.18 ± 0.49
3	3.01-4.50	1016	40	3.79 ± 0.45
1	4.51-6.00	108	6	5.26
1	6.01-7.47	161	13	7.47
42	0.00-7.47	11855	192	1.59 ± 1.25

En el Cuadro 4.3 se observa que las plantas de chíá cultivada de Acatic presentan flores de mayor tamaño y un mayor número de inflorescencias con más verticilos y flores que las de chíá silvestre de Sinaloa; estas características indicarían una mayor producción de polen en la población de Acatic que debería haber generado mayor frecuencia de fecundación cruzada. Sin embargo, en el mismo cuadro se registra que las flores en la población de Sinaloa son más pequeñas y de color menos intenso; el labio inferior de la corola es más angosto, y la menor diferencia entre la longitud del tubo de la corola y la del cáliz indica que el cáliz envuelve más a la flor, lo que pudo haber propiciado un comportamiento preferencial del polinizador hacia

las flores de la chía de Acatic, favoreciendo una mayor frecuencia de autofecundación en las plantas de chía de Sinaloa. Según Ennos y Clegg (1983), los polinizadores son atraídos por flores de coloración más intensa y para Levin (1971) las flores pequeñas, con menos señales visuales, están relacionadas con especies autógamias; en *S. hispanica*, Haque y Goshal (1981) afirman que la norma es la autofecundación cuando se presentan flores muy pequeñas y homostílicas.

**Cuadro 4.3.** Variables de la estructura floral de la población de chía silvestre de Sinaloa y de la variedad de chía cultivada de Acatic.

Variable	Poblaciones de chía <sup>z</sup>	
	Sinaloa	Acatic
Longitud del cáliz (mm)	6.46 ± 0.59 ns	6.65 ± 0.48
Longitud del tubo de la corola (mm)	7.21 ± 0.33*	8.99 ± 0.42
Ancho del labio inferior de la corola (mm)	2.97 ± 0.30*	5.96 ± 0.44
Número de inflorescencias	48.32 ± 20.51*	70.00 ± 23.89
Número de verticilos en inflorescencia	16.14 ± 0.89*	21.36 ± 1.92
Número de flores en el primer verticilo	12.10 ± 1.31*	15.77 ± 2.29
Color de la flor	azul	morado

<sup>z</sup>Para cada variable, la media de la chía silvestre de Sinaloa con (\*) es estadísticamente diferente y con (ns) es estadísticamente igual (prueba de t,  $\alpha \leq 0.01$ ) a la media de la variedad cultivada de Acatic.

El hábitat natural de las poblaciones silvestres de *S. hispanica* es el bosque de pino (*Pinus* spp.), de encino (*Quercus* spp.) o de pino-encino de la Sierra Madre Occidental, del Eje Neovolcánico Transversal y de la Sierra Madre del Sur. Las grandes diferencias orográficas y climáticas que caracterizan al paisaje montañoso han dado origen a un aislamiento geográfico y genético de dichas poblaciones. Según Stebbins (1957) y Jain (1976) esta condición es un factor ambiental que favorece la autofecundación y para Ramamoorthy y Elliot (1998), la

fragmentación geográfica y la autofecundación ha conducido a la diversificación y evolución de las especies de *Salvia*. En condiciones naturales no existe hibridación intraespecífica entre la chía silvestre y cultivada porque desarrollan en regiones geográficas diferentes; en cambio; las cruas controladas entre poblaciones silvestres y domesticadas de *S. hispanica* producen progenie fértil (Cahill, 2004).

En el Cuadro 4.4 se presentan algunas características morfológicas comparativas entre los híbridos y sus progenitores. El tamaño del cáliz es la única característica en la que no existen diferencias significativas entre el híbrido y sus progenitores; en cambio, el híbrido presenta valores intermedios y diferentes ( $P \leq 0.01$ ) a los de sus progenitores en la longitud y ancho del limbo de la hoja, la longitud de la corola, el ancho del labio inferior de la corola y el peso de la semilla. El híbrido no se diferencia de su progenitor cultivado en el diámetro del tallo, el color de la flor, la longitud de la inflorescencia, las flores en el primer verticilo y el número de inflorescencias; pero el cáliz al madurar es abierto (dehiscente) como su progenitor silvestre.

Ladizinsky (1985) menciona que la autofecundación es una barrera para el intercambio genético entre un cultivo y sus parientes silvestres. Cuando la hibridación tiene lugar, existe un mayor efecto sobre la población silvestre. La selección natural actúa en favor de la dehiscencia del fruto y de la dormancia de la semilla, que aseguran adaptación en los ambientes naturales; pero también hacia características del progenitor cultivado, como el vigor de la planta y la producción de progenie abundante y de rápido crecimiento que confieren adaptabilidad a hábitats artificiales. El principal resultado de este proceso puede ser la formación de razas con alto potencial de dispersión y colonización de áreas naturales diferentes a su ambiente

original; algunas de estas razas pueden ser seleccionadas artificialmente y mantenerse bajo cultivo.

**Cuadro 4.4.** Variables de los híbridos en progenies de plantas de chía silvestre de Sinaloa cruzadas, en forma natural, con chía cultivada de Acatic, Jalisco y significancia de los contrastes (chía silvestre de Sinaloa vs. Híbrido y chía cultivada de Acatic vs. Híbrido).

Variable	Poblaciones de chía evaluadas <sup>z</sup>		
	Progenitor silvestre	Híbrido	Progenitor cultivado
Longitud del limbo (cm)	7.90±0.57*	9.61±0.72	11.74±1.22*
Ancho del limbo (cm)	4.38±0.37*	5.28±0.51	6.06±0.65*
Relación L/A del limbo	1.80±0.06ns	1.82±0.11	1.94±0.22ns
Longitud del cáliz (mm)	6.46±0.59ns	6.83±0.45	6.65±0.48ns
Longitud de la corola (mm)	7.21±0.33*	8.12±0.31	8.99±0.42*
Labio inferior de la corola (mm)	2.97±0.30*	4.16±0.45	5.96±0.44*
Longitud de la bráctea (mm)	10.84±0.78*	11.65±0.89	11.13±0.84ns
Ancho de la bráctea (mm)	4.71±0.37*	5.27±0.68	5.36±0.62ns
Diámetro del tallo (mm)	9.90±1.65*	12.29±2.45	11.91±2.44ns
Número de inflorescencias	48.32±20.51*	68.05±25.3	70.00±23.89ns
Verticilos en inflorescencia	16.14±0.89*	19.64±1.84	21.36±1.92*
Flores en el primer verticilo	12.10±1.31*	14.18±2.08	15.77±2.29ns
Longitud de la inflorescencia (cm)	11.28±2.04*	13.00±3.11	13.20±1.75ns
Peso de 100 semillas (g)	0.105±0.0029*	0.117±0.0025	0.141±0.0033*
Color de la flor	azul	morada	morada
Cáliz al madurar (dehiscencia)	Abierto (dehiscente)	Abierto (dehiscente)	Cerrado (indehiscente)

<sup>z</sup>Las medias de cada variable con (\*) son estadísticamente diferentes y con (ns) son estadísticamente iguales (prueba de t,  $\alpha \leq 0.01$ ) respecto a la media del Híbrido.

El mayor promedio de cruzamiento natural observado en el cultivar de chía de Acatic, en comparación con la población de chía silvestre, podría indicar que el sistema de apareamiento de *S. hispanica* se ha modificado bajo condiciones de cultivo; en *Nicotiana rustica*, Breese (1959) demostró que es posible modificar por selección la morfología y el desarrollo de la flor y en consecuencia afectar el sistema reproductivo. La obtención experimental de híbridos de

chía, aunque escasos, indica que los progenitores son subespecies o razas de *S. hispanica*, sin mecanismos de aislamiento reproductivo intraespecíficos, por lo que, el intercambio genético es posible aún entre genotipos silvestres y cultivados de origen geográfico diferente. Al ser ambas subespecies de tipo alopátrico, también, se puede decir que su separación evolutiva es relativamente reciente. Para Harlan *et al.* (1973) la evolución bajo domesticación raramente conduce a la formación de nuevas especies; las diferencias genéticas entre razas cultivadas y silvestres no son grandes, porque sólo pocos genes están implicados en el proceso de domesticación.

El intercambio genético entre tipos de chía pudo haber sido más intenso en la época prehispánica, cuando, dada la importancia de esta planta en la cultura mesoamericana, los genotipos silvestres y cultivados pudieron convivir a lo largo de la zona de distribución natural de esta especie. Aunque en la época colonial se incrementó el deterioro del germoplasma y del conocimiento tecnológico de la chía, es probable que en ambientes naturales o artificiales hayan permanecido los individuos segregantes de las constantes hibridaciones y hayan dado origen por selección, a ciertos materiales cultivados que se utilizan en la actualidad.

Finalmente, para ampliar el conocimiento sobre el tipo de polinización de la especie es conveniente desarrollar investigación sobre la estructura floral de las poblaciones, el grado de protandria o de androesterilidad en los genotipos, el comportamiento del insecto polinizador y el efecto bajo condiciones de cultivo.

## CONCLUSIONES

Considerando las condiciones experimentales y ambientales de este trabajo, las conclusiones fueron:

Los genotipos de *Salvia hispanica* de Acatic presentan un sistema de apareamiento intermedio o mixto, con un promedio de cruzamiento natural de 22.17 % y límites de fecundación cruzada de 10.54 a 42.74 %.

Es probable que el color de flor, en el cultivar de Acatic, esté controlado por más de un par de genes con acción génica diferente a la dominancia completa.

Cuando la población silvestre de *S. hispanica*, tipo Sinaloa, se cruzó con la población cultivada de Acatic, se estimó una media de fecundación cruzada natural de 1.59 % y un intervalo de 0.0 a 7.47 %, lo que indica un sistema de apareamiento principalmente autógeno en la silvestre.

No existe aislamiento reproductivo entre la chía silvestre de Sinaloa y el cultivar de Acatic, Jalisco, de diferente origen geográfico y grado de domesticación, lo cual indica que se trata de subespecies o razas pertenecientes a *Salvia hispanica*.

Los híbridos obtenidos entre las dos subespecies son vigorosos y de alta capacidad reproductiva, como su progenitor cultivado, pero presentan frutos dehiscentes, como el progenitor silvestre.

## AGRADECIMIENTOS

Al ingeniero Guillermo Orozco de Rosas, Departamento de proyectos, Fundación Produce, Jalisco, por habernos proporcionado el material de chía de flor blanca de Acatic.



## LITERATURA CITADA

- Breese E L (1959)** Selection for differing degrees of out-breeding in *Nicotiana rustica*. Ann. Bot., N.S. 23:331-344.
- Bretting P K, M P Widrlechner (1995)** Genetic markers and plant genetic resource management. In: Plant Breeding Reviews. Volume 13. Janick, J. (ed.). John Wiley & Sons, Inc. pp:11-86
- Bukasov S M (1963)** Las Plantas Cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Publicación miscelánea # 20. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Zona Andina, Lima, Perú. pp. 193-194.
- Cahill J P (2004)** Genetic diversity among varieties of chia (*Salvia hispanica* L.). Gen. Res. Crop Evol. 51:773-781.
- Clark E M, E D Donnelly (1964)** *Vicia*. Inheritance of plant color and recessive epistasis in flower color. Crop Sci. 4:661-662.
- Clegg M T (1980)** Measuring plant mating systems. BioScience 30:814-818.
- Donnelly E D (1958)** Inheritance of white flower color in common vetch, *Vicia sativa*. Agron. J. 50:763-764.
- Ennos R A, M T Clegg (1983)** Flower color variation en the morning glory, *Ipomoea purpurea*. J. Heredity 74:247-250.
- Faegri K, L Van Der Pijl (1979)** The Principles of Pollination Ecology. Tercera edición revisada. Pergamon press. London. 244 p.
- Haque M S, K K Ghoshal (1981)** Floral biology and breeding system in the genus *Salvia* L. Proc. Indian Natn. Sci. Acad. B47:716-724.
- Harlan J R, J M J de Wet, E G Price (1973)** Comparative evolution in cereals. Evolution 27:311-325.
- Hartwig E E, K Hinson (1963)** Inheritance of flower color of soybeans. Crop Sci. 3:152-153.
- Infante G S, G P Zárate de Lara (1986)** Métodos Estadísticos. Segunda reimpresión, Editorial Trillas, México. 643p.
- Jain S K (1976)** The evolution of inbreeding in plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 7:469-495.
- Ladizinsky G (1985)** Founder effect in crop-plant evolution. Econ. Bot. 39:191-199.

- Levin D A (1971)** The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon* 20:91-113.
- Mann P (1959)** Systematics of Flowering Plants. Methuen and Co. Ltd. London. pp. 254-255.
- Martin C, T Gerats (1993)** The control of flower coloration. *In: The Molecular Biology of Flowering*. B.R. Jordan (ed.). C.A.B. Internacional, UK. pp:219-255
- Martínez M (1959)** Plantas Útiles de la Flora Mexicana. Ediciones de Botas. México. pp:198-202.
- Miranda C S (1969)** Estudio sobre la herencia de tres caracteres de frijol. *Agrociencia* 4:115-122.
- Ramamoorthy T P (1985)** *Salvia* L. *In: Flora Fanerógama del Valle de México. Volumen II (Dicotiledóneas)*. J Rzedowski, G C de Rzedowski (eds.). Instituto Politécnico Nacional. México. pp:298-310.
- Ramamoorthy T P, M Elliot (1998)** Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. *In: T P Ramamoorthy, R Bye, A Lot, J Fa (eds.)*. Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución. Primera ed. en español. Universidad Autónoma de México, México, D.F. pp:501-526.
- Sangwan R S, G P Lodhi (1998)** Inheritance of flower and pod colour in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Euphytica* 102:191-193.
- SARH (1980)** Normas para la certificación de semillas. Dirección General de Agricultura, México. 91p.
- Schemske D W, R Lande (1985)** The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution* 39:41-52.
- Schoen D J (1982)** The breeding system of *Gilia achilleifolia*: Variation in floral characteristics and outcrossing rate. *Evolution* 36:352-360.
- Stebbins G L (1957)** Self-fertilization and population variation in the higher plants. *Amer. Natur.* 91:337-354.
- Weiss M G (1949)** Soybeans. *Adv. Agron.* 1:77-157.
- Wolff K, B Friso, J M M Van Damme (1988)** Outcrossing rates and male sterility in natural populations of *Plantago coronopus*. *Theor. Appl. Genet.* 76:190-196.

## V. DISCUSIÓN GENERAL

El Convenio sobre la Diversidad Biológica de 1992 establece la importancia de los recursos fitogenéticos para la seguridad alimentaria de generaciones presentes y futuras y la preocupación mundial sobre la conservación de la biodiversidad y el uso sostenible de sus componentes (Ecoportal.net, 1993). Por su parte, el Plan de Acción Mundial para la Conservación y la Utilización Sostenible de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1996) menciona que, mientras un pequeño número de especies satisface la mayor parte de las necesidades mundiales de alimentos, existen centenares de especies infrautilizadas que ofrecen posibilidades de uso más generalizado y su promoción contribuye a la seguridad alimentaria, la diversificación agrícola y la generación de ingresos a nivel local. Por lo tanto, plantea la urgente necesidad de iniciar los estudios y la preparación de los inventarios nacionales de los recursos existentes, para la identificación de las especies infrautilizadas con posibilidades de un mayor aprovechamiento.

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una especie de origen mesoamericano, de importancia alimenticia, medicinal y artística en la época prehispánica (Cahill, 2003). La colonización española estuvo acompañada de una reducción en la diversidad genética y en el conocimiento tecnológico y cultural de la chía y, en algunas áreas, fue eliminado su cultivo (Rojas, 1983).

Lépiz y Rodríguez (2006) reportan que, en México, las especies autóctonas de interés antropocéntrico registradas en las estadísticas agrícolas nacionales son 50, de las cuales 24 corresponden a cultivos anuales y 26 a plantas perennes. Entre las especies nativas anuales cultivadas de menor significado económico, pero de gran valor en la alimentación nacional, se

encuentra *S. hispanica*. Para 2003, la superficie nacional sembrada con chía era de sólo 300 ha, con una producción de 900 Ton.

Sin embargo, la chía ofrece una oportunidad para mejorar la nutrición humana porque proporciona una fuente natural de ácidos grasos omega-3, de antioxidantes y de fibra dietética; además, la capacidad de la semilla de chía de enriquecer varios productos, añadiéndose directamente a los alimentos o formando parte de las dietas de los animales, proporciona una oportunidad para desarrollar y comercializar productos con semilla de chía e incursionar en los mercados novedosos de productos funcionales o “nutracéuticos” (Ayerza y Coates, 2005).

El interés comercial por la semilla de chía también ha incrementado el interés por la investigación en esta especie. Los estudios se han enfocado principalmente sobre su valor nutricional e industrial (Bushway *et al.*, 1981; Gillet, 1981; Whistler, 1982; Taga *et al.*, 1984; Weber *et al.*, 1991; Amhed *et al.*, 1994; Ayerza y Coates, 2005); la distribución geográfica y la diversidad genética (Miranda, 1978; Hernández, 1994; Cahill, 2004; Hernández y Miranda, 2008); estudios citogenéticos (Haque y Goshal, 1980; Mercado *et al.*, 1989; Estilai y Hashemi, 1990); etnobotánica y domesticación (Cahill, 2003 y 2005); biología floral y sistema de apareamiento (Haque y Ghoshal, 1981); aspectos genéticos y heredabilidad de caracteres (Cahill y Provance, 2002; Cahill y Ehdaie, 2005) y aspectos agronómicos (Hernández, 1989).

Ante este panorama, la presente investigación se planteó el estudio sobre la morfología, la citogenética y el sistema de apareamiento en muestras de *S. hispanica* de diferente origen geográfico y grado de domesticación, con la finalidad de salvaguardar el patrimonio genético, tecnológico y cultural de esta especie nativa y planificar su producción, conservación y uso.

Las condiciones ambientales en la amplia zona de distribución de la chía son un factor importante en las diferencias morfológicas documentadas en esta investigación. Según su origen geográfico, las muestras de chía se diferenciaron en seis grupos: Norte de México, Jalisco, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Centroamérica. El ancho y largo de la flor, el ancho del cáliz, la dehiscencia de la semilla, los días al inicio de la floración, el diámetro del tallo y el número de ramas son las variables morfológicas que permiten diferenciar los grupos. El área de distribución natural de *S. hispanica* es montañosa, los climas varían de semicálidos a templados, con vegetación de pino o pino-encino, en altitudes de 1400 a 2200 msnm y su ubicación geográfica comprende de 14° a 31° Lat. N y de 89° a 109° Long. W (Miranda, 1978; Cahill, 2004). Para Harlan *et al.* (1973), la presión selectiva favorece a las plantas que maduran al final de la temporada de lluvias y al inicio de la época seca; es decir, se modifica la duración del ciclo biológico de acuerdo a las condiciones de humedad y temperatura de la cada región.

Otro factor que influye en el incremento de la variabilidad morfológica de *S. hispanica* es el proceso de introducción de la especie a condiciones de cultivo, su dispersión hacia nuevos ambientes, el intercambio de germoplasma y las posibles hibridaciones entre genotipos diferentes. Las chías cultivadas, con respecto a las silvestres, presentan flores más grandes; las corolas que sobresalen del cáliz; las inflorescencias más compactas, con mayor número de verticilos y menor distancia entre ellos; el ciclo biológico más tardío, la semilla de mayor tamaño y el cáliz maduro es cerrado. Sin embargo, ciertos materiales cultivados conservan características típicas de los tipos silvestres, como el tamaño de la flor, el peso de la semilla y la dehiscencia, lo que indica que la diferenciación morfológica ha sido discontinua. Como en

la mayoría de las especies cultivadas, Cahill (2004) sostiene que la diversidad genética de *S. hispanica* es mayor en los materiales silvestres que en todos los domesticados; sin embargo, el deterioro genético sufrido por la especie a partir del siglo XVI (Rojas, 1983) fue más intenso en los materiales cultivados; por lo que, los genotipos cultivados actuales son sólo relictos de la alta diversidad genética desarrollada en Mesoamérica; en contraste, las poblaciones silvestres han sido mejor preservadas por el aislamiento geográfico que caracteriza a su área de distribución natural.

*S. hispanica* presenta diferencias en el tamaño del genoma, sin modificar su número cromosómico. El contenido promedio de 2C de ADN fue de 0.849 pg, con una variación del 11.2 % entre las muestras de chía, pero todas las muestras presentaron un número somático de cromosomas de  $2n=12$  y un número básico,  $x=6$ . El número de cromosomas es el más bajo y el genoma es de los más pequeños dentro del género *Salvia* y entre las Angiospermas. Para Leitch *et al.* (1998) los genomas pequeños han desarrollado gran flexibilidad evolutiva y son responsables del éxito en competencia con otras plantas. Posiblemente, el bajo contenido de ADN nuclear de *S. hispanica* sea un factor que explique su capacidad de colonizar nuevos ambientes y desarrollarse en una amplia región geográfica. Por otra parte, los resultados de esta investigación mostraron que el proceso de domesticación modificó el contenido de ADN nuclear de la especie; lo cual indicaría que las modificaciones morfológicas descritas en los materiales silvestres y cultivados pueden estar asociadas con las variaciones en el tamaño del genoma.

También, el sistema reproductivo se ha modificado debido al grado de domesticación de las muestras de *S. hispanica*. Los materiales silvestres tienen un sistema de apareamiento preferentemente autógamo y existe la tendencia a incrementar la tasa de alogamia en condiciones de cultivo. Un factor que se asocia a este cambio es la modificación de la estructura floral; las chías cultivadas presentan mayor longitud del tubo de la corola; el labio inferior de la corola es más ancho; tienen mayor número de flores/verticilo, verticilos/inflorescencia e inflorescencias/planta, y sus flores sobresalen del cáliz, lo que posiblemente influye en la preferencia del polinizador hacia las cultivadas. Sin embargo, estas modificaciones no han generado mecanismos de aislamiento reproductivo, pues los híbridos obtenidos de la cruce natural entre el material silvestre de Sinaloa y el material cultivado de Acatic, Jalisco fueron vigorosos, como el progenitor cultivado, pero presentaron frutos dehiscentes, como el progenitor silvestre.

Debido a la importancia económica de *S. hispanica* en la época prehispánica, ésta fue cultivada en diversos ambientes (Rojas, 1985); lo que pudo haber propiciado mayor intercambio genético entre tipos de chíá, cuando los genotipos silvestres y cultivados pudieron convivir a lo largo de la zona de distribución natural de la especie. La posibilidad de intercambio genético entre materiales silvestres y cultivados, el número cromosómico más bajo en el género ( $2n=12$  y  $x=6$ ), y su bajo contenido de  $2C$  de ADN nuclear (0.849 pg), con una variación del 11.2 % entre los materiales, puede indicar que el proceso evolutivo de *S. hispanica* es relativamente reciente.

En suma, el presente trabajo hace referencia y pone a disposición información básica sobre una especie nativa subutilizada con amplio potencial económico y de producción sostenible,

que puede servir de base para establecer estrategias para su conservación y utilización. *S. hispanica* cuenta con historia como producto alimenticio, y sus características nutricionales pueden proporcionar beneficios a la salud y prevenir enfermedades.

En el marco del convenio de Diversidad Biológica de 1992, los Estados tienen derechos soberanos sobre sus propios recursos biológicos y son responsables de su conservación y utilización sostenible; para lo cual, deben elaborar estrategias, planes y programas para identificar los componentes de la diversidad biológica que ofrezcan mayor potencial (Ecoportal.net, 1993). En México, ya se cuenta con los datos sistematizados del estado actual de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (RFAA); a partir del cual, se ha propuesto el Plan Nacional para la conservación de los RFAA. Entre sus líneas de acción destaca la incorporación de especies subutilizadas y silvestres con uso alimenticio o agrícola a los esquemas de conservación (SAGARPA, 2008). Es urgente, por lo tanto, un programa de colecta de gran alcance a lo largo del área de distribución de *S. hispanica*, para ampliar la base genética. Se debe caracterizar y evaluar los materiales silvestres y cultivados, ampliando sus descriptores a través de marcadores morfológicos, agronómicos, bioquímicos y moleculares. Es fundamental la conformación de las colecciones básica, activa y de trabajo de la especie para que sean resguardadas por un banco de germoplasma para su conservación y utilización. Se requiere además, el rescate del conocimiento local sobre las técnicas de manejo agrícola y valorar los avances científicos recientes para establecer un programa nacional de investigación, mejoramiento y pronta utilización de la chía.



## VI. CONCLUSIONES GENERALES

El ancho y largo de la flor, el ancho del cáliz, la dehiscencia de la semilla, el diámetro del tallo, los días al inicio de la floración y el número de ramas son las características morfológicas que permitieron diferenciar las muestras de chía en seis grupos, según su procedencia geográfica: Norte de México, Jalisco, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Centroamérica.

Las características morfológicas que se modificaron en los materiales cultivados, con respecto a los silvestres, fueron: La flor, la inflorescencia, la semilla, el tipo de cáliz al madurar y el ciclo biológico. Sin embargo, ciertos materiales cultivados conservan características típicas de los tipos silvestres, como el tamaño de la flor, el peso de la semilla y la dehiscencia, lo que indica que la diferenciación morfológica ha sido discontinua.

Existen diferencias en el tamaño del genoma de *S. hispanica*, sin modificar su número cromosómico. Su número somático de cromosomas es  $2n=12$  y su número básico,  $x=6$ ; el contenido promedio de  $2C$  de ADN fue de 0.849 pg, con una variación del 11.2 % entre las muestras de chía. El número de cromosomas es el más bajo y el genoma es de los más pequeños dentro del género *Salvia*. No se encontró correlación entre el tamaño del genoma con la latitud y altitud de procedencia de las muestras; aunque, si existen diferencias en el tamaño del genoma considerando su nivel de domesticación.

Se observó modificación en el sistema reproductivo de las muestras de *S. hispanica*. Los materiales silvestres tienen un sistema de apareamiento preferentemente autógamo y existe la

tendencia a incrementar la tasa de alogamia en condiciones de cultivo. Sin embargo, estas modificaciones no han generado mecanismos de aislamiento reproductivo porque fue posible obtener progenie fértil en la cruce natural del material silvestre de Sinaloa y el material cultivado de Acatic, Jalisco.

### LITERATURA CITADA

- Ahmed M, I P Ting, R W Scora (1994)** Leaf oil composition of *Salvia hispanica* L. from three geographical areas. J. Essentials Oil Res. 6:223-228.
- Ayerza R(h), W Coates (2005)** Chia: Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs. University of Arizona Press, Tucson, Arizona. 197p.
- Bushway A A, P R Belyea, R J Bushway (1981)** Chia seed as source of oil, polysaccharide, and protein. J. Food Sci. 46:1349-1350.
- Cahill J P (2003)** Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L. Econ. Bot. 57:604-618.
- Cahill J P (2004)** Genetic diversity among varieties of chia (*Salvia hispanica* L.). Gen. Res. Crop Evol. 51:773-781.
- Cahill J P (2005)** Human selection and domestication of chia (*Salvia hispanica* L.). J. Ethnobiol. 25:155-174.
- Cahill J P, M C Provance (2002)** Genetics of qualitative traits in domesticated Chia (*Salvia hispanica* L.). Heredity 93:52-55.
- Cahill J P, B Ehdaie (2005)** Variation and inheritance of seed mass in chia (*Salvia hispanica* L.). Gen. Res. Crop Evol. 52:201-207.
- Ecoportal.net (1993)** [En línea] Convenio sobre Diversidad Biológica 1992. Dirección URL: <http://www.ecoportal.net/content/view/full/11999> [Consulta: Septiembre, 2008].
- Estilai A, A Hashemi (1990)** Chromosome number and meiotic behavior of cultivated chia, *Salvia hispanica* (Lamiaceae). HortScience 25:1646-1647.

- FAO (1996)** Plan de Acción Mundial para la Conservación y la Utilización Sostenible de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 64p.
- Gillet H (1981)** Le chia, graine mucilagineuse mexicaine, fait son apparition en France. J. Agric. Trad. Bot. Appl. 28:183-187.
- Haque M S, K K Ghoshal (1980)** Karyotypes and chromosome morphology in the genus *Salvia* Linn. Cytologia 45:627-640.
- Haque M S, K K Goshal (1981)** Floral biology and breeding system in the genus *Salvia* L. Proc. Indian Nat. Sci. Acad. B47:716-724.
- Harlan J R, J M J de Wet, E G Price (1973)** Comparative evolution of cereals. Evolution 27:311-325.
- Hernández G J A (1989)** Efecto de la fecha de siembra, densidad de población y competencia de malezas, en el rendimiento de chía (*Salvia hispanica*). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillos, México. 99p.
- Hernández G J A (1994)** Chía (*Salvia hispanica*): antecedentes y perspectivas en México. In: Memorias del I Simposium Internacional sobre Etnobotánica en Mesoamérica. J A Cuevas S, E Estrada L, E Cedillo P (eds). Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. pp:173-180.
- Hernández G J A, S Miranda C (2008)** Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). Rev. Fitotec. Mex. 31:105-113.
- Leitch I J, M W Chase, M D Bennett (1998)** Phylogenetic analysis of DNA c-value provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. Ann. Bot. 82 (Supplement A):85-94.
- Lépiz I R, E Rodríguez G (2006)** Los Recursos Fitogenéticos de México. In: Recursos Fitogenéticos de México para la Alimentación y la Agricultura. Informe Nacional 2006. M Molina J C, L Córdova T (eds.). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México. pp:1-17.
- Mercado P, T P Ramamoorthy, G Palomino (1989)** Karyotypes of five Mexican species of *Salvia* subgenus Calospatha (Lamiaceae). Cytologia 54:605-608.
- Miranda C S (1978)** Evolución de cultivares nativos de México. Ciencia y Desarrollo 3:130-131.

- Rojas R M T (1983)** La Agricultura Chinampera. Compilación Histórica. UACH, Dirección de Difusión Cultural. Colección Cuadernos Universitarios. Agronomía # 7. Chapingo, México. pp:181-203.
- Rojas R M T (1985)** La tecnología agrícola mesoamericana en el siglo XVI. *In*: Historia de la Agricultura. Época Prehispánica-Siglo XVI. Colección Biblioteca del INAH. Tomo I. México, D. F. pp:129-231.
- SAGARPA (2008)** [En línea] Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (RFAA). Plan de Acción. Dirección URL: <http://www.sagarpa.gob.mx/snics/Rfaa/Plan%20de%20accion.htm> [Consulta: Septiembre, 2008].
- Taga M S, E E Miller, D E Pratt (1984)** Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61:928-931.
- Weber C W, H S Gentry, E A Kohlhepp, P R McCrohan (1991)** The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecol. Food Nutr.* 26:119-125.
- Whistler R L (1982)** Industrial gums from plants: guar and chia. *Econ. Bot.* 36:195-202.

## APÉNDICE

**Cuadro 1A.** Valores de las cuatro repeticiones para 23 variables medidas en 22 muestras de chía (*Salvia hispanica*). Datos utilizados en el capítulo sobre “Caracterización morfológica de la chía (*Salvia hispanica*)”.

Variable	Chihuahua RB 214				Chihuahua RB 166				Sonora, México				Sta. Lucía, Sinaloa			
	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04
Largo del limbo (cm)	10.32	8.43	10.92	9.62	11.1	11.1	11.02	9.7	10.0	10.3	9.5	10.73	11.53	10.8	10.9	11.6
Ancho del limbo (cm)	7.48	5.85	7.22	6.83	5.27	5.82	6.18	5.22	6.4	6.6	5.6	7.51	7.1	6.7	6.55	7.2
Largo/ancho del limbo	1.38	1.44	1.51	1.41	2.11	1.91	1.78	1.86	1.56	1.56	1.70	1.43	1.63	1.60	1.66	1.52
Altura de la planta (cm)	103.4	101.4	114.0	119.9	93.6	122.5	118.1	70.0	103.4	131.4	115.0	86.7	98.2	113.3	110.4	112.9
Número de ramas	12.0	13.0	15.0	12.0	14.0	14.0	14.0	12.0	18.0	23.0	17.0	16.0	17.0	18.0	15.5	17.0
Diámetro del tallo (cm)	0.64	0.52	0.68	0.66	0.68	0.56	0.58	0.46	0.58	0.88	0.59	0.86	0.76	0.71	0.61	0.80
Ancho del cáliz (mm)	2.55	2.40	2.45	2.30	1.95	2.20	2.10	2.00	2.40	2.30	2.40	2.35	2.25	2.25	2.25	2.35
Largo del cáliz (mm)	8.15	7.90	7.65	7.10	8.35	8.40	8.20	7.80	7.70	7.70	7.50	8.00	8.25	8.30	8.30	8.10
Largo de la corola (mm)	8.30	8.50	8.35	8.50	8.30	8.70	8.90	8.25	8.60	8.50	9.20	8.55	8.35	8.30	8.15	8.00
Ancho de la corola (mm)	4.65	4.50	4.40	4.70	4.70	4.60	4.70	4.70	4.60	4.40	4.70	4.40	3.85	4.10	4.15	4.10
Exposición de la corola (mm)	0.15	0.60	0.70	1.40	-0.05	0.30	0.70	0.45	0.90	0.80	1.70	0.55	0.10	0.00	-0.15	-0.10
Largo de la bráctea (mm)	11.00	10.90	11.40	11.70	10.40	11.60	11.80	9.40	10.40	10.70	10.50	10.85	11.25	12.30	11.85	10.60
Ancho de la bráctea (mm)	6.30	5.95	5.95	6.30	5.60	5.70	5.50	5.10	5.20	5.80	5.00	5.85	4.90	5.70	5.15	5.40
Largo/ancho de la bráctea	1.75	1.83	1.92	1.86	1.86	2.04	2.15	1.84	2.00	1.84	2.10	1.85	2.29	2.07	2.30	1.96
Largo de la inflorescencia (cm)	20.45	22.90	18.95	27.80	18.10	17.30	20.10	14.20	16.40	15.30	14.90	15.40	25.45	20.60	24.50	21.50
Ancho de inflorescencia (cm)	1.76	1.71	1.72	1.69	1.32	1.23	1.28	1.29	1.27	1.30	1.24	1.23	1.31	1.35	1.48	1.30
Verticilos/inflorescencia (No.)	19.0	18.5	18.5	23.0	17.5	16.0	17.0	16.5	21.0	22.0	22.0	18.5	19.0	20.0	19.5	20.5
Flores/verticilo (No.)	18.5	18.0	20.5	23.0	16.0	16.0	15.0	13.0	20.0	18.0	19.0	14.0	16.5	19.0	18.0	20.0
Distancia entre verticilos (cm)	1.08	1.24	1.02	1.21	1.03	1.08	1.18	0.86	0.78	0.69	0.68	0.83	1.34	1.03	1.26	1.05
Inicio de la floración (días)	67.5	67.0	67.0	67.0	70.0	71.0	71.0	69.0	83.0	97.0	90.0	96.0	77.5	78.0	76.0	78.5
Periodo de floración (días)	32.5	36.5	37.0	48.0	38.5	39.0	38.0	50.0	33.0	30.0	35.0	40.0	31.0	34.0	33.0	33.0
Peso de 100 semillas (g)	0.103	0.104	0.108	0.093	0.115	0.106	0.104	0.107	0.127	0.121	0.125	0.122	0.109	0.100	0.097	0.105
Tipo de cáliz al madurar	Abierto (dehiscente)				Abierto (dehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Abierto (dehiscente)			

**Cuadro 1A.** Continuación...

Variable	Tapalpa, Jalisco				Acatic, Jalisco (Productores)				Acatic, Jalisco (Universidad de Arizona)				Acatic, Jalisco (Mercado Sonora, D. F.)			
	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04
Largo del limbo (cm)	12.19	13.43	12.78	12.45	13.90	12.00	14.50	13.75	11.55	12.20	11.80	12.60	11.00	13.00	12.55	12.00
Ancho del limbo (cm)	7.18	8.35	7.45	7.20	7.80	6.60	7.80	8.85	7.00	6.90	6.65	7.60	6.35	7.10	6.98	7.00
Largo/ancho del limbo	1.70	1.61	1.69	1.73	1.78	1.81	1.86	1.56	1.65	1.77	1.77	1.66	1.76	1.83	1.80	1.71
Altura de la planta (cm)	95.5	111.4	121.5	114.8	93.2	100.5	100.8	93.9	99.7	95.4	98.1	97.8	109.3	113.9	106.5	92.4
Número de ramas	16.0	15.5	16.0	17.0	15.0	18.0	16.0	17.0	18.0	16.0	14.0	15.0	16.0	18.0	18.5	18.0
Diámetro del tallo (cm)	0.63	0.69	0.69	0.65	0.74	0.66	0.72	0.83	0.82	0.73	0.84	0.90	0.92	0.77	0.73	0.81
Ancho del cáliz (mm)	2.4	2.4	2.4	2.3	3.2	3.1	2.7	2.85	3.0	2.7	2.9	2.8	2.9	2.85	3.05	2.6
Largo del cáliz (mm)	8.4	8.4	8.1	7.5	8.6	8.7	8.5	8.45	8.5	8.4	8.2	7.9	7.95	7.55	8.15	8.6
Largo de la corola (mm)	9.05	8.85	8.75	8.80	10.60	10.70	10.10	10.40	10.50	10.10	10.90	10.10	10.20	10.20	10.40	11.20
Ancho de la corola (mm)	4.45	4.65	4.55	4.20	7.30	7.20	6.50	7.35	7.50	7.50	7.50	7.60	7.10	7.50	7.70	7.70
Exposición de la corola (mm)	0.65	0.45	0.65	1.10	2.00	2.00	1.60	1.95	2.00	1.70	2.70	2.20	2.25	2.65	2.25	2.60
Largo de la bráctea (mm)	11.35	11.20	11.50	11.40	12.80	11.90	12.65	11.40	11.80	11.70	11.70	11.20	11.05	11.75	11.35	11.35
Ancho de la bráctea (mm)	6.35	7.85	7.00	6.90	5.20	4.40	4.85	4.85	5.50	4.40	5.50	4.70	4.70	5.10	4.40	4.55
Largo/ancho de la bráctea	1.79	1.44	1.64	1.65	2.46	2.70	2.61	2.35	2.15	2.60	2.13	2.38	2.42	2.30	2.58	2.49
Largo de la inflorescencia (cm)	25.0	22.6	21.7	23.6	17.2	18.5	18.55	17.85	15.1	15.4	21.1	17.2	19.4	15.8	17.6	13.6
Ancho de inflorescencia (cm)	1.24	1.28	1.35	1.23	1.60	1.56	1.57	1.51	1.44	1.50	1.53	1.50	1.39	1.40	1.55	1.49
Verticilos/inflorescencia (No.)	20.0	19.5	20.0	19.0	25.0	24.0	24.0	22.0	20.0	20.0	23.0	22.0	24.5	22.0	24.0	22.0
Flores/verticilo (No.)	16.0	18.0	16.5	16.0	23.0	21.0	23.0	20.0	18.0	18.0	19.0	18.0	19.0	19.0	18.0	18.0
Distancia entre verticilos (cm)	1.25	1.16	1.09	1.24	0.69	0.77	0.77	0.81	0.76	0.77	0.92	0.78	0.79	0.72	0.74	0.62
Inicio de la floración (días)	76.5	73.0	73.5	75.0	76.0	77.0	77.0	77.0	79.0	78.0	76.0	76.0	75.0	79.0	80.5	80.0
Periodo de floración (días)	40.0	42.5	38.5	43.0	41.0	42.0	46.0	40.0	33.0	33.0	36.0	34.0	38.0	44.0	42.0	37.0
Peso de 100 semillas (g)	0.088	0.088	0.096	0.090	0.127	0.134	0.120	0.125	0.119	0.120	0.118	0.118	0.126	0.131	0.117	0.123
Tipo de cáliz al madurar	Abierto (dehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)			

**Cuadro 1A.** Continuación...

Variable	Acatic (semilla negra)				Acatic (semilla blanca)				San Mateo Coatepec, Puebla				Mercado de Cuernavaca, Morelos			
	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04
Largo del limbo (cm)	9.0	12.6	12.5	12.1	12.35	11.9	11.7	12.0	12.55	12.6	12.2	13.3	12.75	11.6	13.9	13.6
Ancho del limbo (cm)	5.4	8.0	7.6	7.4	7.35	7.1	6.3	6.0	8.2	7.9	8.4	8.65	8.8	7.8	8.9	9.9
Largo/ancho del limbo	1.67	1.58	1.64	1.64	1.68	1.68	1.86	2.0	1.53	1.60	1.45	1.53	1.45	1.48	1.56	1.38
Altura de la planta (cm)	90.6	97.45	93.1	112.1	89.6	97.3	98.7	101.2	125.1	119.0	105.2	108.15	109.8	110.65	125.7	103.2
Número de ramas	15.0	16.0	18.0	18.0	17.0	18.0	18.0	18.0	23.0	23.0	19.0	21.0	19.0	20.5	20.0	19.0
Diámetro del tallo (cm)	0.70	0.71	0.71	1.04	0.75	0.70	0.69	0.62	0.84	0.85	0.73	0.91	0.89	0.77	0.90	0.76
Ancho del cáliz (mm)	3.3	2.9	2.95	3.0	2.65	3.0	2.7	3.1	2.45	2.5	2.45	2.5	2.5	2.35	2.5	2.6
Largo del cáliz (mm)	7.1	7.8	8.1	8.4	7.9	8.5	8.6	7.7	8.0	7.45	8.0	7.35	7.95	7.45	8.1	7.1
Largo de la corola (mm)	9.6	10.2	9.9	10.4	9.9	10.5	10.3	10.6	9.3	9.2	8.8	9.3	8.9	9.7	8.7	9.3
Ancho de la corola (mm)	6.1	7.3	7.0	7.2	6.7	6.5	7.5	7.2	5.15	4.85	4.85	5.05	4.75	4.55	4.5	4.6
Exposición de la corola (mm)	2.50	2.40	1.80	2.00	2.00	2.00	1.70	2.90	1.30	1.75	0.80	1.95	0.95	2.25	0.60	2.20
Largo de la bráctea (mm)	9.8	10.1	10.95	10.8	11.4	12.6	12.5	11.3	11.15	9.7	10.2	10.3	10.6	11.05	10.1	10.4
Ancho de la bráctea (mm)	5.7	5.8	6.2	5.7	4.7	5.1	4.9	3.9	6.85	5.3	6.3	5.55	6.75	6.05	6.8	7.4
Largo/ancho de la bráctea	1.72	1.74	1.76	1.89	2.43	2.44	2.55	2.90	1.64	1.83	1.62	1.86	1.55	1.83	1.49	1.41
Largo de la inflorescencia (cm)	14.0	21.55	15.8	21.1	18.25	15.7	15.9	16.0	16.2	13.3	14.25	12.5	14.9	14.9	16.4	20.0
Ancho de inflorescencia (cm)	1.32	1.44	1.41	1.56	1.50	1.40	1.51	1.43	1.35	1.26	1.34	1.28	1.27	1.26	1.25	1.37
Verticilos/inflorescencia (No.)	22.0	23.0	23.0	25.0	23.5	22.0	23.0	21.0	20.0	19.5	21.5	19.0	22.5	21.0	22.0	22.0
Flores/verticilo (No.)	18.0	22.0	21.5	22.0	19.0	20.0	20.0	18.0	14.0	16.0	13.0	14.0	16.0	13.0	13.0	17.0
Distancia entre verticilos (cm)	0.64	0.94	0.69	0.85	0.78	0.71	0.69	0.76	0.81	0.68	0.66	0.66	0.66	0.71	0.75	0.91
Inicio de la floración (días)	79.0	78.0	77.5	78.0	79.0	78.0	77.0	78.0	86.0	92.0	84.5	86.5	85.0	87.0	90.0	86.0
Periodo de floración (días)	34.0	40.0	37.5	36.0	40.0	36.0	44.0	40.0	34.0	38.0	36.5	32.0	35.0	33.0	39.0	32.0
Peso de 100 semillas (g)	0.127	0.133	0.137	0.141	0.117	0.109	0.113	0.110	0.121	0.122	0.124	0.127	0.121	0.120	0.111	0.127
Tipo de cáliz al madurar	Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)			



**Cuadro 1A.** Continuación...

Variable	Mercado de Tepalcingo, Morelos				Puebla, México (Mercado Sonora, D. F.)				Temalacatzingo, Guerrero (Sr. Benigno Menor)				Temalacatzingo, Guerrero (Sr. Julio de la Rosa)			
	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04
Largo del limbo (cm)	14.4	10.8	12.0	13.2	13.25	12.45	13.15	12.55	13.7	13.1	11.9	12.8	13.9	13.1	13.15	12.85
Ancho del limbo (cm)	9.1	7.6	8.7	8.9	8.45	8.73	9.5	8.33	9.1	8.65	8.6	9.25	10.5	8.5	9.2	9.5
Largo/ancho del limbo	1.58	1.42	1.38	1.48	1.56	1.43	1.38	1.51	1.51	1.51	1.38	1.38	1.32	1.54	1.43	1.35
Altura de la planta (cm)	104.2	108.0	106.1	104.2	107.1	103.5	123.9	99.8	99.6	117.0	135.4	109.6	109.9	105.8	116.75	110.9
Número de ramas	20.0	21.0	21.0	20.5	22.0	22.0	18.0	17.5	18.0	20.0	16.0	16.0	16.0	16.0	17.5	18.0
Diámetro del tallo (cm)	0.88	0.73	0.77	0.85	0.87	0.91	0.78	1.01	0.99	0.77	0.80	0.72	0.71	0.68	0.75	0.71
Ancho del cáliz (mm)	2.4	2.3	2.3	2.35	2.45	2.65	2.4	2.4	2.2	2.4	2.8	2.3	2.5	2.3	2.6	2.4
Largo del cáliz (mm)	8.0	6.7	7.8	7.4	8.2	8.4	7.7	7.25	7.6	8.8	8.7	8.3	8.3	8.7	9.0	9.3
Largo de la corola (mm)	9.4	9.2	9.0	9.45	8.9	9.4	8.5	9.1	7.4	9.1	8.4	7.9	8.3	8.6	8.85	8.9
Ancho de la corola (mm)	5.0	4.4	4.6	5.0	5.05	4.85	4.3	4.4	3.9	4.8	4.1	4.0	4.1	4.4	4.5	4.2
Exposición de la corola (mm)	1.40	2.50	1.20	2.05	0.70	1.00	0.80	1.85	-0.2	0.3	-0.3	-0.4	0.0	-0.1	-0.15	-0.4
Largo de la bráctea (mm)	11.0	8.2	9.6	10.3	11.5	11.15	9.2	10.35	12.8	12.2	12.8	11.7	12.3	12.9	11.5	13.8
Ancho de la bráctea (mm)	7.3	4.8	6.1	6.7	6.9	7.0	5.6	6.85	7.7	6.9	7.2	7.5	8.1	7.1	7.2	7.8
Largo/ancho de la bráctea	1.51	1.71	1.57	1.54	1.67	1.59	1.64	1.51	1.66	1.77	1.78	1.56	1.52	1.82	1.60	1.77
Largo de la inflorescencia (cm)	16.2	12.4	12.7	14.45	14.3	12.7	16.4	14.0	20.8	16.7	19.0	14.6	23.1	16.6	14.0	14.5
Ancho de inflorescencia (cm)	1.32	1.25	1.27	1.30	1.35	1.28	1.15	1.26	1.48	1.53	1.50	1.35	1.57	1.46	1.55	1.48
Verticilos/inflorescencia (No.)	22.0	18.0	20.0	21.5	20.5	21.0	19.0	21.0	23.0	20.0	23.0	19.0	25.0	22.0	20.5	21.0
Flores/verticilo (No.)	16.0	14.0	15.0	16.0	14.5	14.0	14.0	14.0	17.0	19.0	19.0	17.0	22.0	19.0	17.0	18.0
Distancia entre verticilos (cm)	0.74	0.69	0.64	0.67	0.70	0.60	0.86	0.67	0.90	0.84	0.83	0.77	0.93	0.75	0.68	0.69
Inicio de la floración (días)	85.0	87.0	88.0	86.5	90.0	89.0	93.0	89.5	81.0	82.0	86.0	82.0	85.0	81.0	82.5	81.0
Periodo de floración (días)	39.0	34.0	39.0	40.5	32.0	33.0	34.0	32.5	28.0	28.0	25.0	25.0	27.0	29.0	23.5	25.0
Peso de 100 semillas (g)	0.114	0.117	0.125	0.122	0.129	0.127	0.125	0.127	0.114	0.112	0.117	0.124	0.117	0.116	0.112	0.118
Tipo de cáliz al madurar	Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Abierto (dehiscente)				Abierto (dehiscente)			

**Cuadro 1A.** Continuación...

Variable	Cuescomapa, Guerrero				Chiepetlán, Guerrero				Mercado de la Ciudad de Oaxaca, México			
	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04
Largo del limbo (cm)	13.05	12.8	11.8	10.02	13.05	13.7	12.32	9.7	15.0	15.9	14.3	12.7
Ancho del limbo (cm)	8.65	8.65	8.20	6.91	8.15	9.50	8.60	6.80	9.0	9.4	8.8	7.2
Largo/ancho del limbo	1.52	1.48	1.44	1.45	1.43	1.44	1.44	1.43	1.67	1.69	1.63	1.76
Altura de la planta (cm)	127.05	132.15	141.05	101.85	127.15	122.6	127.5	115.1	165.2	182.0	209.7	177.0
Número de ramas	23.0	20.5	21.0	18.0	22.0	22.0	21.0	17.0	23.0	26.0	22.0	28.0
Diámetro del tallo (cm)	0.81	0.89	0.82	0.85	0.86	0.88	0.86	0.93	1.10	1.32	1.40	1.34
Ancho del cáliz (mm)	2.45	2.50	2.60	2.30	2.45	2.30	2.45	2.30	2.40	2.30	2.30	2.50
Largo del cáliz (mm)	7.90	8.25	7.75	7.85	8.35	8.40	7.85	7.90	6.50	7.80	6.80	6.90
Largo de la corola (mm)	8.30	8.55	8.40	7.90	8.20	8.20	7.75	7.80	8.50	9.10	8.60	8.20
Ancho de la corola (mm)	4.25	4.50	4.45	4.15	4.50	4.30	4.10	4.00	4.40	4.80	4.30	4.30
Exposición de la corola (mm)	0.40	0.30	0.65	0.05	-0.15	-0.20	-0.10	-0.10	2.00	1.30	1.80	1.30
Largo de la bráctea (mm)	11.55	11.85	10.60	12.05	11.65	11.00	10.70	11.20	10.90	13.20	9.80	11.50
Ancho de la bráctea (mm)	5.95	6.50	6.10	6.95	6.55	6.60	6.30	6.70	5.10	6.30	4.80	6.10
Largo/ancho de la bráctea	1.95	1.82	1.74	1.73	1.79	1.67	1.70	1.67	2.14	2.10	2.04	1.89
Largo de la inflorescencia (cm)	13.15	14.60	13.90	24.10	15.00	12.50	12.80	16.00	13.20	20.90	16.20	30.00
Ancho de la inflorescencia (cm)	1.34	1.51	1.32	1.51	1.47	1.37	1.51	1.62	1.35	1.32	1.05	1.20
Verticilos/inflorescencia (No.)	17.0	20.5	17.5	23.0	16.0	17.0	18.0	21.0	18.0	24.0	22.0	17.0
Flores/verticilo (No.)	17.0	17.5	16.0	21.0	18.0	16.0	17.5	21.0	6.0	12.0	8.0	9.0
Distancia entre verticilos (cm)	0.77	0.71	0.79	1.05	0.94	0.74	0.71	0.76	0.73	0.87	0.74	1.76
Inicio de la floración (días)	91.0	90.0	90.0	89.0	89.0	89.0	89.0	94.0	129.0	106.0	127.0	108.0
Periodo de floración (días)	28.0	26.0	26.0	30.0	28.0	27.0	27.5	32.0	49.0	54.0	51.0	60.0
Peso de 100 semillas (g)	0.093	0.080	0.085	0.090	0.084	0.082	0.084	0.080	0.112	0.108	0.109	0.108
Tipo de cáliz al madurar	Abierto (dehiscente)				Abierto (dehiscente)				Cerrado (indehiscente)			

**Cuadro 1A.** Continuación...

Variable	Guatemala, Centroamérica				El Salvador, Centroamérica				Honduras, Centroamérica			
	01	02	03	04	01	02	03	04	01	02	03	04
Largo del limbo (cm)	13.1	12.0	14.7	11.7	14.85	16.20	14.70	15.90	13.10	13.45	9.50	14.65
Ancho del limbo (cm)	8.20	6.70	8.85	7.30	8.70	9.95	9.40	10.00	8.80	7.90	6.80	9.50
Largo/ancho del limbo	1.60	1.79	1.66	1.60	1.71	1.63	1.56	1.59	1.49	1.70	1.40	1.54
Altura de la planta (cm)	136.7	137.6	142.1	125.9	126.2	132.6	144.75	132.30	133.20	151.80	131.90	95.10
Número de ramas	20.0	21.0	19.0	18.0	19.5	21.5	21.5	23.0	23.0	21.0	16.0	16.0
Diámetro del tallo (cm)	0.91	0.88	1.31	0.82	0.92	1.23	1.31	1.23	0.90	0.94	0.80	0.91
Ancho del cáliz (mm)	2.5	2.3	2.3	2.6	2.4	2.5	2.45	2.6	2.6	2.5	2.4	2.5
Largo del cáliz (mm)	8.40	8.20	8.40	8.60	8.45	8.20	8.25	8.60	8.50	8.10	7.50	7.70
Largo de la corola (mm)	9.7	9.4	9.8	9.6	9.2	9.4	9.25	9.5	9.1	9.3	9.1	9.0
Ancho de la corola (mm)	5.0	4.3	4.9	4.3	4.6	4.55	4.75	5.0	4.4	4.8	4.2	4.6
Exposición de la corola (mm)	1.40	1.20	1.40	1.00	0.75	1.20	1.00	0.90	0.60	1.20	1.60	1.30
Largo de la bráctea (mm)	13.3	11.5	13.3	12.3	15.1	13.45	14.4	15.4	13.7	13.4	11.1	12.5
Ancho de la bráctea (mm)	6.6	5.9	5.3	5.5	6.6	6.55	5.65	6.2	6.7	6.0	6.5	6.6
Largo/ancho de la bráctea	2.02	1.95	2.51	2.24	2.29	2.05	2.55	2.48	2.04	2.23	1.71	1.89
Largo de la inflorescencia (cm)	17.20	22.80	17.40	17.10	15.95	15.30	15.80	13.80	12.30	13.25	19.00	12.50
Ancho de la inflorescencia (cm)	1.47	1.35	1.42	1.50	1.49	1.41	1.47	1.39	1.42	1.35	1.41	1.40
Verticilos/inflorescencia (No.)	25.0	25.0	22.0	21.0	24.0	23.5	21.5	24.0	23.0	21.0	22.0	22.0
Flores/verticilo (No.)	18.0	16.0	15.0	19.0	18.0	18.0	14.5	16.0	15.0	15.0	18.0	14.0
Distancia entre verticilos (cm)	0.69	0.91	0.79	0.81	0.66	0.65	0.73	0.58	0.53	0.63	0.86	0.57
Inicio de la floración (días)	100.0	107.0	102.0	106.0	107.0	105.0	106.0	105.0	100.0	103.0	107.0	102.0
Periodo de floración (días)	44.0	41.0	37.0	43.0	41.0	44.0	40.0	39.0	44.0	38.0	40.0	42.0
Peso de 100 semillas (g)	0.119	0.120	0.113	0.119	0.119	0.112	0.120	0.121	0.122	0.121	0.118	0.123
Tipo de cáliz al madurar	Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)				Cerrado (indehiscente)			

**Cuadro 2A.** Contenido de ADN nuclear de ocho muestras de *Salvia hispanica*, obtenido por citómetro de flujo, utilizando cinco plantas/muestra y tres repeticiones/planta. Datos utilizados en el capítulo sobre “Número cromosómico y contenido de ADN en la chía (*Salvia hispanica*).

Planta y repetición	Contenido 2C de ADN (pg) en las poblaciones*							
	01	02	03	04	05	06	07	08
1-1	0.823	0.862	0.823	0.862	0.829	0.834	0.823	0.922
1-2	0.840	0.880	0.857	0.840	0.807	0.857	0.845	0.941
1-3	0.823	0.862	0.840	0.845	0.857	0.800	0.857	0.901
2-1	0.840	0.862	0.857	0.845	0.816	0.845	0.834	0.927
2-2	0.816	0.857	0.807	0.845	0.823	0.823	0.862	0.927
2-3	0.816	0.840	0.840	0.840	0.816	0.823	0.823	0.927
3-1	0.823	0.884	0.823	0.840	0.807	0.829	0.827	0.920
3-2	0.823	0.867	0.823	0.845	0.823	0.823	0.845	0.901
3-3	0.840	0.845	0.840	0.823	0.829	0.823	0.834	0.920
4-1	0.840	0.880	0.823	0.845	0.816	0.834	0.834	0.941
4-2	0.857	0.862	0.823	0.845	0.834	0.857	0.816	0.920
4-3	0.857	0.857	0.823	0.857	0.834	0.834	0.840	0.901
5-1	0.840	0.880	0.823	0.840	0.845	0.840	0.816	0.939
5-2	0.823	0.880	0.823	0.845	0.823	0.835	0.834	0.901
5-3	0.840	0.857	0.840	0.823	0.850	0.845	0.840	0.920

\*Las ocho poblaciones son: 01, Chihuahua RB 214; 02, Sinaloa; 03, Acatic, Jalisco; 04, San Mateo Coatepec, Puebla; 05, Temalacatzingo, Guerrero; 06, Chiepetlán, Guerrero; 07, El Salvador, Centroamérica y 08, Honduras, Centroamérica.

**Cuadro 3A.** Número de plantas con flor blanca, azul o morada y frecuencia de fecundación cruzada, obtenidas en las 50 progenies de flor blanca seleccionadas de la cruce de dos genotipos de chía (flor blanca x flor morada), de la variedad cultivada de Acatic, Jalisco. Datos utilizados en el capítulo “Cruzamiento natural de la chía (*Salvia hispanica*)”.

Número de progenie	Número de plantas			Total	Fecundación cruzada (%)
	Con flor blanca	Con flor morada	Con flor azul		
01	460	31	69	560	17.85
02	297	17	18	332	10.54
03	243	19	21	283	14.13
04	329	57	99	485	32.16
05	219	18	58	295	25.76
06	121	24	7	152	20.39
07	296	32	42	370	20.00
08	381	32	29	442	13.80
09	334	19	41	394	15.23
10	185	30	41	256	27.73
11	257	55	30	342	24.85
12	324	18	63	405	20.00
13	505	22	85	612	17.50
14	161	25	28	214	24.77
15	247	36	24	307	19.50
16	370	18	48	436	15.14
17	220	14	75	309	28.80
18	183	23	24	230	20.40
19	432	21	48	501	13.77
20	445	14	58	517	13.93
21	196	29	53	278	29.50
22	244	12	108	364	32.37
23	286	39	41	366	21.86
24	182	18	29	229	20.52
25	238	21	39	298	20.13
26	141	20	46	207	31.88
27	269	26	77	372	27.69
28	345	19	51	415	16.87
29	338	13	50	401	15.70
30	63	16	16	95	33.68
31	111	11	56	178	37.64
32	218	10	32	260	16.15
33	214	9	71	294	27.21
34	149	8	64	221	32.58
35	91	8	21	120	24.17
36	209	19	65	293	28.67
37	139	10	16	165	15.76
38	233	24	54	311	25.08
39	130	15	12	157	17.20
40	215	26	47	288	25.35
41	104	41	19	164	36.58
42	127	6	31	164	22.56
43	154	29	57	240	35.83
44	267	20	80	367	27.25
45	279	40	39	358	22.00
46	192	11	35	238	19.33
47	71	10	43	124	42.70
48	176	11	37	224	21.43
49	226	16	49	291	22.34
50	29	3	6	38	23.60

**Cuadro 4A.** Número de plantas con flor azul o morada y frecuencia de fecundación cruzada, obtenidas en las 42 progenies de flor azul seleccionadas de la cruce de dos poblaciones de chía (Silvestre de Sinaloa, flor azul x Cultivada de Acatic, flor morada). Datos utilizados en el capítulo “Cruzamiento natural de la chía (*Salvia hispanica*)”.

Número de progenie	Número de plantas		Total	Fecundación cruzada (%)
	Con flor azul	Con flor morada		
01	225	3	228	1.32
02	312	12	324	3.70
03	171	5	176	2.84
04	319	1	320	0.31
05	350	8	358	2.23
06	189	5	194	2.58
07	161	13	174	7.47
08	356	12	368	3.26
09	147	4	151	2.65
10	341	6	347	1.73
11	365	5	370	1.35
12	156	2	158	1.27
13	485	6	491	1.22
14	411	5	416	1.20
15	382	5	387	1.29
16	286	1	287	0.35
17	544	3	547	0.55
18	370	0	370	0.0
19	460	2	462	0.43
20	371	6	377	1.59
21	362	10	372	2.69
22	305	0	305	0.0
23	337	5	342	1.46
24	349	16	365	4.38
25	285	3	288	1.04
26	136	4	140	2.86
27	202	3	205	1.46
28	72	1	73	1.37
29	108	6	114	5.26
30	235	4	239	1.67
31	136	2	138	1.45
32	385	4	389	1.03
33	261	4	265	1.51
34	49	1	50	2.0
35	378	2	380	0.53
36	188	0	188	0.0
37	251	2	253	0.79
38	247	7	254	2.76
39	191	4	195	2.05
40	403	9	412	2.18
41	290	1	291	0.34
42	285	0	285	0.0