



Revista Fitotecnia Mexicana

ISSN: 0187-7380

revfitotecniamex@gmail.com

Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.

México

Legaria Solano, J. Porfirio

DIVERSIDAD GENÉTICA EN ALGUNAS ESPECIES DE AMARANTO (*Amaranthus spp.*)

Revista Fitotecnia Mexicana, vol. 33, núm. 2, 2010, pp. 89-95

Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.

Chapingo, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61013185001>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

DIVERSIDAD GENÉTICA EN ALGUNAS ESPECIES DE AMARANTO (*Amaranthus* spp.)GENETIC DIVERSITY IN SOME SPECIES OF AMARANTH (*Amaranthus* spp.)

J. Porfirio Legaria Solano

Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5. Carretera México-Texcoco. 56230, Chapingo, Estado de México, México.

* Autor para correspondencia (legarias.juan@yahoo.com.mx)

RESUMEN

Se evaluaron 103 colectas de plantas del género *Amaranthus* previamente clasificadas mediante datos morfológicos como pertenecientes a razas de alguna de las tres especies cultivadas: *A. hypochondriacus*, razas 'Mercado' (7), 'Azteca' (38), 'Nepal' (30) o 'Mixteco' (1); *A. caudatus*, raza 'Sudamericana' (12); y *A. cruentus*, raza 'Mexicana' (15); para determinar la diversidad genética entre y dentro de razas y especies, obtener las huellas genéticas correspondientes, y hacer comparaciones para diferenciar sus variantes genéticas. El análisis de 141 fragmentos RAPD generados de 16 iniciadores reveló que *A. hypochondriacus* y *A. caudatus* están genéticamente más relacionadas, y que la especie más alejada fue *A. cruentus*. Entre razas de *A. hypochondriacus*, 'Mercado' y 'Azteca' mostraron estar genéticamente más cercanas entre sí y alejadas de 'Nepal' que agrupó a mayor distancia. La diversidad genética detectable en *Amaranthus* se encuentra dentro de especies y razas, más que entre especies y razas. El porcentaje de loci polimórficos entre poblaciones fue de 73.05 %, y dentro de poblaciones hubo baja variabilidad genética para la mayoría de ellas, con porcentajes de loci polimórficos que variaron de 27.66 % para *A. caudatus* raza 'Sudamericana' hasta 65.96 % en *A. hypochondriacus* raza 'Azteca'. El índice de diversidad genética de Nei (N) promedio fue de 0.15, que indica baja diversidad en las poblaciones. El grado de flujo genético (Nm) fue de 1.43, que indica que hay menos de dos individuos migrantes por generación entre las poblaciones evaluadas.

Palabras clave: *Amaranthus* spp., diversidad genética, RAPD.

SUMMARY

In this research, 103 accessions classified within races of three cultivated species of *Amaranthus*: *A. hypochondriacus* represented by races 'Mercado' (7), 'Azteca' (38), 'Nepal' (30) and 'Mixteco' (1); *A. caudatus*, 'Sudamericana' race (12); and *A. cruentus*, 'Mexicana' race (15); were analyzed to determine genetic diversity among and within them, to obtain the corresponding genetic fingerprints, and to carry out comparisons for differentiating and distinguishing between the genetic variants. Analysis of 141 RAPD fragments generated from 16 primers revealed that *A. hypochondriacus* and *A. caudatus* are genetically most similar to each other compared to *A. cruentus*. In *A. hypochondriacus*, races 'Mercado' and 'Azteca' are genetically more related between them than with 'Nepal'. In *Amaranthus* there is a higher genetic diversity within species and races than among species and races. The percentage of polymorphic loci between populations was 73.05 % and within populations the genetic variabi-

lity was low, with polymorphism levels of 27.66 % for *A. caudatus* race 'Sudamericana' and 65.96 % in *A. hypochondriacus* race 'Azteca'. Nei's coefficient of diversity (N) of all loci studied in the amaranth populations was 0.15, confirming a low diversity within populations. The level of genetic flow (Nm) was 1.43, indicating that less than two migrants per generation are exchanged between the populations.

Index words: *Amaranthus* spp., genetic diversity, RAPD.

INTRODUCCIÓN

Existen cerca de 20 especies del género *Amaranthus* en México que crecen en forma silvestre (Mapes, 1986). Dos de ellas *A. hypochondriacus* L. y *A. cruentus* L. fueron domesticadas por algunos grupos étnicos prehispánicos de México, quienes las utilizaban como parte de su dieta alimenticia y de sus rituales religiosos (Alejandro y Gómez, 1986, 1999; Granados y López, 1986).

Entre las aproximadamente 60 especies descritas del género *Amaranthus*, tres de ellas predominan en los amarantos cultivados: *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus* (Kauffman, 1986). Se considera que las tres especies son autopolinizables, con polinización cruzada de 3 a 25 % según la variedad y el ambiente (Jain *et al.*, 1982). Las tres especies son diploides con $2n = 2x = 32$ cromosomas, aunque hay reportes de $2n = 34$ en *A. cruentus* (Sauer, 1976).

A. hypochondriacus se puede localizar desde el suroeste de los Estados Unidos hasta el centro de México, y se traslata con la localización de *A. cruentus* que se extiende del Norte de México hasta Centroamérica. *A. caudatus* se encuentra principalmente en la región de los Andes en Sudamérica (Sauer, 1976).

Algunas colectas de amaranto pueden clasificarse rápidamente dentro de una especie particular con base en caracteres morfológicos. Sin embargo, la variación

morfológica puede ser afectada por la interacción genotipo-ambiente, lo que frecuentemente conduce a una clasificación errónea de especies en algunas colectas. Para evitar dichos errores de clasificación, Feine (1986) desarrolló una clave provisional que requiere la evaluación de diferencias en tamaño y forma de estructuras florales. No obstante, la variabilidad de las estructuras florales a través del tiempo, entre plantas y dentro de una planta individual, impide una identificación inconfundible de las especies al usar solamente las estructuras florales.

Además, también hay claras incompatibilidades genéticas entre las tres especies. Gupta y Gudu (1991) analizaron la viabilidad y fertilidad de todos los híbridos F1 posibles entre las tres principales especies cultivadas. Las cruzas entre *A. caudatus* y *A. cruentus* rindieron un número pequeño de semillas F1 las cuales murieron a las cuatro semanas después de la germinación. Las cruzas entre *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* también rindieron muy pocas semillas F1, la mayoría murieron como plántulas y las que sobrevivieron hasta la madurez (cuatro plantas) fueron estériles. Los híbridos F1 entre *A. hypochondriacus* y *A. caudatus* resultaron más exitosos porque pudieron madurar y ser autopolinizados para producir generaciones F2 y F3, aunque presentaron polen con baja fertilidad (10.3 a 15.1 %). Tales síntomas de incompatibilidad subrayan la necesidad de realizar una identificación fiel al nivel de especies para poder realizar mejoramiento genético y conservar los recursos genéticos de amaranto.

La técnica RAPD (polimorfismos en el ADN amplificados al azar) ha probado ser un método efectivo y de bajo costo para el mapeo de genomas (Reiter *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1990), para realizar selección asistida por marcadores (Michelmore *et al.*, 1991; Martín *et al.*, 1991) y para caracterizar recursos genéticos (Joshi y Nguyen, 1993). Esta técnica se basa en el análisis de marcadores de ADN heredables que son amplificados mediante iniciadores con secuencias arbitrarias de nucleótidos (Williams *et al.*, 1990). El objetivo del presente trabajo fue estimar la diversidad genética presente entre y dentro de especies y razas cultivadas de *Amaranthus*, así como determinar si el análisis de los patrones RAPD puede ser útil para identificar individuos y especies de *Amaranthus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 103 colectas de *Amaranthus* previamente clasificadas en el Valle de México mediante datos morfológicos, como pertenecientes a razas a alguna de las tres especies cultivadas: *A. hypochondriacus*, *A. caudatus* y *A. cruentus*, y que fueron proporcionadas por el Instituto

Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias para realizar la presente investigación. En el Cuadro 1 se indica la especie, la raza y el color de grano de cada una de las colecciones aquí estudiadas. En total se estudiaron 76 colectas de *A. hypochondriacus* clasificadas según datos morfológicos como pertenecientes a las razas 'Mercado' (7), 'Azteca' (38), 'Nepal' (30) o 'Mixteco' (1); 15 colectas de *A. cruentus* raza 'Mexicana'; y 12 colecciones de *A. caudatus* raza 'Sudamericana'.

Para la obtención de los marcadores RAPD se usaron plantas de un mes de edad crecidas en condiciones de invernadero rústico, sin calefacción y con cubierta de cristal, ubicado en Chapingo, Edo de México 19° 29' LN, 98° 53' LO, y 2250 m de altitud. La temperatura media en el invernadero osciló entre 22 y 28 °C.

El ADN genómico se extrajo con el método propuesto por De la Cruz *et al.* (1997). La concentración del ADN extraído se cuantificó en un espectrofotómetro Jenway 6305® UV/vis a 260 nm de absorbancia, y se verificó la integridad del mismo después de realizar la electroforesis de 5 µg de ADN en un gel de agarosa a 0.8 % (p/v) con amortiguador TAE (40 mM Tris-acetato, pH 7.6; 1 mM Na₂EDTA), durante 2 h a 80 V y teñido con bromuro de etidio (0.5 mg mL⁻¹), para luego efectuar las reacciones en cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Se probaron 20 iniciadores de la serie A de Operon® (OPA01-OPA20) y 20 de la serie B (OPB01-OPB20) (Operon Technologies Inc, Alameda, CA, USA). Se seleccionaron 16 iniciadores que mostraron polimorfismo, y por la complejidad del patrón de bandeo para obtener los RAPD (Cuadro 2).

La PCR se hizo en un termociclador Perkin Elmer Modelo 480®. La mezcla de reacción se hizo con un volumen total de 25 µL, que incluyó: 4.2 µL de agua bidestilada esterilizada, 10 µL de dNTPs 500 µM, 2.5 µL de amortiguador 10X, 1.0 µL de MgCl₂ 50 mM, 3.0 µL del iniciador a una concentración de 10 pmol, 0.3 µL de enzima Taq ADN polimerasa a una concentración de 5U µL⁻¹, y 4.0 µL de ADN genómico a una concentración de 10 ng µL⁻¹. Las condiciones de reacción fueron: un ciclo a 94 °C, 2 min; 38 ciclos a 94 °C, 30 s, 40 °C por 30 s, 72 °C por 90 s; y al final 72 °C por 2 min. Los productos se separaron en geles de agarosa a 1.2 % (p/v) con amortiguador TAE (40 mM Tris-acetato, pH 7.6; 1 mM Na₂EDTA), durante 3 h, a 85 V. Finalmente, los geles se tiñeron con bromuro de etidio (0.5 mg mL⁻¹) y se fotografiaron bajo luz UV. Las reacciones de amplificación se repitieron al menos dos veces, sin que hubiera discrepancias entre los patrones RAPD obtenidos.

Cuadro 1. Características de los genotipos de *Amaranthus* evaluados.

Número de colecta	Especie	Raza	Color de grano
1,2,16, 17, 18	<i>hypochondriacus</i>	‘Mercado’	Blanco
3,21	<i>hypochondriacus</i>	‘Mercado’	Café
4,5,6,7, 8, 9, 10, 11,	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
12, 15, 32, 33, 34,	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
35, 36, 37, 38, 39,	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
40, 41, 42, 43, 44,	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
45,46, 47, 48, 49, 50	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
51, 52, 53, 54, 55,	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
56,57	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Blanco
13, 14	<i>hypochondriacus</i>	‘Azteca’	Café-oscuro
61, 62, 63, 65, 67,	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Blanco
69, 70, 71, 72,73, 78	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Blanco
80, 82,84, 85, 86, 87	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Blanco
90	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Blanco
64, 66, 68, 74, 75,	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Blanco-Negro
76, 77, 79, 81,88, 89	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Blanco-Negro
83	<i>hypochondriacus</i>	‘Nepal’	Rosado
102	<i>hypochondriacus</i>	‘Mixteco’	Cristalino
19, 27, 29, 60	<i>cruentus</i>	‘Mexicana’	Blanco-café
20	<i>cruentus</i>	‘Mexicana’	Cristalino
22,23, 24, 25, 26,	<i>cruentus</i>	‘Mexicana’	Blanco
28, 30, 31, 58, 59	<i>cruentus</i>	‘Mexicana’	Blanco
91,92,94, 100	<i>caudatus</i>	‘Sudamericana’	Blanco
93, 95, 97, 98, 99,	<i>caudatus</i>	‘Sudamericana’	Cristalino
101, 103	<i>caudatus</i>	‘Sudamericana’	Cristalino
96	<i>caudatus</i>	‘Sudamericana’	Negro-blanco

Cuadro 2. Lista de iniciadores y sus secuencias, número de productos amplificados y polimorfismo total.

Oligonucleótido	Secuencia 5'-3'	Productos amplificados	Bandas polimórficas	Bandas monomórficas	Polimorfismo total (%)
OPA01	CAGGCCCTTC	2	1	1	50.0
OPA02	TGCCGAGCTG	12	11	1	91.6
OPA03	AGTCAGCCAC	5	3	2	60.0
OPA04	AATCGGGCTG	7	5	2	71.4
OPA09	GGGTAACGCC	9	0	9	0.0
OPA10	GTGATCGCAG	8	8	0	100.0
OPA11	CAATCGCCGT	4	0	4	0.0
OPA13	CAGCACCCAC	14	13	1	92.8
OPA14	TCTGTGCTGG	8	2	6	25.0
OPA20	GTTGCGATCC	9	2	7	22.2
OPB01	GTTTCGCTCC	11	10	1	90.9
OPB04	GGACTGGAGT	13	13	0	100.0
OPB05	TGCGCCCTTC	13	12	1	92.3
OPB06	TGCTCTGCC	6	4	2	66.6
OPB10	CTGCTGGGAC	10	10	0	100.0
OPB15	GGAGGGTGT	10	10	0	100.0
Media		8.8	6.5	2.4	66.4

Los materiales se compararon con base en similitudes y diferencias en los patrones de bandeo, y se asignó un valor de 1 a la presencia de una banda y de 0 a la ausencia de la misma, bajo el supuesto de que bandas de igual peso molecular son idénticas en colecciones diferentes.

El porcentaje de loci polimórficos se calculó mediante la fórmula: Porcentaje de loci polimórficos = (Número de loci polimórficos/número total de loci) x 100 (Nei, 1973).

Se consideró a las colecciones de cada raza dentro de especies como poblaciones, y para estimar parámetros de polimorfismo al nivel de poblaciones, la matriz de datos presencia/ausencia de RAPD se analizó con el programa POPGENE32 (Yeh *et al.*, 1999). Los parámetros de polimorfismo estimados dentro y entre poblaciones fueron: porcentaje de loci polimórficos (P), número de alelos por locus (A), número efectivo de alelos por locus (Ae), índice de Shannon (S), índice de diversidad genética de Nei (N), coeficiente de diferenciación genética (G_{ST}) y número de individuos migrantes (N_m).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El listado de iniciadores y sus secuencias, el número de productos amplificados, y el polimorfismo detectado por cada par de iniciador, se muestran en el Cuadro 2. De 40 iniciadores probados de las series A y B de Operon®, sólo 16 presentaron productos de amplificación (Cuadro 2) y 14 mostraron polimorfismo. La media de polimorfismo detectada por los iniciadores fue de 66.42 %. Los iniciadores OPA10, OPB04, OPB10 y OPB15 revelaron 100 % de polimorfismo, mientras que OPA09 y OPA11 detectaron 0 %. El número promedio de bandas reveladas por iniciador fue de 8.8, con un rango de 2 a 14. El tamaño de los fragmentos amplificados varió de 500 a 5000 pb.

Los patrones RAPD obtenidos mediante el iniciador OPA13 (Figura 1), muestran la existencia de variabilidad genética entre los individuos evaluados, tanto dentro del género como entre especies o poblaciones.

El dendrograma de relaciones genéticas entre individuos pertenecientes a especies o poblaciones de *Amaranthus* obtenido mediante el análisis de 141 bandas (Figura 2), muestra la formación de tres grandes grupos, que corresponden con las tres especies aquí incluidas. Estos resultados muestran que *A. hypochondriacus* estuvo genéticamente más relacionado con *A. caudatus*, y la especie más alejada fue *A. cruentus*. Las razas 'Azteca', 'Nepal' y 'Mercado' de *A. hypochondriacus* formaron un solo grupo; de éstas, 'Mercado' y 'Azteca' mostraron estar genéticamente más cercanas, en relación con la raza

'Nepal' que se ubicó a mayor distancia. La raza 'Mixteco' estuvo más cercana a 'Azteca' y 'Mercado' que a 'Nepal' (datos no mostrados). Lo anterior concuerda con la clasificación morfológica y molecular establecida por otros autores (Gupta y Gudu, 1991; Transue *et al.*, 1994; Wassom y Travel, 2005; Drzewiecki, 2001). Estos resultados sugieren que los marcadores RAPD's son eficientes para discriminar especies y razas de *Amaranthus*.

El porcentaje de loci polimórficos (P) entre poblaciones fue de 73.05 % (Cuadro 3). Dentro de la población de *A. hypochondriacus* raza 'Mercado' (AhyM), los individuos mostraron un polimorfismo de 53.19 %, los de *A. hypochondriacus* raza 'Nepal' (AhyN) 43.97 %, *A. hypochondriacus* raza 'Azteca' (AhyA) 65.96 %, *A. caudatus* raza 'Sudamericana' (AcaSD) 27.66 % y *A. cruentus* raza 'Mexicana' (AcrMx) 39.01 %. La población con mayor polimorfismo genético fue *A. hypochondriacus* raza 'Azteca' y la menos polimórfica fue *A. caudatus* raza 'Sudamericana'. Estos valores indican que las poblaciones presentan baja variabilidad genética, y difieren de los reportados por Mandal y Das (2002) quienes encontraron polimorfismos de 69.2 % en *A. cruentus*, 38.5 % en *A. caudatus* y 15.4 % en *A. hypochondriacus*; estas diferencias pueden deberse a que son genotipos diferentes, con orígenes diferentes.

El coeficiente de diversidad (N) de Nei (1973) para todos los loci estudiados en las cinco poblaciones de *Amaranthus* fue de 0.20 (Cuadro 3); para cada especie y raza los coeficientes fueron: 0.17 para la raza 'Mercado' (AhyM), 0.14 para la raza 'Nepal' (AhyN), 0.21 para la raza 'Azteca' (AhyA), 0.09 para la raza 'Sudamericana' (AcaSD), y 0.13 para la raza 'Mexicana' (AcrMx). Estos valores otra vez muestran una reducida diversidad genética en las poblaciones. En lo referente al número de alelos por locus (A) y el número efectivo de alelos (Ae), *A. hypochondriacus* raza 'Azteca' (AhyA) superó a las poblaciones restantes con valores de 1.66 y 1.35, respectivamente.

El coeficiente de diferenciación genética entre las poblaciones (Cuadro 3) fue relativamente bajo (G_{ST} = 0.26; 26 %), lo que indica que las poblaciones están poco diferenciadas, y que aproximadamente 26 % de la variación detectada se debe a diferencias entre especies y razas; el resto (74 %) representa diversidad genética dentro de las especies y razas. El valor de G_{ST} entre especies es semejante a la media de G_{ST} (0.23) detectada por Nybom y Barthish (2000) mediante marcadores RAPD.

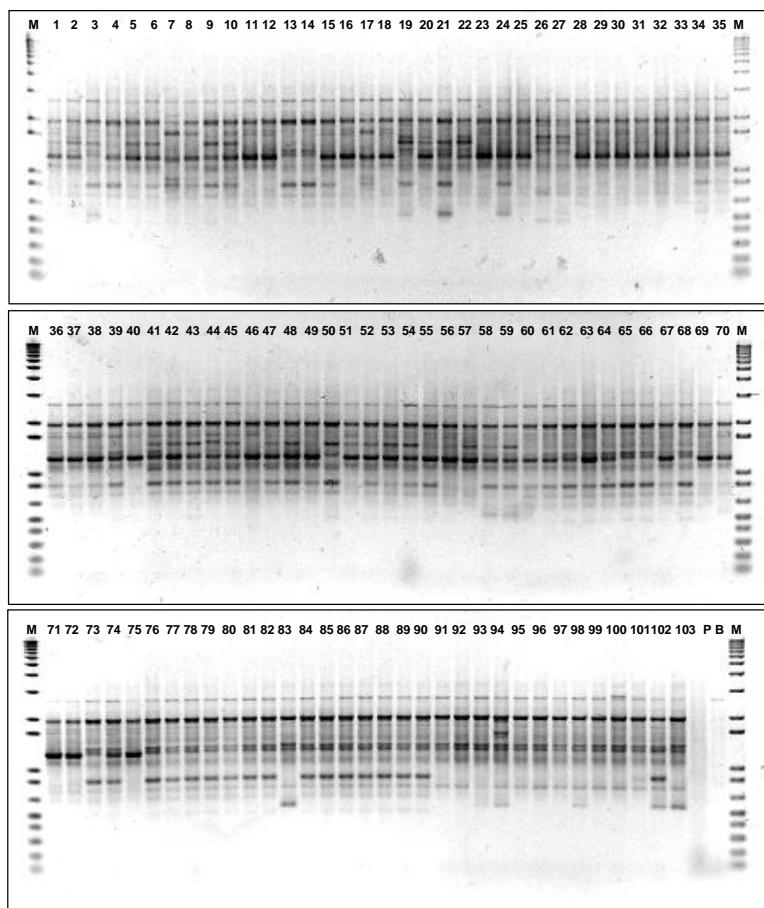


Figura 1. Patrón de productos amplificados mediante RAPD en colecciones de *Amaranthus* con base en el iniciador OPA13. M = marcador de peso molecular 1 kb. Los números sobre cada gel corresponden a los de colecta indicados en el Cuadro 1.

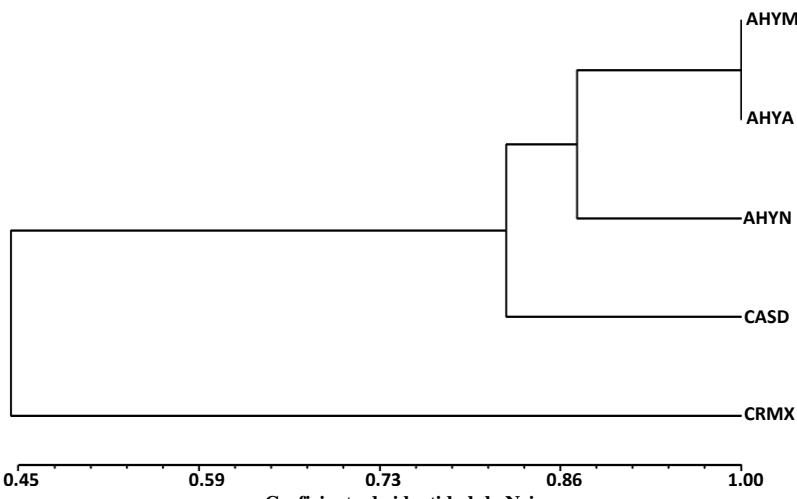


Figura 2. Dendrograma de relaciones genéticas entre poblaciones de *Amaranthus*, con base en las identidades genéticas obtenidas con la fórmula de Nei (1978). AHYM, *Amaranthus hypochondriacus* raza 'Mercado'; AHYA, *Amaranthus hypochondriacus* raza 'Azteca'; AHYN, *Amaranthus hypochondriacus* raza 'Nepal'; CASD, *Amaranthus caudatus* raza 'Sudamericana'; CRMX *Amaranthus cruentus* raza 'Mexicana'.

Cuadro 3. Diversidad genética entre especies y razas de *Amaranthus*.

Población	P (%)	A	Ae	N	S	Gst	Nm
AhyM	53.19	1.53	1.29	0.17	0.26		
AhyN	43.97	1.44	1.23	0.14	0.21		
AhyA	65.96	1.66	1.35	0.21	0.31		
AcSD	27.66	1.28	1.16	0.09	0.14		
AcrMx	39.01	1.39	1.21	0.13	0.20		
Entre poblaciones	73.05	1.73	1.33	0.20	0.31	0.26	1.43

AhyM, *Amaranthus hypochondriacus* raza 'Mercado'; AhyN, *Amaranthus hypochondriacus* raza 'Nepal'; AhyA, *Amaranthus hypochondriacus* raza 'Azteca'; AcSD, *Amaranthus caudatus* raza 'Sudamericana', AcrMx, *Amaranthus cruentus* raza 'Mexicana'. P = porcentaje de loci polimórficos; A = número de alelos por locus; Ae = número efectivo de alelos por locus; N = coeficiente de diversidad de Nei; S = coeficiente de diversidad de Shannon; Gst = coeficiente de diversidad genética entre poblaciones; Nm = número de individuos migrantes por generación.

En función de Gst se estimó el grado de flujo genético (Nm), con un valor de 1.43 (Cuadro 3), lo que significa que en promedio hay un individuo migrante por generación entre las poblaciones, lo que podría explicar su bajo grado de diferenciación.

Varios de los iniciadores probados, como OPA09 y OPA11, no detectaron polimorfismo, ya sea entre individuos pertenecientes a la especie o entre las especies y razas (Cuadro 2), lo que indica que las especies pudieran estar compartiendo grandes porciones de su genoma (Brown, 2002), y que las especies se derivan de un ancestro común (Whitkus *et al.*, 1994).

CONCLUSIONES

Amaranthus hypochondriacus se relacionó más con *A. caudatus* y la especie más alejada fue *A. cruentus*. Al nivel de razas de *A. hypochondriacus*, 'Mercado' y 'Azteca' mostraron estar genéticamente más cercanas entre sí, y ambas alejadas de 'Nepal' que se agrupó a mayor distancia. En *Amaranthus* la mayor parte de la diversidad genética detectable se encuentra dentro de las especies y razas, con una menor proporción de variación entre especies y razas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alejandro I G, L F Gómez (1999) Cultivo del amaranto en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 245 p.
- Alejandro I G, L F Gómez (1986) Variabilidad en tipos criollos de amaranto (*Amaranthus spp*) en la región central de México. In: Primer Seminario Nacional del Amaranto. El Amaranto *Amaranthus spp.* (Alegria), su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad S, F Gómez L, G Suárez R (comps). México. 577 p.
- Brown T A (2002) Genomes. 2nd ed. Bios Scientific Publisher. New York, USA. pp:483-505.
- De la Cruz M, F Ramírez, H Hernández (1997) DNA isolation and amplification from cacti. Plant Mol. Biol. Rep. 15:319-325.
- Drzewiecki J (2001) Similarities and differences between *Amaranthus* species and cultivars and estimation of outcrossing rate on the basis of electrophoretic separations of urea-soluble seed proteins. Euphytica 119:279-287.
- Feine L B (1986) A provisional key to some edible species of the family Amaranthaceae. In: Rodale Amarant Germplasm Collection. C S Kauffman, C Reider (eds). Rodale Press, Emmaus, PA. pp:68-90.
- Granados S D, R G López (1986) Chinampas: Historia y etnobotánica de la alegría (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Domesticación de la verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) y romerillo (*Suaeda diffusa* Wats.). In: Primer Seminario Nacional del Amaranto. El Amaranto *Amaranthus spp.* (Alegria), su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad S, F Gómez L, G Suárez R (comps). México. 577 p.
- Gupta V K, S Gudu (1991) Interespecific hybrids and possible phylogenetic relations in grain amaranths. Euphytica 52:33-38.
- Jain S K, H Hauptli, K R Vaidya (1982) Outcrossing rate in grain amaranths. J. Hered. 73:71-72.
- Joshi C P, H T Nguyen (1993) Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. Genome 36:602-609.
- Kauffman Ch S (1986) Observaciones sobre las investigaciones preliminares para el desarrollo de variedades mejoradas de amaranto de grano en cinco países. In: Primer Seminario Nacional del Amaranto. El Amaranto *Amaranthus spp.* (Alegria), su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad S, F Gómez L, G Suárez R (comps). México. 577 p.
- Mandal N, P K Das (2002) Intra- and interespecific genetic diversity in grain *Amaranthus* using random amplified polymorphic DNA markers. Plant Tissue Cult. 12:49-56.
- Mapes C (1986) Una revisión sobre la utilización del género *Amaranthus* en México. In: Primer Seminario Nacional del Amaranto. El Amaranto *Amaranthus spp.* (Alegria), su Cultivo y Aprovechamiento. A Trinidad S, F Gómez L, G Suárez R (comps). México. 577 p.
- Martin G B, J G K Williams, S D Tanksley (1991) Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:2336-2340.
- Michelmore R W, I Paran, R V Kesseli (1991) Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9828-9832.

- Nei M (1973)** Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 70:3321-3323.
- Nybom H, I V Bartish (2000)** Effects of life history traits and sampling strategies on diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. Persp. Plant Ecol. Evol. Syst. 3:93-114.
- Reiter R S, J K G Williams, K A Feldman, J A Rafalski, S V Tingey, P A Skolnik (1992)** Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1477-1481.
- Sauer J D (1976)** Grain amaranths. In: Evolution of Crop plants. N W Simmonds (ed). Longman Group Limited, London. pp:4-7.
- Transue D K, D J Fairbanks, L R Robison, W R Anderson (1994)** Species identification by RAPD analysis of grain amaranth genetic resources. Crop Sci. 34:1385-1389.
- Wassom J J, P J Travel (2005)** Amplified fragment length polymorphism-based genetic relationships among weedy *Amaranthus* species. J. Hered. 96:410-416.
- Whitkus R, J Doebley, J F Wendel (1994)** Nuclear DNA markers in systematics and evolution. In: DNA-based Markers in Plants. L Phillips, I K Vasil (eds). Kluwer. Amsterdam, The Netherlands. pp:116-141.
- Williams J K G, A R Kubelc, K J Livak, J A Rafalski, S V Tingey (1990)** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6531-6535.
- Yeh F C, R-C Yai, T Boyle (1999)** Popgene Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. Alberta, Canada. 28 p.