



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE
GERMOPLASMA DE *Salvia hispanica* L.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

PRESENTA:

ANDRÉS XINGÚ LÓPEZ

COMITÉ TUTORIAL:

Dr. Martín Rubí Arriaga
Dr. Andrés González Huerta
Dr. Eulogio de la Cruz Torres

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Mayo 2019.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE
GERMOPLASMA DE *Salvia hispanica* L.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

PRESENTA:

ANDRÉS XINGÚ LÓPEZ

COMITÉ TUTORIAL:

Dr. Martín Rubí Arriaga
Dr. Andrés González Huerta
Dr. Eulogio de la Cruz Torres

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Mayo 2019.



DEDICATORIA

Dedicada con amor y cariño a Vero, Paco y Pepe

Por qué sin ustedes no lo hubiera logrado, tantas desveladas y asoleadas sirvieron de algo y he aquí el fruto. Con ustedes en mi vida, me ha permitido llegar a este punto; por ser los inspiradores y darme fortaleza para obtener mi anhelo más deseado.

AGRADECIMIENTOS

Mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Martín Rubí Arriaga, principal colaborador durante el proceso, quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Andrés González Huerta, que además de su confianza y amistad, empleo sus conocimientos para dirigir este trabajo.

Al Dr. Eulogio de la Cruz Torres quien con su dirección, conocimientos, colaboración y empatía, estimuló el desarrollo del presente trabajo.

Al Ing. Guillermo Orozco de Rosas, Ing. Enrique Archundia Garduño y Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez, por haber proporcionado material genético, con el cual se logró desarrollar la investigación.

A mis principales colaboradores: Ma. Inés, Rosalva, Ferchís, Mariana, Jazmín, Níquel y Roberto, que a pleno rayo del sol, no quebrantaron su espíritu de ayuda y solidaridad durante las labores culturales.

RESUMEN

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE GERMOPLASMA DE *Salvia hispanica* L.

Andrés Xingú López¹, Andrés González Huerta², Eulogio de la Cruz Torres³ y Martín Rubí Arriaga²

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

²Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.

³Departamento de Biología. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750.

La chía (*Salvia hispanica* L.), es originaria de las zonas montañosas del centro y sudoeste de México, Guatemala y Nicaragua; su cultivo fue prohibido y sustituido por otros cereales durante la conquista. Por el contenido nutricional y propiedades nutraceuticas que ostenta, se ha reintroducido, y actualmente es considerado un alimento altamente nutritivo por su elevado contenido de ácidos graso omega 3, omega 6, proteínas, aminoácidos y fenoles. La superficie sembrada se ha incrementado año con año, pero el desconocimiento del manejo agronómico, los bajos rendimientos y la ausencia de variedades mejoradas, impiden que los materiales genéticos expresen su verdadera productividad. Con el objetivo de caracterizar agronómica y molecularmente 32 accesiones de chía, que permita identificar materiales sobresalientes orientados a una mayor eficiencia del cultivo, se desarrollaron descriptores morfológicos basados en el descriptor de *Salvia officinalis* de la UPOV. Durante el ciclo agrícola primavera verano 2017, bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones por ambiente se evaluaron 32 colectas en siete ambientes, se registraron las variables: altura de planta, diámetro de tallo, peso de planta, número de espigas frutales, número de ramas por planta, número de frutos por espiga, longitud de espigas, longitud de espigas desde el ultimo nudo, índice de cosecha, peso de semilla por planta y rendimiento por hectárea. La caracterización con marcadores SSR (Simple Sequence Repeats), se extrajo ADN con la técnica descrita por Dellaporta; para la amplificación mediante la PCR, se seleccionaron 15 iniciadores altamente polimórficos. Las características agronómicas de las accesiones 1, 2, 12 y 22; presentaron mayor altura de planta, peso seco de planta, número de espigas florales, frutos por espiga y rendimiento de semilla por ha. El rendimiento promedio de producción de semilla fue de 924 kg ha⁻¹. El mejor ambiente para producción de chía fue Rancho San Lorenzo, Metepec. Los marcadores moleculares SSR generaron 116 locus mostrando un elevado grado de variabilidad genética Intraespecífica, formando 8 grupos a una distancia de Nei de 0.78. El grupo uno incluye un grupo compacto de accesiones con posibilidad de cruzamiento exitoso entre ellas.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF GERMPLASM OF *Salvia hispanica* L.

Andrés Xingú López¹, Andrés González Huerta², Eulogio de la Cruz Torres³ y Martín Rubí Arriaga²

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

² Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.

³Departamento de Biología. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750.

The chía (*Salvia hispanica* L.), is native to the mountainous areas of central and southwest Mexico, Guatemala and Nicaragua; its cultivation was prohibited and replaced by other cereals during the conquest. Due to its nutritional content and nutraceutical properties, it has been reintroduced, and is currently considered a highly nutritious food due to its high content of omega 3, omega 6 fatty acids, proteins, amino acids and phenols. The sown area has increased year after year, but the ignorance of the agronomic management, the low yields and the absence of improved varieties, prevent the genetic materials from expressing their true productivity. With the objective of agronomically and molecularly characterizing 32 chia accessions, which allows the identification of outstanding materials oriented to a greater efficiency of the crop, morphological descriptors were developed based on the descriptor of *Salvia officinalis* of the UPOV. During the spring-summer 2017 agricultural cycle, under a randomized complete blocks design with three repetitions per environment, 32 collections were evaluated in seven environments, the variables were recorded: plant height, stem diameter, plant weight, number of fruit spikes, number of branches per plant, number of fruits per spike, length of spikes, length of spikes from the last node, harvest index, weight of seed per plant and yield per hectare. Characterization with SSR markers (Simple Sequence Repeats), DNA was extracted with the technique described by Dellaporta; for amplification by PCR, 15 highly polymorphic primers were selected. The agronomic characteristics of accessions 1, 2, 12 and 22; They showed higher plant height, plant dry weight, number of flower spikes, fruits per spike and yield of seed per ha. The average yield of seed production was 924 kg ha⁻¹. The best environment for chia production was Rancho San Lorenzo, Metepec. The molecular markers SSR generated 116 locus showing a high degree of intra-specific genetic variability, forming 8 groups at a distance of Nei of 0.78. Group one includes a compact group of accessions with the possibility of successful crossing between them

CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
CONTENIDO.....	v
LISTA DE CUADROS.....	vii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Las lamiaceae.....	3
2.2. Chía.....	3
2.2.1. Origen de <i>Salvia hispanica</i>.....	3
2.2.2. Clasificación taxonómica de <i>Salvia hispanica</i>.....	4
2.2.3. Características morfológicas de chía.....	5
2.2.4. Aspectos Etnobotánicos.....	6
2.2.5. Composición química y nutricional.....	6
2.2.6. Usos y aplicaciones.....	7
2.2.7. Actividad como antioxidante.....	8
2.2.8. Aspectos agronómicos.....	8
2.2.9. Producción.....	9
2.3. Marcadores moleculares.....	11
2.3.2. Usos de los marcadores moleculares.....	12
2.4. Metodologías utilizadas para la detección de polimorfismos del ADN.....	12
2.4.1. Técnicas basadas en hibridación tipo “Southern”.....	13
2.4.2. Técnicas basadas en reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	13
2.5. Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD).....	14
2.6. Tecnología para la amplificación de fragmentos de longitud polimórfica (AFLP)	14
2.7. Microsatélites (SSR).....	14
III. JUSTIFICACIÓN.....	16

IV. HIPÓTESIS	17
V. OBJETIVOS	17
5.1. General	17
5.2. Específicos	17
6. MATERIAL Y MÉTODO	18
6.1. Acciones.....	18
6.2. Caracterización morfológica	18
6.2.1. Ubicación del trabajo de campo	20
6.2.2. Diseño y tamaño de la parcela experimental.....	20
6.2.3. Desarrollo de experimento.....	20
6.2.4. Variables evaluadas.....	21
6.2.5. Análisis de datos.....	21
6.3. Caracterización molecular.....	22
6.3.1. Manejo del material vegetal.....	22
6.3.2. Extracción de ADN.....	22
6.3.4. Evaluación del grado de integridad de ADN.....	23
6.3.5. Iniciadores Usados en PCR de <i>Salvia hispanica</i> L.....	24
6.3.6. Amplificación SSR.....	24
6.3.7. Visualización de productos amplificados	25
VII. RESULTADOS	27
7.1. Chía (<i>Salvia hispanica</i> L) situación actual y tendencias futuras.	27
7.2. Caracterización agronómica de germoplasma de <i>Salvia hispanica</i> L.....	41
7.3. Diferenciación de la diversidad genética de <i>Salvia hispanica</i> L. aplicando marcadores SSR.....	62
7.4. Variación morfológica de germoplasma de <i>Salvia hispanica</i> L.	82
VIII. DISCUSIÓN GENERAL.....	100
IX. CONCLUSIONES GENERALES.....	102
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Evolución de la producción de chía en México	9
Cuadro 2. Distribución de producción de chía en México durante el ciclo primavera-verano 2017	10
Cuadro 3. . Producción mundial de chía,	11
Cuadro 4. Material evaluado en la caracterización morfológica y molecular SSR de <i>Salvia hispanica</i> L.....	19
Cuadro 5. Iniciadores SSR usados en <i>Salvia hispanica</i> L.	25

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Salvia hispanica L., conocida comúnmente como chía pertenece a las lamiaceas, tiene su origen en las zonas montañosas del sudoeste y centro de México, Guatemala y Nicaragua. Es una especie anual, y se trata de una de las plantas con mayor importancia para las culturas precolombinas de Centroamérica, quienes les daban usos alimenticios, ceremoniales, medicinales y como lacas. Durante la colonia su producción disminuyó hasta casi desaparecer, por la reducción de la población prehispánica y por la implementación del cultivo de cereales (Ayerza y Coates 2006). Recientemente la chía como fuente natural de ácidos grasos, antioxidantes y fibra dietética acrecentó las expectativas en torno a su cultivo (Carrillo-Gómez *et al.*, 2017). Por tratarse de un alimento funcional ha ganado la atención para usarse en un estilo de vida saludable. La producción se ha extendido a Nicaragua, Bolivia, Paraguay, Argentina, Ecuador, Perú y el sudeste de Asia (Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, 2017), pese a la expansión, existen problemas de disponibilidad, debido a la inexistencia de variedades mejoradas, desconocimiento de prácticas de cultivo y rusticidad que hacen difícil su cultivo.

La chía es un alimento que posee aceite con un 68% de ácido α -linolénico el más importante de los ácidos grasos omega-3 para consumo humano, que lo convierten en la fuente vegetal más rica en antioxidantes (Orona-Tamayo *et al.*, 2017), vitaminas B1, B2 y B3 (Jamshidi *et al.*, 2019); fibra, proteínas y minerales como fósforo, calcio, potasio, magnesio, hierro, zinc y sodio (Michajluk *et al.*, 2018). Además posee propiedades medicinales (Deka and Das, 2017), tiene efectos beneficiosos para el tratamiento del síndrome metabólico (Lombardo y Chicco, 2017), regula glucosa en sangre y favorece la coagulación sanguínea (Nieman *et al.*, 2012), disminuye el colesterol malo y triglicéridos, y

mejora la función intestinal (Sandoval-Oliveros y Paredes-López, 2013), por lo que la división de nutrición de la Novel foods and Food Allergens (NDA) de la Unión Europea con base en sus múltiples usos alimenticios a partir del año 2015, la incluyó en su lista de los Novel Food (Turk *et al.*, 2019), lo que ha favorecido ampliar el consumo.

La chía presenta amplia variabilidad entre sus selecciones. Siendo México lugar de origen, se cuenta con las condiciones propicias para el desarrollo del cultivo solo hay que buscar los sitios adecuados, prácticas apropiadas y variedades mejoradas o genotipos que se adapten a las condiciones de los sitios con potencial de desarrollo. En Jalisco (México), Ghana y Mymensingh (Bangladesh) se han obtenido rendimientos de 1033 a 2605 kg ha⁻¹ de semilla de chía (Karim *et al.*, 2015); de 2500 kg.ha⁻¹ (Ivan, 2013), 1723 kg ha⁻¹ (Sosa-Baldivia *et al.*, 2017c), 1 274.7 kg ha⁻¹ (Grimes *et al.*, 2018); mientras que la media nacional mexicana es de 500 kg ha⁻¹ (Ramírez-Jaramillo and Lozano-Contreras, 2015), lo que refleja que el potencial productivo de chía en México no ha sido explotado.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Las lamiaceae

La familia labiatae o lamiaceae consta de 220 géneros y 4000 especies. Se trata de una familia cosmopolita, aunque está casi ausente en los bosques tropicales pluviales (Morales, 2000). El género *Salvia* comprende aproximadamente 900 especies distribuidas por todo el mundo, y más de la mitad en América Central y Sudamérica; México es considerado el país con mayor diversidad, con 300 especies de las cuales más del 85% son endémicas (Sáez, 2010). Se trata de plantas arbustivas o herbáceas con hojas simples, de enteras a pinnatisectas con inflorescencia formada por verticilastros y cáliz de bilabiado a regular. Corola bilabiada con el labio superior formado por dos pétalos y el labio inferior de tres pétalos (Sáez, 2010). Se localizan en zonas montañosas del centro-sur del país principalmente en bosques templados, en particular los de coníferas y encinares. No obstante, también se encuentran en los bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios, zonas áridas y desérticas (Cornejo-Tenorio e Ibarra-Manríquez, 2011).

2.2. Chía

2.2.1. Origen de *Salvia hispanica*

S. hispanica se encuentra naturalmente en áreas de bosques 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 que oscilan entre 1400 y 2200 m. Esta especie ha sido cultivada tanto en ambientes tropicales como subtropicales, en áreas libres de heladas y en regiones con heladas anuales, desde el nivel del mar hasta los 2500 m (Ayerza y Coates, 2005).

Como es una planta sensible al fotoperiodo (longitud del día), el periodo de crecimiento depende de la latitud y altitud a la cual se realice el cultivo, y en ciertos lugares la chía no produce semillas ya que la planta muere por la ocurrencia de heladas antes de que termine su época de floración o su madurez fisiológica (Ayerza y Coates, 1998).

2.2.2. Clasificación taxonómica de *Salvia hispanica*

La chía, *S. hispánica* L, es una especie anual que pertenece a la familia de la Lamiaceae que está constituida por 7 subgéneros y comprende 300 géneros con alrededor de 7500 especies (Di Sapio *et al.*, 2012).

Reino: Plantae

Sub reino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Sub familia: Nepetoideae

Tribu: Mentheae

Género: *Salvia*

Especie: *hispánica*

Nombre científico: *Salvia hispánica* L.

2.2.3. Características morfológicas de chía

S. hispanica es una planta herbácea anual regularmente de un m de altura, ramificada y frecuentemente con base leñosa; tallos verdes, en ocasiones con pigmentación púrpura, las hojas son simples, opuestas y enteras. Lámina oval elíptica, con 8-12 cm de longitud, base cuneada a subcordada, ápice agudo con margen dentado aserrado, pinnadas, con nervaduras prominentes en el envés, peciolo corto 1-3 cm en la parte superior de la planta y 5-7 cm en las ramificaciones inferiores pubescentes (Di Sapio *et al.*, 2012; Díaz, 2015)

Las inflorescencias son espigas terminales o axilares, en grupos protegidos por pequeñas brácteas con largas extremidades puntiagudas y con pedúnculo corto. Sus flores son pediceladas y 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 y bilabiada; el labio inferior se expande hacia afuera y abajo; el superior es 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 en 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 recubiertos por la gálea (Díaz, 2015). El ovario es discoideo y el estigma bífido. Es una planta autógama pero presenta un 5% de alogamia, por transferir polen de la antera de la flor de una planta al estigma de la flor de otra planta genéticamente diferente; además es una planta entomófila porque es polinizada por insectos (generalmente abejas). Las flores son de color púrpura o morado y blanco. El fruto es un carcérulo, produce pequeños de 1 a 4 clusas, monospermicas, ovoides de simetría dorsiventral y de tamaño de 1.5-2 mm y 1.1-2

de diámetro, con color negro o grisáceo con manchas irregulares de color grisáceo claro y blancas con las mismas características (Di Sapio *et al.*, 2012).

2.2.4. Aspectos Etnobotánicos

La chía se usa desde hace 5500 años como alimento en México y hoy se considera una de las fuentes más importante de ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 para el hombre (Sosa *et al.*, 2016). Durante la Época prehispánica en México, la chía fue un cultivo importante para las culturas prehispánicas el cual fue domesticado 3.500 años AC y que hasta la llegada de los españoles junto con el maíz, frijol, amaranto y chile fueron alimentos clave en la dieta de los habitantes del hoy México (Ayerza y Coates, 2011). Los colonizadores españoles se concentraron en establecer haciendas en regiones donde había grandes extensiones de suelos con agua disponible y mostraron poco interés por colonizar las zonas montañosas, lo cual permitió que allí se conservara el cultivo de chía (Cahill, 2003). Tras la independencia de México y el olvido de esta especie durante 180 años, los agricultores de las regiones de Acatic, Jalisco, Olinalá Guerrero y Chiepetlán Puebla conservaron la tradición de su uso mientras que en el resto de México el cultivo de la chía cayó en el olvido hasta los años 90 (Cahill, 2003).

2.2.5. Composición química y nutricional

La chía posee un contenido de proteínas entre 19 y 23%, que supera a cereales como trigo, maíz, arroz, avena y cebada, y a diferencia de otros cultivos, posee menor contenido de sodio (Ayerza y Coates, 2005), no contiene gluten por lo que es aprobada por asociaciones celíacas como apta para su uso en pacientes celíacos, un contenido de vitaminas B3 mayor que en maíz, soja, arroz y cártamo, mientras que el contenido de vitamina A es inferior al del maíz; el contenido de vitamina B1 y B2 es similar al de arroz y maíz, aunque menor al de

soja y cártamo, el contenido de fibra es de 18-23%, siendo 1.6, 2.3, 2.6, 8.3 y 9.8 veces mayor que el contenido de fibra dietética que la cebada, trigo, avena, maíz y arroz respectivamente (Ayerza y Coates, 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda consumir 4 g de ácidos omega 3 por día. En la semilla de chía el 30% es aceite y de este el 64% es omega 3, por lo tanto 24 g de semilla cubren la necesidad humana por día (Miranda, 2012). Este alimento esta destinado a la nutrición balanceada de las futuras generaciones (Sosa *et al.*, 2017b)

2.2.6. Usos y aplicaciones

La chía en las culturas prehispánicas era ofrecida a los dioses en ceremonias religiosas por los aztecas, en las guerras de la época fue indispensable por la energía que proporcionaba, y era exigida como pago de tributo a los pueblos conquistados (Coates and Ayerza, 1996). Gracias a su composición de fibra, aminoácidos, vitaminas y minerales, así como los ácidos grasos, ayuda a mantener niveles adecuados de glucosa en la sangre y prevenir enfermedades crónico-degenerativas, también es esencial para regular los procesos de la piel ya que los nutrientes que aporta colaboran en la prevención de imperfecciones, regulación hormonal, producción de colágeno, además corrigen la deshidratación y previenen la inflamación, que generan una piel más suave, elástica y luminosa (Carrillo-Gómez *et al.*, 2017).

El aceite de semilla de chía es fuente de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), con ácido linolénico (60%) conocido como ácido graso omega 3 esencial para el crecimiento y el desarrollo del organismo humano (Ixtaina *et al.*, 2012). La chía también tiene un uso como materia prima de PUFAs-3, proteínas y fibra en bebidas, complementos alimenticios, alimentos procesados y cosméticos. (Sosa *et al.*, 2017a)

2.2.7. Actividad como antioxidante.

Los antioxidantes en la semilla de chía una vez que se ha prensado y extraído el aceite, demostraron una importante actividad antioxidante. Destacan el ácido clorogénico, el ácido caféico y los flavonoides (Jiménez *et al.*, 2013). Los estudios epidemiológicos indican que un alto nivel de consumo de alimentos y bebidas ricos en flavonoides pueden proteger contra las enfermedades cardiovasculares, embolia, cáncer de pulmón y cáncer de estómago (Coates, 2011). Además de poseer propiedades medicinales (Deka and Das, 2017), tiene efectos beneficiosos para el tratamiento del síndrome metabólico (Lombardo y Chicco, 2017), regula glucosa en sangre y favorece la coagulación sanguínea (Nieman *et al.*, 2012),

2.2.8. Aspectos agronómicos

El rendimiento promedio de esta especie en plantaciones comerciales oscila entre 500-600 kg ha⁻¹, aunque se han logrado rendimientos de 1260 kg ha⁻¹ (Ayerza y Coates, 1998). En parcelas experimentales de la provincia de Salta, con la implementación de riego y fertilización nitrogenada, se han registrado rendimientos de 2500 kg.ha⁻¹ (Ivan, 2013). Sosa-Baldivia *et al.*, (2017c), evaluó el genotipo G-39, reporta rendimientos de 1723 kg ha⁻¹, relacionando la producción con plantas por m², altura de la planta y longitud de inflorescencia principal, en tanto que Grimes *et al.*, (2018) reportó 1 274.7 kg ha⁻¹ de la variedad Sahi Alba

914

La fecha de siembra, el tipo de suelo y la nutrición de las plantas afectan la cantidad y calidad del aceite en la semilla de chía (Ayerza, 1995). Se debe programar adecuadamente la siembra, ya que la fecha de siembra determina el período vegetativo, crecimiento y floración, características que influyen directamente la producción de biomasa y rendimiento del cultivo (Wojahn *et al.*, 2018).

2.2.9. Producción

La producción, consumo y demanda de chía en México y en el mundo se ha incrementado de manera importante en los últimos años, por ser una fuente de aceite con altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados y compuestos fenólicos.

En México se sigue una tendencia a la alza en los últimos años, observándose un incremento gradual en la superficie sembrada (cuadro 1); en 2006 solo se cultivaron 15 ha y en el 2014, 16 721 ha (SIAP, 2019).

Cuadro 1. Evolución de la producción de chía en México

Año	Superficie Sembrada (ha)	Superficie Cosechada (ha)	Producción (Toneladas)	Valor Producción (\$)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Precio Medio Rural (\$/Ton)
2006	15	15	37.5	292 500	2.5	7 800
2007	37	22	45.8	343 500	2.082	7 500
2008	20	20	60.00	312 000	3	5 200
2009	45	34	33.60	177 800	0.988	5 291
2010	2 329	2 329	2 913.50	57 240 000	1.251	19 646
2011	2 750	2 750	3 448.60	55 477 500	1.254	16 086
2012	5 097	5 097	2 060.16	135 512 961	0.404	65 777
2013	18 155	17 915	8 431.89	478 425 545	0.471	56 740
2014	16 721	16 515	9 548.14	420 701 810	0.578	44 061
2015	13 164	13 029	6960.94	324 576 937	0.53	46628
2016	5555	5555	3567.67	137 703 214	0.64	38597
2017	5417	5223	3207.62	123 900 365	0.61	38626

Fuente: SIAP, 2019.

La producción en México se concentró por años en los estados de Jalisco y Puebla, pero se empieza a incursionar en nuevas zonas con potencial productivo (cuadro 2), En Jalisco la producción se centra en los municipios de: Acatic, Cuquío, Ixtlahuacán del Río y Jamay, El estado de Jalisco es el mayor productor al concentrar más del 65% de la superficie cultivada que aporta un volumen superior a 2 000 toneladas, equivalentes al 63% de la producción.

Cuadro 2. Distribución de producción de chía en México durante el ciclo primavera-verano 2017

Entidad Federativa	Superficie Sembrada	Superficie Cosechada	Producción (Toneladas)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	(\$/Ton)
Aguascalientes	110	110	55	0.5	20000
Guanajuato	58	58	47	0.81	35127
Jalisco	3552	3552	2,002	0.56	43374
Michoacán	62	62	24.74	0.4	33932
Puebla	390	390	326.3	0.84	22930
Querétaro	613	419	166	0.4	40000
Sinaloa	80	80	64	0.8	16500
Zacatecas	552	552	521.8	0.95	35000

Fuente: SIAP, 2019

A nivel internacional la chía comenzó a comercializarse a partir de los noventas. Entre los principales países productores destacan: Argentina, México, Bolivia, Paraguay y Australia (Cuadro 3). La producción de chía incrementa año con año, teniendo en 2014 una producción de 136000 Tn.

Cuadro 3. . Producción mundial de chíá,

Principales países productores	2012		2013		2014	
	Ha	Tn	Ha	Tn	Ha	Tn
Argentina	50000	28000	70000	17520	67120	47000
Paraguay	3000	1400	80000	25000	100000	32000
Bolivia	3000	1460	29000	14500	55000	27500
México	5097	2060	17915	8430	20000	11000
Nicaragua	350	215	550	440	12400	8165
Australia	2700	1485	4000	2200	5500	3055
Perú	400	520	1000	1600	1800	2880
Ecuador	1400	700	1500	1010	2200	1400
Resto	553	160	6035	1800	9000	3000
Total mundial	66500	36000	210000	72500	273020	136000

Fuente: Scalise 2015.

2.3. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares son biomoléculas que se pueden relacionar con un rasgo genético. Esta tecnología permitió nuevas posibilidades para la detección del polimorfismo genético basada en el análisis exclusivo del fenotipo y la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa (Velasco, 2005).

Las biomoléculas que pueden ser marcadores moleculares son las proteínas (antígenos e isoenzimas) y el ADN (genes conocidos o fragmentos de secuencia y función desconocida). Cuando varios marcadores moleculares se asocian inequívocamente con un

rasgo genético, se dice que forman un QTL (loci de rasgos cuantitativos o cuantificables). Un marcador molecular monomórfico es invariable en todos los organismos estudiados, pero cuando presenta diferencias en el peso molecular, actividad enzimática, estructura, o sitios de restricción, se dice que es polimórfico (Claros, 1998).

Existen varias técnicas moleculares que permiten conocer cómo se encuentran la proporción de genes en las poblaciones naturales de manera indirecta, como son los análisis de proteínas o de manera directa con estudios de ADN. Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y son de tipo dominante o co-dominante (Martínez *et al.*, 2010).

2.3.2. Usos de los marcadores moleculares

La actual perspectiva global del mundo, en la necesidad de incrementar la producción de alimentos, es imprescindible tener herramientas destinadas a optimizar los diferentes recursos agronómicos. El papel de los marcadores moleculares es fundamental. Los marcadores moleculares como RFLP, RAPD y AFLP prácticamente su uso en el tiempo, ha sido observado. Identificar, conocer y manipular los genes que determinan ciertas características como la de maximizar el rendimiento de los cultivos agrícolas (Azhar *et al.*, 2018)

2.4. Metodologías utilizadas para la detección de polimorfismos del ADN

En los últimos años se han desarrollado gran variedad de técnicas para la detección de polimorfismos del ADN, las cuales difieren en su principio y su potencialidad para detectar niveles de variación genética, así como en otros factores como reproducibilidad y

costo, los cuales tienen que ser considerados para seleccionar la metodología que nos permita resolver el problema que se esté planeando (Demeke *et al.*, 1997).

Valadez y Kahl, (2000), dividen a las técnicas utilizadas para la detección de polimorfismos en tres grupos:

- 1) Técnicas basadas en hibridación tipo “Southern”.
- 2) Las basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- 3) Combinación de PCR o sus productos de ADN más la hibridación tipo Southern

2.4.1. Técnicas basadas en hibridación tipo “Southern”

Esta técnica tiene el propósito de explorar las variaciones en la longitud de los fragmentos del ADN, ocasionados por la restricción del genoma con alguna endonucleasa particular. En esta categoría se incluye al polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism) y a las repeticiones en Tándem de Número Variable (VNTR por sus siglas en inglés), (Valadez y Kahl, 2000).

2.4.2. Técnicas basadas en reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica es una amplificación enzimática *in vitro* que resulta en una acumulación de la secuencia blanco. La PCR consiste de un número de ciclos cambios de temperatura que producen: separación de las hebras de ADN; unión del oligonucleótido al segmento de ADN y extensión que permite a la ADN polimerasa sintetizar el resto de la hebra complementaria. Estos ciclos se repiten habitualmente 30 o 40 veces para obtener un producto que puede ser detectado por medio de un gel de agarosa o por hibridación en microplacas, con esta técnica, prácticamente cualquier segmento de ADN puede ser amplificado y detectado (Mas *et al.*, 2001).

2.5. Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD)

Los RAPD son marcadores que amplifican aleatoriamente segmentos de ADN en una gran variedad de especies. Se basan en la probabilidad estadística de que se presenten sitios complementarios al oligonucleótido de 10 pares de bases a lo largo del genoma. El polimorfismo de las bandas entre los individuos se debe a cambios en la secuencia de los nucleótidos en los sitios de acoplamiento del oligonucleótido y de inserción o delección de los fragmentos en estos sitios (Kumar and Gurusubramanian, 2011).

2.6. Tecnología para la amplificación de fragmentos de longitud polimórfica (AFLP)

Esta técnica conocida como polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados, se desarrolló en 1995 y combina el uso de enzimas de restricción y oligonucleótidos para PCR, de manera que se obtienen marcadores moleculares específicos sin necesidad de conocer la secuencia con anterioridad. El ADN se corta con dos enzimas de restricción, una de alta y otra de baja frecuencia de corte. Los fragmentos se ligan a oligonucleótidos con extremos compatibles con las enzimas utilizadas y se amplifican por PCR. Realizando combinaciones con los oligonucleótidos, con el sitio de restricción se puede reducir o incrementar el número de bandas amplificadas las cuales son separadas en geles de poliacrilamida de alta resolución (Chawla, 2009).

2.7. Microsatélites (SSR)

Los microsatélites o SSR, por sus siglas en inglés (Simple Sequence Repeats), son secuencias cortas de ADN, de 1 a 6 pb, repetidas cierto número de veces y que se encuentran esparcidos por todo el genoma de los organismos eucariontes (Vicente y Fulton, 2003). Las principales ventajas de este tipo de marcadores son la gran cantidad existente y su herencia

co-dominante, que proporciona, en contraste con los marcadores dominantes, la información genética completa; por eso probablemente son los marcadores moleculares más utilizados (Adal *et al.* 2015).

III. JUSTIFICACIÓN

La chía en su semilla posee más calcio que la leche, tiene un alto valor proteico mayor que el de los cereales, productos lácteos y carnes, refuerza el sistema inmunológico y promueve la regeneración celular, y además proporciona el equilibrio perfecto entre ácidos grasos Omega-3 y Omega-6, brindando beneficios, como el contrarrestar los triglicéridos. De todas las fuentes de ácido grasos Omega-3, sólo la linaza y la chía tienen su origen en cultivos agrícolas, ambas son especies vegetales con la mayor concentración de ácido graso alfa-linolénico conocida hasta la fecha. Las semillas de chía contienen una cantidad de compuestos con actividad antioxidante como la miricetina, la quercetina, el kaemperol, y el ácido cafeico; estos compuestos son antioxidantes primarios y sinérgicos y contribuyen a la fuerte actividad antioxidante de la chía. Actualmente su uso es muy común en la preparación de agua fresca, en preparación de pintura (aceite) y principalmente como enriquecedor de productos panificados. El cultivo de chía ha tenido un repunte gracias a sus propiedades, las cuales han permitido ampliar su consumo, y siendo México lugar de origen, cuenta con las condiciones propicias para el desarrollo del cultivo solo hay que buscar los mejores lugares, practicas apropiadas y variedades mejoradas o genotipos, para tener éxito en el desarrollo del cultivo, por lo cual es necesario caracterizar morfológica y molecularmente las colectas que se tienen a la fecha con el propósito de identificar accesiones que permitan una explotación ya sea directa convirtiéndolas en variedades o bien como base para crear y desarrollar programas de mejoramiento genético para generar información que ayude a mejorar la especie y explotar su potencial.

IV. HIPÓTESIS

La variabilidad morfológica en *Salvia hispanica* L. presenta estrecha relación con la variabilidad genética.

V. OBJETIVOS

5.1. General

Caracterizar morfológica y molecularmente 32 colectas de *Salvia hispanica* L.

5.2. Específicos

Determinar la variabilidad morfológica existente en 32 colectas de *Salvia hispanica*.

Determinar la variabilidad molecular existente en 32 colectas de *Salvia hispanica*

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1. Acciones

Para la investigación se seleccionaron 32 colectas de S. hispánica con base a la variabilidad encontrada en las zonas de producción reportadas; 11 fueron colectadas de las diferentes zonas representativas de cultivo (Atzitzihuacán y Cholula, Puebla; Acatic, Jalisco y Churintzio, Michoacán) que se encuentran resguardadas en Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), dos facilitadas por el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), seis fueron proporcionadas por el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal, México de la Universidad Autónoma Chapingo y 13 de la colección de materiales de la empresa Chíablanca (Cuadro 4).

6.2. Caracterización morfológica

La investigación se desarrolló en siete ambientes para evaluar el comportamiento agronómico, en el ciclo agrícola 2017.

Cuadro 4. Material evaluado en la caracterización morfológica y molecular SSR de***Salvia hispanica* L.**

Número	Genealogía	Color de semilla	Institución
1	CHGRD	Negra	ICAMEX
2	CHCRI	Negra	ICAMEX
3	ININ1	Negra	ININ
4	ININ2	Gris Jaspeado	ININ
5	ININ3	Blanca	ININ
6	ININ4	Negra	ININ
7	ININ5	Negra	ININ
8	ININ6	Negra	ININ
9	ININ7	Gris Jaspeado	ININ
10	ININ8	Blanca	ININ
11	ININ9	Gris Jaspeado	ININ
12	ININ10	Blanca	ININ
13	ININ11	Negra	ININ
14	17Pz	Blanca	Chíablanca SC de RL
15	83FB5B	Blanca	Chíablanca SC de RL
16	59 Normal	Negra	Chíablanca SC de RL
17	66 Grano Café	Café	Chíablanca SC de RL
18	122 Az	Negra	Chíablanca SC de RL
19	64	Negra	Chíablanca SC de RL
20	SLVTTLA	Negra	Chíablanca SC de RL
21	B54	Blanca	Chíablanca SC de RL
22	CRIPINA	Pinta	Chíablanca SC de RL
23	680	Negra	Chíablanca SC de RL
24	346	Negra	Chíablanca SC de RL
25	30Pz	Blanco	Chíablanca SC de RL
26	P75ZN	Gris Jaspeado	Chíablanca SC de RL
27	CNPGA	Negra	Banco germoplasma Chapingo
28	CNPGB	Negra	Banco germoplasma Chapingo
29	CPJGA	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
30	CPJGB	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
31	CBJGA	Blanca	Banco germoplasma Chapingo
32	CBJGB	Blanca	Banco germoplasma Chapingo

ICAMEX = Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal,
ININ = Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

6.2.1. Ubicación del trabajo de campo

Los trabajos de campo se establecieron durante ciclo agrícola primavera-verano 2017 en el Campus Experimental el Cerrillo, de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicado en el Cerrillo Piedras Blancas, municipio de Toluca (Fecha 1 y fecha 2), en el Rancho San Lorenzo, situado en el municipio de Metepec (fecha 1 y fecha 2), en San Francisco Tlalcilcalpan, municipio de Almoloya de Juárez (localidades ubicadas en el valle de Toluca) y Xalatlaco y San Juan Xochiaca del municipio de Tenancingo, todos ellos con topografía contrastante, la elección de estas localidades se realizó con base en su ubicación geográfica, altitud, clima, suelo, precipitación, topografía e hidrología predominante. La descripción de las áreas de estudio la realizaron García, (2005).

6.2.2. Diseño y tamaño de la parcela experimental

Bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones por ambiente, las 32 colectas (tratamientos) se distribuyeron en dos bloques por repetición, conteniendo cada uno 16 tratamientos respectivamente, los cuales se sembraron de manera continua sin dejar surco de separación. La parcela consto de tres surcos de 4.5 x 0.80 m; cada surco con 90 plantas distanciadas a 0.05 m. El surco central fue la unidad experimental útil.

6.2.3. Desarrollo de experimento

La preparación del suelo consistió en barbecho, dos pasos de rastra y surcado. La siembra se realizó manualmente a chorrillo sobre el lomo del surco, posteriormente se realizó un aclareo, para dejar la población requerida. El control de malezas se efectuó en forma manual a los 15 y 30 días después de la emergencia, ya que el desarrollo en las primeras

etapas es muy lento, después la planta alcanza una cobertura total y sólo donde fue necesario se eliminaron malezas, con la finalidad de disminuir la competencia con el cultivo de chía.

6.2.4. Variables evaluadas

Los datos se registraron en 10 plantas por unidad experimental y fueron medidas conforme a la Guía Técnica de *Salvia officinalis* (UPOV, 2016).

Además de las variables medidas del descriptor varietal referido se tomaron datos de las variables relacionadas con la producción como: altura de planta (tomado en cm, con una cinta métrica desde la base del tallo hasta la punta de la espiga principal), diámetro de tallo (medido en mm, con la ayuda de un vernier digital Lcd Caliper en la base del tallo), peso seco de planta madura (tomado en g de plantas secadas en una estufa de circulación de aire terlab modelo TE-FH45DM a 55° C durante 3 días), número de frutos por espiga (número de frutos en la espiga principal), largo de espiga (medido en cm de la base a la punta de la espiga), largo de espiga desde nudo (medido en cm desde el nudo donde nace la espiga principal hasta la punta de la espiga), número de ramas laterales (número de ramas que se desprenden del tallo principal), número de espigas florales (número de espigas totales por planta), índice de cosecha (calculado como la razón entre el peso de semilla y peso total de planta no trillada, secadas en un estufa de secado terlab modelo TE-FH45DM a 55°C durante 3 días) y rendimiento (en kg ha⁻¹, tomado de plantas presentes en un metro lineal).

6.2.5. Análisis de datos

Los datos se sometieron a análisis de varianza individual y combinado, comparación de medias entre sitios y entre accesiones (individual y combinado). Las interrelaciones entre cultivares y entre variables se determinaron con el análisis de componentes principales

(Sánchez, 1995). Los resultados se procesaron con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.0 para Windows.

6.3. Caracterización molecular

Los análisis se realizaron en los laboratorios de Fitomejoramiento y Biología molecular del Área de Biología del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), situado en Salazar, Estado de México.

6.3.1. Manejo del material vegetal

Para las extracciones de ADN a partir de material fresco de *S. hispanica* L. se seleccionaron hojas sanas de las colectas sembradas en macetas negras de 4" en un invernadero del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Ubicado en las coordenadas geográficas 19°17'32" latitud norte y 99°23'17" longitud oeste, en Salazar, Ocoyoacac, Estado de México.

6.3.2. Extracción de ADN.

Se tomaron 3 hojas por colecta, se lavaron, liofilizaron en un liofilizador Heto Drywinner y posteriormente se molieron en un mortero hasta obtener un polvo fino. El ADN genómico se extrajo con la técnica descrita por Dellaporta (1983). Adicional a la purificación de ADN, este se lavó dos veces con etanol al 70%.

6.3.3. Calidad de ADN

La cantidad y calidad del ADN se determinaron mediante espectrofotometría, en un espectrofotómetro GBC modelo UV/VIS 911A. Tomando muestras alícuotas de 4 µL de ADN y 1996 µL de agua destilada estéril.

La cantidad de ADN se calculó considerando que la concentración de ADN de una solución puede ser determinada con los valores de absorbencia a 260 nm (A₂₆₀) y que un valor de 1.0 A₂₆₀ = 50 µg/ml de ADN, la concentración de ADN en las muestras se calculó con el uso de la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración ADN } (\mu\text{g/ml}) = \frac{(2000 \mu\text{l}) (50\mu\text{g}) (\text{DO}_{260})}{X \mu\text{l ml}}$$

Dónde:

X = volumen de ADN usado

2000 µl = volumen de la solución de agua más ADN.

50 µg/ml = concentración de ADN determinada para un valor de 1.0 a DO₂₆₀

DO₂₆₀ = valor obtenido en las muestras a esta longitud de onda.

La calidad de ADN se determinó por la proporción de lectura OD_{260nm}/OD_{280nm}. Solo se seleccionó ADN con proporción de 1.8 a 2.0, porque en ese rango se estima que la muestra es lo bastante pura.

6.3.4. Evaluación del grado de integridad de ADN

El grado de integridad del ADN, se estimó mediante la separación electroforética de las muestras de ADN en geles de 1.5% de agarosa, teñidos con 1 µl de bromuro de etidio. La electroforesis fue realizada a 65 Voltios y 50 Amperes, durante 50 minutos en amortiguador 0,5X TBE utilizando una fuente de poder mini-300 (Major Science) y una cámara de electroforesis horizontal (Major Science), En los pozos del gel, se cargó un volumen de 4 µL de la muestra de ADN, en los pozos laterales del gel, se adicioneo 5 µl de marcador de ADN

de bajo rango. Se agregaron 300 ml de amortiguador TBE 0.5 X. Cada uno de los geles se documentó fotográficamente en un transluminador de luz ultravioleta (UV) BIO-RAD modelo universal Hood II.

6.3.5. Iniciadores Usados en PCR de *Salvia hispanica* L.

Los iniciadores SSR para PCR cuatro fueron evaluados con éxito en diferentes especies de *Salvia* por Sepehry et al. (2012) y los otros se seleccionaron basados en su polimorfismo en muestras de ADN de *S. hispanica* L. (Cuadro 5).

6.3.6. Amplificación SSR

Se usaron 15 iniciadores SSR (Cuadro 5), con amplificaciones reproducibles y escalables. La amplificación por PCR fue realizada en un termociclador Techne modelo TC-512, con un volumen final de 14 μ L compuesto de: 3.4 μ L de agua, 1.3 μ L cresol red, 1.3 μ L de amortiguador de reacción 10x (15 mM), 1.3 μ L de MgCl₂ (25mM), 1.3 μ L de dNTPS (10 mM), 0.1 μ L de Taq polimerasa (0.3 unidades), 2 μ L de ADN (30ng/ml) y 1.3 μ L de iniciador (20 μ M). El programa consistió en una desnaturalización inicial por 5 minutos a 95°C; y 40 ciclos con una desnaturalización por 30 segundos a 91°C, una alineación por un minuto a 51°C y una extensión por un minuto a 72°C, y una extensión final a 72°C por 15 minutos y un almacenamiento a 4°C. Las reacciones de elongación se realizaron por duplicado para evaluar reproducibilidad.

Cuadro 5. Iniciadores SSR usados en *Salvia hispanica* L.

Iniciador	Secuencia adelante	Secuencia atrás
SoS1	5'-CCGAGTCATGATCGAGTTGA-3'	5'-GGCTCAACTTGGAGAAGTGG-3'
SoS2	5'-TTGGCTCGATTAAGTGTTA-3'	5'-TCTGCTGTCAAAGTGGATCA-3'
SoS3	5'-GGTTTGATCGGTCTTCGAAA-3'	5'-ATAAATGTGTGCCAGTGCGA-3'
SoS4	5'-GAGCAAAAAGCTTGACACCC-3'	5'-ACCTGGTGGTAGATCCTCCA-3'
QATG009	5'-GACTAATGAACGGATGGAAGC-3'	5'-CCTCCCACATAACCTTCCTCT-3'
QATG016	5'-CCACACTCATCTCAACCATCC-3'	5'-GCGATCCGGTACATCATTTTC-3'
QATG019	5'-CCAAACAAAGACAATAAGGAAACC-3'	5'-CGAGGTTGAAGGAGATTCCA-3'
QCA005	5'-GTGGTTCATGGCTGATCCTT-3'	5'-CTTGCCATCAGGGCATATCT-3'
QCA019	5'-TTTCATCACTCGACCGTATAGC-3'	5'-AGGGTGACTGTTACACCCAAA-3'
QCA028	5'-TGCTCACCCCTAGCATTTATACACT-3'	5'-ATGAGACGGAGGGAGCACTA-3'
QCA048	5'-ACAATACATACATAACCCAATATTCAA-3'	5'-TGGAAATGTCACTATGATTGGA-3'
QCA055	5'-GGGCATATCTGAAGAGAATCCA-3'	5'-ACGCAGGTAGCACTTCCAGT-3'
QCA058	5'-CTCGACCAGCAGGGTCTG-3'	5'-CTAGCTAGGCGTTGCCTGAC-3'
QCA063	5'-GCAGCATCACAGAGCAGAAA-3'	5'-GGTGTAGATTGGGAGCCTGA-3'
QCA065	5'-CCATGCAAGGGAACATATTG-3'	5'-AAGTTCGTTGGCTTGCTGTA-3'

6.3.7. Visualización de productos amplificados

Los productos amplificados fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa 3% p/v y teñidos con 2 µL de bromuro de etidio. Para la separación de los fragmentos por electroforesis se utilizó el amortiguador TBE 1X sistema tampón, en el primer carril se

adiciono 5 μ L de marcador de ADN de bajo rango, como referencia de pesos moleculares y en los demás se adicionaron 14 μ L de cada PCR, La fuente de poder se programó para que corriera a 65 Voltios y 50 Amperes, durante 7 minutos, utilizando una fuente de poder mini-300 (Major Science) y una cámara de electroforesis horizontal (Major Science), Cada uno de los geles se documentó fotográficamente en un transluminador Universal Hood II (BIO-RAD)

6.3.8. Registro y análisis de Datos

Los perfiles de ADN se puntuaron visualmente a partir de fotografías de gel. Se seleccionaron bandas amplificadas claras y reproducibles en el análisis. La presencia de una banda se designó como (1) y ausente como (0). Los valores de similitud de perfiles SSR obtenidos individual y colectivamente fueron sometidos al cálculo de la matriz de similitud utilizando coeficientes de Jaccard, y aplicando el método de análisis de conglomerados de pares agrupados no ponderados, con promedio aritmético (UPGMA), usando el programa de cómputo NTSYS-PC versión 1.8 (Rohlf, 2000). Y análisis de componentes principales con el apoyo del paquete SAS 9.0.

VII. RESULTADOS

7.1. Chía (*Salvia hispanica* L) situación actual y tendencias futuras.

Chía (*Salvia hispanica* L.) situación actual y tendencias futuras*

Chia (*Salvia hispanica* L.) current situation and future trends

Andrés Xingú López¹, Andrés González Huerta¹, Eulogio de la Cruz Torrez², Dora Ma. Sangerman-Jarquín³, Guillermo Orozco de Rosas⁴ y Martín Rubí Arriaga^{1§}

¹Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales-Facultad de Ciencias Agrícolas-Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. CP. 50200. (andresxl2000@yahoo.com.mx; agonzalezh@uaemex.mx). ²Departamento de Biología-Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ). Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. CP. 52750. (eulogio.delacruz@inin.gob.mx). ³Campo Experimental Valle de México-INIFAP. Carretera Los Reyes-Texcoco km 13.5, Coatlinchán, Texcoco, Estado de México. CP. 56250. (sangerman.doraini@inifap.gob.mx). ⁴Chíablanca SC de RL, La Paz núm. 54, Colonia Centro, Acatic, Jalisco CP. 45470. [§]Autor para correspondencia: (mrubia@uaemex.mx; m_rubi65@yahoo.com.mx).

Resumen

La chía es un grano apreciado por su gran contenido de ácidos grasos, entre ellos el omega 3 útil para contrarrestar los triglicéridos, de igual manera se relaciona con la pérdida de peso en el ser humano, en tiempos prehispánicos se requería como pago de tributo a los pueblos conquistadores, las semillas se usaban como revitalizante para los combatientes que partían a la guerra y para las mujeres que se preparaban para el parto, actualmente su uso es común en la preparación de agua fresca, en preparación de pintura (aceite) y como enriquecedor de productos panificados. La producción se perdió a raíz de la conquista ya que los españoles trajeron nuevos cultivos, los cuales fueron desplazando a la chía a sembrarse en zonas muy apartadas. Hoy la chía ha tenido un repunte gracias a sus propiedades, las cuales han permitido ampliar su consumo. Siendo México lugar de origen, se cuenta las condiciones propicias para el desarrollo solo hay que buscar los mejores lugares y las prácticas apropiadas para tener éxito en el cultivo. Teniendo en cuenta lo antes expuesto se realizó una revisión bibliográfica, siendo el objetivo del presente trabajo dar a conocer las tendencias futuras y actuales de la chía.

Abstract

The chia is a grain appreciated for its high content of fatty acids, including omega 3 useful for counteracting triglycerides, similarly it is related to weight loss in humans, in pre-hispanic times was required as payment of tribute to the conquering peoples, their seeds were used as a revitalizer for combatants who went to war, and for women who were preparing for childbirth, their use today is common in the preparation of fresh water, in preparation of oil, and as an enricher of baked goods. Its production was lost as a result of the conquest as the Spanish brought new crops, which displaced that of the Chia, condemning it to plant only in very remote areas. Currently the cultivation of chia has had a rebound thanks to its properties, which have allowed to expand its consumption. As México is a place of origin, there are conditions that are conducive to the development of the crop, only the best places and the appropriate practices must be sought to be successful in the development of the crop. Taking into account the above, a bibliographic review was carried out, the objective of this work being to present future and current trends of chia.

Palabras claves: *Salvia hispanica* L., alternativa de producción, propiedades alimenticias.

Keywords: *Salvia hispanica* L., alternative production, nutritional properties.

Introducción

Los pseudocereales hacen referencia a semillas, granos o aquenios de plantas de las familias: Amaranthaceae (amarantos), Chenopodiaceae (cañihua), Polygoniaceae (alforjón) y Lamiaceae en la cual está incluida la chía (*Salvia hispanica* L.) (FAO/WHO, 2016). El género *Salvia* es de los más diversos con cerca de 1 000 especies distribuidas en todo el mundo. México es considerado el lugar con mayor diversidad con 500 especies, que lo ubican como el segundo género más diverso; la *salvias* tienen un crecimiento herbáceo anual y perenne, arbustivo y muy raro arbustivo trepador (Ramamorthy, 2001).

Salvia hispanica conocida comúnmente como chía, es una especie anual nativa de Centroamérica, de zonas montañosas del oeste y centro de México, así como de Guatemala (Di Sapio *et al.*, 2012). Se encuentra naturalmente en áreas de bosques de encino o pino-encino y se distribuye en ambientes semicálidos y templados del Eje Neovolcánico Transversal de las Sierras Madre Occidental y del sur de Chiapas, en altitudes que oscilan entre 1 400 y 2 200 m donde se ubica el centro de diversidad genética y fenotípica de chía silvestre y domesticada (Hernández y Miranda, 2008). Históricamente, esta especie se ha cultivado en ambientes tropicales como subtropicales, en regiones libres de heladas y con heladas (Capitani, 2013), específicamente en las áreas montañosas de la vertiente del océano pacífico (Beltrán y Romero, 2003).

Para los Aztecas y Mayas representó un grano importante, usado: en alimentación, preparación de pinturas, elaboración de medicinas y en uso ceremonial mediante ofrendas (Hernández y Colín, 2008). Los numerosos usos culinarios, medicinales, artísticos y religiosos convirtieron al grano y su harina en las materias primas más usadas de la época de la conquista española, formando parte de los cuatro granos más importantes: maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), chía (*Salvia hispanica*) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) que conformaron la base de la dieta alimentaria (Cahill, 2004).

La producción de chía y algunas otras especies en el México precolombino fueron reemplazados por cereales, que fueron introducidos por los conquistadores, por lo cual miles de

Introduction

The pseudocereals refer to seeds, grains or achenes of plants of the families: Amaranthaceae (amarantos), Chenopodiaceae (cañihua), Polygoniaceae (buckwheat) and Lamiaceae in which chia (*Salvia hispanica* L.) (FAO/WHO, 2016). The genus *Salvia* is one of the most diverse with about 1 000 species distributed worldwide. México is considered the most diverse place with 500 species, which place it as the second most diverse genus; the *salvias* have an annual herbaceous growth and perennial, shrub and very rare shrub climber (Ramamorthy, 2001).

Salvia hispanica commonly known as Chia, is an annual native species of Central America, mainly from the mountainous areas of western and central México, as well as from Guatemala (Di Sapio *et al.*, 2012). It is found naturally in areas of oak or pine-oak forests and is distributed in semi-warm and temperate environments of the Transverse Neovolcanic Axis of the Sierras Madre Occidental and southern Chiapas, at altitudes ranging from 1 400 to 2 200 m where is the center of genetic and phenotypic diversity of wild and domesticated chia (Hernández and Colín, 2008). Historically, this species has been cultivated in subtropical, frost-free, and frost-free regions (Capitani, 2013), specifically in the mountainous areas of the Pacific Ocean slope (Beltran and Romero, 2003).

For the Aztecs and Mayas represent an important grain, used: in food, preparation of paintings, preparation of medicines and ceremonial use through offerings (Hernández and Colín, 2008). The numerous culinary, medicinal, artistic and religious uses turned the grain and its flour into the most used raw materials of the time of the Spanish conquest, forming part of the four most important grains: maize (*Zea mays*), bean (*Phaseolus vulgaris*), chia (*Salvia hispanica*) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*), which formed the basis of the diet (Cahill, 2004).

The production of chia and some other species in pre-columbian México were replaced by cereals mainly, which were introduced by the conquerors, so that thousands of hectares under the control of cultures with strange cultures for the conquerors, collapsed; so that most of these fell into

hectáreas bajo el control de las culturas con cultivos extraños para los conquistadores, colapsaron; por lo cual la mayoría de estos cayeron en desuso, ya que también cambiaron las preferencias alimenticias por los hábitos alimenticios europeos. Las especies nativas decrecieron y el cultivo de la chía quedó relegado a comunidades aisladas, en grave peligro de extinción (Ayersa y Coates, 2006).

Las semillas de chía se han reintroducido en las dietas con la finalidad de mejorar la salud humana, recomendándose por sus altos niveles de proteínas, antioxidantes, fibra dietética, vitaminas y minerales (calcio, potasio, magnesio, fósforo, selenio, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, sodio y zinc), pero sobre todo a su alto contenido de aceite omega 3 en comparación con otras fuentes naturales conocidas hasta la fecha (Guiotto *et al.*, 2013).

La producción, consumo y demanda de chía en México y a nivel mundial se ha incrementado en los últimos años, por ser una fuente de aceite con altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados y compuestos fenólicos. En México sigue una tendencia a la alza, observándose un incremento gradual en la superficie sembrada, en 2006 solo se cultivaron 15 ha y 2014, 16 721 ha, incrementándose en 111 473% (SIAP, 2016), esto debido al auge y al éxito que ha tenido, ya que es más redituable que el maíz y a la demanda por las propiedades nutraceuticas que le caracterizan.

Producción internacional y nacional

La Chía comenzó a comercializarse a nivel internacional a partir de los noventa. Se cultiva en Argentina, México, Bolivia, Paraguay y Australia. En 2011-2012 Argentina tuvo una producción de 35%. Mientras Australia, México, Bolivia y Paraguay participaron con 15% y 3 000 ha/c/u (Busilacchi *et al.*, 2015). Recientemente se incorporaron como productores Nicaragua y países del sudeste de Asia (Jamboonsri *et al.*, 2012). La producción mundial ha crecido rápidamente, un ejemplo es Nicaragua, donde la producción de chía pasó de 5 000 quintales en 2013, a 180 000 quintales en 2014.

En el Cuadro 1, se muestra el comportamiento que ha tenido la chía, donde es claro el crecimiento en la superficie sembrada que ha tenido, así como el comportamiento del precio y del rendimiento por hectárea.

La producción en México se concentra en Jalisco y Puebla y se empieza a incursionar en nuevas zonas con potencial productivo, como se observa en el Cuadro 2. En Jalisco la

disuse, as they also changed food preferences by giving the change to European eating habits. Native species decreased and chia cultivation was relegated to isolated communities, which were in serious danger of extinction (Ayersa and Coates, 2006).

Chia seeds have been reintroduced into diets to improve human health, and are recommended for high levels of protein, antioxidants, dietary fiber, vitamins and minerals (calcium, potassium, magnesium, phosphorus, selenium, copper, iron, manganese, molybdenum, sodium and zinc), but mainly to its high omega-3 oil content compared to other natural sources known to date (Guiotto *et al.*, 2013).

The production, consumption and demand of chia in México and worldwide has increased significantly in recent years, being a source of oil with high levels of polyunsaturated fatty acids and phenolic compounds. In México, there is a tendency to increase in the last years, with a gradual increase in the area sown, in 2006 only 15 ha and 2014, 16 721 ha were grown, increasing by 111 473% (SIAP, 2016), this because of the boom and the success that has had, since it is more profitable than the maize and the demand that has had by the nutraceutic properties that characterize it.

International and national production

The Chia began to be commercialized at international level from the nineties. It is grown in Argentina, Mexico, Bolivia, Paraguay and Australia. In 2011-2012 Argentina participated with a production of 35%. While Australia, México, Bolivia and Paraguay participated with 15% and 3 000 ha each (Busilacchi *et al.*, 2015). Recently, Nicaragua and Southeast Asian countries were incorporated as producers (Jamboonsri *et al.*, 2012). The world production has grown rapidly, an example of which is Nicaragua, where chia production increased from, 5 000 quintals in 2013 to 180 000 quintals in 2014.

Table 1 shows the behavior of chia, where it is clear the growth in the area planted, as well as the behavior of price and yield per hectare.

Production in Mexico is concentrated in Jalisco and Puebla, and new areas with productive potential are being introduced, as shown in Table 2. In Jalisco production is concentrated in the municipalities of

producción se centra en los municipios de: Acatic, Cuquío, Ixtlahuacán del Río y Jamay, mientras en Puebla los municipios productores son: Atzitzihuatlán, Huaquechula, San Felipe Tepemaxalco y Tochimilco (SIAP, 2016).

Acatic, Cuquío, Ixtlahuacán del Río and Jamay, while in Puebla the producing municipalities are: Atzitzihuatlán, Huaquechula, San Felipe Tepemaxalco and Tochimilco (SIAP, 2016).

Cuadro 1. Evolución de la producción de chía en México.

Table 1. Evolution of production of chia in México.

Año	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Volumen de producción (t)	Valor de la producción (\$)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Precio medio rural (\$ t ⁻¹)
2006	15	15	37.5	292 500.00	2.5	7 800.00
2007	37	22	45.8	343 500.00	2.082	7 500.00
2008	20	20	60	312 000.00	3	5 200.00
2009	45	34	33.6	177 800.00	0.988	5 291.00
2010	2 329	2 329	2 913.5	57 240 000.00	1.251	19 646.00
2011	2 750	2 750	3 448.6	55 477 500.00	1.254	16 086.00
2012	5 097	5 097	2 060.16	135 512 961.00	0.404	65 777.00
2013	18 155	17 915	8 431.89	478 425 545.00	0.471	56 740.00
2014	16 721	16 515	9 548.14	420 701 810.00	0.578	44 061.00

Fuente: SIAP, 2016.

Cuadro 2. Distribución de producción de chía en México durante el ciclo primavera-verano de 2014.

Table 2. Distribution chia production in México during the spring-summer of 2014.

Ubicación	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Costo (\$ t ⁻¹)	Valor de la producción (miles de pesos)
Jalisco	15 790	15 790	9 058	0.57	44 408.00	402 285.00
Puebla	460	460	391	0.85	34 659.00	13 562.00
Nayarit	281	261	97	0.37	49 793.00	4 830.00
San Luis Potosí	20	4	1	0.25	24 000.00	24.00
Guanajuato	150	0	0	0	0.00	0.00
Aguascalientes	20	0	0	0	0.00	0.00
Total	16 721	16 515	9 548	0.58	44061	420 701

Fuente: SIAP, 2016.

Descripción morfológica

S. hispanica L. es una planta herbácea anual, de 1 a 1.5 m de altura, con tallos ramificados de sección cuadrangular y hueco, con pubescencias cortas y blancas; hojas opuestas con bordes aserrados de 80 a 100 mm de longitud y de 40 a 60 mm de ancho, con diferentes grados de pubescencia. Las flores son hermafroditas, azules o blancas, frutos muy comúnmente indehiscentes (Capitani *et al.*, 2013) en grupos de cuatro clusas monospermas ovales de 1.5 a 2 mm de longitud y 1 a 1.2 mm

Morphological description

S. hispanica L. is an annual herbaceous plant, from 1 to 1.5 m in height, with branched stems of quadrangular and hollow section, with short and white pubescences; opposing leaves with serrated edges 80 to 100 mm in length and 40 to 60 mm in width, with different degrees of pubescence. The flowers are hermaphrodite, blue or white, most commonly indehiscent fruits (Capitani *et al.*, 2013) in groups of four monospermic oval clusters 1.5 to

de diámetro; son suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares castaño oscuro, en su mayoría y en menor proporción blanquecinas (Di Sapio *et al.*, 2012), el peso de 1 000 semillas varía entre 0.94 y 1.29 g (Bueno *et al.*, 2010).

Se define como una planta autógama, con más altos niveles de polinización cruzada en chía cultivada, que en chía silvestre, los insectos son los responsables de la polinización cruzada, obteniendo mayores rendimientos cuando existe la presencia de abejas en la zona de cultivo (Cahill, 2004). La propagación más usada en la chía es por medio de semilla (Ayerza y Coates, 2006).

Aspectos agronómicos

La siembra de chía es de mayo a mediados de junio, para evitar las heladas. La profundidad de siembra es un factor limitante en el establecimiento del cultivo debido a la baja cantidad de reservas de semillas (Migliavacca *et al.*, 2014) y como la semilla es pequeña, requiere poca profundidad de siembra para emerger con éxito, sólo lo suficiente para cubrir la semilla y como máximo 10 mm (Rojas, 2013). La semilla requiere de humedad para germinar, pero ya germinada y establecida las plantas crecen bien con cantidades limitadas de agua por tratarse de una planta de bajo consumo de agua y adaptada a climas áridos y semiáridos (Ayerza y Coates, 2006). Se desarrolla adecuadamente en suelos arenosos con textura media y buen drenaje; no toleran suelos anegados (Coates, 2011).

Es una planta de día corto y sensible al fotoperiodo, presenta respuesta favorable a floración en días cortos (Jamboonsri *et al.*, 2012), el periodo de crecimiento se ve afectado por la latitud en la que se desarrolle, por lo cual el ciclo de cultivo varía de 90 a 150 días (Ayerza y Coates, 2006). El pH adecuado para el cultivo es de 6.5 a 7.5, el sitio de cultivo afecta la composición de las semillas debido a los factores ambientales, como temperatura, luz, suelo y nutrientes disponibles (Ayerza and Coates, 2004). La siembra se realiza en surcos de 0.7 a 0.8 m de separación, con una densidad de siembra de 6 kg de semillas por hectárea (Busilacchi *et al.*, 2013). El método de siembra y la densidad influyen en el crecimiento y rendimiento de chía. Cuanto mayor sea la densidad habrá más biomasa y por lo tanto el rendimiento de semilla aumenta, la densidad más apropiada es la mayor a 40 000 plantas ha⁻¹ (Yeboah *et al.*, 2014)

2 mm in length and 1 to 1.2 mm in diameter; (Di Sapio *et al.*, 2012), the weight of 1 000 seeds varies between 0.94 and 1.29 g (Bueno *et al.*, 2010).

It is defined as an autogamous plant, with higher levels of cross-pollination in cultivated chia, than in wild chia, insects are responsible for cross-pollination, obtaining higher yields when there is the presence of bees in the growing area (Cahill, 2004). The most widely used propagation in chia is through seed (Ayerza and Coates, 2006).

Agronomic aspects

The planting of chia is from May to mid-June, to avoid frost. Seed depth is a limiting factor in establishing the crop due to low seed reserves (Migliavacca *et al.*, 2014) and because the seed is small, it requires little depth of planting to emerge successfully, just enough to cover the seed and a maximum of 10 mm (Rojas, 2013). The seed requires moisture to germinate, but already sprouted and established the plants grow well with limited amounts of water because it is a plant with low water consumption and adapted to arid and semi-arid climates (Ayerza and Coates, 2006). It develops adequately in sandy soils with medium texture and good drainage; do not tolerate flooded soils (Coates, 2011).

It is a short-day plant sensitive to photoperiod, presenting favorable response to flowering on short days (Jamboonsri *et al.*, 2012), the growth period is affected by the latitude in which it develops, so the cycle of cultivation varies from 90 to 150 days (Ayerza and Coates, 2006). The appropriate pH for the crop is 6.5 to 7.5, the crop site affects the composition of the seeds due to environmental factors such as temperature, light, soil and available nutrients (Ayerza and Coates, 2004). Seeding is done in rows of 0.7 to 0.8 m of separation, with a seed density of 6 kg of seeds per hectare (Busilacchi *et al.*, 2013). The method of sowing and density influence the growth and yield of chia. The higher the density, the more biomass and therefore the seed yield increases, the more appropriate density is the greater than 40 000 ha⁻¹ plants (Yeboah *et al.*, 2014).

Their seeds present moderate tolerance to saline stress, but when under high salinity the percentage of germination, root length and plant size decreases, therefore it is recommended to avoid the use of chlorinated fertilizers (Dal'maso *et al.*, 2013).

Las semillas presentan moderada tolerancia a estrés salino; sin embargo al someterse a una alta salinidad disminuye el porcentaje de germinación, longitud de la raíz y el tamaño de planta, por lo cual se recomienda evitar el uso de fertilizantes clorados (Dal'maso *et al.*, 2013).

Aspectos fitosanitarios

La chía contiene sustancias químicas (quercetina, kenferol, miricetina, ácido clorogénico y ácido caféico) que tienen efecto preventivo contra incidencia de enfermedades (Miranda, 2012). El cultivo es atacado por insectos plaga, del orden himenóptera que atacan el capullo floral, escarabajos defoliadores del orden Coleóptera, saltamontes del orden ortóptero y diópsis del orden de los dípteros (Yeboah *et al.*, 2014). Otras plagas frecuentes son babosas (*Arion ater*), caracoles (*Helix aspersa*), gallina ciega (*Phyllophaga* sp.), hormiga cortadora (*Atta cephalotes*), gusano peludo (*Estigmene acrea*) y langostas (*Spodoptera* sp.).

Las enfermedades con incidencia económica son: *Fusarium solani*, *Pallidoroeseum* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp. (Yeboah *et al.*, 2014) y mancha de la hoja causada por *Cercospora* sp. (Miranda, 2012).

Mercado

La demanda de chía es creciente y es liderada por EE. UU. Es un cultivo que tiene un importante mercado potencial a nivel nacional e internacional. En EE. UU la elaboración de productos con chía va en aumento, en 2011 se introdujeron 21 nuevos productos a base de chía (jugos de fruta) y 2012 dicha cantidad aumentó a 100 productos (Busilacchi *et al.*, 2015). Los países de la Unión Europea se están incorporando recientemente al consumo de chía, producto de la autorización de su inclusión en alimentos elaborados y a futuro, se espera que países asiáticos se incorporen a esta demanda, lo que la duplicaría a 40 000 t año⁻¹ (Busilacchi *et al.*, 2015).

El mercado internacional requiere semilla de chía de color gris a negro, sabor característico de la semilla, olor característico de la semilla; con especificaciones físico químicas específicas de: porcentaje de humedad de 12% máximo, especificaciones microbianas con recuento total: máx. 100 000 ufc g⁻¹, hongos: máx. 1 000 ufc g⁻¹, levaduras: máx. 1 000 ufc g⁻¹, *Esclerichia coli*: <10 ufc g⁻¹, *Staphylococcus aureus*: <10 ufc g⁻¹, índice de

Phytosanitary aspects

Chia contains chemicals (quercetin, kenferol, myricetin, chlorogenic acid and caffeic acid) that have a preventive effect against disease incidence (Miranda, 2012). The cultivation is attacked by insect pests, of the order hymenoptera that attack the floral bud, defoliating beetles of the order Coleoptera, grasshoppers of the order orthopter and diópsis of the order of dipterans (Yeboah *et al.*, 2014). Other common pests are slugs (*Arion ater*), snails (*Helix aspersa*), blind hen (*Phyllophaga* sp.), Cutter ant (*Atta cephalotes*), hairy worm (*Estigmene acrea*) and lobsters (*Spodoptera* sp.).

The diseases with economic incidence are: *Fusarium solani*, *Pallidoroeseum* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp. (Yeboah *et al.*, 2014) and leaf spot caused by *Cercospora* sp. (Miranda, 2012).

Market

The demand for chia is increasing and is led by EE. UU. It is a crop that has a significant potential market at national and international level. In the USA UU's production of chia products is on the rise, in 2011, 21 new chia products (fruit juices) were introduced and in 2012 that quantity increased to 100 products (Busilacchi *et al.*, 2015). The European Union countries are recently incorporating chia consumption, as a result of the authorization of their inclusion in processed foods and in the future, it is expected that Asian countries will join this demand, which would double to 40 000 t year⁻¹ (Busilacchi *et al.*, 2015).

The international market requires chia seed from gray to black, characteristic taste of the seed, characteristic odor of the seed; with specific physical chemical specifications of: moisture percentage of 12% maximum, microbial specifications with total count: max. 100 000 cfu g⁻¹, fungi: max. 1 000 cfu g⁻¹, yeast: max. 1 000 cfu g⁻¹, *Sclerichia coli*: <10 cfu g⁻¹, *Staphylococcus aureus*: <10 cfu g⁻¹, peroxide index: <0.1 meq 0.2 kg⁻¹, Impurities: (%) 1.07, omega-3 fatty acid: 17.5% of total oil and bag packing of high density polypropylene 18*27*14*14 20 kg (Miranda, 2012).

Distribution channels in the United States of America are derived from three groups of actors in the marketing chains, wholesale importers, food processing companies and retail distributors, in order to reach consumers (Busilacchi *et al.*, 2015)

peróxido: <0.1 meq 0.2 kg⁻¹, Impurezas: (%) 1.07, ácido graso omega 3: 17.5% del total del aceite y empaque de bolsa de polipropileno de alta densidad 18*27*14*14 20 kg (Miranda, 2012).

Los canales de distribución en Estados Unidos de América, se derivan de tres grupos de actores en las cadenas de comercialización, los importadores mayoristas, empresas que elaboran productos alimenticios y distribuidores minoristas, para finalmente llegar a los consumidores (Busilacchi et al., 2015).

Propagación

La propagación de chía se efectúa mediante el uso de semilla, recientemente se han realizado investigaciones sobre cultivo in vitro, de las partes de la planta, los tallos son la mejor fuente de explante para cultivo de callos. El medio de cultivo idóneo es MS 2.4-D (2.25 M) como regulador de crecimiento vegetal y 16 h fotoperiodo. Para mantener el crecimiento agregar Na⁺ (0.54: 0.46M) (Marconi et al., 2013). La sacarosa agregada a los medios de cultivo inhibe la variación somaclonal, y el potencial osmótico, debido a las concentraciones de macro y micronutrientes que influyen directamente en la germinación de los embriones (Arfux et al., 2015).

Componentes de la chía

La semilla de chía está compuesta de nutrientes, vitaminas, antioxidantes y ácidos grasos (Cuadro 3). La cantidad y calidad de los componentes puede variar por el sitio de cultivo, condiciones ambientales, disponibilidad de nutrientes, año de cultivo, por el tipo de suelo y clima (Ayerza y Coates, 2009). La chía es un alimento completo y funcional por: su contenido de antioxidantes (ácido clorogénico, ácido caféico, miricetina, quercetina y kaempferol flavonoles), niveles seguros de metales pesados, ser libre de micotoxinas y por no contener gluten (Mohd, 2012).

La chía es la fuente vegetal con el mayor contenido de ácidos grasos esenciales, su aceite contiene propiedades físico-químicas de interés para la industria alimentaria, considerado como ingrediente alimentario potencial debido a sus beneficios en salud humana por contener 85.4% de ácidos grasos poliinsaturados (Segura et al., 2014).

Propagation

The propagation of chia is carried out by the use of seed, recently researches have been carried out on in vitro culture of the parts of the plant, the stems are the best explant source for callus cultivation. The ideal culture medium is MS 2.4-D (2.25 M) as plant growth regulator and 16 h photoperiod. To maintain growth add Na⁺ (0.54: 0.46M) (Marconi et al., 2013). Sucrose added to culture media inhibits somaclonal variation, and osmotic potential, due to macro and micronutrient concentrations that directly influence embryo germination (Arfux et al., 2015).

Components chia

Chia seeds are composed of nutrients, vitamins, antioxidants and fatty acids (Table 3). The quantity and quality of the components may vary by crop site, environmental conditions, nutrient availability, crop year or by type of soil (Ayerza and Coates, 2009). Chia is a complete and functional food because of its antioxidant content (chlorogenic acid, caffeic acid, myricetin, quercetin and kaempferol flavonols), safe levels of heavy metals, being free of mycotoxins and not containing gluten (Mohd, 2012).

Cuadro 3. Composición de semillas de chía (100 g de porción comestible).

Table 3. Composition of chia seeds (100 g of edible portion).

Nutriente	Unidad	Valor
Proteína	(%)	15 a 25
Lípido total (grasa)	(%)	30 a 33
Hidratos de carbono	(%)	26 a 41
Fibra dietética	(%)	18 a 30
Ceniza	(%)	4 a 5
Calcio	mg	631
Potasio	mg	407
Magnesio	mg	335
Fósforo	mg	860
Selenio	µg	55.2
Cobre	µg	0.924
Hierro	µg	7.72
Manganeso	µg	2.72
Molibdeno	µg	0.2

Bueno et al. (2010); Ixtaina et al. (2011); Segura et al. (2014); Ullah et al. (2015).

Usos de la chía

La chía se consume comercialmente sin procesamiento alguno o adicionada como enriquecedora de productos (repostería); en México se prepara una bebida refrescante llamada “chía fresca”, también se prepara un mucílago dejando reposar la semilla en agua, para utilizarla como fibra dietética o añadirla y dar espesor a mermelada, jalea, yogur, mostaza y salsa tártara; igualmente tiene utilidad en cosmetología, en panificación (donde el gel es utilizado como sustituto de aceite) para resaltar su sabor y para cubrir la masa antes de hornear y así aumentar vida de anaquel (Busilacchi *et al.*, 2015). Es un excelente enriquecedor de productos como fórmulas para bebés, alimentos de animales, barras nutritivas, etc (Busilacchi *et al.*, 2015).

El mucílago o gel obtenido de la fibra soluble contenida en la semilla, es fuente de hidrocoloides con propiedades de: retención de agua, emulsionante, espesante, estabilizador, y es soluble en agua caliente y fría. (Muñoz *et al.*, 2012). El contenido de mucílago en semillas es 3.5%. La composición del mucílago es: humedad 9.37%, proteína 29%, fibra bruta 11.42%, aceite 3.83%, cenizas 10.27% y 56.24% de extracto libre de nitrógeno (Guiotto *et al.*, 2016).

Al ingerir semillas, al contacto con la saliva se forma el gel y cuando son ingeridas, el gel tiene efectos favorables en nutrición y salud debido a que genera un efecto calmante en el tracto digestivo, crea una barrera para las enzimas desacelerando la descomposición de los carbohidratos complejos en azúcares, existiendo una sensación de saciedad por el aumento del volumen de los hidratos y la viscosidad en el intestino; lo que conlleva a una digestión más eficiente, prolongando la sensación de saciedad (Capitani *et al.*, 2012).

La incorporación de semillas de chía en panificación aumenta el valor nutritivo del producto debido a la proporción de ácidos grasos omega y fibra dietética proporcionados por estas, sin alterar la calidad del pan y cambiando solo el color de la miga, además que existe un cambio en la cinética de la amilopeptina durante el almacenamiento, lo que se relaciona directamente con el aumento de vida en anaquel (Iglesias y Haros, 2013). Con la adición, el contenido de n-3 alfa-linolénico aumenta, existiendo una mayor relación omega-6/omega-3 y además de que contribuye a una reducción en el volumen específico y ligereza del pan (Luna *et al.*, 2015). La cantidad de agua y harina o semillas sin afectar el horneado 2% mezclada

Cuadro 3. Composición de semillas de chía (100 g de porción comestible) (continuación).

Table 3. Composition of chia seeds (100 g of edible portion) (continuation).

Nutriente	Unidad	Valor
Sodio	µg	16
Zinc	µg	4.58
Niacina	mg	6.13
Tiamina	mg	0.18
Rivoflavina	mg	0.04
Vitamina A	IU	44
Ácido α-linolénico	(%)	64.9 a 65.6
Ácido linoleico	(%)	19.8 a 20.3
Ácido palmítico	(%)	6.2 a 6.7
Ácido oleico	(%)	5 a 5.5
Ácido esteárico	(%)	2.7 a 3
Ácido oleico	(%)	7.75
Ácido margárico	(%)	0.1
Ácido nonadecanoico	(%)	0.1
Ácido nonadecenoico	(%)	0.2
Ácido araquídico	(%)	0.3
Ácido gadoleico	(%)	0.2
Ácido vaccénico		0.5
Ácido pentadecanoico	-	-
Ácido araquidónico	-	-
Ácido docosahexaenoico	-	-
Ácidos grasos saturados	(%)	9.3
Ácidos grasos poliinsaturados	(%)	85.4
PUFA/SFA	(%)	8.7

Bueno *et al.* (2010); Ixtaina *et al.* (2011); Segura *et al.* (2014); Ullah *et al.* (2015).

Chia is the vegetable source with the highest content of essential fatty acids, its oil contains physicochemical properties of interest for the food industry, considered as a potential food ingredient due to its benefits in human health because it contains 85.4% of polyunsaturated fatty acids (Segura *et al.*, 2014).

Uses of chia

Chia is consumed commercially without any processing or added as enriching of products (confectionery); in México, a refreshing drink called “chia fresca” is prepared; a mucilage is also prepared by letting the seed rest in water,

antes del amasado con 5 g de harina por g de agua, ya que en estas cantidades se mantiene el volumen y la suavidad de la miga del pan de manera positiva (Zettel *et al.*, 2015).

Las semillas de chía enteras que se utilizan en los productos alimenticios no son digeridas y utilizadas fácilmente por el cuerpo humano debido a una capa extremadamente dura. Pero si se agrega en forma de harina mejoran el valor nutricional, la textura, y aplicaciones de alimentos funcionales (Inglett *et al.*, 2014). El aceite de chía es usado por artesanos de los estados de Chiapas, Guerrero, Michoacán y Ciudad de México, para preparar lacas conocidas como maque, con la finalidad de pintar jícaras y guajes, este arte floreció en el antiguo México desde antes de la llegada de los españoles, y el cual se extrae tostando lentamente y a fuego bajo las semillas de chía, para posteriormente molerse y agregándole agua caliente se amasa hasta que el aceite empieza a escurrir, posteriormente el aceite se hierve para conservarlo (Ayerza and Coates, 2006).

Usos nutraceuticos

La semilla de chía por su contenido de aceite se considera como "alimento funcional" porque además de contribuir a la nutrición humana, aumenta el índice de saciedad, previene enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios y nerviosos, así como la diabetes. Absorbe 27 veces su peso de agua (Muñoz *et al.*, 2012), por su contenido de fibra dietética soluble, ayudando a contrarrestar problemas de estreñimiento, divertículos y cáncer de colón (Alvarado, 2011). Para esto ingerir de 15 a 25 g de semillas remojadas en agua quince minutos, durante 20 días (Bernal *et al.*, 2015).

Una suplementación de 12 semanas con 35 g de harina día⁻¹ de chía en la dieta de humanos se logró reducir significativamente de peso y circunferencia de cintura, gracias a su contenido de fibra dietética que actúa dando efecto de saciedad y disminuyendo la entrada calórica por la alta viscosidad del gel formado en el tracto gastrointestinal, así mismo por el alto contenido de Omega 3 que suprime el apetito, mejorando la oxidación de lípidos y el gasto de energía (Toscano *et al.*, 2015).

La ingesta continua de chía durante 12 semanas ayuda a diabéticos a controlar el nivel de glucosa después de ingesta de comida (glucemia postprandial), mejorando la presión y coagulación de la sangre (Vuksan *et al.*, 2010). El

to be used as dietary fiber or to add it and give thickness to jam, jelly, yogurt, mustard and tartar sauce; also has utility in cosmetology, in baking (where the gel is used as an oil substitute) to enhance its flavor and to cover the dough before baking and thus increase shelf life (Busilacchi *et al.*, 2015). It is an excellent enricher of products like formulas for babies, animal foods, nutritious bars, etc (Busilacchi *et al.*, 2015).

The mucilage or gel obtained from the soluble fiber contained in the seed, is a source of hydrocolloids with properties of water retention, emulsifier, thickener, stabilizer, and soluble in hot and cold water. (Muñoz *et al.*, 2012). The mucilage content in seeds is 3.5%. The composition of the mucilage is: moisture 9.37%, protein 29%, crude fiber 11.42%, oil 3.83%, ash 10.27% and 56.24% of nitrogen-free extract (Guiotto *et al.*, 2016).

By ingesting seeds, contact with saliva forms the gel and when ingested, the gel has favorable effects on nutrition and health because it generates a soothing effect on the digestive tract, creates a barrier for enzymes slowing the decomposition of the complex carbohydrates in sugars, there being a sensation of satiety by the increase of the volume of the hydrates and the viscosity in the intestine; which leads to a more efficient digestion, prolonging the sensation of satiety (Capitani *et al.*, 2012).

The incorporation of chia seeds in baking increases the nutritive value of the product due to the proportion of omega fatty acids and dietary fiber provided by them, without altering the quality of the bread and changing only the color of the crumb, in addition there is a change in the kinetics of amylopectin during storage, which is directly related to the increase in shelf life (Iglesias and Haros, 2013). With addition, the n-3 alpha-linolenic content increases, with a higher omega-6/omega-3 ratio, and also contributes to a reduction in specific volume and lightness of bread (Luna *et al.*, 2015). The amount of water and flour or seeds without affecting the baking 2% mixed before kneading with 5 g of flour per g of water, since in these quantities the volume and the softness of the bread crumb are maintained in a positive way (Zettel *et al.*, 2015).

Whole chia seeds that are used in food products are not digested and easily used by the human body because of an extremely hard coating. But if added as flour they improve the nutritional value, texture, and functional food applications (Inglett *et al.*, 2014). Chia oil is used by artisans from the states of Chiapas, Guerrero, Michoacán and Mexico

aceite de chía es usado como agente adyuvante hidratante para la piel pruriginosa, característica de personas con deficiencia renal y diabetes, mejorando la función de barrera epidérmica de permeabilidad e hidratación de la piel (Jeong *et al.*, 2010).

Problemática de la chía

Las semillas de chía presentan muy corta viabilidad, la cual disminuye con el transcurso del tiempo, aunado a esto la calidad es afectada por las condiciones ambientales de almacenamiento y tiempo del mismo, además de que la calidad de la semillas dependerá de las condiciones ambientales presentes en su maduración (Bueno *et al.*, 2010).

Es común encontrar semillas de diferente color en un mismo conjunto de ellas, las predominantes son: gris jaspeado (86%), blanco y marrón. Las semillas de color gris jaspeado y blancas, son las que más peso presentan y están compuestas por todas sus estructuras propias de las semillas, mientras que las de color marrón son de menor peso y son semillas vanas, teniendo nulo desarrollo de las estructuras seminales (Rovati, 2010).

Perspectivas de la chía

México cuenta con las condiciones ecológicas óptimas para producción de chía en condiciones de temporal, encontrando estas condiciones óptimas principalmente, en tierras bajas y de altitud intermedia, lo que demuestra que las condiciones climáticas de las zonas entre 0 y 2 200 msnm cumplen con los requerimientos agroclimáticos de la especie (Jamboonsri *et al.*, 2012; Orozco *et al.*, 2014), con una excelente productividad en las regiones altas de los estados de Jalisco, Nayarit, Michoacán, Morelos, Puebla, México, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. El tipo de suelo, la precipitación y la altitud son los factores determinantes de áreas óptimas para el cultivo (Ramírez y Lozano, 2015).

Conclusiones

En el contexto agropecuario mexicano el desplome de los precios de los cultivos básicos, los agricultores están en busca de cultivos alternativos que satisfagan las necesidades de alimentación actual, que permitan hacer frente a los cambios climáticos y que cumplan con las

City to prepare lacquer known as maque, for the purpose of painting jicaras and guajes, this art flourished in ancient México from before the arrival of the Spanish, and which is extracted by slowly roasting and burning under the seeds of chia, to be ground later and adding hot water is kneaded until the oil begins to drain, later the oil is boiled to preserve it (Ayerza and Coates, 2006).

Nutraceuticals uses

Chia seed is considered a “functional food” because it contributes to human nutrition, increases satiety index, prevents cardiovascular diseases, inflammatory and nervous disorders, and diabetes. It absorbs 27 times its water weight (Muñoz *et al.*, 2012), for its content of soluble dietary fiber, helping to counteract problems of constipation, diverticula and colon cancer (Alvarado, 2011). For this, ingest 15 to 25 g of seeds soaked in water for 15 minutes for 20 days (Bernal *et al.*, 2015).

A 12-week supplement with 35 g of flour day⁻¹ of chia in the human diet resulted in a significant reduction in weight and waist circumference, thanks to its dietary fiber content that acts as satiety and decreases caloric intake by high viscosity of the gel formed in the gastrointestinal tract, as well as the high Omega 3 content that suppresses appetite, improving lipid oxidation and energy expenditure (Toscano *et al.*, 2015).

The continuous intake of chia for 12 weeks helps diabetics to control the glucose level after food intake (postprandial blood glucose), improving blood pressure and blood clotting (Vuksan *et al.*, 2010). Chia oil is used as a moisturizing adjuvant agent for pruritic skin, characteristic of people with kidney deficiency and diabetes, improving the epidermal barrier function of skin permeability and hydration (Jeong *et al.*, 2010).

Problems with chia

The seeds of chia have very short viability, which decreases with the passage of time, in addition to this the quality is affected by the environmental conditions of storage and time of the same, besides that the quality of the seeds will depend on the present environmental conditions in its maturation (Bueno *et al.*, 2010).

It is common to find seeds of different color in the same set of them, the predominant ones are mottled gray (86%), white and brown. Seeds of heather gray and white are the

características nutricionales requeridas. México resulta ser especialmente vulnerable a los efectos del cambio climático al situarse en zonas que serán impactadas por sequías (noroeste) e inundaciones (sureste), causadas por fenómenos meteorológicos extremos, y debido a su débil estructura social y económica. Las condiciones en que se desarrolla la agricultura en México, tanto de temporal como de riego, determinan también su vulnerabilidad ante eventos climáticos extremos.

Uno de estos cultivos es la chía, cuya producción en México ha incrementado en los últimos 7 años 500%, debido al aumento de precio, lo cual ha despertado interés en cientos de agricultores y según las perspectivas, la producción seguirá incrementándose. Esta semilla es apreciada y solicitada en Europa, Estados Unidos de América, Canadá, China, Malasia, Singapur y Filipinas, debido a las propiedades nutraceuticas que la caracterizan y a los numerosos beneficios nutricionales que la hacen atractiva para diversos públicos, permitiendo que su mercado se amplíe día a día.

Agradecimientos

Publicación financiada con recursos PFCE 2006.

Literatura citada

- Alvarado, R. 2011. Caracterización de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) y diseño de un producto funcional que la contiene como ingrediente. *Revista de la Universidad del Valle Guatemala*. 23:43-49.
- Arfux, C. R.; Menegati, C.; da Silva, R.; Rondon, J.; Gabriel, V.; Costa, F.; Carvalho, C. M.; de Souza, P. e da Silva, C. 2015. Cultivo *in vitro* de *Salvia hispanica* L. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*. 19(2):1555-1560.
- Ayerza, R. and Coates, W. 2004. Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Trop. Sci.* 44(3):131-135.
- Ayerza, R. y Coates, W. 2006. Chía redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. *Del Nuevo Extremo*. Buenos Aires, Argentina. 232 p.
- Ayerza, R. and Coates, W. 2009. Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and α -linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selection. *Industrial Crops and Products*. 30(2):321-324.
- Beltrán, O. M. C. y Romero, M. R. 2003. La chía, alimento milenario. Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos. ENCB. Instituto Politécnico Nacional (IPN), México. 25 p.

ones with the highest weight and are composed of all their own structures of the seeds, while those of brown color are of lower weight and are empty seeds, having null development of the seminal structures (Rovati, 2010).

Perspectives of chia

Mexico has the optimal ecological conditions for chia production under temporary conditions, and these conditions are optimally found in low and intermediate altitude areas, which shows that the climatic conditions of the areas between 0 and 2 200 m above sea level meet the requirements (Jamboonsri *et al.*, 2012; Orozco *et al.* 2014), with excellent productivity in the high regions of Jalisco, Nayarit, Michoacán, Morelos, Puebla, México, Guerrero, Oaxaca and Chiapas. Soil type, precipitation and altitude are the factors that determine optimal areas for cultivation (Ramírez and Lozano, 2015).

Conclusions

In the Mexican agricultural context, the collapse of the prices of basic crops, farmers are looking for alternative crops that meet the current food needs, that allow to cope with climate changes and that meet the required nutritional characteristics. México is particularly vulnerable to the effects of climate change by being placed in areas that will be impacted by droughts (Northwest) and floods (Southeast), caused by extreme weather events, and due to its weak social and economic structure. The conditions under which agriculture is developed in México, both temporary and irrigated, also determine their vulnerability to extreme weather events.

One of these crops is chia, whose production in México has increased 500% in the last 7 years due to the price increase, which has aroused interest in hundreds of farmers and, according to the perspectives, production will continue to increase. This seed is appreciated and requested in Europe, the United States of America, Canada, China, Malaysia, Singapore and the Philippines, due to the nutraceutical properties that characterize it and the numerous nutritional benefits that make it attractive for different publics, allowing its market expand day by day.

End of the English version



- Bernal, A. E.; Iñaguazo, J. J. y Chanducas, B. 2015. Efecto del consumo de chía (*Salvia hispanica*) sobre los síntomas de estreñimiento que presentan los estudiantes de una universidad particular de Lima Este. *Revista Científica de Ciencias de la Salud*. 8(2):8-24.
- Bueno, M.; Di Sapio, O.; Barolo, M.; Busilacchi, H.; Quiroga, M. y Severin, C. 2010. Análisis de la calidad de los frutos de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae) comercializados en la ciudad de Rosario (Santa Fe, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 9(3):221-7.
- Busilacchi, H.; Quiroga, M.; Bueno, M.; Di Sapio, O.; Voykos, F. y Severin, C. 2013. Evaluación de *Salvia hispanica* L. cultivada en el sur de Santa Fe (República Argentina). *INCA. Cultivos Tropicales*. 34(4):55-59.
- Busilacchi, H.; Qüesta T. y Zuliani, S. 2015. La chía como una nueva alternativa productiva para la región pampeana. *Agromensajes*. 41(2):37-46.
- Cahill, J. P. 2004. Genetic diversity among varieties of chía (*Salvia hispanica* L.). *Genetic Res. Crop Ev.* 51(7):773-781.
- Capitani, M. I.; Spotorno, V.; Nolasco, S. N. and Tomás, M. C. 2012. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LW. Food Sci. Technol.* 45(1):94-102.
- Capitani, M. I.; Nolasco, S. M. and Tomás, M. C. 2013. Effect of mucilage extraction on the functional properties of Chia meals. *Muzzalupo Food Industry*. In Tech, Croacia. 421-437 pp.
- Coates, W. 2011. Whole and ground chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, chia oil-effects on plasma lipids and fatty acids. *Nuts & seeds in health and disease prevention*. Chapter 37: Academic Press is an imprint of Elsevier. 309-315 pp.
- Dal' Maso, E.; Casarin, J.; da Costa, P.; Cavalheiro, B.; dos Santos, B. e Guimarães, V. F. 2013. Salinidade na germinação e desenvolvimento inicial de sementes de chía. *Cultivando o Saber. Cascavel*. 6(3):26-39.
- Di Sapio, B. O.; Busilacchi, M. H.; Quiroga, M. y Severin, C. 2012. Caracterización morfoanatómica de hoja, tallo, fruto y semilla de *Salvia hispanica* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 11(3):249-268.
- FAO/WHO. 2016. Report joint FAO/WHO food standards programme. Codex alimentarius commission. Thirty-ninth Session. Italy. 80 p.
- Guiotto, E. N.; Capitani, M. I.; Nolasco, S. M. and Tomás, M. C. 2016. Stability of Oil in Water Emulsions with Sunflower (*Helianthus annuus* L.) and Chia (*Salvia hispanica* L.) By Products. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 93(1):133-143.
- Guiotto, E. N.; Ixtaina, V. Y.; Tomás, M. C. and Nolasco, S. M. 2013. Moisture-dependent engineering properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Industry Intech*. 381-397.
- Hernández, J. A. y Miranda, S. 2008. Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). *Rev. Fitotec. Mex.* 31(2):105-113.
- Iglesias, P. E. and Haros, M. 2013. Evaluation of performance of dough and bread incorporating chía (*Salvia hispanica* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 237(6):865-874.
- Inglett, G. E.; Chen, D.; Liu, S. X. and Lee, S. 2014. Pasting and rheological properties of oat products dry-blended with ground chia seeds. *LWT-Food Sci. Technol.* 55(1):148-156.
- Ixtaina, V. Y.; Mattea, F.; Cardarelli, D. A.; Mattea, M. A.; Nolasco, S. M. and Tomás, M. C. 2011. Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of Argentinean chia seed oil. *J. Am. Chem. Soc.* 88(2):289-298.
- Ixtaina, V. Y.; Martínez, M. L.; Spotorno, V.; Mateo, C.; Maestri, D.; Diehl, B.; Nolasco, S. M. and Tomás, M. C. 2011. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *J. Food Comp. Anal.* 24(2):166-174.
- Jamboonsri, W.; Phillips, T. D.; Geneve, R. L.; Cahill, J. P. and Hildebrand, D. F. 2012. Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L. a new ω 3 source. *Gen. Res. Crop Evol.* 59(2):171-178.
- Jeong, S. K.; Park, H. J.; Park, B. D. and Kim, I. H. 2010. Effectiveness of topical chia seed oil on pruritus of end-stage renal disease (ESRD) patients and healthy volunteers. *Ann Dermatol.* 22(2):143-148.
- Luna, P.; Lopes, E.; Silva, A.; Sammán, N. C.; Dupas, M. and Kil, Y. 2015. Functional bread with n-3 alpha linolenic acid from whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour. *J. Food Sci. Technol.* 52(7):4475-4482.
- Marconi, P. L.; López, M. C.; De Meester, J.; Bovjin, C. and Alvarez, M. A. 2013. *In vitro* establishment of *Salvia hispanica* L. plants and callus. *Biotechnol. Veg.* 13(4):203-207.
- Migliavacca, R.; da Silva, T. R.; de Vasconcelos, A. L.; Filho, W. e Baptistella, J. L. 2014. O cultivo da chia no Brasil: futuro e perspectivas. *J. Agron. Sci. Umuarama*, 3(especial):161-179.
- Miranda, F. 2012. Guía técnica para el manejo del cultivo de Chía (*Salvia hispanica*) en Nicaragua. *Sebaco*. 14 p.
- Mohd, N.; Keong, S.; Yong, W.; Kee, B.; Wei, S. and Guan, S. 2012. The Promising Future of Chía (*Salvia hispanica* L.). *J. Bio. Biotechnol.* 1(2012):1-9.
- Muñoz, L. A.; Cobos, A.; Díaz, O. and Aguilera, J. 2012. Chia seeds: microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of food Engineering*. 108(1):216-224.
- Muñoz, L. A.; Aguilera, J. M.; Rodríguez, T. L.; Cobos, A. and Díaz, O. 2012. Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. *J. Food Eng.* 111(3):511-518.
- Orozco, G.; Duran, N.; González, D. R.; Zarazúa, P.; Ramírez, G. y Mena, S. 2014. Proyecciones de cambio climático y potencial productivo para *Salvia hispanica* L. en las zonas agrícolas de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 10:1831-1842.
- Ouzounidou, G.; Skiada, V.; Papadopoulou, K. K.; Stamatis, N.; Kavvadias, V.; Eleftheriadis, E. and Gaitis, F. 2015. Effects of soil pH and arbuscular mycorrhiza (AM) inoculation on growth and chemical composition of chia (*Salvia hispanica* L.) leaves. *Braz. J. Bot.* 38(3):487-495.
- Ramamoorthy, T. P. 2001. *Salvia hispanica* L. In: flora fanerogámica del Valle de México. Calderón, G. de Rzedowski y Rzedowski, J. (Eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Instituto de Ecología, Pátzcuaro, Michoacán. 632-644.
- Ramírez, J. G. and Lozano, C. M. G. 2015. Potential for Growing *Salvia hispanica* L., areas under Rainfed Conditions in México. *Agric. Sci.* 6(09):1048-1057.
- Rojas, D. V. 2013. Efecto de la aplicación de herbicidas sobre el rendimiento en Chía (*Salvia hispanica* L.) en la región metropolitana. In: Memoria de Ingeniera Agrónoma-Universidad de Chile Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago, Chile. 39 p.
- Rovati, A.; Escobar, E. y Prado, C. 2010. Particularidades de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) EEAOC. *Avance Agroindustrial*. 33(3):40-43.
- SAGARPA. 2012. México: el sector agropecuario ante el desafío del cambio climático. 439 p.

- Segura, C. M. R.; Ciau, S. N.; Rosado, R. G.; Chel, G. L. and Betancur, A. D. 2014. Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán, México. *Agric. Sci.* 5(3):220-226.
- SIAP. 2016. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado>.
- Toscano, L.; Toscano, L.; Tavares, R.; da Silva, C. S. and Silva, A. S. 2015. Chia induces clinically discrete weight loss and improves lipid profile only in altered previous values. *Nutrición Hospitalaria.* 31(3):1176-1182.
- Ullah, R.; Nadeem, M.; Khaliq, A.; Imran, M.; Mehmood, S.; Javid, A. and Hussain, J. 2015. Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *J. Food Sci. Technol.* 53(4):1750-1758.
- Vuksan, V.; Jenkins, A. L.; Dias, A.G.; Lee, A. S.; Jovanovski, E.; Rogovik, A. L. and Hanna, A. 2010. Reduction in postprandial glucose excursion and prolongation of satiety: possible explanation of the long-term effects of whole grain Salba (*Salvia hispanica* L.). *Eur. J. Clinical Nutr.* 64(4):436-438.
- Yeboah, S.; Owusu, D. E.; Lamptey, J. N. L.; Mochiah, M. B.; Lamptey, S.; Oteng, D. P.; Adama, I.; Appiah, K. Z. and Agyeman, K. 2014. Influence of planting methods and density on performance of chia (*Salvia hispanica* L.) and its suitability as an oilseed plant. *Agric. Sci.* 2(4):14-26.
- Zettel, V.; Krämer, A.; Hecker, F. and Hitzmann, B. 2015. Influence of gel from ground chia (*Salvia hispanica* L.) for wheat bread production. *Eur. Food Res. Technol.* 240(3):655-662.

7.2. Caracterización agronómica de germoplasma de *Salvia hispanica* L.

1 **Caracterización agronómica de germoplasma de *Salvia hispanica* L.**

2 **Agronomic characterization of germplasm of *Salvia hispanica* L.**

3 **Andrés Xingú López¹, Andrés González Huerta², Eulogio de la Cruz Torres³ Salvador Montes**
4 **Hernandez⁴ y Martín Rubí Arriaga^{2*}**

5 ¹Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas.
6 Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México. C.P. 50200.
7 andrésxl2000@yahoo.com.mx

8 ²Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas,
9 Toluca, México. C.P. 50200. agonzalezh@uaemex.mx

10 ³Departamento de Biología. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-
11 Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750. eulogio.delacruz@inin.gob.mx

12 ⁴Campo Experimental Bajío, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
13 (INIFAP), Km 6.5 Carretera Celaya-San Miguel de Allende, Celaya, Guanajuato, México. C.P. 38110.
14 montes.salvador@inifap.gob.mx

15 *Autor responsable: m_rubi65@yahoo.com.mx

16 **Resumen**

17 *Salvia hispanica* L. (chía) es una planta herbácea originaria de México, pertenece a la familia Lamiaceae.
18 El cultivo fue prohibido y sustituido por otros cereales durante la conquista. Por el contenido nutricional y
19 propiedades nutraceuticas que posee, se ha reintroducido y actualmente se considera un alimento potencial
20 altamente nutritivo. La superficie sembrada se incrementa anualmente, generalmente los materiales
21 cultivados son genotipos locales o introducidos, debido que son escasas las variedades mejoradas. Con el
22 objetivo de identificar accesiones sobresalientes, orientadas a una mayor eficiencia del cultivo, durante el
23 ciclo agrícola primavera-verano 2017, se caracterizaron agrónomicamente 32 accesiones de *S. hispanica*,

1 en siete ambientes, bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Se evaluaron las
2 variables: altura de planta, diámetro de tallo, peso de planta, número de espigas, peso de grano por planta y
3 rendimiento por hectárea. Las accesiones 1, 2, 12 y 22 presentaron mayor rendimiento de semilla por ha,
4 altura de planta, número de espigas florales, frutos por espiga y peso seco de planta. El promedio de
5 producción de semilla fue de 924 kg ha⁻¹. El mejor ambiente para producción de chía fue Rancho San
6 Lorenzo, Metepec. El análisis clúster agrupó a las accesiones en 5 conglomerados, agrupándolos por su
7 rendimiento y variables afines.

8 **Palabras clave:** Chía, variabilidad genética, variables agronómicas.

9 **Abstract**

10 *Salvia hispanica* L. (chía) is an herbaceous plant originated in Mexico, pertaining to Lamiaceae family. Its
11 crop was forbidden by conquerors and it was substituted with old world cereals. Due to its nutritional value
12 and to its nutraceutical properties, it has been reintroduced and nowadays it is considered as a potential
13 highly nutritive food. And grown surface increases each year. Cultivation of chía, relays on local or
14 introduced land races, having few improved cultivars. Aiming to identify outstanding accessions, to make
15 a of chía a more efficient crop, during the growing cycle spring-autumn 2017, 32 accessions of *S. hispanica*,
16 were cultivated and characterized under seven environmental conditions in Mexico State, under a
17 completely randomized experimental design with three replications. Evaluated traits were: plant height,
18 stem diameter, plant weight, spike number, grain weight per plant, and yield per hectare. Accessions 1, 2,
19 12 and 22 exhibited higher yield of seeds per hectare, plant height, number of floral spikes, fruits per spike
20 and plant dry weight. Average seed production was 924 kg per hectare. Best growing location was Rancho
21 San Lorenzo, Metepec municipality in México State. Cluster analysis grouped accessions in five
22 conglomerates, according to yield and related variables.

23 **Key words:** Chia, genetic variability, agronomic variables.

24

1 **Introducción**

2 *Salvia hispanica* L. es una planta herbácea de la familia Lamiaceae, nativa de las zonas montañosas del
3 sudoeste de México, Guatemala y Nicaragua. Base de la dieta alimentaría de los pueblos indígenas de
4 México, fue uno de los cuatro cultivos principales de los aztecas, superado únicamente por maíz (*Zea mays*
5 L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), y chile (*Capsicum annuum* L.). Durante la conquista de la Nueva España,
6 se prohibió el cultivo.

7 En las últimas décadas ha resurgido, las propiedades nutraceuticas y sus atractivos beneficios nutricionales
8 han ampliado su consumo (Xingú *et al.*, 2017); posee aceite con un 68% de ácido α -linolénico el más
9 importante de los ácidos grasos omega-3 para consumo humano, que lo convierten en la fuente vegetal más
10 rica en antioxidantes (Orona-Tamayo *et al.*, 2017), vitaminas B1, B2 y B3 (Jamshidi *et al.*, 2019) fibra,
11 proteínas y minerales como fósforo, calcio, potasio, magnesio, hierro, zinc y sodio (Michajluk *et al.*, 2018).
12 Además posee propiedades medicinales (Deka and Das, 2017), tiene efectos beneficiosos para el tratamiento
13 del síndrome metabólico (Lombardo y Chicco, 2017), regula glucosa en sangre y favorece la coagulación
14 sanguínea (Nieman *et al.*, 2012), disminuye el colesterol malo y triglicéridos, y mejora la función intestinal
15 (Sandoval-Oliveros y Paredes-López, 2013).

16 La demanda global de chía comenzó a partir de los años noventa, actualmente se cultiva en Argentina,
17 Bolivia, Paraguay, Australia y México principalmente (Busilacchi *et al.*, 2015), donde su consumo se
18 incrementa día con día, exportándose a Perú, Estados Unidos, Chile, Alemania, Países Bajos, Reino Unido,
19 Dinamarca, Japón, Canadá, Nueva Zelanda, Singapur y Sudáfrica (Suárez, 2018).

20 En México, la producción comercial de esta especie se desarrolla en ocho entidades federativas. No obstante
21 que durante el periodo 2006-2009, la superficie sembrada con chía era menor a las 50 hectáreas; para el año
22 2010 aumentó a 2 300 ha, cifra que fue en constante incremento hasta el ciclo de cultivo 2013 que superó
23 las 18 000 ha. Sin embargo, a partir del 2014 registró una tendencia decreciente y durante el ciclo primavera-
24 verano 2017, se cultivó únicamente en 5 400 ha con una producción de 3 200 toneladas (SIAP, 2019).

1 Reducción debida a factores como: falta de experiencia sobre el cultivo, desconocimiento de las propiedades
2 nutricionales y limitada información sobre variedades mejoradas (Sosa-Baldivia y Ruiz-Ibarra, 2017).

3 El estado de Jalisco es el mayor productor al concentrar más del 65% de la superficie cultivada que aporta
4 un volumen superior a 2 000 toneladas, equivalentes al 63% de la producción. El cultivo de chía se basa en
5 su mayoría en genotipos regionales. No obstante que se han establecido bancos de germoplasma en
6 instituciones como la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), El Instituto Nacional de Investigaciones
7 Nucleares (ININ), El Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado
8 de México (ICAMEX), destaca la colección de accesiones de la empresa Chíablanca SC de RL ubicada en
9 Acatic, Jalisco, que concentran colectas de las diferentes zonas productoras de esta especie.

10 La información sobre la caracterización de materiales de esta especie es escasa; Hernández y Miranda (2008)
11 estudiaron tres ecotipos de chía cultivada, encontrando similitud en tamaño de semilla y densidad de
12 inflorescencia, pero con diferencias en ciclo biológico, largo y ancho de corola, ancho de inflorescencia y
13 altura de planta y concluyeron que entre las estructuras morfológicas que diferencian a *S. hispanica*
14 cultivada de la silvestre son: tamaño de flor, densidad de verticilos en la inflorescencia, peso de semilla y
15 duración del ciclo biológico.

16 Sosa-Baldivia *et al.*, (2017), evaluó materiales provenientes de genotipo G-39, reporta potenciales
17 productivos con rendimientos de 1 723 kg ha⁻¹, que relaciona con plantas por m², altura de la planta y
18 longitud de inflorescencia principal, en tanto que Grimes *et al.*, (2018) reportó 1 274.7 kg ha⁻¹ de la variedad
19 Sahi Alba 914, de la patente US 9,686,926 B2.

20 Las investigaciones actuales se han centrado en demostrar las propiedades como alimento funcional
21 (Grancieri *et. al.*, 2019) pero han sido insuficientes los trabajos de descripción de los materiales disponibles
22 de esta especie, por lo que surgió la presente investigación con el objetivo de caracterizar agrónomicamente
23 accesiones de chía de las principales regiones productoras de México.

24

1 **Materiales y métodos**

2 **Material genético**

3 Se obtuvieron 250 gramos de semillas de cada una de las 32 accesiones de chíá (Cuadro 1), de las cuales,
4 dos fueron donadas por el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del
5 Estado de México (ICAMEX), seis por el banco de germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo,
6 13 por la empresa Chíablanca, S. C. de R. L. (ubicada en Acatic, Jalisco) y 11 proporcionadas por el Instituto
7 Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ).

8 **Cuadro 1. Accesiones de *Salvia hispanica* L.**

Número	Genealogía	Color de semilla	Institución
1	CHGRD	Negra	ICAMEX
2	CHCRI	Negra	ICAMEX
3	ININ1	Negra	ININ
4	ININ2	Gris Jaspeado	ININ
5	ININ3	Blanca	ININ
6	ININ4	Negra	ININ
7	ININ5	Negra	ININ
8	ININ6	Negra	ININ
9	ININ7	Gris Jaspeado	ININ
10	ININ8	Blanca	ININ
11	ININ9	Gris Jaspeado	ININ
12	ININ10	Blanca	ININ
13	ININ11	Negra	ININ
14	17Pz	Blanca	Chíablanca SC de RL
15	83FB5B	Blanca	Chíablanca SC de RL

16	59 Normal	Negra	Chíablanca SC de RL
17	66 Grano Café	Café	Chíablanca SC de RL
18	122 Az	Negra	Chíablanca SC de RL
19	64	Negra	Chíablanca SC de RL
20	SLVTTLA	Negra	Chíablanca SC de RL
21	B54	Blanca	Chíablanca SC de RL
22	CRIPINA	Pinta	Chíablanca SC de RL
23	680	Negra	Chíablanca SC de RL
24	346	Negra	Chíablanca SC de RL
25	30Pz	Blanco	Chíablanca SC de RL
26	P75ZN	Gris Jaspeado	Chíablanca SC de RL
27	CNPGA	Negra	Banco germoplasma Chapingo
28	CNPGB	Negra	Banco germoplasma Chapingo
29	CPJGA	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
30	CPJGB	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
31	CBJGA	Blanca	Banco germoplasma Chapingo
32	CBJGB	Blanca	Banco germoplasma Chapingo

1

2 **Localidades de evaluación**

3 Los cultivos se establecieron en el ciclo agrícola primavera-verano 2017 en las localidades cuyas

4 características se presentan en el Cuadro 2.

5 **Cuadro 2. Características de las comunidades donde se estableció el cultivo de chíá.**

Característica	CPB	RSL	SFT	XAL	SJX
----------------	-----	-----	-----	-----	-----

Latitud Norte	19°24'49"	19°14'40"	19°18'17"	19°10'51"	19°00'50"
Latitud Oeste	99°41'29"	99°35'36"	99°46'29"	99°25'41"	99°31'52"
Altitud (m)	2640	2606	2750	2770	2330
Clima	C(w2)(w)ig	C(w2)(w)ig	C(w2)(w)ig	Cwb	C(w2)(w)ig
Suelo	Vertisol	Phaeozem	Vertisol	Andosol	Andosol
Precipitación media anual (mm)	790	980	777	1069	1000
Topografía	Llanura	Llanura	Llanura	Montaña	Montaña

1 Acrónimos. CPB: El Cerrillo Piedras Blancas (municipio de Toluca), RSL: Rancho San Lorenzo (Metepec),
2 SFT: San Francisco Tlalcilcalpan (Almoloya de Juárez), XAL: Xalatlaco (Xalatlaco), SJX: San Juan
3 Xochiaca (Tenancingo).

4

5 **Diseño y unidad experimental**

6 Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones por ambiente. La
7 parcela consto de tres surcos de 4.5 x 0.80 m; cada surco con 90 plantas a una distancia de 0.05 m. El surco
8 central fue la unidad experimental útil.

9 **Establecimiento y Conducción de experimento**

10 La preparación del suelo consistió en barbecho, dos pasos de rastra y surcado. La siembra se realizó
11 manualmente a chorrillo sobre el lomo del surco (mayo 2017). Posteriormente se llevó a cabo un aclareo
12 para ajustar la densidad requerida. Transcurridos entre 30 y 45 días después de la emergencia de las
13 plántulas, se realizó el control de malezas de forma manual.

14 **Variables evaluadas**

1 Se seleccionaron 10 plantas de cada unidad experimental y se evaluaron las siguientes variables: altura de
2 planta (desde la base del tallo hasta el ápice de la espiga principal, registrada en cm), diámetro de la base
3 del tallo (mm), peso seco de planta madura (gramos), número de frutos por flósculo en espiga principal,
4 largo de espiga principal (cm), largo de espiga principal desde nudo (cm), número de ramas laterales,
5 número de espigas florales totales por planta), índice de cosecha (razón entre el peso de semilla y peso total
6 de planta no trillada) y rendimiento en kg (plantas contenidas en un metro lineal).

7 **Análisis de datos**

8 En el paquete estadístico SAS versión 6.01 se llevaron a cabo los siguientes análisis: varianza (individual y
9 combinado), comparación de medias entre sitios y entre cultivares (individual y combinado). Las
10 interrelaciones entre cultivares y entre variables se determinaron mediante un análisis de componentes
11 principales (Sánchez, 1995).

12 **Resultados y discusión**

13 Se obtuvo significancia ($P \leq 0.01$) entre ambientes (A), entre accesiones de chífa (C) y en la interacción
14 accesiones (C) por ambientes (A) para peso de planta, diámetro de tallo, altura de planta, número de frutos
15 por espiga, longitud de espiga, longitud de espiga desde nudo, número de ramas por planta, número de
16 espigas por planta, peso de grano por planta, índice de cosecha y rendimiento en kg ha^{-1} (Cuadro 3).

17 El Cuadro 4 muestra que no obstante que el Rancho San Lorenzo (RSL) superó al resto de las localidades
18 en cuanto altura de planta, Rancho San Lorenzo 1 (RSL1) presentó el mayor peso por planta, peso de grano
19 por planta y rendimiento. RSL, RSL1, SFT y XAL presentan similitud estadística en longitud de espiga
20 desde nudo y número de frutos por espiga. RSL, RSL1 y SFT superan al resto de las localidades en número
21 de espigas por planta. RSL y RSL1 poseen mayor longitud de espiga y número de ramas por planta. Lo
22 anterior permite establecer que el mejor comportamiento se presentó en las localidades RSL y RSL1, lo que
23 perfila a este sitio como una zona potencial para promover el desarrollo del cultivo de chífa. Las diferencias
24 en los parámetros productivos del cultivo de chífa en las localidades evaluadas pueden atribuirse a que las

1 condiciones de cada localidad pueden influir en el desarrollo y producción de las colectas (Durán *et al.*,
2 2016), aunque el efecto del genotipo es el más marcado (Busilacchi *et al.*, 2013).

3 En relación con las accesiones, en el Cuadro 5, sobresalen las selecciones 1 (semilla negras) y 12 (semilla
4 blanca) en peso de grano por planta y rendimiento (superan los 1400 kg ha⁻¹); el peso propio de semilla
5 influye en el rendimiento, las semillas de color gris jaspeado y blanco, son las más pesadas en comparación
6 con las marrón uniforme (Rovati *et al.*, 2012). Los materiales 19 y la 23 mostraron peso de semilla por
7 planta y rendimientos menores a 50 kg ha⁻¹, genotipos afectados por heladas en plena floración, los cuales
8 convendría evaluar en zonas con menor riesgo de heladas o bien modificar la época de siembra debido a
9 que la planta es sensible a bajas temperaturas (González, 2016).

10 Las accesiones que superan los rendimientos de 1000 kg ha⁻¹ de semilla, también superan 30 espigas florales
11 y los 90 cm de altura y los 34 g de peso seco de planta, se podría deducir que estas variables están
12 estrechamente relacionadas con el rendimiento de semilla (Karim *et al.*, 2016).

1 **Cuadro 3. Media, coeficiente de variación, cuadrados medios y significancia estadística de los valores de F del análisis de varianza combinado**
 2 **(siete ambientes) de 11 variables. Valle de Toluca, 2017.**

F V	GL	PSP	DT	AP	NFE	LE	LEN	NRP	NEP	PGP	IC	R
Ambiente (A)	6	1147.48**	82.53 **	616.49 **	76.61**	64.65**	160.54**	500.47**	391.51**	392.44**	106.72**	369.93**
Repeticiones/A	14	0.13	0.01	0.13	0.01	0.06	0.05	0.14	0.09	0.37	0.04	0.36
Accesiones (C)	31	8.56**	8.40**	18.90**	8.54**	8.39**	17.20**	12.96**	13.50**	19.64**	13.11**	20.01**
C*A	186	8.19**	6.01**	7.41**	4.02**	2.67**	4.25**	5,22**	5.38**	7.35**	4.02**	7.27**
Error	434	81.81	8.37	61.11	14.05	31.94	2.84	2.09	108.105	4.224	14.43	108 381
Media		37.87	8.88	90.61	12.79	28.13	15.59	16.63	41.64	5.66	18.11	924.29
C V (%)		23.88	32.56	8.63	29.28	20.09	10.81	8.68	24.97	36,287	20.98	35.61

3 PSP=peso seco de planta, DT=diámetro de tallo, AP=altura de planta, NFE=Número de frutos por flósculo de espiga principal, LE=longitud de
 4 espiga, LEN=longitud de la espiga desde nudo, NRP=número de ramas por planta, NEP=número de espigas por planta, PGP=peso de grano por
 5 planta, IC=índice de cosecha y R=rendimiento.

6 **Cuadro 4. Comparación de medias entre localidades (Tukey p= 0.01).**

Ambiente	PSP	DT	AP	NFE	LE	LEN	NRP	NEP	PGP	IC	R
CPB	7.606 f	8.448 c	62.72 f	8.706 b	22.476 d	12.478 c	12.493 d	21.027 c	1.572 d	20.712 b	374.730 de
CPB1	9.281 f	7.612 cd	69.658 e	9.585 b	25.043 cd	13.823 b	13.799 c	22.334 c	1.979 d	22.880 a	316.350 f
RSL	55.054 c	11.927 b	111.498 a	15.785 a	33.986 a	17.156 a	20.28 a	63.174 a	8.324 b	15.127 d	1 333.350 b
RSL1	86.419 a	7.450 cd	106.824 b	15.742 a	33.745 a	17.156 a	20.349 a	63.156 a	13.019 a	15.330 d	2 083.11 a

SFT	66.556 b	13.404 a	109.239 ab	15.442 a	30.722 b	17.102 a	18.202 b	64.384 a	7.535 b	12.676 e	1 206.880 b
XAL	23.753 d	6.827 d	92.965 c	14.879 a	26.135 c	17.781 a	17.754 b	34.587 b	3.894 c	17.455 c	623.290 c
SJX	16.435 e	6.552 d	81.338 d	9.439 b	24.807 cd	13.656 b	13.576 c	22.826 c	3.324 c	22.603 ab	532.370 cd

1 PSP=peso seco de planta, DT=diámetro de tallo, AP=altura de planta, NFE=número de frutos por flósculo de espiga principal, LE=longitud de
2 espiga, LEN=longitud de la espiga desde nudo, NRP=número de ramas por planta, NEP=número de espigas por planta, PGP=peso de grano por
3 planta, IC=índice de cosecha y R=rendimiento. CPB=Cerrillo Piedras Blancas, CPB1=Cerrillo Piedras Blancas 1, RSL=Rancho San Lorenzo,
4 RSL1=Rancho San Lorenzo 1, SFT=San Francisco Tlalcalcalpan, XAL=Xalatlaco y SJX=San Juan Xochiaca.

5

1 **Cuadro 5. Medias de variables agronómicas de chíá cultivada en siete ambientes.**

A	PSP	DT	AP	NFE	LE	LEN	NR	NEP	PGP	IC	R
1	48.68ab	8.564de	100.26a-d	12.154bc	31.751bc	15.248d-i	14.549i	46.338a-h	8.66a	18.523b-g	1 403.8a
2	45.617a-d	8.951cde	102.319abc	11.659bc	29.876nc	17.219a-d	16.559b-h	53.279ab	6.413a-d	16.493e-h	1 043.2a-d
3	42.565a-d	8.235ed	103.835ab	10.744bc	28.548bcd	15.886b-g	18.073ab	48.795a-f	5.955cd	17.299c-g	972.4bcd
4	35.863c-h	7.533e	94.86b-i	20.256a	42.073a	12.886jk	18.051ab	33.965g-l	6.673a-d	19.969b-e	1 087.5a-d
5	35.17c-h	8.549ed	92.051d-j	11.613bc	34.251b	14.305h-k	17.425a-f	32.837h-l	6.366a-d	18.513b-g	1 037.9a-d
6	36.897b-h	12.578abc	99.27a-f	14.143b	30.759bc	14.457h-k	16.238b-i	37.135d-l	6.992a-d	20.005b-e	1 141.1a-d
7	36.633d-h	13.462ab	105.384a	12.536bc	28.754bcd	15.448c-h	17.727a-d	33.659g-l	6.544a-d	19.94c-e	1 071.2a-d
8	44.828a-d	11.529a-d	101.967a-d	14.483b	26.715cd	16.381b-f	18.66a	42.448b-k	7.187abc	17.843b-g	1 175.6abc
9	34.929d-h	13.929a	91.203e-k	13.448b	26.156cd	16.733a-e	16.959a-g	26.859l	5.23cde	18.361b-g	854.0cde
10	30.082gh	7.45e	86.61i-k	14.708b	26.605cd	16.981a-d	16.457b-h	28.906 kl	4.856cde	19.981b-e	797.7cde
11	40.091a-g	8.859cde	93.05c-i	20.21a	30.563bc	18.724a	16.432b-i	42.773a-j	6.651a-d	20.402a-e	1 091.9a-d
12	47.378abc	8.918cde	93.251c-g	13.29bc	28.22bcd	15.219d-i	16.483b-h	49.79a-d	8.898a	19.463b-f	1 444.7a
13	38.939a-g	7.977de	97.886a-g	11.211bc	26.439cd	15.8667c-g	17.591a-f	40.489b-l	4.73cde	16.086e-i	777.9cde
14	31.273e-h	7.228e	85.765i-l	12.958bc	27.953bcd	16.319b-f	15.968d-i	35.797e-l	6.528a-d	22.584ab	1 064.9a-d
15	26.496h	7.184e	81.183kl	13.137bc	29.38bc	16.257b-f	15.825e-i	29.408jkl	6.203a-d	25.373a	1 014.7a-d
16	34.056d-h	7.817de	80.689l	13.221bc	29.648bc	17.876ab	14.892hi	55.311a	6.392a-d	18.611b-g	1 039a-d

17	37.185b-h	8.611de	85.286i-l	13.425b	29.655bc	15.286d-i	15.743ghi	53.386ab	3.06ef	11.355i	502.3ef
18	38.931a-g	9.035cde	89.03f-l	11.987bc	28.09bcd	14.533e-k	17.609a-f	49.068a-e	1.847fg	11.571hi	306.5fg
19	41.537a-g	9.976b-e	91.383e-k	10.29bc	21.659d	14.324f-k	18.546a	30.957i-l	0.109g	14.604f-i	20.8g
20	38.722a-g	7.498e	91.383i-l	12.255bc	26.706cd	17.591abc	16.454b-h	43.687a-i	6.179bcd	19.366b-f	1 006.6bcd
21	41.892a-g	7.589e	91.383jkl	14.556b	27.123bcd	17.552abc	16.108c-i	51.476abc	6.451a-d	21.694abc	1 053.4a-d
22	49.767a	9.369cde	91.383e-l	12.484bc	26.203cd	15.333d-i	16.867a-g	51.738abc	6.348a-d	16.264e-i	1 027.2a-d
23	42.181a-f	9.028cde	91.383a-g	8.506c	21.83d	12.771k	17.648a-e	36.522d-l	0.199g	14.606f-i	45.7g
24	42.498a-e	8.199de	91.383c-i	10.081bc	25.691cd	13.191ijk	17.943abc	52.089abc	6.645a-d	16.602d-g	1 081.1a-d
25	31.057e-h	6.959e	91.383jkl	11.56bc	25.558cd	16.124b-g	15.171gni	35.175f-l	6.121bcd	20.307b-e	1 000.3bcd
26	32.048e-h	7.275e	91.383i-l	11.263bc	28.344bcd	17.781ab	15.165ghi	36.163d-l	4.906de	15.88e-i	800.3de
27	30.354fgh	7.509e	91.383kl	11.379bc	26.869bcd	14g-k	15.267ghi	34.271g-l	4.429d-h	13.958ghi	720.2d-h
28	32.251fgh	8.539e	91.383f-l	12.29bc	26.428cd	15.991b-g	17.349a-f	38.584c-l	6.841a-d	21.576a-d	1 115.8a-d
29	38.889a-g	10.7a-e	91.383g-l	11.262bc	25.146cd	15.8b-g	17.657a-e	47.019a-g	6.105bcd	17.69b-g	991.5bcd
30	34.556d-g	10.627a-e	91.383l	11.652bc	27.212bcd	14.648e-k	16.124c-i	46.243a-h	4.783cde	16.351e-h	781.3cde
31	32.846e-h	7.289e	91.383kl	13.701b	28.906bcd	15.019d-j	14.813hi	38.681c-l	5.618cde	19.277b-f	917.9cde
32	37.695b-h	7.471e	91.383h-l	13.033bc	27.071bcd	13.238h-k	16d-l	49.668a-d	7.305abc	19.027b-f	1 188.7abc

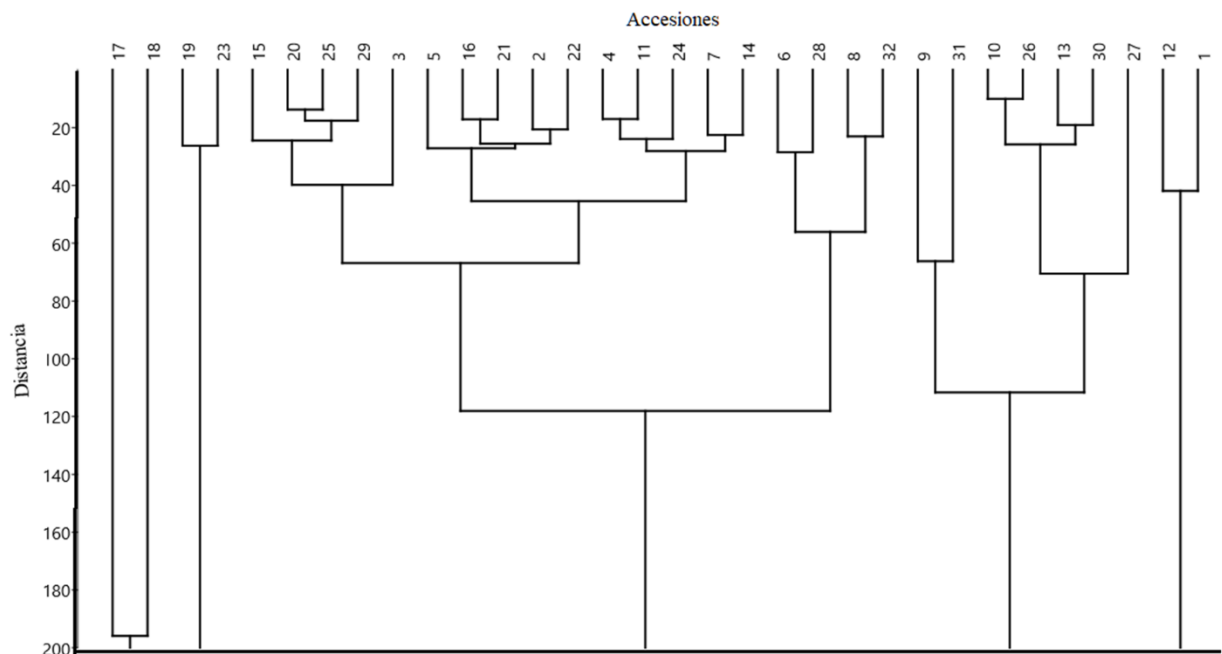
1 El dendrograma muestra que a una distancia euclidiana de 200 se integraron cinco grupos (Fig. 1). El
2 conjunto 1 se formó por las accesiones 17 y 18, las cuales presentaron maduración fisiológica a los
3 160 días después de la siembra, a diferencia de las de ciclo intermedio que tienen su producción a los
4 150 días. La producción es baja, 306 kg ha⁻¹ (18) y 502 kg ha⁻¹ (17), pero que están dentro de los
5 rendimientos de la media nacional de 500 kg ha⁻¹ (SIAP, 2019) El conglomerado 2 se formó de las
6 accesiones 19 y 23, quienes presentaron floración a los 160 días, y presentaron daño por frío al
7 presentarse la temporada de heladas, por lo cual su producción fue mínima; de 20.8 kg ha⁻¹ (19) y
8 45.7 kg ha⁻¹ (23), esto confirma que temperaturas por debajo de 5°C, afectan el cultivo de chíca
9 (Baginsky *et al.*, 2016).

10 Las accesiones 15, 20 y 25 forman un subgrupo del conglomerado 3, las cuales se pueden considerar
11 de ciclo precoz, ya que su floración se presentó a los 90 días y su madurez fisiológica a los 120 días,
12 compartiendo la presencia promedio de 15 ramas por las planta, a este subgrupo se integran las
13 accesiones 29 y 3 de ciclo intermedio (150 días), con 16 a 18 ramas y de 47 a 48 espigas florales por
14 planta. Otro subgrupo lo componen con una producción de semilla semejante, las accesiones 2 (1043
15 kg ha⁻¹) y 22 (1027 kg ha⁻¹), 5 (1037 kg ha⁻¹), 16 (1039 kg ha⁻¹) y 21 (1053 kg ha⁻¹). Las accesiones 7
16 y 14 comparten la misma producción 1071 kg ha⁻¹ y 1064 kg h⁻¹ respectivamente, el peso de grano
17 por planta 7 (6.54) y 14 (6.52), y número de espigas florales por planta 7 (33) y 14 (35).

18 El grupo 4 se formó de las accesiones 6 (1141) y 28 (1115 k), las cuales forman un subgrupo
19 compartiendo la misma producción y el mismo peso de grano por planta; otro subgrupo lo forman la
20 8 y 22 con rendimientos de 1175 y 1188 kg ha⁻¹ respectivamente, así como el mismo peso de grano
21 por planta. El subgrupo formado por las accesiones 10 y 26 comparten diámetro de tallo (7.2 mm),
22 longitud de espiga desde nudo, producción de semilla por planta y rendimiento. Otro subgrupo
23 formado por las accesiones 13 y 30 tiene la misma producción de semilla por planta (4.7 g),
24 rendimiento por hectárea de 777-781 y número de flores por flósculo en espiga. Los rendimientos

1 obtenidos de las accesiones de este grupo, se han obtenido en el Petacal Jalisco con cultivares locales
 2 (Sosa-Baldivia *et al.*, 2017).

3 El conglomerado 5 se integró por las accesiones 1 y 12 que fueron las que presentaron el mayor peso
 4 de semilla por planta y producción con rendimientos que superó los 1400 kg de semilla por ha; la
 5 producción de frutos o semillas y el rendimiento son variables que permiten determinar los genotipos
 6 idóneos para implementar en la búsqueda de zonas de cultivo (Bochicchio *et al.*, 2015).



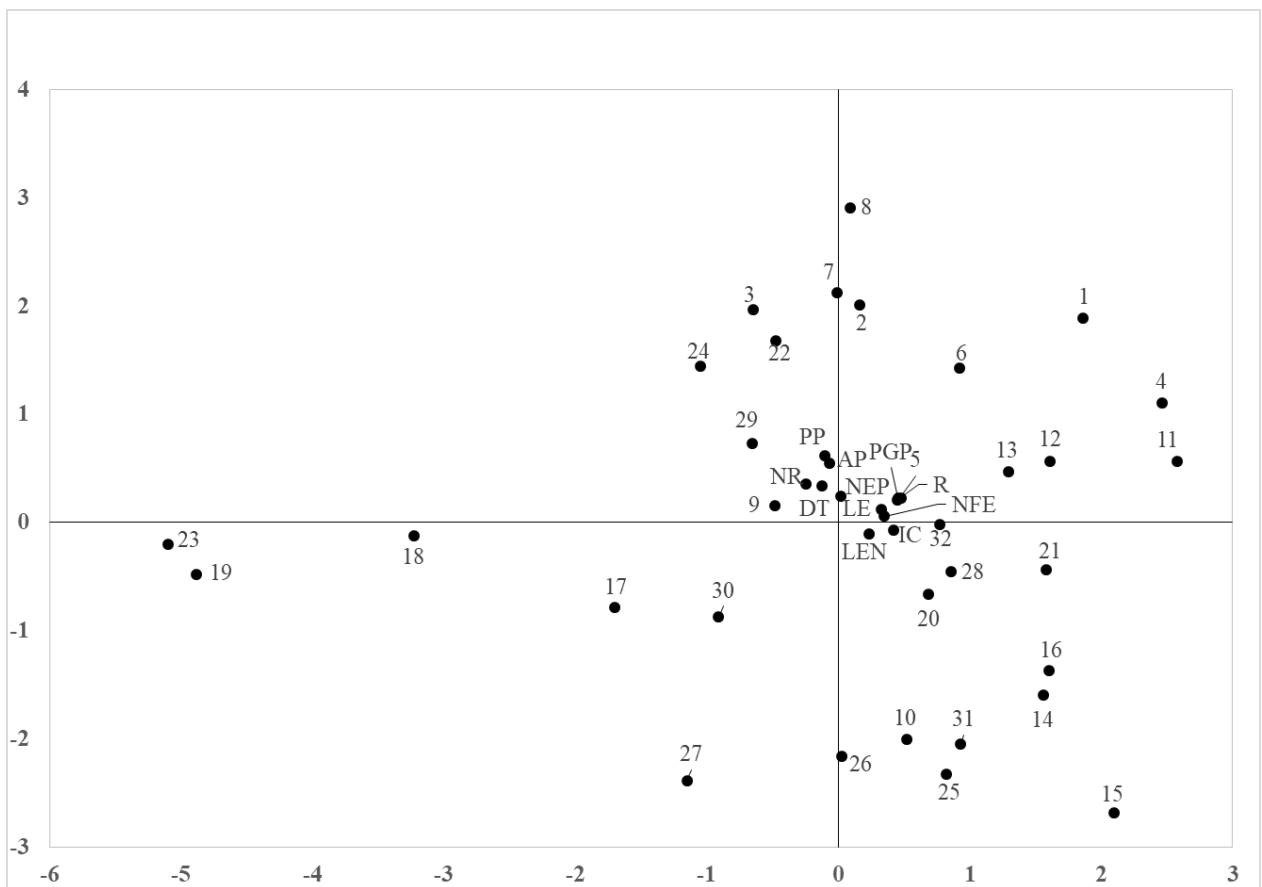
7

8 **Figura 1. Dendrograma a partir de 12 variables agronómicas de 32 colectas de chíca.**

9 **Análisis de componentes principales**

10 Los cuatro primeros componentes principales, explican el 74% de la variabilidad agronómica de 32
 11 accesiones de *S. hispanica*. Sánchez (1995) menciona que este porcentaje es confiable para interpretar
 12 adecuadamente las correlaciones que existen entre ellos. El primer componente con 30.43% se
 13 relacionó con el rendimiento. El segundo componente con 21.39% estuvo definido por la variable
 14 peso de semilla por planta, el tercer componente principal con el 12.25%, definido por la numero de

1 espigas por planta y el cuarto componente con el 10.24 de la variabilidad generada por largo de espiga;
2 aglutinaron la variación no reunida por el primero, presentando los mayores coeficientes factoriales.
3 En el análisis de componentes principales, los nuevos factores (o componentes) son independientes
4 entre sí; esto es, una variable debe tener coeficientes elevados con un sólo factor y no deben existir
5 factores con coeficientes similares (Restrepo *et al.*, 2012). Las variables rendimiento, peso de grano
6 por planta, número de frutos por espiga, número de espigas por planta y longitud de espiga, tienen
7 una contribución positiva y significativa, lo que permite precisar la contribución de las variables a los
8 componentes principales y su relación con la variación explicada (Figura 2). Las variables estudiadas
9 tienden a agruparse, con un grado aceptable de concordancia en su ubicación dentro de los cuadrantes
10 (Ruiz-García *et al.*, 2001).



11
12 **Figura 2. Representación multidimensional de los dos componentes principales de 32 colectas**
13 **de *S. hispanica* respecto con 12 variables agronómicas.**

1 **Conclusiones**

2 La caracterización demostró que existe una amplia variabilidad agronómica entre las accesiones
3 evaluadas, los factores rendimiento, número de espigas, peso de semilla por planta y altura de planta
4 son variables que permiten seleccionar a los mejores materiales, las selecciones 1, 2, 12 y 22 presentan
5 características agronómicas sobresalientes, las cuales se pueden establecer con rendimientos
6 potenciales atractivos para productores de la zona de estudio, sembrando oportunamente cuando se
7 instale el temporal, y así evitar el daño por heladas.

8 **Agradecimientos**

9 Al Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México,
10 particularmente al Ing. Enrique Archundia Garduño, a la empresa Chíablanca (Ing. Guillermo Orozco
11 de Rosas), al Banco Nacional de Germoplasma Vegetal, México, de la Universidad Autónoma
12 Chapingo (Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez) y al Instituto de Investigaciones Nucleares (Dr.
13 Eulogio de la Cruz Torres), por proporcionar sus colectas.

14 **Literatura citada.**

15 Baginsky, C.; Arenas, J.; Escobar, H.; Garrido, M.; Valero, N.; Tello, D.; Pizarro, L.; Valenzuela, A.;
16 Morales, L. and Silva, H. 2016. Growth and yield of chía (*Salvia hispanica* L.) in the
17 Mediterranean and desert climates of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*.
18 76(3):255-264.

19 Bochicchio, R.; Rossi, R.; Labella, R.; Bitella, G.; Perniola, M. and Amato, M. 2015. Effect of sowing
20 density and nitrogen top-dress fertilisation on growth and yield of chía (*Salvia hispanica* L.)
21 in a Mediterranean environment: first results. *Italian Journal of Agronomy*. 10(3):163-166.

22 Busilacchi, H.; Qüesta, T. y Zuliani, S. 2015. La chía como una nueva alternativa productiva para la
23 región pampeana. *Agromensajes*. 41:37-46.

- 1 Busilacchi, H.; Bueno, M.; Severin, C.; Di Sapia, O.; Quiroga, M. y Flores, V. 2013. Evaluación de
2 *Salvia hispanica* L. cultivada en el sur de Santa Fe (República Argentina). *Cultivos*
3 *Tropicales*. 34(4):55-59.
- 4 Coates, W. 2011. Whole and ground chía (*Salvia hispanica* L.) seeds, chia oil-effects on plasma lipids
5 and fatty acids. *Nuts & seeds in health and disease prevention*. Chapter 37: Academic Press
6 is an imprint of Elsevier. 309-315 pp.
- 7 Deka, R. and Das, A. 2017. Advances in Chía Seed Research. *Advances biotechnology &*
8 *Microbiology*. 5(2):1-3.
- 9 Durán, N.; Ruiz, J. A. González, D. R.; Mena, S. y Orozco, G. 2016. Cambio climático y su impacto
10 sobre la aptitud ambiental y distribución geográfica de *Salvia hispanica*. En México.
11 *Interciencia*. 41(6):407-413.
- 12 González, B. M. 2016. La chía, alimento alternativo para consumo humano. *Revista Iberoamericana*
13 *de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*. 5(9):1-8.
- 14 Grancieri, M.; Duarte, H. S. and Gonzalez, E. 2019. Seed (*Salvia hispanica* L.) as a Source of Proteins
15 and Bioactive Peptides with Health Benefits: A Review. *Food Science and Food Safety*.
16 18(2):480-499.
- 17 Grimes, S.; Phillips, T. D.; Hahn, V.; Capezzone, F. and Graeff-Hönninger, G. 2018. Growth, yield
18 performance and quality parameters of three early flowering chía (*Salvia hispanica* L.)
19 genotypes cultivated in southwestern Germany. *Agriculture*. 8:1-20.
- 20 Hernández, J. A. y Miranda, S. 2008. Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). *Revista*
21 *Fitotecnia Mexicana*. 31(2):105-113.
- 22 Jamshidi, A. M.; Amato, M.; Ahmadi, A.; Bochicchio, R. and Rossi, R. 2019. Chía (*Salvia hispanica*
23 L.) as a novel forage and feed source: A review. *Italian Journal of Agronomy*. 14:1-18.

- 1 Karim, M.; Ashrafuzzaman, M. and Hossain, A. (2016). Effect of planting time on the growth and
2 yield of chia (*Salvia hispanica* L.). *Asian Journal of Medical and Biológica Research*.
3 1(3):502-507.
- 4 Lombardo, Y. B. y Chicco, A. 2017. Consumo de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L): posibles
5 mecanismos de acción sobre el mejoramiento de la dislipidemia, resistencia insulínica y
6 adiposidad visceral en modelos experimentales y su extensión al humano. *FACIBIB*. 21:85-
7 114.
- 8 Michajluk, B. J.; Piris, P. A.; Mereles, L. G.; Wiszovaty, L. N. y Caballero, S. B. 2018. Semillas de
9 *Salvia hispanica* L., “chía” como fuente de macronutrientes, fibra alimentaria y minerales.
10 *Investigación Agraria*. 20:74-77.
- 11 Nieman, D. C.; Gillitt, N.; Jin, F.; Henson, D. A.; Kennerly, K.; Shanely, A.; Ore, B.; Su, M. and
12 Schwartz, S. 2012. Chia seed supplementation and disease risk factors in overweight woman:
13 A metabolomics investigation. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*.
14 18(7):700-708.
- 15 Orona-Tamayo, D. L.; Valverde, E. M. and Paredes-Lopez O. 2017. Chia-The new golden seed for
16 the 21st century: Nutraceutical properties and technological uses. In: *Sustainable Protein*
17 *Sources*. Chapter 17. Elsevier. 265-281 pp.
- 18 Restrepo, L. F.; Posada S. L. y Noguera, R. R. 2012. Aplicación del análisis por componentes
19 principales en la evaluación de tres variedades de pasto. *Revista Colombiana de Ciencias*
20 *Pecuarias*. 25(2):258-266.
- 21 Rovati, A.; Escobar, E. y Prado, C. 2012. Particularidades de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.)
22 *EEAOC. Avance Agroindustrial*. 33(3):40-43.

- 1 Ruiz-García, N.; González-Cossío, F. L.; Castillo-Morales. A. y Castillo-González F. 2001.
2 Optimización y validación del análisis de conglomerados aplicado a la clasificación de razas
3 mexicanas de maíz. *Agrociencia*. 35:65-77.
- 4 Sánchez, J. J. 1995. El análisis biplot en clasificación. *Revista. Fitotecnia Mexicana*. 18:188-203.
- 5 Sandoval-Oliveros, M. R. and Paredes-López, O. 2013. Isolation and characterization of proteins
6 from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61:193-
7 201.
- 8 SIAP. 2019. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado>. Búsqueda
9 22/01/19.
- 10 Sosa-Baldivia, A. y Ruiz-Ibarra, G. 2017. Será diabrotica speciosa germar, 1824 (coleoptera:
11 chrysomelidae) una Plaga de importancia económica para la producción de chía (*salvia*
12 *hispanica* L.) En México. *Entomología Mexicana*. 4:277-284.
- 13 Sosa-Baldivia, A.; Ruiz-Ibarra, G.; Gordillo-Sobrino, G. V.; Etchevers-Barra, J. D.; Sharma, M.; Liu,
14 X. y Robles-de la Torre, R. R. 2017. Respuesta de cuatro cultivares de chía (*Salvia hispanica*
15 L.) a la fertilización nitrogenada en el Petacal, Jalisco, México. *Informes Agronómicos de*
16 *Hispanoamérica*. 28:8-13.
- 17 Suárez, D. 2018. Logística y recursos naturales en los países sin litoral: el caso de la soya y la chía en
18 el Estado Plurinacional de Bolivia y Paraguay. *CEPAL*. 81 p.
- 19 Xingú, A.; Gonzalez, A.; de la Cruz, E.; San German-Jarquín D. M.; Orozco, G. y Rubí, M. 2017.
20 Chía (*Salvia hispanica* L.) situación actual y tendencias futuras. *Revista Mexicana de*
21 *Ciencias Agrícolas*. 8(7):1619-1631.

7.3. Diferenciación de la diversidad genética de *Salvia hispanica* L. aplicando marcadores SSR

Diferenciación de la diversidad genética de *Salvia hispanica* L. aplicando marcadores SSR

Diversification of the genetic diversity of *Salvia hispanica* L. applying SSR markers

Marcadores SSR en *Salvia hispanica*

Andrés Xingú-López¹ <https://orcid.org/0000-0002-0456-727X>, Andrés Gonzales-Huerta² <http://orcid.org/0000-0001-6055-7597>, Eulogio de la Cruz-Torres³ <http://orcid.org/0000-0002-6870-1765> y Martín Rubí-Arriaga^{2,4} <http://orcid.org/0000-0001-7547-5017>

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

²Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), El Cerrillo Piedras Blancas, 50200, Toluca México.

³Departamento de Biología, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, 52750, Ocoyoacac, México.

⁴Autor para la correspondencia: m_rubi65@yahoo.com.mx

Resumen:

Antecedentes y Objetivos: La chía (*Salvia hispanica* L.), es una planta herbácea de la familia Lamiaceae, nativa de las zonas montañosas del sudoeste de México, Guatemala y Nicaragua, con una amplia variabilidad. En México día a día adquiere mayor importancia gracias a sus propiedades nutraceuticas. No obstante que se cuenta con colecciones de materiales en varios puntos del país no se tienen variedades registradas. Con la finalidad de seleccionar colectas, así como verificar la diversidad genética presente en esta especie, se planteó como objetivo la caracterización de la diversidad genética con marcadores moleculares tipo (Simple Sequence Repeats),

Métodos: 32 colectas fueron sometidas a extracción de ADN mediante la técnica descrita por Dellaporta, se realiza una amplificación para PCR, para lo que se definieron 15 iniciadores SSR altamente polimórficos, se determinó la calidad e integridad de ADN.

Resultados clave: Los marcadores moleculares SSR generaron 116 locus mostrando un elevado grado de variabilidad genética Intraespecífica con una diferencia molecular significativa entre las poblaciones estudiadas, al formarse ocho grupos a una distancia de Nei de 0.78.

Conclusiones: Los marcadores desarrollados aquí serán un recurso valioso para estudios genéticos, de diversidad y genómicos del germoplasma de *Salvia hispanica* L.

Palabras clave: Variabilidad Genética, polimorfismo, iniciador, SSR, chía.

Abstract:

Background and objectives: Chia (*Salvia hispanica* L.), is an herbaceous plant pertaining to Lamiaceae family, native to mountainous areas of southeast Mexico, Guatemala and

Nicaragua, with high morphological variability. The importance of this specie is increasing lately due to its nutraceutical properties. Despite of several germplasm collections in diverse points of Mexico, there are no registered varieties. Aiming to select accessions, and to assess the genetic diversity of this specie, the objective of this work was to characterize the genetic diversity with Simple Sequence Repeats (SSR) molecular markers.

Methods: DNA from 32 accessions was extracted according to Dellaporta technique. After assessment of DNA purity and integrity, it was amplified trough polymerase chain reaction with 15 highly polymorphic SSR primers.

Key Results: SSR molecular markers generated 116 loci exhibiting a high degree of intraspecific genetic diversity, with a significant molecular differences among studied accessions, forming eight groups at 0.78 Nei´s genetic distance.

Conclusions: Molecular markers used in this study are a valuable tool for genomic and diversity studies of *Salvia hispanica* L. accessions.

Keywords: Genetic variability, polymorphism, primer, SRR, chía.

Introducción

La chía (*Salvia hispanica* L), es una planta herbácea de la familia Lamiaceae, la cual está constituida por arbustos, súfrutices o hierbas perennes o anuales, a menudo aromáticos (Martínez-Gordillo et al., 2013), que son usadas principalmente como plantas comestibles, medicinales y de ornato (Cornejo-Tenorio e Ibarra-Manríquez, 2011). La chía es nativa de las zonas montañosas del sudoeste de México, Guatemala y Nicaragua. Este cultivo fue la base de la dieta alimentaría de los pueblos indígenas de Centroamérica, hoy México, se convirtió en el cuarto cultivo en importancia económica superado únicamente por el maíz

(*Zea mays*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), y chile (*Capsicum annuum*) (Ayerza y Coates, 2011), desafortunadamente durante la conquista de la Nueva España fue prohibido por los españoles.

El hábitat natural de las poblaciones de *S. hispanica* es el bosque de pino (*Pinus* spp.), encino (*Quercus* spp.) o de pino-encino de la Sierra Madre Occidental, del Eje Neovolcánico Transversal y de la Sierra Madre del Sur; por lo cual las grandes diferencias orográficas y climáticas presentes han dado origen a un aislamiento geográfico y genético de dichas poblaciones, esta condición es un factor ambiental que favorece la autofecundación (Stebbins, 1957 y Jain, 1976), por lo cual la fragmentación geográfica y la autofecundación han conducido a la diversificación y evolución de las especies de *Salvia*. (Ramamoorthy y Elliot, 1998), lo cual hace probable que exista una amplia diversificación entre poblaciones naturales de *S. hispanica*. Sin embargo, sólo se han descrito dos ideotipos: *S. hispanica* variedad *chionocalyx*-Fernald, con localidad tipo en Uruapan, Michoacán, y *S. hispanica* variedad *intosa*-Fernald, cuya localidad es Buena Vista, Departamento de Santa Rosa, Guatemala (Fernald, 1907). La chía es una planta autógama, más sin embargo presenta un rango de polinización cruzada natural del 10 a 20 % (Hernández et al., 2008).

El análisis de la variación de la secuencia de ADN es de importancia en los estudios genéticos. Los marcadores moleculares son una herramienta para evaluar la variación genética de los cultivos, los más comunes son: Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), DNA polimórfico amplificado al azar (RAPD), Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP) y microsatélites o repeticiones de secuencia simple (SSR) (Philips y Vasil, 2001). Los marcadores moleculares SSR son útiles para una variedad de aplicaciones en fitogenética y fitomejoramiento, debido a su reproducibilidad,

naturaleza multialélica, herencia codominante, abundancia relativa y buena cobertura del genoma (Powell et al., 1996).

Las secuencias SSR se definen por el tipo de unidad repetida (mono, di, tri, tetra, penta o hexa nucleótidos) y por el sitio que ocupan en el genoma (locus). Son secuencias altamente variables, entre y dentro de individuos. La variación se manifiesta normalmente como diferencias en longitud entre los distintos alelos del mismo locus. Estas diferencias en longitud surgen de la existencia de un número diferente de repeticiones del motivo básico en cada caso (González, 2003). El estudio de la diversidad genética inter-específica entre especies de *Salvia* por medio de iniciadores ISSR generan más polimorfismo que los cebadores RAPD, los dendrogramas generados basados en los análisis UPGMA son útiles para dividir en grupos los diferentes ecotipos de *Salvia* por sus rasgos, además de que estas técnicas generan información genética útil para el desarrollo de estrategias de conservación y domesticación de especies y ecotipos de *Salvia* (Sepehry-Javan et al., 2012; Yousefiazarkhanian et al., 2015). En *S. hispanica* L., los ISSR se han utilizado para evaluar la diversidad genética de especies cultivadas y silvestres (Palma-Rojas et al., 2017). Por lo anterior y al tomar en cuenta por un lado la importancia que está adquiriendo la *S. hispanica* gracias a las propiedades que posee como: ser una importante fuente de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, alto valor nutricional por su contenido en proteínas, lípidos, fibra y energía en comparación con otros cultivos (Nieves-Díaz, 2015) que la convierten en una alternativa de alto impacto para resolver problemas de nutrición de una población creciente y altamente demandante de alimentos.

En México el cultivo de chía sigue una tendencia a la alza, observándose un incremento gradual en la superficie sembrada ya que en 2006 solo se cultivaron 15 ha y para

2014, 16721 ha, incrementándose en 111473 %, la producción se distribuye en cuatro Estados: Jalisco que represento el 65.57 %, seguido de Querétaro con el 11.32 %, zacatecas con un 10.19 % y Puebla con 7.22 % de la superficie sembrada (SIAP, 2019). El cultivo de chía se extendió al mundo ya que a partir de 1991, investigadores y agricultores de EUA y Argentina visitaron Acatic, Jalisco para conocer el cultivo de la chía y a partir de esta visita desarrollaron el proyecto "Western Argentina Regional Project", para estudiar el perfil nutricional, mejoramiento genético, manejo agronómico y mercadeo de la chía cultivada en diferentes regiones agrícolas de Argentina, Perú, Colombia, Bolivia y Ecuador (Ayerza y Coates, 2006).

El constante aumento de la superficie sembrada es debido al auge que genera su demanda por las propiedades nutraceuticas que le caracterizan (Segura-Campos et al., 2015), sin embargo no se cuenta con variedades mejoradas, debido a esto se planteó el presente trabajo con el objetivo de caracterizar la diversidad genética de las 32 colectas de *Salvia hispanica* L. más cultivadas aplicando marcadores SSR.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se seleccionaron 32 colectas de *Salvia hispanica*, muestra representativa de la variabilidad observada. 11 fueron colectadas en conjunto con el ININ de las diferentes zonas representativas de cultivo (Atzitzihuacán y Cholula, Puebla; Acatic Jalisco y Churintzio, Michoacán), dos facilitadas por el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuicola y Forestal del Estado de México, seis fueron proporcionadas por el Banco Nacional

de Germoplasma Vegetal, México de la Universidad Autónoma Chapingo y 13 de la colección de materiales de la empresa Chíablanca (Cuadro 1).

Cuadro 1. Material evaluado en la caracterización molecular SSR de *S. hispanica* L.

Número	Genealogía	Color de semilla	Institución
1	CHGRD	Negra	ICAMEX
2	CHCRI	Negra	ICAMEX
3	ININ1	Negra	ININ
4	ININ2	Gris Jaspeado	ININ
5	ININ3	Blanca	ININ
6	ININ4	Negra	ININ
7	ININ5	Negra	ININ
8	ININ6	Negra	ININ
9	ININ7	Gris Jaspeado	ININ
10	ININ8	Blanca	ININ
11	ININ9	Gris Jaspeado	ININ
12	ININ10	Blanca	ININ
13	ININ11	Negra	ININ
14	17Pz	Blanca	Chíablanca SC de RL
15	83FB5B	Blanca	Chíablanca SC de RL
16	59 Normal	Negra	Chíablanca SC de RL
17	66 Grano Café	Café	Chíablanca SC de RL
18	122 Az	Negra	Chíablanca SC de RL
19	64	Negra	Chíablanca SC de RL
20	SLVTTLA	Negra	Chíablanca SC de RL
21	B54	Blanca	Chíablanca SC de RL
22	CRIPINA	Pinta	Chíablanca SC de RL
23	680	Negra	Chíablanca SC de RL
24	346	Negra	Chíablanca SC de RL
25	30Pz	Blanco	Chíablanca SC de RL
26	P75ZN	Gris Jaspeado	Chíablanca SC de RL
27	CNPGA	Negra	Banco germoplasma Chapingo
28	CNPGB	Negra	Banco germoplasma Chapingo
29	CPJGA	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
30	CPJGB	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
31	CBJGA	Blanca	Banco germoplasma Chapingo
32	CBJGB	Blanca	Banco germoplasma Chapingo

ICAMEX = Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal,

ININ = Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

Manejo de material vegetal

Para las extracciones de ADN se usó material vegetal fresco de *S. hispanica* L. se seleccionaron hojas jóvenes y sanas cuando las plantas tenían dos meses de emergidas. Las colectas se sembraron en el invernadero del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, en macetas de 4.3 L, que contenían tierra de cultivo de la zona, depositando de 10 a 15 semillas y cubiertas con la misma tierra. Las plantas no se fertilizaron y solo se eliminó la maleza. Las semillas se homogenizaron eliminando impurezas y o semillas ajenas a la característica de la colecta.

Extracción de ADN

Se usaron por colecta 3 hojas jóvenes de la parte apical de la planta verificando su sanidad, se lavaron, liofilizaron y molieron en un mortero hasta obtener un polvo fino. El ADN genómico se extrajo con la técnica descrita por Dellaporta et al. (1983). Adicional a la purificación de ADN, este se lavó dos veces con etanol al 70 %. La cantidad y calidad del ADN se determinaron mediante espectrofotometría, tomando muestras alícuotas de 4 μL de ADN y 1996 μL de agua destilada estéril, y mediante la separación electroforética de las muestras de ADN en geles de 1.5 % de agarosa, teñidos con 1 μL de bromuro de etidio.

Amplificación SSR

Se usaron 15 iniciadores SSR (Cuadro 2), con amplificaciones reproducibles y escalables. La amplificación por PCR fue realizada en un termociclador Techne modelo TC-512, con un volumen final de 14 μL compuesto de: 3.4 μL de agua, 1.3 μL cresol Red, 1.3 μL de amortiguador de reacción 10x (15 mM), 1.3 μL de MgCl_2 (25mM), 1.3 μL de dNTPS (10 mM), 0.1 μL de Taq polimerasa (0.3 unidades), 2 μL de ADN (30ng/ml) y 1.3 μL de

iniciador (20 μ M). El programa consistió en una desnaturalización inicial por 5 minutos a 95 °C; y 40 ciclos con una desnaturalización por 30 segundos a 91 °C, una alineación por 1 minuto a 51 °C y una extensión por 1 minuto a 72 °C, y una extensión final a 72 °C por 15 minutos y un almacenamiento a 4 °C. Las reacciones de elongación se realizaron por duplicado para evaluar reproducibilidad.

Cuadro 2. Iniciadores marcadores SSR polimórficos en *Salvia hispanica* L.

Iniciador	Secuencia adelante	Secuencia atrás
SoS1	5'-CCGAGTCATGATCGAGTTGA-3'	5'-GGCTCAACTTGGAGAAGTGG-3'
SoS2	5'-TTGGCTCGATTAAGTGTTA-3'	5'-TCTGCTGTCAAAGTGGATCA-3'
SoS3	5'-GGTTTGATCGGTCTTCGAAA-3'	5'-ATAAATGTGTGCCAGTGCGA-3'
SoS4	5'-GAGCAAAAAGCTTGACACCC-3'	5'-ACCTGGTGGTAGATCCTCCA-3'
QATG009	5'-GACTAATGAACGGATGGAAGC-3'	5'-CCTCCCACATAACCTTCCTCT-3'
QATG016	5'-CCACACTCATCTCAACCATCC-3'	5'-GCGATCCGGTACATCATTTTC-3'
QATG019	5'-CCAAACAAAGACAATAAGGAAACC-3'	5'-CGAGGTTGAAGGAGATTCCA-3'
QCA005	5'-GTGGTTCATGGCTGATCCTT-3'	5'-CTTGCCATCAGGGCATAATCT-3'
QCA019	5'-TTTCATCACTCGACCGTATAGC-3'	5'-AGGGTGACTGTTACACCCAAA-3'
QCA028	5'-TGCTCACCTAGCATTATATACT-3'	5'-ATGAGACGGAGGGAGCACTA-3'
QCA048	5'-ACAATACATACATAACCCAATATTCAA-3'	5'-TGGAAATGTCATATGATTGGA-3'
QCA055	5'-GGGCATATCTGAAGAGAATCCA-3'	5'-ACGCAGGTAGCACTTCCAGT-3'
QCA058	5'-CTCGACCAGCAGGGTCTG-3'	5'-CTAGCTAGGCGTTGCCTGAC-3'
QCA063	5'-GCAGCATCACAGAGCAGAAA-3'	5'-GGTGTAGATTGGGAGCCTGA-3'
QCA065	5'-CCATGCAAGGGAACATATTG-3'	5'-AAGTTCGTTGGCTTGCTGTA-3'

Separación e identificación de los productos amplificados

Los productos amplificados fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa 3 % p/v y teñidos con 2 μ L de bromuro de etidio. Para la separación de los

fragmentos por electroforesis, se utilizó el amortiguador TBE 1X sistema tampón, en el primer carril se adicionaron 5 μ L de marcador de ADN de bajo rango, como referencia de pesos moleculares y en los demás se adicionaron 14 μ L de cada PCR, La fuente de poder se programó para que corriera a 65 Voltios y 50 Amperes, durante 7 minutos, utilizando una fuente de poder mini-300 (Major Science) y una cámara de electroforesis horizontal (Major Science), Cada uno de los geles se documentó fotográficamente en un transluminador Universal Hood II (BIO-RAD)

Análisis de polimorfismo producto de PCR

Los perfiles de ADN se puntuaron visualmente a partir de fotografías de gel. Se seleccionaron bandas amplificadas claras y reproducibles en el análisis. La presencia de una banda se designó como (1) y ausente como (0). Los valores de similitud de perfiles SSR obtenidos individual y colectivamente fueron sometidos al cálculo de la matriz de similitud utilizando coeficientes de Jaccard, y aplicando el método de análisis de conglomerados de pares agrupados no ponderados, con promedio aritmético (UPGMA), usando el programa de cómputo NTSYS-PC versión 2.1 (Rohlf, 2000). Y análisis de componentes principales con SAS.

Resultados

Con base en la resolución electroforética de los geles de agarosa derivados de los 15 iniciadores SSR, se amplificaron un total de 116 bandas puntuables de las cuales todas fueron polimórficas, lo que represento un 100 % de polimorfismo. El número de bandas polimórficas vario de 4 (QCA019) a 12 (QATG019), (Fig. 1) con un promedio de bandas por iniciador de 7.17 (presente o ausente) dependiendo de la especie e iniciador.

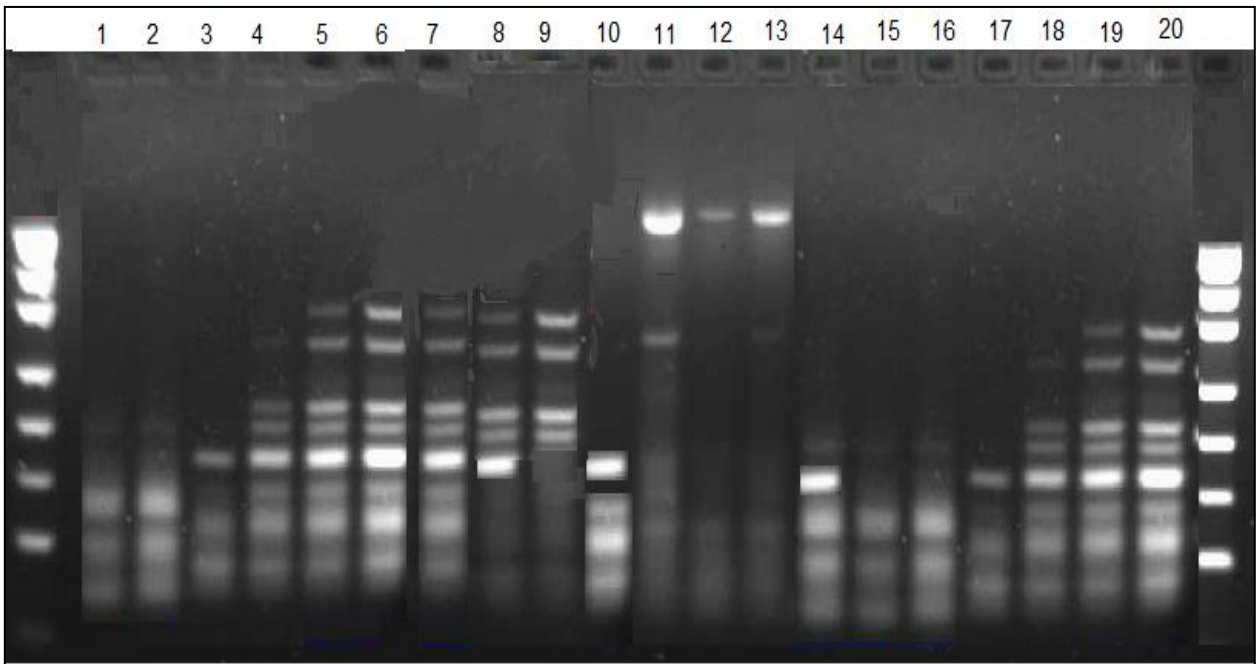


Figura 1: Patrón de bandas del iniciador QATG019 en PCR de *Salvia hispanica* L.

La dispersión de las colectas con referencia a los dos primeros componentes basados en marcadores SSR de 32 colectas de *S. hispanica* L. tiene la garantía de que la pérdida de información es mínima y de que se han recogido las fuentes de variabilidad más importantes en el conjunto de datos representados (fig. 2), por lo cual es posible interpretar las distancias existentes entre los puntos formando cinco grandes conjuntos de colectas similares. En el grupo uno, se encuentran dispuestas las colectas 26, 14, 6, 11, 4, 9, 22, 13 y 3; en el grupo dos las colectas 21, 19, 2, 23, 29, 18, el grupo tres con las colectas número: 4, 28, 10, 31, 11, 27, 17, 32, 25 y 15; el grupo cuatro con la colecta 7, 16 y comparte la colecta 4 con el grupo tres; el grupo cinco tiene dentro a las colectas 30, 12, 24 y 5, y el grupo 6 contiene a la colecta 20 que muestra una formación atípica con referencia a el resto de las colectas.

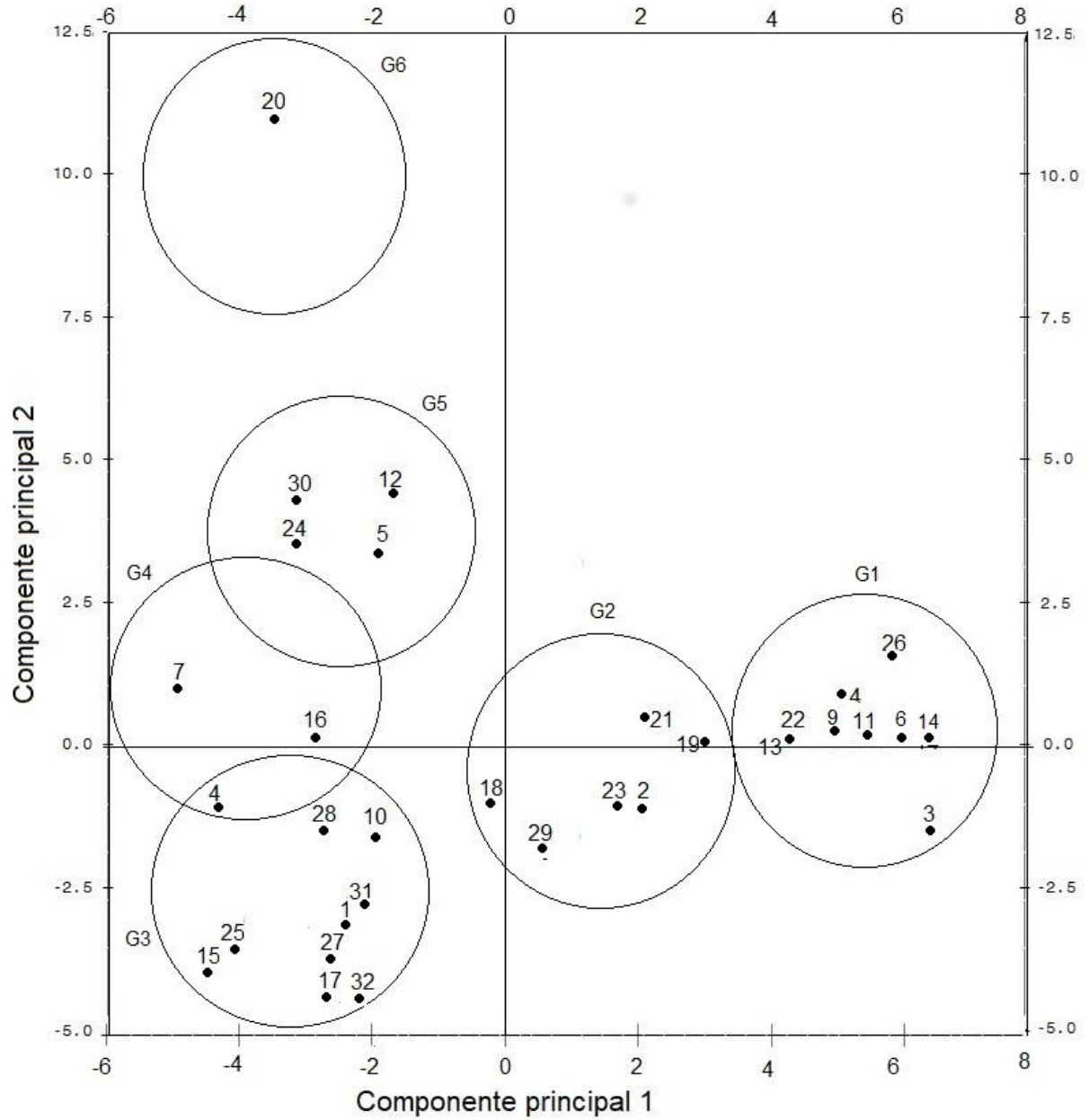


Figura 2: Dispersión de colectas con referencia a los dos primeros componentes basados en marcadores SSR de 32 colectas de *Salvia hispanica* L.

El dendrograma derivado del cálculo de la matriz de similitud jaccard, en 32 colectas de *S. hispanica* L., forma 8 grupos a una distancia de Nei de 0.78 (Fig. 3). El grupo 1 contienen a las colectas 1 y 17; el grupo 2 a la colecta 7; el grupo 3 se encuentra integrando

por las colectas 2, 19, 23, 3, 6, 11, 22, 13, 9, 14, 4, 26, 18, 21, 6, 24, 29, 30 y 12; el grupo 4 formado por la colecta 16; el grupo 5 tiene dentro a las colectas 8 y 10; el grupo 6 con las colectas 27,32,31 y 28; el grupo 7 con las colectas 15 y 25 y el grupo 8 con la colecta 20.

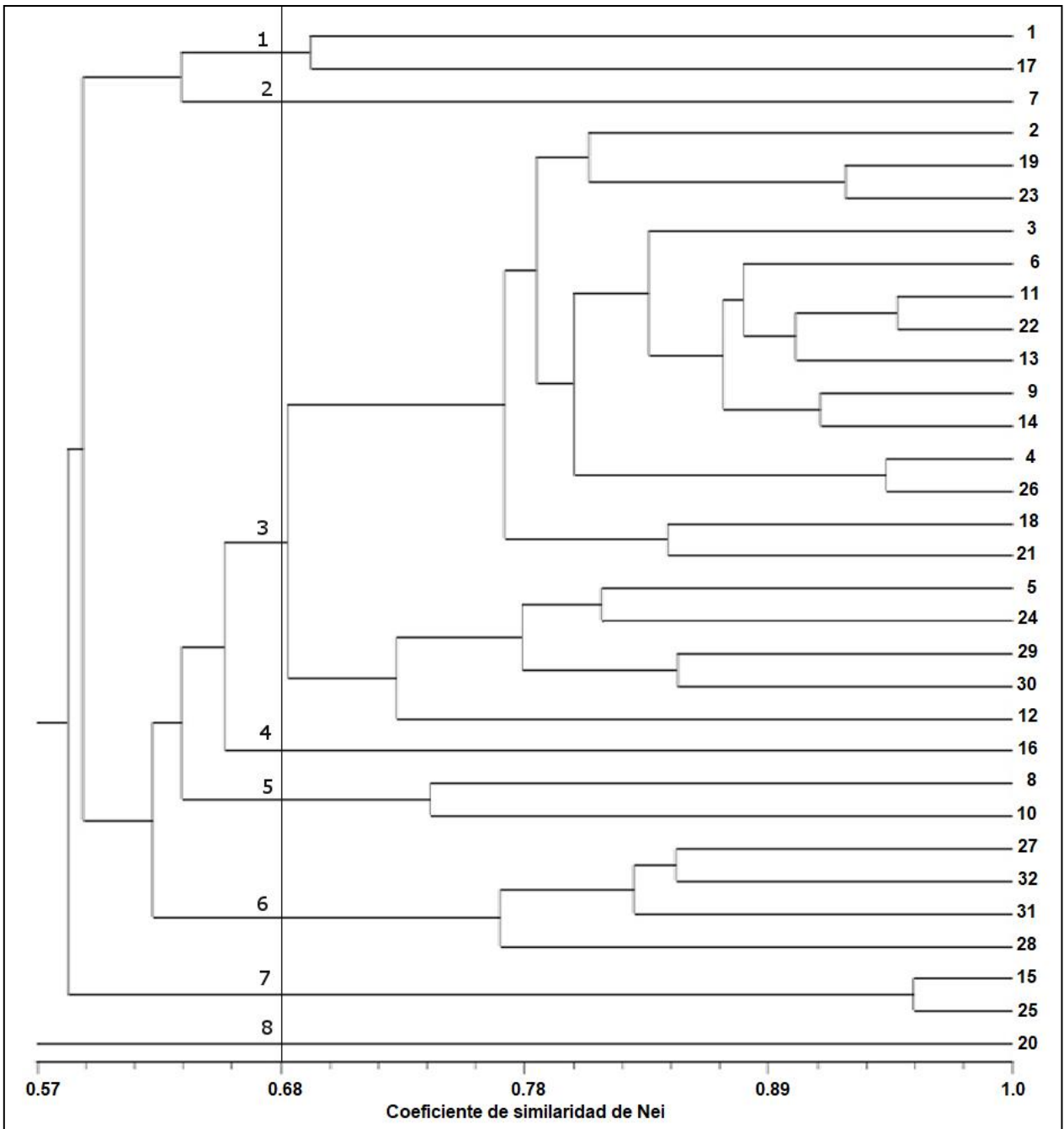


Figura 3: Dendrograma obtenido del análisis de agrupamiento con el método de UPGMA de la caracterización SSR de 32 colectas de *Salvia hispanica* L.

Discusión

La mayoría de las plantas medicinales o de uso nutracéutico como *S. hispanica* se han originado de naturaleza herbácea, por lo que la información sobre sus caracteres genéticos es esencial para su conservación. Factores como su sistema de reproducción, el mecanismo de dispersión de semillas, y la transferencia a otras regiones, son los agentes más importantes para la diversidad genética de las plantas. Las limitaciones de los estudios morfológicos se pueden superar por medio del uso de marcadores moleculares (Zhang et al., 2013).

El método de perfilado de ADN utilizado en esta investigación contiene regiones de genoma con antecedentes evolutivos sustancialmente diferentes. En el presente estudio, de los 15 iniciadores probados, fueron amplificados con éxito a través de las muestras de la planta, y se produjeron marcadores microsatélites expresados (e-microsatélite). La relación de amplificación indica que el uso del enfoque basado en contiguos, no solo podría reducir el tiempo de análisis sino que también aumenta la tasa de éxito de microsatélites transferibles en el tiempo de análisis (Gul-Ince, 2012). También se generaron diferentes bandas que los marcadores suelen representarse como porciones ampliamente distribuidas en regiones del genoma, por ellos se esperaba este alto polimorfismo. La repetición de marcadores microsatélites amplificados y su longitud variaron dependiendo de los iniciadores, y el tipo de microsatélite más común son los que presentan la característica de mononucleótido y en un rango más bajo de repeticiones de dinucleótidos (Karaca, 2015). Similares resultados se han reportado en *Salvia miltiorrhiza* basados en ISSRs (Zhang et al., 2013), otras especies de

Salvia usan marcadores de AFLP (Yang et al., 2012); mientras que los marcadores RAPDs e ISSRs evaluados en ecotipos de *salvia* mostraron que ambas técnicas estudiadas separan bien las especies a través de sus diferentes ecotipos (Yousefiazarkhanian et al., 2016).

El análisis de conglomerados asignó las colectas en diferentes grupos, derivado de las medidas de similitud entre sí dentro de cada grupo, con respecto a la ausencia o presencia de los loci, ya que formó grupos homogéneos y distintos (Wilks, 2011). En consecuencia el análisis de conglomerados basados en análisis SSR descubrió el número y composición de los 8 grupos, cuyos componentes indican la fuerza de la relación entre las colectas componentes dentro de los grupos, quienes están cercanos uno del otro, mientras que los objetos disímiles se encuentran a una distancia mayor uno del otro; así, mayores distancias corresponden a menor similitud.

En el análisis realizado, se esperaban microsatélites ya que las regiones codificantes de los genes están más conservados que otras regiones genómicas. Y los resultados indican claramente que los marcadores de e-microsatélite están relacionados con la relación genética entre la fuente y las especies objetivo (Karaca, 2015). Por ejemplo, la colecta 20 es genéticamente menos similar al resto de las colectas. Esto indica que el bajo número de transferibilidad entre la colecta 20 y el resto de colectas se debió a su mayor distancia genética (Karaca et al., 2012).

Conclusiones

La tecnología de marcadores SSR se ha utilizado para aumentar el número de marcadores moleculares disponibles que son adecuados para la caracterización molecular y la investigación de las relaciones filogenéticas en el germoplasma de chíá. El desarrollo de 116

SSR junto con su caracterización facilitará los estudios de mapeo. Los marcadores desarrollados en el presente trabajo serán un recurso valioso para los estudios genéticos, de diversidad, y genómicos del germoplasma de *Salvia hispanica* L.

Contribución de autores

AXL concibió y diseñó el estudio, realizó el trabajo de campo, desarrollo el experimental y la interpretación de los datos, AGH, desarrollo el análisis estadístico de componentes principales, EdelaCT realizo el análisis estadístico molecular, MRA, dirigió la investigación. AXL, redactó el manuscrito con ayuda de AGH, EdelaCT y MRA. Todos los autores contribuyeron con la discusión, revisión y aprobación del manuscrito final.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Mediante el contrato de investigación 16942: Improvement of pseudocereals native to México by radioinduced Mutagénesis for high yield and enhanced adaptability to climate change.

Agradecimientos

Al Laboratorio de fitomejoramiento y de biología molecular del centro nuclear "Dr. Nabor Carrillo Flores" sede del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Literatura citada

- Ayerza, R. y W. Coates. 2011. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown Chia (*Salvia hispanica* L). *Industrial Crops and Products*. 34(2): 1366-1371. [DOI: 10.1016/j.indcrop.2010.12.007](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.007).
- Ayerza, R., W. Coates. 2006. Chía, redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. Ed. Del Nuevo Extremo. Buenos Aires, Argentina. 232 pp.
- Cornejo-Tenorio G. y G. Ibarra-Manríquez. 2011. Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(4): 1270-1296.
- Dellaporta, S. L., J. Wood y J. B. Hicks. 1983. A plant DNA mini preparation: version II, *Plant Molecular Biology Reporter*. 1(4): 19-21. [doi.10.1007/BF02712670](https://doi.org/10.1007/BF02712670).
- Nieves-Díaz, L. 2015. La Chía (*Salvia hispanica* L.). Cultivo y alimento de los aztecas con nuevo potencial. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México. 86 pp.
- Fernald, M. L. 1907. Diagnoses of new spermatophytes from Mexico, *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*, 43(2): 61-68. [DOI: 10.2307/20022302](https://doi.org/10.2307/20022302).
- González, E. G. 2003. Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Graellsia*. 59(2-3): 377-388. <https://doi.org/10.3989/graellsia.2003.v59.i2-3.253>.
- Hernández-Gómez, J. A., S. Miranda-Colín y A. Peña-Lomelí. 2008. Cruzamiento natural de chía (*Salvia hispanica* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 14(3): 331-337.
- Gul-Ince, A. 2012. Contig-based microsatellite marker approach and its application in *Cichorium* ESTs. *Romanian Journal of Physics*. 17(2): 7177-7186.

- Jain, S. K. 1976. The evolution of inbreeding in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 7: 469-495. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.07.110176.002345>.
- Karaca, M. 2015. E-microsatellite markers for some naturally occurring *Salvia* species in the Mediterranean region. *Turkish Journal of Biology*. 39: 69-77. [DOI: 10.3906/biy-1404-29](https://doi.org/10.3906/biy-1404-29)
- Karaca, M., A. Gul-Ince, A. Aydin, y S. T. Ay. 2012. Cross-genera transferable e-microsatellite markers for 12 genera of the Lamiaceae family. *Journal of the Science Food and Agriculture*. 93(8): 1869-1879. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5982>.
- Martínez-Gordillo, M., I. Fragoso-Martínez, M. R. García-Peña y O. Montiel. 2013. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 84: 30-86. [DOI: 10.7550/rmb.30158](https://doi.org/10.7550/rmb.30158).
- Palma-Rojas, C., C. Gonzalez, B. Carrasco, H. Silva y H. Silva-Robledo. 2017. Genetic, cytological and molecular characterization of chia (*Salvia hispanica* L.) provenances. *Biochemical Systematics and Ecology*. 73. 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2017.05.003>.
- Powell, W., G. C. Machray y J. Provan. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*. 1(7): 215–222. [https://doi.org/10.1016/1360-1385\(96\)86898-1](https://doi.org/10.1016/1360-1385(96)86898-1).
- Philips, R. L. y I. K. Vasil. 2001. DNA-based markers in plants. 2nd edn. *Annals of Botany*. 91(6): 749–750. [doi: 10.1093/aob/mcg078](https://doi.org/10.1093/aob/mcg078).
- Ramamoorthy TP, Elliot M. 1998. Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. In: Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J, eds. *Diversidad*

- Biológica de México: Orígenes y Distribución. México: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 501-525.
- Rohlf, F. J. 2000 NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. Exeter Publishing Setauket, New York. 38pp.
- Segura-Campos, M. R., N. Ciau-Solís, G. Rosado-Rubio, L. Chel-Guerrero and D. Betancur-Ancona. 2014. Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil from Yucatán, México. *Agricultural Sciences*. 5(3) 220-226. [DOI: 10.4236/as.2014.53025](https://doi.org/10.4236/as.2014.53025).
- Sepehry-Javan, Z. F., Rahmani y R. Heidari. 2012. Assessment of genetic variation of genus *Salvia* by RAPD and ISSR markers. *Australian Journal of Crop Science*. 6: 1068-1073.
- SIAP. 2019. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado>. Búsqueda 22/01/19.
- Stebbins, G. L. 1957. Self-fertilization and population variation in the higher plants. *The American Naturalist*. 91(631): 337-354.
- Wilks, D. S. 2011. Chapter 15: Cluster Analysis. *International Geophysics*. 100: 603-616. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385022-5.00015-4>.
- Yang, D., P. Ma, X. Liang, Z. Liang, M. Zhang, S. Shen, H. Liu and Y. Liu. Metabolic Profiles and cDNA-AFLP Analysis of *Salvia miltiorrhiza* and *Salvia castanea* Diel f. *tomentosa* Stib. *PLoS ONE* 7(1): e29678. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029678>.

Yousefiazarkhanian, M., A. Asghari, J. Ahmadi, B. Asghari y J. A. Ashraf. 2015. Genetic Diversity Assessment of some *Salvia* sp. Ecotypes Based on ISSR Markers. *Biological Forum – An International Journal*. 7: 286-288.

Yousefiazarkhanian, M., A. Asghari, J. Ahmadi, B. Asghari and A. A. Jafari. 2016. Genetic Diversity of *Salvia* Species Assessed by ISSR and RAPD Markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 44(2): 431-436. DOI: <http://dx.doi.org/10.15835/nbha44210391>.

Zhang, Y., X. Li and Z. Wang. 2013. Diversity evaluation of *Salvia miltiorrhiza* using ISSR markers. *Biochemical Genetics*. 51(9-10): 707-721. DOI: [10.1007/s10528-013-9600-2](https://doi.org/10.1007/s10528-013-9600-2).

7.4. Variación morfológica de germoplasma de *Salvia hispanica* L.

Variación morfológica de germoplasma de *Salvia hispanica* L.

Morphological variation of germplasm of *Salvia hispanica* L.

Andrés Xingú-López¹, Andrés Gonzáles-Huerta², Eulogio de la Cruz-Torres³ y Martín Rubí-Arriaga^{2*}

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

²Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México C.P. 50200.

³Departamento de Biología. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), Carretera México-Toluca S/N, La Marquesa, Ocoyoacac, México. C.P. 52750.

*Autor responsable: m_rubi65@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

Salvia hispanica L. es una planta anual, herbácea de la familia Lamiaceae, (Martínez-Gordillo *et al.*, 2013). La chía es una especie que tiene su centro de origen en las zonas montañosas de México, Guatemala y Nicaragua (Di Sapio *et al.*, 2018). El hábitat natural de las poblaciones de *S. hispanica* es el bosque de pino (*Pinus* spp.), encino (*Quercus* spp.) o de pino-encino de la Sierra Madre Occidental, del Eje Neovolcánico Transversal y de la Sierra Madre del Sur; por esto las diferencias orográficas y climáticas presentes en el hábitat, dan origen a un aislamiento geográfico y genético de dichas poblaciones, lo cual es una condición

ambiental que favorece la autofecundación (Stebbins 1957, Jain 1976). Por el tipo de polinización, la chía es una planta autógama, presentando un rango de polinización cruzada natural del 10 a 20% (Hernández *et al.* 2008).

La chía de tallos ramificados, de 1 m de altura, con hojas lanceolado-ovadas, pecioladas, con base de redondeada a anchamente atenuadas y ápice acuminado; inflorescencias cilíndricas y densas, con brácteas florales verdes, ovadas y persistentes; corola de color azul, glabra, de 8 mm de longitud (Juan *et al.*, 2019). Los frutos, en grupos de 4 clusas, se usaron por primera vez por los habitantes precolombinos de Mesoamérica como alimento y medicina. Las clusas o semillas son indehiscentes, monospermas, obovoides, de color pardo grisáceo con manchas castaño oscuro y blancas (Di Sapio *et al.*, 2012). El color de la semilla no influye en el contenido de ácidos grasos; los contenidos de ácidos grasos son: ácido oleico 7.65%; ácido linoleico 21.71% y ácido linolénico 61.1% (Bueno *et al.*, 2016). Es una fuente vegetal rica en antioxidantes (Orona-Tamayo *et al.*, 2017), Vitaminas (Jamshidi *et al.*, 2019) fibra, proteínas y minerales como fósforo, calcio, potasio, magnesio, hierro, zinc y sodio (Michajluk *et al.*, 2018). Además de sus propiedades nutricionales, posee propiedades medicinales (Deka and Das, 2017) al mantener los niveles adecuados de azúcar en la sangre y prevenir enfermedades crónico-degenerativas como las cardiovasculares, es preventor de imperfecciones, tiene efecto de regulador hormonal, produce colágeno, y es esencial para la piel (Carrillo-Gómez *et al.*, 2017).

La demanda global de chía comenzó a partir de los años noventa, actualmente se cultiva en Argentina, Bolivia, Paraguay, Australia y México principalmente (Busilacchi *et al.*, 2015); su consumo se incrementa día con día, por lo cual se exporta a Perú, Estados

Unidos, Chile, Alemania, Países Bajos, Reino Unido, Dinamarca, Japón, Canadá, Nueva Zelanda, Singapur y Sudáfrica (Suárez, 2018).

La producción de chía en México se realiza en condiciones de temporal, los buenos precios alientan su producción, mas sin embargo la tecnología de producción que utilizan son métodos tradicionales combinados con herramientas poco sofisticadas, las semillas usadas son locales, se usa abonos orgánicos y poco fertilizante y pesticidas (Muñoz *et al.*, 2017). Los estados productores son Jalisco, Querétaro, Puebla, Aguascalientes, Guanajuato, Michoacán, Sinaloa y Zacatecas, en 2017 la producción fue de 3207 toneladas, cifra que disminuyo ya que en 2014 la producción nacional alcanzo las 9548 toneladas (SIAP, 2019).

La disminución se podría asociar a la falta de experiencia sobre el cultivo, desconocimiento de la nutrición vegetal y limitada información sobre variedades mejoradas (Sosa-Baldivia y Ruiz-Ibarra, 2017).

La caracterización de materiales de esta especie insipiente, Hernández y Miranda (2008) estudiaron ecotipos de chía, encontrando similitud en tamaño de semilla y densidad de inflorescencia, con diferencias en ciclo biológico, y altura de planta. La semilla de chía presenta diferentes colores y tonalidades en un mismo lote, entre ellos el negro, gris jaspeado y blanco (Rovati *et al.*, 2012). La evaluación de cultivares ya derivados de una selección, han reflejado sus potenciales productivos con rendimientos de 1723 kg ha⁻¹ (Sosa-Baldivia *et al.*, 2017) y de 1274.7 kg ha⁻¹ (Grimes *et al.*, 2018).

Se han establecido bancos de germoplasma que concentran accesiones de las diferentes zonas productoras de esta especie, pero han sido insuficientes los trabajos de descripción de las mismas, por lo cual nace la necesidad de desarrollar investigaciones

tendientes a conocer dichos materiales, por lo que surgió la presente investigación con el objetivo de caracterizar morfológicamente el germoplasma de *Salvia hispanica* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se definieron 32 materiales con base en la variabilidad morfológica encontrada, 13 fueron colectadas en las diferentes zonas de cultivo, 6 fueron proporcionadas por el banco de germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo y 13 por la empresa Chíablanca ubicada en Acatic Jalisco (Cuadro 1). De las accesiones se obtuvieron 250 gr de semilla con productores, donaciones o intercambios con organizaciones y/o investigadores. Las selecciones se identificaron, codificaron y se sometieron a una limpieza removiendo material inerte (restos vegetales de cosecha, piedras, arena, trozos de semillas, semillas con daños mecánicos, enfermas o semillas de otras especies).

Cuadro 1. Material considerado en caracterización de *Salvia hispanica* L.

Número	Genealogía	Color de semilla	Institución
1	CHGRD	Negra	ICAMEX
2	CHCRI	Negra	ICAMEX
3	ININ1	Negra	ININ
4	ININ2	Gris Jaspeado	ININ
5	ININ3	Blanca	ININ
6	ININ4	Negra	ININ
7	ININ5	Negra	ININ
8	ININ6	Negra	ININ
9	ININ7	Gris Jaspeado	ININ
10	ININ8	Blanca	ININ
11	ININ9	Gris Jaspeado	ININ
12	ININ10	Blanca	ININ
13	ININ11	Negra	ININ
14	17Pz	Blanca	Chíablanca SC de RL
15	83FB5B	Blanca	Chíablanca SC de RL
16	59 Normal	Negra	Chíablanca SC de RL
17	66 G. Café	Café	Chíablanca SC de RL

18	122 Az	Negra	Chíablanca SC de RL
19	64	Negra	Chíablanca SC de RL
20	SLVTTLA	Negra	Chíablanca SC de RL
21	B54	Blanca	Chíablanca SC de RL
22	CRIPINA	Pinta	Chíablanca SC de RL
23	680	Negra	Chíablanca SC de RL
24	346	Negra	Chíablanca SC de RL
25	30Pz	Blanco	Chíablanca SC de RL
26	P75ZN	Gris Jaspeado	Chíablanca SC de RL
27	CNPGA	Negra	Banco germoplasma Chapingo
28	CNPGB	Negra	Banco germoplasma Chapingo
29	CPJGA	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
30	CPJGB	Gris Jaspeado	Banco germoplasma Chapingo
31	CBJGA	Blanca	Banco germoplasma Chapingo
32	CBJGB	Blanca	Banco germoplasma Chapingo

Las accesiones estudiadas se cultivan en el ciclo primavera-verano del 2017 en una plantación experimental ubicada en El Rancho Experimental San Lorenzo, Metepec, Estado de México, ubicado geográficamente en los 19°14'40" de latitud norte y 99°35'36", con clima templado sub-húmedo, temperatura media anual de 13.7°C y precipitación pluvial entre 1 000 y 1 200 mm, presenta 80-140 días con presencia de heladas de octubre a marzo y suelo tipo phaeozem.

El diseño experimental fue completamente al azar donde las 32 accesiones fueron sembradas cada una en tres surcos de 4.5 m, todas las parcelas fueron ubicadas sin surco de separación entre accesiones. Las 10 plantas, seleccionadas para la toma de datos fueron ubicadas en el surco central al azar. Las parcelas experimentales fueron conducidas sin fertilización, sembrando semillas a una distancia de 5 cm de separación en el lomo del surco, eliminando malezas manualmente para eliminar competencia y se lograra expresar su desarrollo óptimo.

Se realizaron descripciones morfológicas, tomando como base 37 descriptores establecidos por la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales, para *Salvia officinalis*. Para la determinación de estos descriptores, se tomaron muestras de flores, frutos, hojas e inflorescencias, siguiendo las pautas de la UPOV. Se tomaron datos de diez plantas de cada uno de las 32 selecciones estudiadas.

Se midió la altura de planta (AP), medida en cm de la base a la punta de la espiga en una planta totalmente desarrollada, densidad de ramas (DR), contando el número de ramas en una planta desarrollada; pigmentación antocianica del tallo (PT), observado en la parte media del tallo floral; largo de peciolo (LPe), ancho de limbo (AL), en cm de la parte más ancha de la hoja y tomada de la parte media de la planta; largo de limbo (LL), tomada de la base a la punta de la hoja, relación largo/ancho del limbo (RLAL). Posición de parte más ancha del limbo (PPA), forma de la base del limbo (FBL) y forma del ápice del limbo (FAL) se determinaron mediante la observación de los descriptores en hojas frescas y totalmente extendidas, el número de flósculos por nudo (NFN) se observaron en un nudo del tercio medio de una inflorescencia.

Longitud de bráctea (LB), largo de cáliz (LC), largo corola (LCo), ancho de corola (AnCo), largo del tubo de la corola (LTCo)) y ancho del labio superior (AnLS), se midieron de flores totalmente desarrolladas y frescas medidas en microscopio estereoscópico con cámara integrada y con el programa Leica. Pubescencia tallo (PbT), pubescencia del limbo (PL), pubescencia de cáliz (PuC), pubescencia de labio superior (PLS), rugosidad del limbo (RL), incisiones del borde del limbo (IBL), ondulación del borde del limbo (OBL), ondulación del borde del labio inferior (OBLI), porte del labio inferior en relación con el tubo de la corola (PRTCLI) y la distribución del color secundario en la cara interna del labio

inferior (CSLI) se determinaron observándose directamente en el microscopio en órganos frescos.

El color principal de bráctea (CPB), color principal de cáliz (CPC), color principal del tubo de la corola (CPTC), color principal del labio superior (CPLS), color secundario de labio superior (CSLS), color de semilla (CS). Los descriptores de color se determinaron mediante el uso de carta de colores RHS. Días a floración (DF), obtenido cuando el 50% de las plantas presentaron floración en espiga principal; días a madures fisiológica (DMF), cuando el 50 de las plantas presento el 100 % de las espigas frútales secas.

Se realizó un análisis de agrupamiento y un análisis de ordenación. Para determinar la relación entre las 32 selecciones se efectuó un análisis de agrupamiento empleando el promedio no ponderado de grupos apareados (UPGMA, Unweghted Pair Group Method Using Aritmetic Averages) propuesto por Sokal and Michener, 1958. El método de ordenación empleado fue el análisis de componentes principales (Sánchez, 1995). Los análisis se efectuaron con el paquete estadístico SAS (SAS, 1999).

Resultados

El dendrograma generado con la información de 37 descriptores agrupó a las accesiones en 7 grupos a una distancia de 1.0. El conglomerado uno se divide en varios subgrupos, siendo el conglomerado más denso diviendose en: subgrupo 1^a, que contiene a las accesiones 1, 2, 4, 9, 30, 11, 13, 10, 29, 31, 32, 21 12, y 5; con características típicas como relación longitud/anchura de hoja, longitud de peciolo, altura de planta, forma de la base de la hoja, pero que presentan diferencia en color de semilla. El subgrupo 1^b se desliga del subgrupo 1^a a una distancia de 0.70 componiendo su conglomerado las accesiones 6, 7, 8 y

28 que guardan el mismo color de semilla, color principal de la cara externa del tubo de la corola, con pubescencia muy densa de la cara externa del cáliz pero con diferencias en la ondulación del borde del limbo y densidad de ramas. El subgrupo 1^c se desliga del subgrupo 1^b a una distancia de 0.72 y se compone con la selección 18, cuya posición de la parte más ancha limbo es marcadamente a la base, característica única del total de las accesiones; y la cual se desliga a una distancia de 0.75 de la colecta 3 componente del subgrupo 1^d; accesiones con una longitud de cáliz en grado de largo; el subgrupo 1^e que conglomerada a las selecciones 14, 24 y 27 que se separa del subgrupo 1^d a una distancia de 0.76, encontrando que se diferencian entre ellas por la densidad de ramas, rugosidad del limbo, tipo de incisiones del borde del limbo y ondulado del borde del limbo. *Salvia hispanica* presenta un sistema de apareamiento intermedio o mixto, con un promedio de cruzamiento natural de 22.17% (Hernández *et al.*, 2008). La hibridación es una condición frecuente en las poblaciones naturales con fenología similar, por eso la diferenciación intraespecífica de los individuos se basa en su variabilidad fenotípica, la cual es el resultado de la expresión de la diversidad genotípica y la selección para el mejoramiento genético de los caracteres de importancia económica (Camarena *et al.*, 2012)

El grupo 2 incluye a la colecta 22, genotipo con semillas gris jaspeado, el limbo de las hojas es ancho y largo, la longitud de la corola es largo y el color del tubo de la corola es azul violáceo. El conglomerado 3 está formado por la colecta 17, genotipo con especiales características como el color café claro de semilla, una alta relación longitud/anchura del limbo de la hoja y un color verde medio como color principal de la cara externa del cáliz. El grupo 4 formado por la colecta 16, con características sobresalientes en el largo del limbo, el

cual es corto y el ancho del limbo es estrecho, la forma del ápice del limbo es agudo, con una longitud de la corola larga y una anchura de la corola media, el color principal del labio superior y el labio inferior de la corola es violeta. Con los datos anteriores es posible afirmar que chía es una planta que presenta un gran polimorfismo, dicha variabilidad morfológica se observa tanto en poblaciones silvestres, como en cultivadas, la causa de tales variaciones es el flujo genético natural entre los diferentes genotipos y debido a que comparte visitantes y polinizadores florales (Hernández y Miranda, 2008).

El grupo cinco formado por la colecta 20, genotipo de origen silvestre, con características de hojas pequeñas, semillas más pequeñas de lo común, plantas de porte bajo (70 cm) y ciclo corto (120 días). El conglomerado seis contiene a dos accesiones con centro de origen semicálido, con la particularidad que presenta hojas más grandes, ciclo de vida que rebasa los 180 días, presenta sensibilidad a la presencia de frío. El grupo siete se conformó por los materiales 15 y 25, unidos a una distancia de .85, las características que las distinguen del resto de accesiones es que presentan semillas de color blanco, flores blancas y el color de las hojas y tallo es un verde claro y ciclo corto. La aglomeración de los diferentes grupos derivados del fenograma de *Salvia hispanica*, está relacionado con la variabilidad fenotípica dentro y entre especies, resultado de la interacción genotipo-ambiente; por eso organismos que comparten idéntico genotipo; en condiciones ambientales heterogéneas, pueden expresar diferente fenotipo (Petino y Fanara 2018). La chía al igual que los principales cultivos pueden ser agrupados por sus similitudes o diferencias en base al tipo de cultivar utilizado y a las particularidades de la semilla utilizada para la multiplicación con un manejo agronómico estándar (Rimieri, 2013).

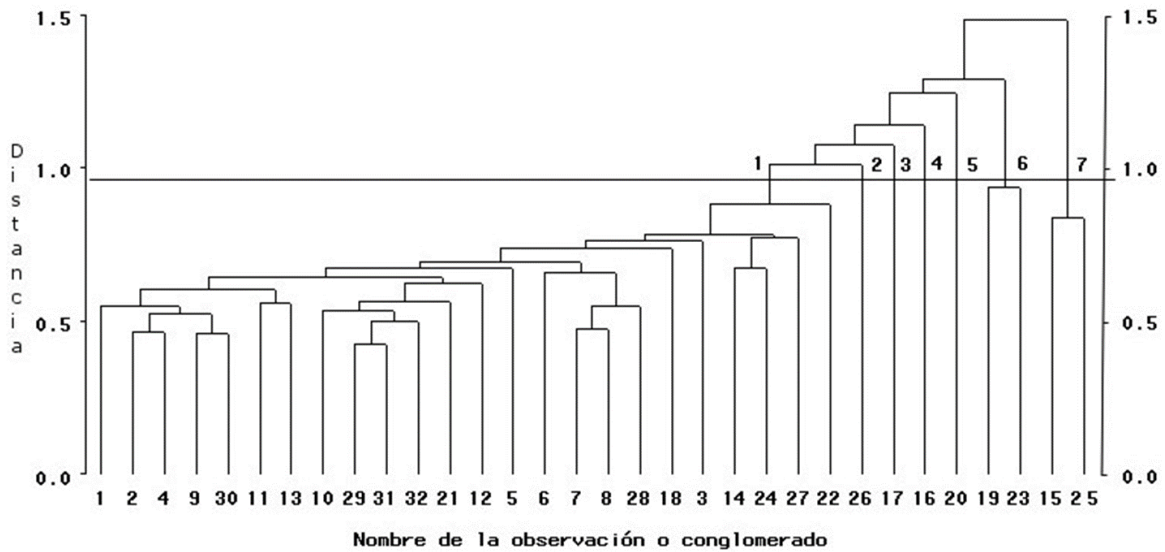


Figura 1. Fenograma de 32 accesiones de *Salvia hispanica* generado de 37 descriptores morfológicos.

Los tres primeros componentes principales agrupan un 45.99 de la variabilidad detectada por los componentes principales (fig. 2), el componente principal uno explica el 21.35% y se formó con las características: color principal del labio superior, color secundario de labio superior, color principal de la cara interna del labio inferior, color secundario de la cara interna del labio inferior y el color principal del tubo de la corola. El componente principal dos describe el 14.53% descrito por la pubescencia tallo y la pubescencia del limbo de las hoja; y el componente principal 3 explica el 10.11%; y se conformó por el ancho del labio superior y el porte del labio inferior en relación con el tubo de la corola.

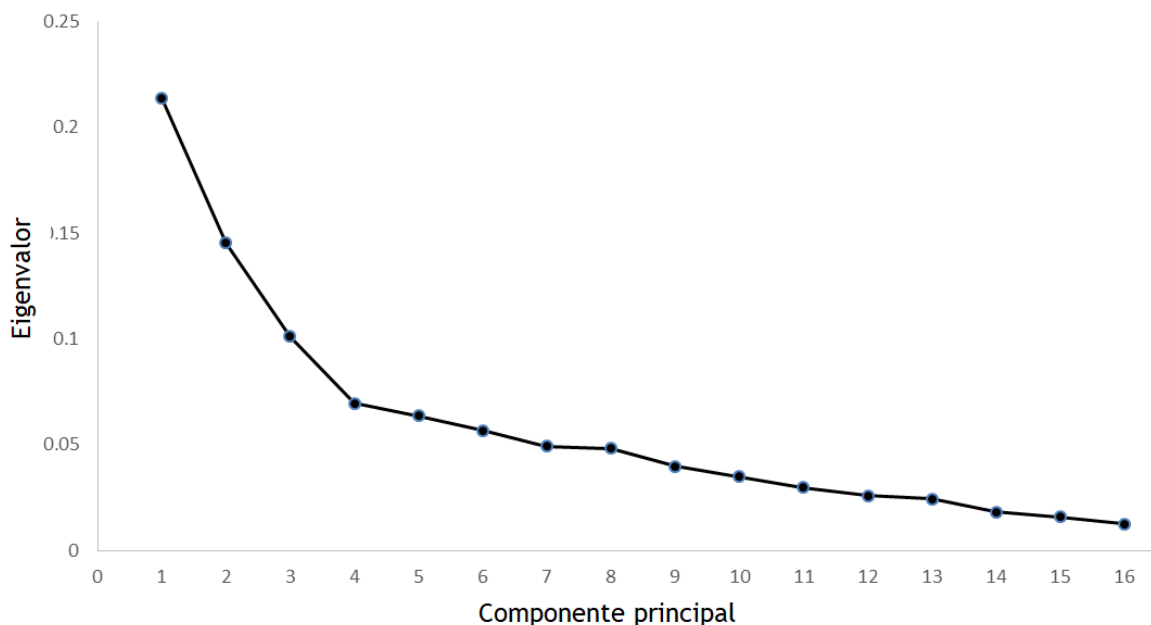


Figura 2. Porcentaje de variabilidad explicado por 16 componentes principales en 32 accesiones de chíá.

La dispersión de las accesiones con referencia a los dos primeros componentes principales, basados en 37 descriptores morfológicos de 32 accesiones de *S. hispanica* L., garantiza que la pérdida de información es mínima y que se ha recogido las fuentes de variabilidad más importantes en el conjunto de datos representados (fig. 3), por lo cual es posible interpretar las distancias existentes entre los puntos formando seis grandes conjuntos de materiales similares. El grupo 1 compacta a las accesiones, destacando que en el primer cuadrante se incluyen a las accesiones 11, 16, 3, 18, 26, 5 y 22; en el cuadrante 3 se localizan los materiales 19, 32 y 31; y en el cuadrante cuatro a las selecciones 28, 7, 6, 30, 12, 13, 29, 21, 8, 2, 1, 9, 4, 27, 10 y 24. Las variables estudiadas tienden a agruparse, con un grado aceptable de concordancia en su ubicación dentro de los cuadrantes (Ruiz-García *et al.*, 2001).

El grupo dos a la accesión 23; el grupo 3 a la 20, el grupo 4 a la 17, el grupo 5 a la 14 y el grupo 6 a la 15 y 25.

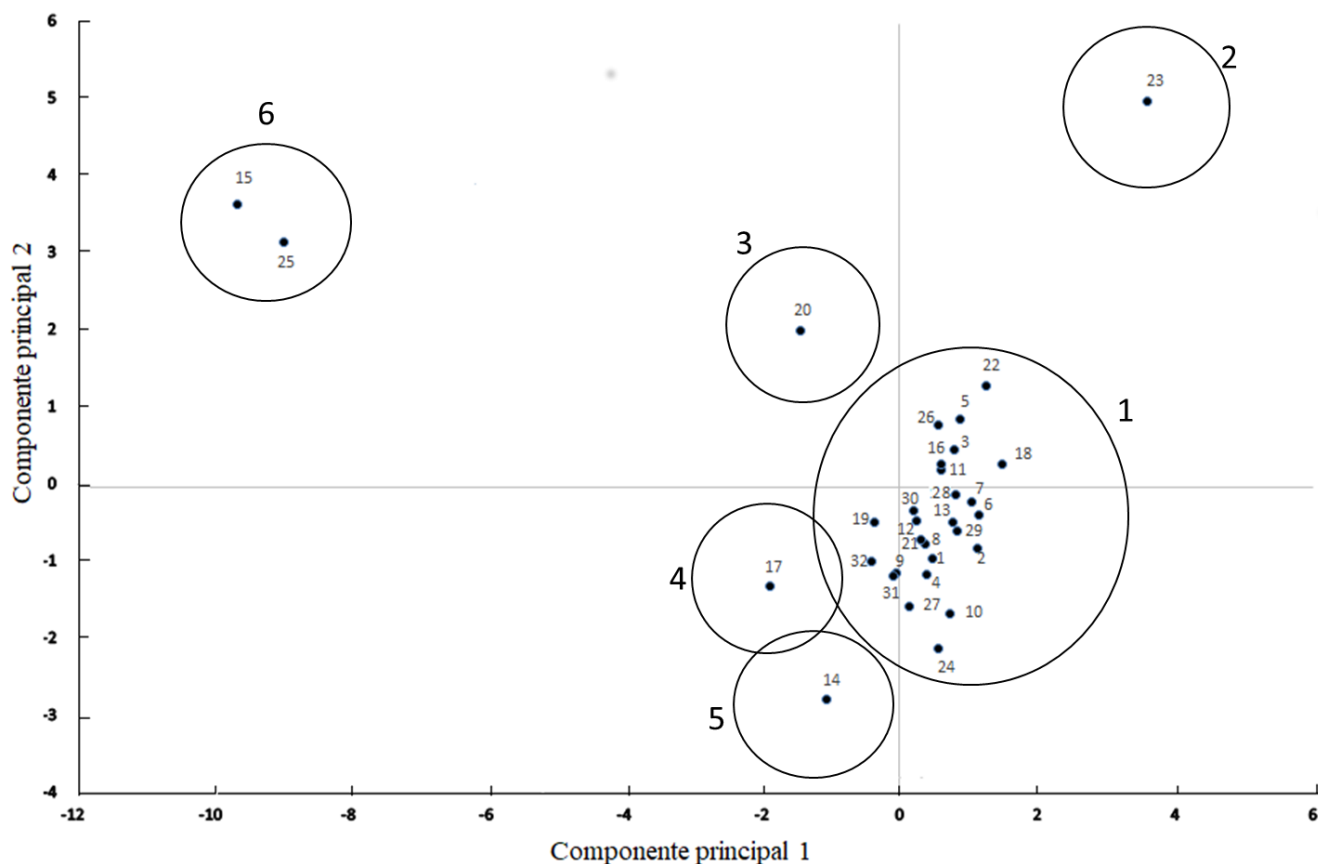


Figura 3. Dispersión con referencia a los dos primeros componentes basados en 37 descriptores morfológicos de 32 accesiones de chí.

Los descriptores PL, PbT, LB, LLm, AL, RLAL LPe, AP, PPA, RL, FAL, OBLI, LTCo, CPC Y DR, tienen una contribución positiva y significativa, lo que podría permitir precisar la contribución de las variables a los componentes principales y su relación con la variación explicada (Figura 4). La plasticidad fenotípica determina las modificaciones fenotípicas frente a diversos ambientes, la plasticidad exitosa de un individuo, una población o una especie, es importante para la existencia de la misma (Gianoli, 2004). Las

características morfológicas que permiten una mejor asociación de las muestras de *S. hispanica* son: ancho y largo de corola, ancho del cáliz y número de ramas. Las estructuras morfológicas que diferencian a las accesiones son: tamaño de flor, tipo de cáliz en el largo y ancho de corola, ancho de inflorescencia y en la altura de planta y las que presentan similitudes en densidad de la inflorescencia y tamaño de cáliz (Hernández y Miranda, 2008). Existe una marcada diferencia entre las selecciones en días a floración y días a madures fisiológica. La floración en la zona de estudio estuvo presente en el mes de Agosto, y solo dos materiales empezaron floración a finales de Septiembre (19 y 23), lo que concuerda con la afirmación de que las plantas de chía requieren de una duración del día crítica de 12 a 13 horas (Ayerza, 2014).

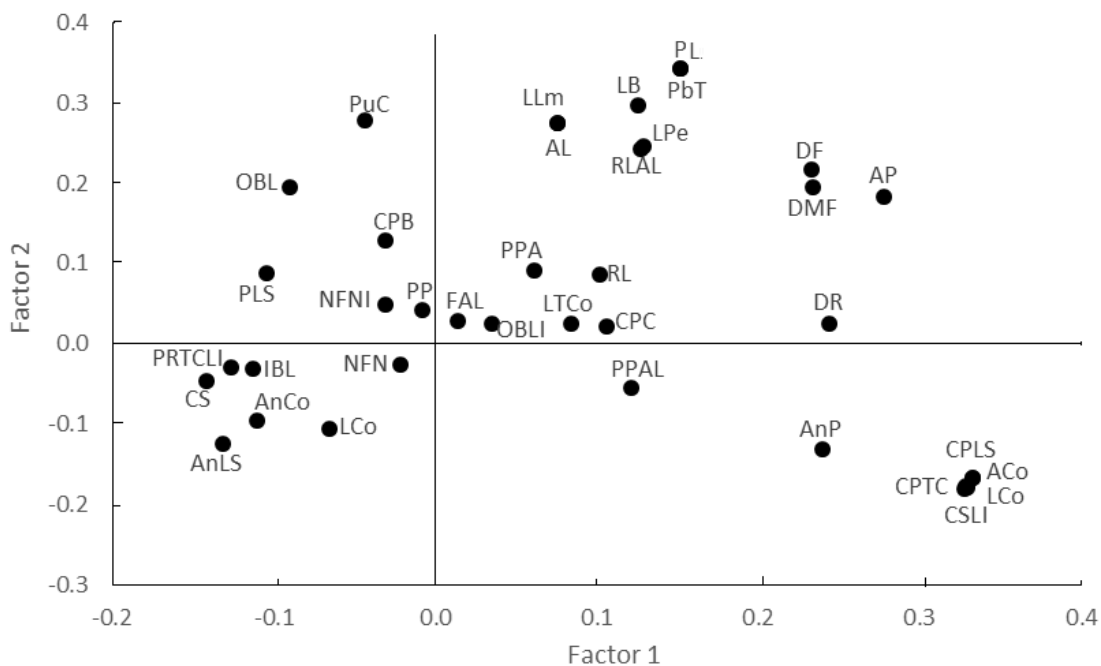


Figura 4. Distribución de 37 descriptores morfológicos analizados con los 2 primeros componentes de *Salvia hispanica* L.

Conclusiones

En chía existe gran diversidad morfológica, lo que representa una amplia variabilidad, la cual es importante para este cultivo que tiene una amplia distribución geográfica, porque además de su dispersión natural ha sufrido una diseminación por acción del hombre quien incluye nuevas variantes para facilitar el manejo agronómico, necesarias para incrementar los rendimientos agronómicos. La variabilidad puede o no expresarse, pero los rasgos más notables son en el tipo y forma de la hoja, descripción de flor, tipo de cáliz, ciclo fenológico y color de semilla. El mejoramiento genético utiliza colecciones de trabajo como fuente de variabilidad y adaptación, por lo cual este estudio es la base para desarrollar un programa de mejoramiento genético para desarrollar variedades mejoradas.

Literatura Citada

- Ayerza R. 2008. Chía flowering season prediction using day length data of 11 selected Locations. Rev. Ind. Agríc. de Tucumán. 91:33-35.
- Bueno M., M. Gonzalez, M. Quiroga, C. Severin y H. Busilacchi. 2016. Caracterización de semillas blancas y negras de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). Agromensajes 46:1-7.
- Busilacchi, H., T. Qüesta y S. Zuliani. 2015. La chía como una nueva alternativa productiva para la región pampeana. Agromensajes. 41:37-46.
- Camarena M., F., J. Chura C., R. H. Blas S. 21012. Mejoramiento genético y biotecnológico de plantas. Colecciones Agrosaber. 278 p.
- Carrillo-Gómez, C. S., M. Gutiérrez-Cuevas, M. Muro-Valverde, R. Martínez-Horner y O. Torres-Bugarín. 2017. La chía como súper alimento y sus beneficios en la salud de la piel. El Residente. 12:18-24.

- Deka, R. and A. Das 2017. Advances in Chía Seed Research. *Adv Biotechnol Microbiol.* 5:1-3.
- Di Sapio, O., M. Bueno, H. Busilacchi y C. Severin. 2008. Chía: important antioxidante vegetal. *Agromensajes*, 24:11-13.
- Di Sapio, O., M. Bueno, H. Busilacchi, M. Quiroga y C. Severin. 2012. Caracterización morfoanatómica de hoja, tallo, fruto y semilla de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat.* 11:249-268.
- Gianoli, E. 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. En: *Fisiología ecológica en plantas: mecanismos y respuestas al estrés en los ecosistemas*. Cabrera, M.; (ed.). Departamento de Botánica. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 13-25.
- Grimes, S. J., T. D. Phillips, V. Hahn, F. Capezzone and S. Graeff-Hönninger. 2018. Growth, yield performance and quality parameters of three early flowering chía (*Salvia hispanica* L.) genotypes cultivated in southwestern Germany. *Agri.* 8:1-20.
- Hernández G., J. A. y S. Miranda C. 2008. Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). *Rev. Fitotec. Mex.* 31:105-113.
- Hernández-Gómez, J. A., S. Miranda-Colín y A. Peña-Lomelí 2008. Cruzamiento natural de chía (*Salvia hispanica* L.). *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 14:331-337.
- Jamshidi, A. M., M. Amato, A. Ahmadi, R. bochicchio and R. Rossi. 2019. Chía (*Salvia hispanica* L.) as a novel forage and feed source: A review. *Ital. J. Agron.* 14:1-18.
- Jain, S. K. 1976. The evolution of inbreeding in plants. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 7:469-495.

- Juan, A., A. Terrones y J. Moreno. 2019. Contribución a la flora alóctona en el río Vinalopó (Alicante, España). *An. Biol.* 41:11-20.
- Martínez-Gordillo M., I. Fragoso-Martínez, M. R. García-Peña y O. Montiel. 2013. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Rev. Méx. Biodivers.* 84:30-86.
- Michajluk B., B. J., P. Piris J., L. G. Mereles C., L. G. Wiszovaty R. y S. B. Caballero de C. 2018. Semillas de *Salvia hispanica* L., “chía” como fuente de macronutrientes, fibra alimentaria y minerales. *Investig Agrar.* 20:74-77.
- Muñoz, M., T., I. Ocampo F., F. Parra I., J. Cervantes V., A. Argumedo M. y S. Cruz R. 2017. Proceso de producción y mecanismos de comercialización de chía (*Salvia hispánica* L.) por familias campesinas de los municipios de Atzitzihuacán y Tochimilco, Puebla, México. *Nova Scientia.* 9:788-818.
- Orona-Tamayo, D. L., M. E. Valverde and O. Paredes-Lopez. 2017. Chia-The new golden seed for the 21st century: Nutraceutical properties and technological uses. In: *Sustainable Protein Sources*. Chapter 17. Elsevier. 265-281.
- Petino Z., M. A., J: J: Fanara. 2018. La arquitectura genética como herramienta de análisis. *J. Basic Appl. Genet.*29:25-36.
- Ramírez-Jaramillo, G. and M. G. Lozano-Contreras. 2015. Potential for growing *Salvia hispanica* L. areas under rainfed conditions of México. *Agricultural Sciences.* 6:1048-1057.
- Rimieri, P. 2013. La estructura genética de poblaciones de plantas condiciona la interpretación de parámetros y su alcance en caracteres ecofisiológicos. *J. Basic & Applied Genetics.* 24:5-10.

- Rovati, A., E. Escobar y C. Prado. 2012. Particularidades de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.). EEAOC. Av. Agroind. 33:40-43.
- Ruiz-García, N. F., L. González-Cossío, A. Castillo-Morales y F. Castillo-González. 2001. Optimización y validación del análisis de conglomerados aplicado a la clasificación de razas mexicanas de maíz. Agrociencia. 35:65-77.
- Sánchez, J. J. 1995. El análisis biplot en clasificación. Rev. Fitotec. Mex. 18:188-203.
- SIAP. 2019. Anuario estadístico de la producción agrícola. Disponible en: <http://infosiap.siap.Gob.mx/aagricolasiapgb/icultivo/index.jsp>. Búsqueda 14 de febrero de 2019.
- Sokal, R. R. and C. D. Michener. 1958. A statistical method for Evaluating Relationships. Univ. Kans. Sci. Bull. 38:1409-1448.
- Sosa-Baldivia, A. y G. Ruiz-Ibarra. 2017. Será diabrotica speciosa gemmar, 1824 (coleoptera: chrysomelidae) una Plaga de importancia económica para la producción de chía (*Salvia hispanica* L.) En México. Entomol. Mex. 4:277-284.
- Sosa-Baldivia, A., G. Ruiz-Ibarra, G. V. Gordillo-Sobrino, J. D. Etchevers-Barra, M. Sharma, X. Liu, y R. R. Robles-de la Torre. 2017. Respuesta de cuatro cultivares de chía (*Salvia hispanica* L.) a la fertilización nitrogenada en el Petacal, Jalisco. México. Inf. Agron. Hisp. 28:8-13.
- Stebbins, G. L. 1957. Self-fertilization and population variation in the higher plants. Ame. Natural. 91:337-354.

Suárez, D. 2018. Logística y recursos naturales en los países sin litoral: el caso de la soya y la chía en el Estado Plurinacional de Bolivia y Paraguay. CEPAL. 81 p.

VIII. DISCUSIÓN GENERAL.

Los parámetros agronómicos medidos, fueron diferentes para los ambientes estudiados, obteniéndose significancia entre ambientes, entre accesiones y en la interacción accesiones por ambientes, debido posiblemente a las diferencias de tipo de suelo, precipitación y condiciones climáticas como la presencia de heladas, González (2016) menciona que la chía es una planta sensible al cambio drástico de temperatura, específicamente a la presencia de heladas por el riesgo de perder la cosecha; la precipitación puede afectar de igual manera la cosecha porque si hay presencia de lluvia cuando la chía ha madurado esta seguirá verde y no se seca para su recolección. Las accesiones que superan rendimientos de 1000 kg ha^{-1} de semilla, presentan 30 o más espigas florales, miden más de 90 cm de altura de planta y superan 34 g de peso seco de planta, por lo cual se podría deducir que estas variables están estrechamente relacionadas con el rendimiento de semilla, lo que concuerda con que entre mayor biomasa se tenga en chía mayor es su rendimiento (Arriagada, 2016).

El amplio polimorfismo presentado por las accesiones evaluadas coincide con la variabilidad morfológica observada tanto en poblaciones silvestres como cultivadas, lo cual puede deberse al flujo genético natural entre los diferentes genotipos, ya que presenta un sistema de apareamiento intermedio o mixto, con un promedio de cruzamiento natural de 22.17% (Hernández *et al.*, 2008). La hibridación natural es frecuente en poblaciones fenológicamente similares, por eso la diferenciación intraespecífica de individuos esta basada en la variabilidad fenotípica, la cual es el resultado de la expresión de la diversidad genética (Amador, 2012).

Las características morfológicas que permitieron diferenciar a las colectas son: color de flor, días a madurez fisiológica, tamaño de flor, tipo de cáliz, largo y ancho de corola, ancho de inflorescencia, color de semilla y altura de planta, datos que coinciden con los evaluados con Hernández y Miranda (2008). Los días a floración, días a madures fisiológica y la época de floración presentes en este estudio, concuerda con la afirmación de que las plantas de chíá requieren de una duración del día critica de 12 a 13 horas como lo asevera Ayerza (2014).

La caracterización de las 32 accesiones de chíá, al igual que los principales cultivos han sido agrupados por sus similitudes o diferencias; con base en las particularidades de la semilla utilizada para la multiplicación con un manejo agronómico estándar (Rimieri, 2013). Los resultados obtenidos de la caracterización morfológica, se comprobaron mediante el uso de la PCR para microsatélites, donde se estudió la diversidad genetica de *S. hispanica*, sin la influencia de los factores ambientales; y así estudiar directamente al origen de la variación, porque además de estimar las distancias genéticas entre poblaciones, variedades, líneas o híbridos, se establecen relaciones de parentesco entre líneas o acesiones.

El ADN obtenido por el método de Dellaporta en las accesiones de chíá presento calidades entre 1.7 y 2.0, rango óptimo que indica un alto grado de pureza e integridad como lo recomienda Müller and Schweizer (1994). Aunque la forma y el tipo de material colectado influye en la calidad de ADN, por lo cual es recomendable seleccionar material vegetal sano, libre de infecciones o daños mecánicos visibles (Valadez y Kahl, 2000). Los iniciadores usados presentaron una excelente grado de homología de sus secuencias con las del ADN molde, ya que la polimerización y la temperatura de alineamiento, favoreció la estabilidad en el alineamiento con el ADN (Guevara-García *et al.*, 2005).

IX. CONCLUSIONES GENERALES

La caracterización morfológica, agronómica y molecular de 32 colectas de *S. hispanica* L. ha permitido separar a las colectas y formar conglomerados de acuerdo a sus semejanzas, la diversidad observada a nivel molecular, agronómica y morfológica se explica por un cruzamiento natural en los campos de cultivo con poblaciones silvestres o entre las cultivadas; y al efecto de intercambio de semillas, selección y factores edafoclimáticos. Se identificaron las accesiones 1, 2, 12 y 22, como sobresalientes para establecimiento de plantaciones comerciales en la zona de estudio, como progenitores para programas de mejoramiento genético y para iniciar los trabajos en busca de su registro como variedades de *S. hispánica* ante las instancias correspondientes.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adal, A. M., Z. A. Demissie, S. S. Mahmoud. 2015. Identification, validation and cross-species transferability of novel *Lavandula* EST-SSRs. *Planta* 241:987-1004.
- Amador, C. 2012. Estrategias de manejo poblacional para revertir introgresión de genes exógenos. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid. 140 p.
- Arriagada, C. D. 2016. Efecto de la fecha de siembra en el rendimiento en grano en chía (*Salvia hispanica* L.) y su relación en el crecimiento y desarrollo. Tesis Licenciatura. Universidad de Chile. Chile. p 48.
- Ayerza, R. 1995. Oil Content and Fatty Acid Composition of Chía (*Salvia hispanica* L.) from Five Northwestern Locations in Argentina. *J Am Oil Chem Soc.* 72:1079-1081
- Ayerza, R. 2014. Chia flowering season prediction using day length data of 11 selected locations. *Rev. Ind. Agríc. de Tucumán.* 91:33-35.
- Ayerza, R., y W. Coates. 2011. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown Chia (*Salvia hispanica* L). *Industrial Crops and Products.* 34: 1366-1371.
- Ayerza, R. y W. Coates. 2006. Chía redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. Del Nuevo Extremo. Buenos Aires, Argentina. 232 p.
- Ayerza, R. and W. Coates. 2005. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutr Res.* 25:995-1003.
- Ayerza, R. y W. Coates, 1998. Comercialización y Producción de Chía. Segunda edición. Editorial del Nuevo Extremo. Buenos Aires. Argentina. pp. 35-37.

- Azhar, M., M. Amjad, M. Qasim, Y. Doğan, G. Comertpay, M. Yıldız, R. Hatipoğlu, F. Ahmad, A- Alsaleh, N. Labhane, H. Özkan, G. Chung and F. Shehzad.2018. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32:21-285.
- Cahill, J. P. 2003. Ethnobotany of Chía, *Salvia hispanica*. *Econ Bot.* 57:604-618.
- Carrillo-Gómez, C. S., M. Gutiérrez-Cuevas, M. Muro-Valverde, R. Martínez-Horner y O. Torres-Bugarín. 2017. La chía como súper alimento y sus beneficios en la salud de la piel. *El Residente.* 12:18-24.
- Chawla, H. S. 2009. Introduction to plant biotechnology. 3 ed. Science Publishers. 697 p.
- Claros, M. G. 1998. Marcadores moleculares: qué son, cómo se obtienen y para qué valen. *Encuentros en la Biología* 49:5-7.
- Coates, W. 2011. CHÍA: El increíble supernutriente. EE.UU. editorial. Edaf. Disponible en: https://books.google.hn/books?id=IG3axiryv7MC&pg=PT307&dq=propiedades+de+la+chia&hl=es419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=propiedades%20de%20la%20chia&f=false.
- Coates, W., R. Ayerza (1996) Production potencial of chia in northwestern Argentina. *Indust. Crops Prod.* 5:229-233.
- Cornejo-Tenorio G. y G. Ibarra-Manríquez. 2011. Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82:1270-1296.

- Dellaporta, S. L., J. Wood y J. B. Hicks. 1983. A plant DNA mini preparation: version II, *Plant Molecular Biology Reporter*. 1(4):19-21.
- Deka, R. and Das, A. 2017. Advances in Chía Seed Research. *Advances biotechnology & Microbiology*. 5(2):1-3.
- Demeke, T., B. Sasikumar, P. Hucl, R. N. Chibbar. 1997. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) in cereal improvement. *Maydica* 42:133-142.
- Di Sapio, B. O., H. Busilacchi, M., M. Quiroga y C. Severin. 2012. Caracterización morfoanatómica de hoja, tallo, fruto y semilla de *Salvia hispanica* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 11:249-268.
- Díaz, L. N. 2015. La Chía (*Salvia hispanica* L.) cultivo y alimento de los aztecas con nuevo potencial. Universidad autónoma agraria Antonio Narro. Tesis de Licenciatura, Coahuila, México. pp 86.
- García, E. 2005. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Talleres Larios. México, D. F. 220 p.
- Grimes, S., T. D. Phillips, V. Hahn, F. Capezzone and G. Graeff-Hönninger. 2018. Growth, yield performance and quality parameters of three early flowering chía (*Salvia hispanica* L.) genotypes cultivated in southwestern Germany. *Agriculture*. 8:1-20.
- Guevara-García A., C. San Román, A. Arroyo, M. E. Cortés, M. Gutiérrez-Nava and P León. 2005. Characterization of the Arabidopsis clb6 Mutant Illustrates the Importance of

- Posttranscriptional Regulation of the Methyl-D-Erythritol 4Phosphate Pathway. *The Plant Cell* 17:628-643.
- Hernández, J. A. y S. Miranda. 2008. Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31(2):105-113.
- Hernández-Gómez, J. A., Miranda-Colín S. y Peña-Lomelí A. 2008. Cruzamiento natural de chía (*Salvia hispanica* L.) *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 14(3):331-337.
- Ixtaina, V. Y., S. M. Nolasco and M .C. Tomás, 2012. Oxidative stability of chía (*Salvia hispanica* L.) seed oil: effect of antioxidants and storage conditions. *J Am Oil Chem Soc*. 89:1077–1090.
- Ivan, M. R. 2013. Evaluación de parámetros agronómicos en el cultivo de chía con aplicación de productos hormonales y fertilizantes foliares en la localidad de las lajitas, Salta. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Salta. Argentina. 20 p.
- Jamshidi, A. M., M. Amato, A. Ahmadi, R. Bochicchio and R. Rossi. 2019. Chía (*Salvia hispanica* L.) as a novel forage and feed source: A review. *Italian Journal of Agronomy*. 14:1-18.
- Jiménez, P., L. Masson y V. Quitral. 2013. Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3. *Revista Chilena de Nutrición*. 40 (2):155-160.
- Karim. M., A. Fuzzaman and A. Hossain. 2015. Effect of planting time on the growth and yield of chia (*Salvia hispanica* L.). *Asian J. Med. Biol. Res*. 1(3):502-507.

- Kumar, N. S. and G. Gurusubramanian. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Science Vision*. 11(3):116-124.
- Lombardo, Y. B. y A. Chicco. 2017. Consumo de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L): posibles mecanismos de acción sobre el mejoramiento de la dislipidemia, resistencia insulínica y adiposidad visceral en modelos experimentales y su extensión al humano. *FACIBIB*. 21:85-114.
- Mas, E., J. Poza, J. Ciriza, P. Zaragoza, R. Osta y C. Rodellar. 2001, fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Aquatic*. 15:1-10.
- Martínez, M. C., M. Helguera y A. Carrera. 2010. Parte I: Herramientas Básicas, Capítulo 5: Marcadores moleculares in: *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*. Editores: Levitus, G., V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp, y L. Mroginski. 70-85.
- Michajluk, B: J, P. A. Piris, L. G. Mereles, L. N. Wiszovaty y S. B. Caballero. 2018. Semillas de *Salvia hispanica* L., “chía” como fuente de macronutrientes, fibra alimentaria y minerales. *Investig. Agrar*. 20:74-77.
- Ministerio de Fomento, Industria y Comercio. 2017. Mercado de la chía en Reino Unido. Nicaragua. 33 pp.
- Miranda, F. 2012. Guía técnica para el manejo del cultivo de Chía (*Salvia hispanica*) en Nicaragua. Sebaco. 14 p.
- Morales, A., A Quintanar. y F. Cabezas. 2010. Labiatae. In: Castroviejo, S. (ed.) *Flora Ibérica*. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. 12:25-484.

- Müller, H. and B. Schweizer. 1994. Biochemical Applications for UV/Vis Spectroscopy; DNA, Protein, and Kinetic Analysis. Perkin Elmer. Ueberlingen. Alemania. s/p.
- Nieman, D. C., N. Gillitt, F. Jin, D. A. Henson, K. Kennerly, A. Shanely, B. Ore, M. Su and S. Schwartz. 2012. Chia seed supplementation and disease risk factors in overweight woman: A metabolomics investigation. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. 18(7):700-708.
- Orona-Tamayo, D. L., E. M. Valverde and O. Paredes-López. 2017. Chia-The new golden seed for the 21st century: Nutraceutical properties and technological uses. In: Sustainable Protein Sources. Chapter 17. Elsevier. 265-281 pp.
- Rimieri, P. 2013. La estructura genética de poblaciones de plantas condiciona la interpretación de parámetros y su alcance en caracteres ecofisiológicos. Journal of Basic & Applied Genetics. 24(2):5-10.
- Rohlf, F. J. 2000 NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. Exeter Publishing Setauket, New York. 38pp.
- Sáez, L. 2010. *Salvia* L. In: Morales R, Quintanar A, Cabezas F (eds) Flora Iberica. Jardín Botánico CSIC, Madrid, 40:298–326.
- Sandoval-Oliveros, M. R. and O. Paredes-López. 2013. Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 61:193-201.
- Sánchez, J. J. 1995. El análisis biplot en clasificación. Revista Fitotecnia Mexicana 18:188-203.

- Scalise, J. 2015. Tendencias, diagnósticos y prospecciones: Caracterización y diagnóstico de la cadena de valor de la chía en la Argentina. Ministerio de Agricultura. Argentina. 72 p.
- Sepehry-Javan, Z. F., Rahmani y R. Heidari. 2012. Assessment of genetic variation of genus *Salvia* by RAPD and ISSR markers. *Australian Journal of Crop Science*. 6:1068-1073.
- SIAP. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>, búsqueda 23-01-2109.
- Sosa, A., G. Ruiz, J. Rana, G. Gordillo, H. West, M. Sharma, X. Liu, R. Robles R. 2016. Chia Crop (*Salvia hispanica* L.): its History and Importance as a Source of Polyunsaturated Fatty Acids Omega-3 Around the World: a review. *Crop Res Fert*. 1:1-9.
- Sosa, B. A., G. Ruiz-Ibarra, R. R. Robles-de la Torre, G. Gordillo-Sobrino, M. Sharma, X. Liu. 2017a. La chía mexicana (*Salvia hispanica* L.): su historia e importancia como cultivo mundial. IX Congreso Nacional de Agricultura Sostenible. In: R. Jarquin-Galvez y A. Huerta-de la Peña (Eds.). La agricultura sostenible como base para los agronegocios. SOMAS. pp 1504-1555.
- Sosa, A., G. Ruiz, R. R. Robles, G. Gordillo, M. Sharma y X. Liu. 2017b. La chía Mexicana (*Salvia hispanica* L.) su historia e importancia como cultivo mundial. In Agricultura sostenible como base para los agronegocios. 1504-1514.
- Sosa-Baldivia, A. G. Ruiz-Ibarra, G. V. Gordillo-Sobrino, J. D. Etchevers-Barra, M. Sharma, X. Liu, y R. R. Robles-de la Torre. 2017c. Respuesta de cuatro cultivares de chía (*Salvia hispanica* L.) a la fertilización nitrogenada en el Petacal, Jalisco, México. *Informes Agronómicos de Hispanoamérica*. 28:8-13.

- Turk, D. J. Castenmiller, S. De Henauw, K. Ildico, J. Kearney. A. Maciuk, I. Mangelsdorf, H. J. McArdle, A. Naska, C. Pelaez, K. Pentieva, A. Siani, F. Thies, S. Tsabouri, M. Vinceti, F. Cubadda, K. H. Engel, T. Frenzel, M. Heinonen, R. Marchelli, M. Neuhäuser-Berthold, A. Pötting, M. Poulsen, Y. Sanz, J. R. Schlatter, H. V. Loveren, W. Gelbmann, L. Matijević, P. Romero and H. K. Knutsen. 2109. Safety of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) as a novel food for extended uses pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. EFSA Journal. 17(4):1-17.
- Unión Internacional Para La Protección De Las Obtenciones Vegetales (UPOV). 2016. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad en *Salvia* L. TG/316/1. Ginebra, Suiza. 35 p.
- Valadez, M. E. y G. Kahl. 2000. Huellas de DNA en genomas de plantas. Mundi Prensa. México. 147p.
- Velasco, R. 2005. Marcadores moleculares y la extracción de ADN. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 3:14-18.
- Vicente, M. C. and T. Fulton. 2003. Tecnologías de Marcadores Moleculares para Estudios de Diversidad Genética de Plantas: Módulo de Aprendizaje. Illus. Nelly Giraldo. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Roma, Italia. p. 1-52
- Wojahn, R. E., R. P. Bortolotto, J. F. Zamberlan, J. Koefender, J. L. Tragnago, J. N. Camera, M. P. B. Pasini, R. F. S. Salazar and F. Damiani. 2018. Agronomic feasibility of growing chía in northwestern Rio Grande Do Sul. Holos. 3:112-122.