



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CONTEOS CROMOSÓMICOS Y CONTENIDO DE ADN EN
ASTERACEAE DE LA RESERVA ECOLÓGICA DEL
PEDREGAL DE SAN ÁNGEL, MÉXICO, DISTRITO
FEDERAL.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

HUMBERTO CORREA MORALES



DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA GUADALUPE ANTONIA PALOMINO HASBACH

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de datos del jurado

Datos del tutor

Dra.

María Guadalupe Antonia

Palomino

Hasbach

Datos del sinodal 1

Dr.

José Luis

Villaseñor

Ríos

Datos del sinodal 2

Dra.

Rosario

Rodríguez

Arnaiz

Datos del sinodal 3

Dra.

Regina

Montero

Montoya

Datos del sinodal 4

Dra.

Susana

Valencia

Ávalos

Datos del trabajo escrito

Conteos cromosómicos y contenido de ADN en Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, México, Distrito Federal

115 p

2011

DEDICATORIA

A mi madre Luz del Carmen.

A mis hermanos Elizabeth y Jaime.

A mis sobrinos María José, Mina, y Jael

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT-UNAM, por el financiamiento al proyecto IN214408 “Niveles de poliploidía en las Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria, México Distrito Federal”, del cual es parte el presente trabajo.

A la Dra. Guadalupe Palomino Hasbach por ser mi asesora de tesis, que fomentó la dedicación en mi trabajo y fue paciente durante mi estancia como tesista de licenciatura en el laboratorio de Citogenética del Jardín Botánico del IBUNAM.

Al M. en C. Francisco Javier Martínez Ramón por la enseñanza en el manejo de la técnica citogenéticas y en la toma de fotografías, así como en resolver mis dudas durante los conteos cromosómicos.

A la M. en C. Miriam Laad por su apoyo en la técnica de Citometría de flujo para la determinación del tamaño del genoma en las especies estudiadas.

A la Biól. Ingrid Brunner por su apoyo en la limpieza y germinación de semillas y por hacer del laboratorio un lugar más ameno.

Al Dr. José Luis Villaseñor por sus atinadas correcciones y por cultivar el interés en el conocimiento.

A mis sinodales, la Dra. Rosario Rodríguez, la Dra. Susana Valencia y la Dra. Regina Montero por sus atinadas correcciones e invertir parte de su valioso tiempo para que mi trabajo de tesis fuera un trabajo propio de la Universidad.

Al Dr. Ignacio Méndez por su sencillez y gran ayuda en la realización de los análisis estadísticos.

Al Biól. Jorge A. Saldívar Sandoval del área de cómputo del Jardín Botánico del IBUNAM, por la edición final de la tesis.

Al Biól. Enrique Ortiz Bermúdez por su ayuda en la elaboración de mapas y proporcionarme la información de la base de datos.

A la Biól. Verónica Cepeda por escuchar mis dudas acerca del presente trabajo y por su amistad durante la realización de la tesis.

A los Biólogos Leonardo Céspedes y Oscar Hinojosa por su ayuda y apoyo durante la recolecta e identificación del material biológico.

A mi madre Luz del Carmen y a mis hermanos Jaime y Elizabeth por confiar siempre en mí, y en querer verme contento haciendo las cosas que me agradan.

A mis primos Su Lin y Jesús, y a mis tíos Cuauhtémoc y Jovita por hacer de mí hogar un mejor lugar para vivir y procurar que sea un mejor ser humano. También agradezco su paciencia.

A las personas del Instituto de la Juventud del Distrito Federal de la que he recibido apoyo y espero continúe apoyándome mientras lo necesite.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias Alberto, David, Daniela, Gerardo(s), Héctor, Oscar, Tania, Anaid, Luis Alejandro, Rodrigo y muchos más, que me han acompañado durante gran parte de la carrera y que por diversas razones nos hemos distanciado. Sin embargo, sé que puedo presumir de su amistad.

A mi amigo Hugo, compañero y amigo del atletismo. A mis entrenadores y compañeros atletas con los que he logrado una amistad más allá de las pistas.

A Jazmín y Nancy por su amistad sincera.

ÍNDICE

| | Págs. |
|---|--------------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| ANTECEDENTES | 4 |
| Citogenética | 4 |
| Mutaciones cromosómicas | 5 |
| Especiación | 7 |
| Poliploidía | 9 |
| Criterios para determinar la poliploidía en plantas | 10 |
| Auto y alopoliploidía | 11 |
| Formación y establecimiento de poliploides | 11 |
| Diploidización | 13 |
| Características de los poliploides | 14 |
| Familia Asteraceae | 16 |
| Importancia de las Asteraceae en la composición de floras | 17 |
| Números cromosómicos en la familia Asteraceae | 18 |
| Importancia de la investigación de la poliploidía en Asteraceae | 22 |
| Importancia económica de la familia Asteraceae | 22 |
| Tamaño del genoma | 23 |
| Estimaciones del valor C en plantas | 24 |
| Citometría de flujo | 25 |
| Usos de la Citometría de flujo en el genoma de las plantas | 27 |
| Contenido de ADN en Asteráceas presentes en la REPSA | 28 |
| Monitoreo de áreas naturales protegidas | 29 |
| Restauración de ecosistemas | 29 |
| OBJETIVOS | 31 |

| | Págs. |
|--|--------------|
| MATERIAL Y MÉTODOS | 32 |
| Área de estudio | 32 |
| Técnica de observación de cromosomas mitóticos | 34 |
| Estimación de la frecuencia de la poliploidía en las Asteráceas de la REPSA | 38 |
| Estimación de la viabilidad de polen en especies de Asteraceae de la REPSA | 38 |
| Técnica para la obtención de ADN por Citometría de flujo | 38 |
| Análisis estadísticos | 43 |
| Distribución geográfica y comparación de la distribución de especies entre <i>Melampodium longifolium</i> y <i>Melampodium perfoliatum</i> ; <i>Stevia tomentosa</i> y <i>Stevia viscida</i> | 43 |
| RESULTADOS | 44 |
| Revisión de listados florísticos de la REPSA | 44 |
| Números cromosómicos obtenidos para especies de Asteraceae de la REPSA | 45 |
| Estimación de la poliploidía en especies de Asteraceae de la REPSA | 52 |
| Poliploidía en géneros de Asteraceae presentes en la REPSA | 56 |
| Viabilidad de polen en especies de Asteraceae de la REPSA | 58 |
| Contenido de ADN por Citometría de flujo para especies de Asteraceae de la REPSA | 60 |
| Resultados del análisis estadístico para el contenido de ADN | 68 |
| Distribución geográfica y comparación de la distribución de especies entre <i>Melampodium longifolium</i> y <i>Melampodium perfoliatum</i> ; <i>Stevia tomentosa</i> y <i>Stevia viscida</i> | 70 |
| DISCUSIÓN | 75 |
| CONCLUSIONES | 82 |
| LITERATURA CITADA | 84 |
| APÉNDICE | 102 |

RESUMEN

En el presente estudio se contribuyó con 14 nuevos conteos cromosómicos en especies de Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA). La familia Asteraceae es la más abundante en la REPSA y en el país. Se evaluó, con una revisión bibliográfica, el número de especies de Asteraceae con números cromosómicos reportados y presentes en la REPSA. Se emplearon los números cromosómicos obtenidos y los publicados en la literatura para evaluar la poliploidía en 87 especies con base en tres criterios: especies con tres o más juegos cromosómicos (35.7%), especies con $n \geq 14$ (62%) y especies con $n \geq 11$ (81%). Se determinó el tamaño del genoma en picogramos (pg) y su composición en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb) en 14 especies de Asteraceae. Los valores determinados para el tamaño del genoma oscilan entre 2C ADN= 5.969 pg en *Bidens pilosa* y 2C ADN= 1.676 pg en *Bidens bigelovii*. Las diferencias en el contenido de ADN fueron significativas ($p < 0.0001$), lo cual era de esperarse al tratarse de especies de tribus diferentes, mas no en algunas especies del mismo género y nivel de ploidía, como *Melampodium longifolium* con $2n = 2x = 18$, 2C ADN= 1.727 pg y *M. perfoliatum* con $2n = 2x = 22$; 2C ADN= 3.784 pg; también en el caso de *Stevia tomentosa* 2C ADN= 2.616 pg y *Stevia viscida* 2C ADN= 2.898 pg, ambas con $2n = 3x = 33$. Es importante mencionar cierta proporción existente entre el tamaño del genoma y el nivel de ploidía entre *Bidens odorata* ($2n = 2x = 24$, 1.774 ± 0.0282 pg) y *Bidens pilosa* ($2n = 6x = 72$, 5.969 ± 0.0284 pg). Se comparó la distribución geográfica entre *Melampodium longifolium* y *M. perfoliatum* y *Stevia tomentosa* y *S. viscida*. Se observó que *M. perfoliatum*, especie con un mayor contenido de ADN, tiene amplia distribución en el país, contrario a *M. longifolium* que se distribuye de manera restringida. Las dos especies de *Stevia* ocupan áreas geográficas distintas, aunque convergen en la zona del Eje Neovolcánico Transversal. Los conteos cromosómicos y la cuantificación de ADN por Citometría de flujo son de gran importancia para conocer niveles de poliploidía en distintos grupos de organismos. Si bien, los conteos cromosómicos reportados son nuevos para individuos presentes en la REPSA, ya existen reportes previos en la literatura de estas 14 especies, lo que vino a reforzar lo reportado en la literatura. Esto puede ser de ayuda para determinar la variación inter e intraespecífica, los patrones de divergencia y los mecanismos relacionados con la evolución de los genomas, así como tomar decisiones en criterios biogeográficos al hacer estudios comparativos de la flora de la REPSA con otras floras del país. Todo esto permite tener un mejor conocimiento de nuestros recursos genéticos y generar estudios de filogenia y conservación entre otros. La poliploidía se encuentra en todos los grupos vegetales y se considera una de las fuentes de nuevas adaptaciones y eventos de especiación. El elevado porcentaje de poliploides en las Asteráceas de la REPSA es reflejo de su capacidad para colonizar nuevos hábitats con condiciones adversas, ya que el número de especies registradas ha ido en aumento, de acuerdo con los listados florísticos realizados a lo largo de los años.

INTRODUCCIÓN

La citogenética es la rama de la biología encargada de estudiar a los cromosomas durante las fases de división celular, así como su constitución genética. De especial interés, el conteo cromosómico, el análisis cariotípico y la cuantificación de ADN son técnicas de gran importancia para conocer niveles de poliploidía en distintos grupos de organismos y determinar la variación inter e intraespecífica, los patrones de divergencia y los mecanismos relacionados con la evolución en los genomas; esto con la finalidad de tener un conocimiento de nuestros recursos genéticos para generar estudios biosistemáticos, de filogenia y conservación, entre otros. La poliploidía se refiere a la presencia de tres o más juegos de cromosomas básicos (x) en una especie y es un evento presente en todos los grandes grupos vegetales (Stebbins, 1950, 1971). Debido a su distribución geográfica, que indica un aumento gradual de éstos conforme aumenta la latitud, se piensa que la poliploidía confiere resistencia a medios y ambientes hostiles.

Con los conteos cromosómicos, junto con otros estudios complementarios, se analizan las variaciones numéricas de diferentes especies y poblaciones relacionadas entre sí. Otro parámetro importante en este tipo de estudios se refiere a la cuantificación de ADN por genoma, que es un método rápido y preciso para estimar el tamaño, composición del genoma y niveles de ploidía en especies vegetales (Palomino, 2000), que se ve reflejada en una gran variación en distintos taxa, producto de la respuesta a la adaptación ecológica de las plantas (Bennett y Leitch, 1995; Grime, 1998; Ohri, 1998).

Se cree que la poliploidía es uno de los mecanismos que hacen posible la diversificación y colonización de nuevos hábitats para los grupos de plantas, por lo que se considera importante estudiar este fenómeno en la familia Asteraceae (Compositae), perteneciente al grupo de las angiospermas. Las Asteráceas son el grupo con mayor riqueza y más ampliamente distribuido con más de 1535 géneros y cerca de 23,000 especies (Jeffrey, 2007; Stevens, 2001; Bremen, 1994; Panero y Funk, 2002). Los miembros de esta familia se encuentran desde las zonas polares hasta los trópicos, abarcando casi todos los hábitats disponibles. Dentro de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) el grupo de las Asteráceas es el grupo más numeroso, con 93 especies registradas en el último listado florístico (Céspedes 2010).

Evaluar el papel de la poliploidía en la diversificación y evolución de las Asteráceas es preponderante en nuestro país. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA)

ubicada en el campus de Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Autónoma de México cuenta con uno de los últimos reductos de la comunidad de matorral xerófilo de *Senecio* (= *Pittocaulon*) *praecox* producto del derrame de lava del volcán Xitle hace unos 2000 años. Esto la convierte en candidata especial para conocer los niveles de ploidía en el mayor número de especies posibles, con enfoque especial en Asteráceas por ser la familia con el mayor número de especies en la REPSA (Rzedowski, 1954; Carrillo, 1995; Castillo Argüero *et al.* 2004; Soto, 2007).

A pesar de que esta comunidad se encuentra en categoría de Monumento Nacional, ha sido afectada constantemente por incendios, saqueos, basura y la invasión de especies ajenas a la Reserva. La importancia de los estudios relacionados con la REPSA radica en su conservación, ya que representa uno de los últimos reductos de los ecosistemas del sur del valle de México (Rzedowski, 1954, Carrillo, 1995), que ha sido destruido casi por completo por el avance de la mancha urbana en la ciudad de México.

ANTECEDENTES

Citogenética

Es el campo de la Biología que se encarga de estudiar la estructura, organización y comportamiento cromosómico durante la mitosis y meiosis, así como su relación con la transmisión y recombinación genética (Lacadena, 1988). Durante la mitosis, los cromosomas homólogos permanecen independientes, mientras que en la meiosis, los cromosomas se encuentran apareados formando bivalentes para intercambiar segmentos y producir la recombinación entre sitios homólogos de ADN.

Durante el desarrollo de la citogenética se puede destacar la época en la que fue necesario establecer el nexo de unión entre los conocimientos citológicos y las leyes mendelianas, ya que los citólogos del siglo XIX no lograban ponerse de acuerdo con lo que observaban en el microscopio porque les hacía falta un marco de referencia para interpretar dichas observaciones. Después del redescubrimiento de las leyes de Mendel, los citólogos lograron disponer de unos supuestos comunes para estar de acuerdo en la interpretación de sus observaciones (Baxter and Farley, 1979 citado por Lacadena, 1988).

Con lo anterior se abrió paso a la Teoría Cromosómica de la Herencia, la cual queda resumida en tres postulados:

- 1) Los genes están situados en los cromosomas,
- 2) Su ordenación sobre los mismos es lineal y
- 3) Al fenómeno genético de la recombinación le corresponde un fenómeno citológico de intercambio de segmentos cromosómicos homólogos (Morgan y Cattell, 1912 citado por Lacadena, 1988).

En la Botánica, la Citogenética ha contribuido significativamente al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en plantas (Solbrig, 1977). En la actualidad, los estudios citogenéticos se emplean como información taxonómica complementaria a los estudios morfológicos, anatómicos, palinológicos, embriológicos, bioquímicos y moleculares (Valdés, 1997).

La Citogenética es un campo útil para la caracterización de los genomas. El análisis del número cromosómico, el tamaño y la forma de los cromosomas (cariotipo), la determinación de los niveles de ploidía con base en el conteo cromosómico, el

comportamiento de los cromosomas durante la mitosis y meiosis y la cuantificación del contenido 2C de ADN nuclear o tamaño del genoma son algunas de las herramientas utilizadas. Este tipo de análisis nos ayudan a determinar patrones de divergencia de especies y mecanismos involucrados en la evolución de los genomas. La determinación de los cariotipos proporciona información del número básico (x) de grupos de ligamiento génico, proporcionando un indicador de la similitud genética entre poblaciones y especies (Rieger *et al.* 1982). Los estudios cromosómicos nos dan información acerca de la variación entre grupos taxonómicos, además de proporcionar una idea de la posible diversificación en el tamaño del genoma entre géneros, especies y poblaciones. Dado que los cromosomas son guías de afinidades filogenéticas e importante fuente de información para las clasificaciones sistemáticas, es importante analizar mediante las técnicas de citogenética existentes, las características del cariotipo, comportamiento en división celular y la variación intra e interespecífica del tamaño del genoma (Stebbins, 1971).

Recientemente, la hibridación *in situ* (ISH) ha contribuido de manera significativa en estudios evolutivos, biosistemáticos y de mejoramiento vegetal. Con esta técnica se pueden dar a conocer modos de especiación, producto de las mutaciones que alteran las características de los cromosomas. Consiste en llevar a cabo la hibridación entre una sonda de secuencias marcadas de ADN y el ADN de los cromosomas blanco; de esta manera, las secuencias complementarias hibridarán dependiendo de su homología; la ubicación de los sitios de hibridación se realizará mediante el uso de fluorocromos (Poggio y Naranjo, 2004).

Se ha visto que los estudios citogenéticos ponen de manifiesto la variabilidad genómica de las especies de importancia para el hombre. El análisis citogenético puede ser utilizado en campos del conocimiento tales como la Agronomía, estudios biosistemáticos, evaluación de recursos fitogenéticos actuales y/o potenciales, conocimiento de la flora mexicana, conservación *in situ* y *ex situ* (Palomino 1991, 2000), ecología, palinología, etnobotánica, estudios sobre sistemas reproductivos y biología evolutiva. Los números cromosómicos así como su morfología, comportamiento meiótico, potencial de hibridación y contenido de ADN (Kenton, 1986), otorgan una idea de las relaciones taxonómicas que puedan existir para llevar a cabo la producción de híbridos y poliploides de importancia económica.

Mutaciones cromosómicas

Se entiende como mutación cromosómica al efecto de la variación en el número cromosómico o características de los cromosomas. Este fenómeno contribuye al flujo génico

que existe entre especies, por lo que su papel en la diversificación de las especies ha sido muy estudiado (White, 1978; King, 1993; Rieseberg, 2001). Por su tipo se dividen en estructurales y numéricas. Un Citotipo se define como cualquier variedad o raza de una especie cuyo complemento cromosómico difiere cuantitativamente o cualitativamente, ya sea en número cromosómico o en estructura cromosómica, del complemento estándar de la especie (Müntzing, 1953), por lo que comprender los tipos de mutaciones cromosómicas es importante en la Citogenética.

a) Estructurales

La variación cromosómica estructural consiste en un reordenamiento de la disposición lineal de los genes sobre los cromosomas, en la que puede ocurrir ganancia o pérdida del contenido de información genética (Lacadena, 1988); afectando la estructura y tamaño de los cromosomas. Dentro de este tipo, podemos encontrar :

- **Translocaciones.** Ocurren cuando dos cromosomas no homólogos intercambian segmentos cromosómicos. Este fenómeno puede detectarse porque durante la meiosis el heterocigoto estructural forma un cuadrivalente. Un ejemplo de translocación en plantas se da en el género *Oenothera*, en el que los individuos son heterocigotos estructurales permanentes ya que todos los cromosomas están implicados en translocaciones múltiples (Levy y Levin, 1975).
- **Inversión.** Se presenta cuando un segmento cromosómico cambia de orientación en el cromosoma. Pueden ser de importancia evolutiva porque representan un mecanismo de aislamiento reproductivo por la ausencia de recombinación por parte del segmento invertido (Lacadena 1988).
- **Deleción.** Ocurre por la pérdida de un segmento cromosómico que puede poseer varios genes (Lacadena 1988).
- **Duplicación.** Es la repetición de un segmento de un cromosoma, que puede ser la réplica en el mismo cromosoma una réplica transpuesta a un cromosoma no homólogo. Este aumento del material genético puede generar la aparición de nuevos genes en el proceso evolutivo (Lacadena, 1988).

b) Numéricas

La variación numérica consiste en un cambio en el número original de cromosomas. Las plantas suelen soportar mejor las variaciones numéricas (Levin, 2000), mientras que la mayoría de los animales presentan problemas de viabilidad o fertilidad cuando las portan.

- Fusiones y fisiones céntricas. La primera se refiere a la unión de cromosomas homólogos con la pérdida del centrómero de uno de ellos, la segunda ocurre por la escisión de un cromosoma en dos con la aparición de un nuevo centrómero.
- La Poliploidía. Es un tipo de variación numérica en donde se originan nuevos organismos con tres o más juegos completos de cromosomas. Es mucho más frecuente en plantas que en animales y se presenta en todos los grupos de plantas superiores (Stebbins, 1950, 1971, Lacadena, 1988).
- La Aneuploidía. Es un cambio en el número de cromosomas, sin llegar a afectar a la dotación completa de cromosomas.
- Disploidía. Se refiere al aumento o disminución progresiva en el número cromosómico como resultado de rearrreglos de segmentos cromosómicos y pérdidas o incorporaciones de centrómeros sin que haya un cambio en el genotipo.

Especiación

Desde el punto de vista genético, una especie puede definirse como una unidad reproductiva, es decir, como el conjunto de individuos con capacidad de producir descendencia fértil en condiciones naturales normales, mediante cruzamiento de sus miembros, esto es, cuando pueda existir flujo genético entre individuos o poblaciones. En numerosos grupos taxonómicos se ha demostrado que en sus procesos de especiación han intervenido, o están interviniendo, determinados mecanismos citogenéticos (Lacadena, 1988).

Durante los procesos evolutivos que presentan los organismos a lo largo del tiempo, se incluyen dos aspectos:

- a) La evolución filética o anagénesis. Se refiere a cambios progresivos dentro de una línea filética que implica un cambio en la frecuencia genética de una población.

b) La cladogénesis o evolución cladogenética. Implica la bifurcación de una línea o rama filética primitiva en dos o más ramas nuevas (Baker, 2005). Ayala y Kiger (1980) mencionan que la gran diversidad de organismos en el mundo es resultado de una evolución cladogenética, que produce nuevas adaptaciones a una variedad de nichos ecológicos, así como formas de vida. La especiación es el fenómeno cladogenético más fundamental. Se denomina especiación al proceso por el que una especie da origen a dos o más especies. Puede ser de tres tipos:

- Alopátrida. Cuando una población en la que sus individuos se aparean sin restricciones, se separa en dos o más por una barrera geográfica. Por lo tanto las poblaciones resultantes se desarrollarán separadas y de manera gradual y pueden ser sometidas a condiciones ambientales diferentes. Como consecuencia de esto, se presentarán mecanismo de aislamiento entre las subpoblaciones.
- Simpátrida. Contrario a la alopátrica, la diferenciación genética se presenta sin la separación de las subpoblaciones (Mayr, 1963). Generalmente ocurre por la hibridación de especies cercanas, de manera que desarrollan mecanismos de aislamiento reproductivos, lo que lleva a que las especies nuevas ocupen otros nichos ecológicos. La poliploidía es un factor importante en la especiación simpátrica de las plantas (Otto y Whitton, 2000; Ramsey y Schemske, 2002). De especial interés, la alopoliploidía parece ser el tipo de especiación híbrida más frecuente entre las plantas (Jain, 1976). Las implicaciones evolutivas y genéticas de la poliploidización recurrente y reorganización son obvias, pues representan fuentes importantes de variación genética. Otto y Whitton (2000) desarrollaron un método para estimar la poliploidía y estimaron que ocurre 2-4 % en angiospermas y 7% en helechos. Concluyeron que la poliploidización puede ser el evento más frecuente de especiación simpátrica en plantas
- Peripátrida. Se presenta cuando una nueva especie surge en hábitats marginales dentro de los límites de una población mayor en los que el flujo génico puede verse disminuido y finalmente ser inexistente. Con esto las poblaciones periféricas se convierten en nuevas especies (Desalle y Hunt, 1987).

- **Parapátrida.** ocurre cierto flujo de genes entre subpoblaciones vecinas sin una separación geográfica entre éstas. En la gramínea *Anthoxanthum odoratum*, se presenta un buen ejemplo de especiación parapátrica, ya que poblaciones de esta especie cercanas a lugares con altas concentraciones de zinc y cobre, desarrollaron resistencia a dichos metales, lo que condujo a la divergencia de otras poblaciones de esta misma especie, no solo con la tolerancia a suelos contaminados, sino también a cambios en la época de floración, presentando una frecuencia de autopolinización mayor (Qureshi, *et. al.* 1985).

Poliploidía

Cuando la dotación autosómica normal de un individuo está compuesta por más de dos juegos completos de cromosomas, se dice que es un poliploide (Winkler 1916). Este autor introdujo y definió el término poliploidía al realizar estudios en *Solanum*. A su vez, Winge (1917) comparó el número cromosómico de especies del género *Chenopodium* y observó una serie aritmética regular, basada en $x=9$. Propuso que el número cromosómico se duplica en los híbridos de especies. Cuando los juegos cromosómicos son iguales se dice que el individuo es autoploide y se denominan de esta manera tri, tetra, n-ploide según sus células tengan 3, 4 o n número de complementos cromosómicos. Si los juegos cromosómicos no son iguales, se denomina alopoloide, que puede reunir en su complemento cromosómico dos o más complementos cromosómicos de especies diploides diferentes. A veces puede ocurrir que no se hayan encontrado o que estén extintas las especies diploides ancestrales que intervinieron en la formación de los alopoloides naturales. La poliploidía es un fenómeno natural, aunque puede aparecer de manera inducida mediante tratamientos experimentales (Lacadena 1996). La poliploidía es considerada una fuerza evolutiva muy importante (Masterson, 1994).

La poliploidía es un proceso evolutivo ampliamente distribuido en todos los grupos vegetales, aunque de manera irregular entre los grupos de plantas (Stebbins, 1950, 1971; Grant, 1989). Estimaciones recientes sugieren que alrededor del 70% de las angiospermas han sufrido uno o más períodos de poliploidización (Masterson, 1994). Stebbins (1950) consideró alrededor del 30 al 35% de las especies de angiospermas presentan poliploidía. Grant (1963) estimó el porcentaje de poliploidía en 47% para lo cual tomó en cuenta los números cromosómicos de 17,138 angiospermas, considerando que especies con $n=14$ o más indicaba poliploidía. Calculó una frecuencia de 43% en dicotiledóneas y 58% en monocotiledóneas. Goldblatt (1980) consideró que las especies con $n=11$ o más indicaba

poliploidía, y probablemente aquellas con $n=9$ y 10 de origen aneupolide. Goldblatt hizo un mayor énfasis en la poliploidía intragenérica; calculó que entre el 70-80% son poliploides.

La frecuencia de poliploidía en pteridofitas es aproximadamente de 95% (Grant, 1989), en algunas briofitas (Stebbins, 1950; Grant 1971) y en muy pocas gimnospermas es menor del 5% (Khoshoo, 1959). Algunos grupos de plantas aparentemente carecen de poliploidía, por ejemplo, no se han encontrado individuos poliploides en ginkgo o en cícadas (Grant, 1971).

Uno de los papeles evolutivos de la poliploidía es proveer de loci para una evolución divergente, proceso en el que durante un corto período de tiempo muchas especies se derivan de una o varias especies de ancestros (Morescalchi, 1977). Otro papel evolutivo es la generación de diversidad génica en el que genes duplicados por poliploidía pueden retener su función original o una similar, lo cual es traducido en una diversificación de proteínas funcionales y reguladoras; o en caso contrario, el silenciamiento, por medios epigenéticos o mutaciones (Wendel, 2000).

Criterios para determinar la poliploidía en plantas

La poliploidía ocurre en gran medida dentro de los distintos grupos de plantas, sin una relación obvia respecto a posiciones filogenéticas dentro de un grupo en específico (Stebbins, 1950). Se han utilizado principalmente tres criterios para determinar si una especie es poliploide en plantas:

- a) Stebbins estimó que 30-35% de las angiospermas son poliploides y su estimación incluye como poliploides aquellas especies con números cromosómicos gaméticos múltiplos de un número básico diploide encontrado dentro de su mismo género; número conocido como poliploide intragenérico (Stebbins, 1950; Goldblatt, 1980).
- b) Grant (1963) consideró que especies con $n=14$ o mayores, presentan poliploidía. Llegó a esta conclusión utilizando una tabla en la que se analizaron 17,138 especies de angiospermas con un número cromosómico (n) haploide establecido (todos los números cromosómicos encontrados hasta la fecha de su estudio). Calculó que su media era de $n=15.99$. Estos resultados también arrojaron una moda de $n=7,8$ y 9 para dicotiledóneas herbáceas y $n=7$ en monocotiledóneas. En las dicotiledóneas leñosas se encontró una distribución de frecuencias bimodal, cuyos máximos fueron de $n=8-9$ y $n=11-14$. Supuso que éste último grupo de números cromosómicos de dicotiledóneas leñosas se originó de un grupo filogenético vecino con un número cromosómico de alrededor de $n=8$, semejante al primer máximo de ese grupo. Por

otro lado en su estudio menciona una estimación con un rango de $n= 7-9$ como el número cromosómico original para las angiospermas, cuyo origen fue el Mesozoico medio. De acuerdo con su estimación, números cromosómicos superiores a $n= 14$ son de origen poliploide. También consideró que existe la posibilidad de encontrar poliploidía en números cromosómicos por debajo de $n= 14$ (Grant, 1963).

- c) Goldblatt (1980) Utilizando un método semejante al de Grant sugiere que especies con valores superiores a $n= 11$ presentan poliploidía. Considera que el método de Grant para estimar la poliploidía es una medida que posee muchos huecos o “gaps”, ya que para analizar este tipo de eventos es necesario realizarlo en niveles de género, también denominada poliploidía intragenérica. Realizó una tabla de la frecuencia de poliploides en familias de monocotiledóneas; en esta tabla se encuentra representada tanto los porcentajes de poliploidía intragenérica y las especies con números mayores a $n= 13$ (Goldblatt, 1980).

Auto y alopoliploidía

Grant (1981) señaló que los principales criterios para distinguir entre autopoliploides y alopoliploides son el comportamiento cromosómico, la fertilidad, las tasas de segregación y la morfología. También mencionó que estos criterios pueden no aplicarse en algunos casos individuales. Además destacó que la autopoliploidía y la alopoliploidía son miembros extremos dentro de un gradiente entre los que se pueden destacar los autopoliploides estrictos e interraciales. Los alopoliploides segmentales y genómicos.

Un autopoliploide es aquel poliploide que surge como resultado de una duplicación cromosómica, por lo que proceden de una sola especie parental y presentan asociaciones multivalentes durante la meiosis y una herencia multisómica (Stebbins, 1971, Ramsey y Schemske 1998, 2002). Los alopoliploides, que son de origen híbrido, presentan complementos cromosómicos de dos o más linajes, que pueden estar extintos en la actualidad. Estos complementos cromosómicos pueden presentar diferencias en cuanto a la secuencia de ADN, la expresión alélica, la estructura, el orden de los genes y la presencia de homología entre los cromosomas (Ramsey y Schemske 2002).

Formación y establecimiento de poliploides

En general, la frecuencia de eventos de formación de poliploides es muy rara en la naturaleza (Ramsey y Schemske, 1998). Aunque la formación de gametos no reducidos ($2n$)

es considerado un evento raro en general (McCoy, 1982), la producción de gametos no reducidos o diploides es al parecer, el evento que involucra la mayor producción de poliploides en poblaciones naturales (Harlan y de Wet, 1975). Existen una serie de factores tanto genéticos como ambientales que han influenciado la frecuencia de aparición de la formación de gametos no reducidos (Sax 1937; Thompson y Lumaret 1992; Ramsey y Schemske 2002). Algunos factores genéticos en la formación de gametos no reducidos se han observado en algunas especies de interés para la agricultura como la papa (Mok y Peloquin 1975; Veilleux *et al.*, 1982), alfalfa, (McCoy, 1982) y mora azul (Qu y Vorsa, 1999).

Los genes que controlan las tasas de producción de gametos no reducidos pueden llegar a fijarse en pequeñas poblaciones y hacer más frecuente la presencia de individuos poliploides en estas poblaciones. Los factores ambientales que afectan la formación de gametos no reducidos incluyen cambios repentinos en la temperatura (tratamientos de frío o calor), deshidratación, rayos X, rayos ultravioleta e infecciones por agentes patógenos que pueden inducir duplicaciones cromosómicas (Sax, 1937). Existen otros factores que pueden llegar a contribuir a la formación de poliploides e incluyen la clonación, la separación de su nicho y el apareamiento selectivo.

El primer paso crítico en la evolución de los poliploides es el establecimiento y la subsecuente persistencia de este nuevo poliploide (Fowler y Levin, 1984). Un nuevo y, por lo tanto poliploide raro dentro de una población o citotipo diploide podría estar en desventaja en cuanto a la fertilidad, ya que muchos polinizadores del citotipo poliploide incluirán polen de individuos diploides. Cuando un citotipo es predominante dentro de un ecosistema puede llegar a excluir citotipos raros para alcanzar altas frecuencias dentro de una población, esto se conoce como el principio de exclusión de los citotipos menores (Burton y Husband, 1999).

Existen algunos modelos que se han desarrollado para determinar de qué manera los poliploides llegan a establecerse en una población compuesta por diploides (Fowler y Levin, 1984; Felber, 1991; Rodríguez, 1996; Burton y Husband, 2000). Los parámetros que se incluyen en estos modelos son la producción de gametos no reducidos ($2n$) por el citotipo diploide, la frecuencia de los tetraploides formados en cada generación, los orígenes múltiples de poliploides a los largo de varias generaciones (perennes *versus* anuales). Una vez que la producción de gametos diploides excede un cierto umbral, los tetraploides serán capaces de reemplazar a los diploides.

Aunque los nuevos poliploides presentan un nivel reducido de fertilidad, estos aumentan de manera considerable en las siguientes generaciones (Ramsey y Schemske,

2002). Por lo tanto, los nuevos poliploides tendrán que competir y establecerse entre un número mayor de individuos diploides.

Se han descrito dos hipótesis acerca de bajo qué condiciones, un nuevo poliploide originado a partir de una o más especies parentales, puede llegar a establecerse y persistir (Fowler y Levin, 1984; Felber, 1991; Rodríguez, 1996). La primera sugiere que un nuevo poliploide puede persistir sustituyendo a su progenitor diploide, ya sea como resultado de un equilibrio inestable entre los citotipos y la pérdida de una pequeña población diploide mediante la competencia (Fowler y Levin, 1984; Rodríguez, 1996). La segunda hipótesis sugiere que un nuevo poliploide puede coexistir con su progenitor diploide, como resultado de la diferenciación de hábitat, inmediatamente después del origen de los poliploides.

Durante la formación de poliploides, puede ocurrir la eliminación de secuencias específicas en el genoma. La eliminación de cantidades considerables del genoma del trigo (alrededor del 14%) sugiere que la eliminación de secuencias específicas facilita el apareamiento de los cromosomas homólogos (Liu *et al.*, 1998; Shaked *et al.*, 2001)

Diploidización

Cuando los individuos autopoliploides son de formación reciente, presentan a menudo una alta frecuencia de multivalentes en la meiosis. Debido a esto, la fertilidad puede verse reducida por una segregación irregular de los cromosomas (Stebbins, 1971, Grant, 1989). Sin embargo, a través del tiempo, los poliploides tienden a comportarse genéticamente como diploides. A este proceso se le denomina diploidización (Grant, 1989). La diploidización afecta tanto el comportamiento citológico como la constitución genética de los poliploides (Grant, 1981).

En algunos poliploides, la organización cromosómica y la inactivación de genes (silenciamiento) son tan extensas, que el genoma es estructurado como un diploide. Uno de los problemas al estudiar estos individuos poliploides que se comportan como diploides es discernir si realmente se trata de un organismo poliploide. Por ejemplo, se presentaron dudas en torno a *Zea mays*, si realmente era un diploide o un antiguo aloploide. Mediante estudios de mapeo, se reunió evidencia de que se trata de un aloploide que fue sometido a un extensivo rearrreglo cromosómico (Soltis y Soltis, 1999). Los elementos transponibles, o elementos genéticos móviles, juegan un papel importante no solo en la evolución genómica de las plantas en general, sino también de manera específica en el desarrollo de poliploides (Matzke y Matzke, 1998; Bennetzen, 2000; Feschotte *et al.*, 2002).

Estos elementos parecen ser los agentes causales del silenciamiento de genes en algunos casos.

Wolfe (2001) indicó que el gran misterio de la evolución poliploide son las bases moleculares de la diploidización. Sin embargo, gracias a innovadoras técnicas en biología molecular, que incluye los métodos de bandeo cromosómico (GISH y FISH), mapeo genético y de genética comparativa, se ha evidenciado la reorganización intra e intergenómica de los genomas poliploides (Soltis y Soltis, 1993; Leitch y Bennett, 1997; Soltis y Soltis, 1999; Wendel, 2000).

Características de los poliploides

Entre los cambios que presentan los organismos poliploides con respecto a los diploides podemos mencionar los siguientes:

- a) Genéticos. Grant (1981) mencionó que la alta frecuencia de especies poliploides en plantas superiores habla del éxito en cuanto a su sistema genético para perpetuar la adaptación de genotipos híbridos dentro del marco de la reproducción sexual, lo que provoca una alta adecuación en el ecosistema y una rápida capacidad para establecerse. También sugirió que una segunda característica de los poliploides que puede ser ventajosa, es una tasa génica de amortiguamiento en su genotipo, en comparación con los diploides, debido a la presencia de numerosas copias de los genes característicos. Tanto los mecanismos genéticos como los epigenéticos pueden alterar la expresión génica y por ende, la duplicación de estos genes. Otra consecuencia de la poliploidía son las interacciones genómicas que pueden dar surgimiento a nuevos patrones de expresión y que puede conducir a la activación transcripcional y transposicional de transposones y retrotransposones (Soltis, *et al.* 2003). Estudios utilizando electroforesis enzimática han revelado que los individuos autopoliploides poseen un nivel de heterocigosis superior al de sus progenitores diploides, porque pueden mantener tres o cuatro alelos en un solo locus (Levin, 1983).
- b) Bioquímicos. Organismos alopoliploides poseen la capacidad de producir nuevas formas de proteínas heterodiméricas, que no han sido producidas por sus antecesores diploides (Soltis, *et al.* 2003). Los rápidos rearrreglos y reducción genómica, movimientos de ciertos segmentos de material genético a través del genoma y la introducción de materiales genéticos externos ilustran una alta complejidad en la dinámica de un genoma poliploide. La heterocigocidad presente

en poliploides puede ayudar a incrementar las alternativas en cuanto a las vías metabólicas, haciéndolas más flexibles, lo que también puede ser una ventaja comparada con los diploides (Levin, 1983).

c) Citológicos.

- Mitosis. El comportamiento cromosómico durante la mitosis de individuos poliploides no muestra irregularidades (Lacadena, 1988).
- Meiosis. En los núcleos de las células autotriploides los cromosomas homólogos se presentan por triplicado, en donde se han descrito casos de apareamiento múltiple en *Trillium* (Matsuura, 1949). Comings y Okada (1971) observaron que en pollos triploides, los complejos sinaptonémicos aparecían dobles en algunas zonas, indicando la posibilidad de que estuvieran apareados los tres homólogos. También hay observaciones en *Allium sphaerocephalon*, donde los complejos sinaptonémicos se mantienen siempre simples aunque pueden cambiar de pareja; es decir, el multivalente se mantiene por asociación de los cromosomas homólogos, dos a dos en cada región de apareamiento (Loidl y Jones, 1986). Las observaciones realizadas ponen de manifiesto que no todos los cromosomas 3x se asocian formando trivalentes, sino que pueden formarse bivalentes, quedando cromosomas sin aparear o univalentes (Lacadena, 1988). En autotetraploides cada cuatro homólogos pueden dar lugar a un cuadrivalente, a un trivalente y a un univalente, a dos bivalentes, a un bivalente y dos univalentes o a cuatro univalentes (Lacadena, 1988). Los alopoliploides se pueden originar por la duplicación cromosómica de los híbridos interespecíficos o intergenéricos o por la tetraploidización y posterior cruzamiento de los autotetraploides de especies diferentes. Si los genomas parentales del alopoliploide son más o menos homólogos, habrá una cierta posibilidad de que aparezcan asociaciones multivalentes meióticas y de lo avanzado que esté el proceso de diploidización (Ridley, 1960, Lacadena, 1988).

- d) Morfológicos. Levin (1983) también señaló las ventajas intrínsecas de la poliploidía, en la que expone una serie de numerosos tipos de cambios asociados con la poliploidía (tanto en alopoliploidía como autopoliploidía). Estos incluyen cambios en el tamaño de la planta, tiempo de floración y el rendimiento reproductivo. Por lo general, en las plantas poliploides las formas gigas (gigantismo) resultan aparentes,

ya que todos los órganos de la planta aumentan de tamaño, así como el color de las hojas que puede ser más oscuro. También puede haber disminución; por ejemplo, en *Datura* los 6x y 8x muestran fenotipos muy débiles. Normalmente los 3x y 4x son los que aparecen con nivel óptimo (Lacadena, 1996).

- e) Fisiológicos. Continuando con los trabajos pioneros de Tischler (1935) y Löve y Löve (1949), Grant (1981) sugirió que los poliploides pueden ser más comunes en altas latitudes que los diploides. Esta idea ha sido apoyada debido a que las floras dominantes en esas partes se caracterizan por presentar hábitos perennes, en los cuales la poliploidía es más frecuente que en plantas anuales (Stebbins, 1950; Ehrendorfer, 1980).
- f) Ecológicos. Este tipo de estudios han revelado que las plantas de origen poliploide pueden influir de manera profunda en las interacciones con los herbívoros y polinizadores (Thompson *et al.*, 1997; Segraves y Thompson, 1999; Nuismer y Thompson, 2001; Thompson *et al.*, 2004), además de que la poliploidía puede desencadenar cambios en la biología reproductiva de la especie (Soltis *et al.*, 2003). A pesar del reducido número de estudios de ecología evolutiva de interacciones planta/animal en diploides y poliploides, datos recientes presentan una marcada diferencia en patrones de ataque por herbívoros en diploides versus poliploides (Thompson *et al.*, 1997; Nuismer y Thompson, 2001) y una fuerte diferencia de la presencia de polinizadores respecto a los diploides y poliploides (Segraves y Thompson, 1999).

Familia Asteraceae

Es la familia más numerosa de plantas vasculares en el mundo. El número de especies se estima en 22472 distribuidas en 1587 géneros (Funk *et al.*, 2009). La familia es monofilética, dentro del orden de las Asterales. Se caracteriza por inflorescencias primarias que forman una cabezuela en forma de flor, denominada pseudántica, que puede adaptar muchas formas y presentar forma tubular o ligulada o no, rodeada por una o más series de brácteas. A este tipo de inflorescencia se le denomina capítulo. No poseen caliz o está reemplazado por un vilano. Las flores son muy pequeñas y en algunos casos microscópicas, con una corola gamopétala epígina; un androceo comúnmente con cinco estambres que están unidos por las anteras; el gineceo consta de dos carpelos, ovario ínfero y unilocular con un solo óvulo. El pistilo posee un estilo dividido en dos ramas estigmatíferas en el ápice. El fruto es seco, de tipo cipsela debido a la posición del ovario, comúnmente llamado aquenio;

las semillas están desprovistas de tejido endospermico A pesar de que la familia se encuentra ampliamente estudiada y definida, existe una gran variación entre sus miembros (Bold, 1977).

La familia contiene algunos géneros con una gran cantidad de especies, como es el caso de *Senecio* con 1250 especies, *Hieracium* con 1000 especies y *Helichrysum* con 600 especies (Kew Royal Botanic Gardens a). Las tribus Senecioneae, Gnaphalieae, Astereae, Anthemideae, Heliantheae y Eupatorieae son las más diversas y comprenden alrededor del 57% de los géneros de las Asteráceas. El nombre de la familia proviene del griego *ἀστήρ* (áster) que significa estrella. Las formas de las Asteraceae varían desde arbustos, árboles o herbáceas anuales y perennes, hasta algunas especies que son epífitas (Funk *et al.*, 2005). Son especialmente abundantes en zonas con disturbios, aunque existen algunas especies restringidas a determinadas áreas que se encuentran en peligro de extinción.

Importancia de las Asteraceae en la composición de floras

Las Asteráceas se encuentran distribuidas alrededor de todos los continentes (Cosmopolitas), excepto en la Antártida. México es el país con mayor número de especies de Asteraceae en el mundo. En México están representadas por unas 2700 especies y 323 géneros, más que en cualquier otro país y cuenta con un mínimo de 1700 especies endémicas (Turner y Nesom, 1998; Rzedowski, 1991; Villaseñor, 2003).

Las especies de esta familia crecen en casi cualquier tipo de hábitat, desde bosques y pastizales a gran altitud, hasta los bosques tropicales en donde son menos comunes. Varios grupos de la familia encuentran beneficio al colonizar áreas con disturbios tales como el diente de león y los cardos. Por otro lado, existen especies con distribución restringida. La familia Asteraceae se encuentra bien representada en varios de los ecosistemas del país. En la mayoría de los bosques de encino se encuentran estratos arbustivos cuyos géneros más frecuentes son *Baccharis*, *Eupatorium* y *Senecio* (Rzedowski, 1978; Benítez, 1986), mientras que en el estrato herbáceo se encuentran géneros como *Gnaphalium*, *Cirsium*, *Dahlia*, *Tagetes*, *Senecio* y *Bidens* (Rzedowski, 1978). En el bosque de pino, el estrato herbáceo se encuentra representado por especies como *Gnaphalium oxyphyllum*, *Cirsium ehrenbergii*, *Dahlia merkkii*, *Piquería pilosa* y *Tagetes lunulata*.

En zonas de matorral xerófilo y pastizal semidesértico, las Asteraceae junto con la familia Poaceae, son las más diversas (Challenger, 1998). Rzedowski (1978) menciona que los géneros *Ambrosia*, *Artemisia*, *Encelia*, *Eupatorium*, *Flourensia*, *Gochnatia*, *Viguiera*, *Zaluzania* y *Zinnia* son dominantes en estas zonas y considera que la familia Asteraceae

suele ser la más importante en esos ecosistemas, pues en algunos lugares representa hasta el 25% de la flora total. Sin embargo, en cuanto a ecosistemas correspondientes a las selvas húmedas, la familia Asteraceae se encuentra pobremente representada en nuestro país.

Números cromosómicos en las Asteráceas

Los primeros conteos cromosómicos para miembros de la familia fueron publicados hace más de un siglo (Juel 1900; Land 1900; Merrell 1900). La amplia variedad, tanto morfológica como de la diversidad de ambientes que ocupan las especies de asteráceas también se ve reflejada en los diversos números cromosómicos que presentan las diferentes tribus pertenecientes a esta familia. Solbrig (1977) propuso que $x=9$ es el número básico ancestral para esta familia, basado en el análisis de la frecuencia de los números cromosómicos conocidos. $2n=18$ es el número más frecuente reportado en la base de datos más completa para esta familia (Index to chromosome numbers in Asteraceae). Los números cromosómicos son variados y van desde $2n=4$ para *Brachyscome dichromosomatica* y *Xanthisma gracile*, hasta $2n=432$ ($x=9$) reportado en *Olearia albida*, ambas de la tribu Astereae. En años subsecuentes y con el empleo de técnicas moleculares para el análisis de filogenias, a través de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPS) y el análisis de secuencias de pares de bases, diversos autores han comparado resultados moleculares con datos de los números cromosómicos, con el objetivo de obtener conclusiones acerca de números cromosómicos ancestrales dentro de géneros y entre tribus (Baldwin *et al.*, 2002; Ito *et al.*, 2000).

Con el objetivo de tener una concepción general de la filogenia de las Asteráceas con base en su número cromosómico, Funk *et al.* (2005) realizaron una revisión exhaustiva para determinar el número cromosómico básico para cada género de la familia y formular hipótesis de patrones de evolución de números cromosómicos básicos en Asteráceas. Se utilizaron 58320 números de especies, de las cuales 58124 correspondieron a Asteráceas y el resto a familias cercanas filogenéticamente. Este número representa a 978 (61.6% del total) géneros con al menos un conteo cromosómico. De estos géneros existen 13 con más de 1000 conteos cromosómicos reportados. Algunos de estos grupos se encuentran presentes en la REPSA, como *Symphyotrichum* con 4578, *Taraxacum* con 4017, *Eupatorium* con 1905, *Senecio* con 1605, *Artemisia* con 1400 y *Erigeron* con 1158 conteos. El número básico ancestral para cada una de las ramas del árbol filogenético de las Asteráceas y las familias Goodeniaceae y Calyceraceae (los grupos externos), fue de $x=9$. Sin embargo, estas dos últimas familias también presentaron números de $x=8$ y $X=7$, producto de la disploidía. Dentro del trabajo también se plantean hipótesis del cambio en el número básico de ciertas

tribus, como consecuencia de un cambio en su ambiente; por ejemplo, los cambios en números cromosómicos básicos de $x=9$ a $x=10$ y 11 , así como también de disminución a $x=8$ y 7 . Aparte de la disploidía, un incremento en el número básico puede haber sido resultado de la trisomía de algún cromosoma que no produjera genotipos letales. Dentro de este estudio también se le da énfasis a los números básicos derivados representados por una x_2 , los números básicos derivados de este grupo son $x_2=19, 24, 25$ y 27 , los cuales son basales en algunas tribus y pudieron haberse derivado de números básicos ancestrales o de eventos disploides de reducción. Una de las conclusiones del trabajo de Funk *et al.* (2005) son los cambios de los números cromosómicos con base en una distribución geográfica marcada y que presenta clados agrupados del árbol filogenético, de $x=9$ en Sudamérica en color rojo, $x=10$ en África, el Mediterráneo y Asia en color azul y $x_2=19$ en Norteamérica y México, color amarillo (Figura 1).

La poliploidía es común y ocurre en la mayor parte de grupos de la familia. En total, la poliploidía se ha corroborado en 570 géneros, lo que representa el 53.8% de los 978 géneros con conteos reportados; esto incluye todos los géneros de las tribus Helenieae y Heliantheae, las tribus más diversas (Funk *et al.*, 2009). Los números básicos más comunes entre las tribus de Asteraceae son $x=9$ y 10 , coincidiendo con el número básico ancestral para la familia que es de $x=9$ (Raven y Khyos 1961). Los eventos de poliploidía son los más comunes para especies con números cromosómicos altos (Stebbins, 1971).

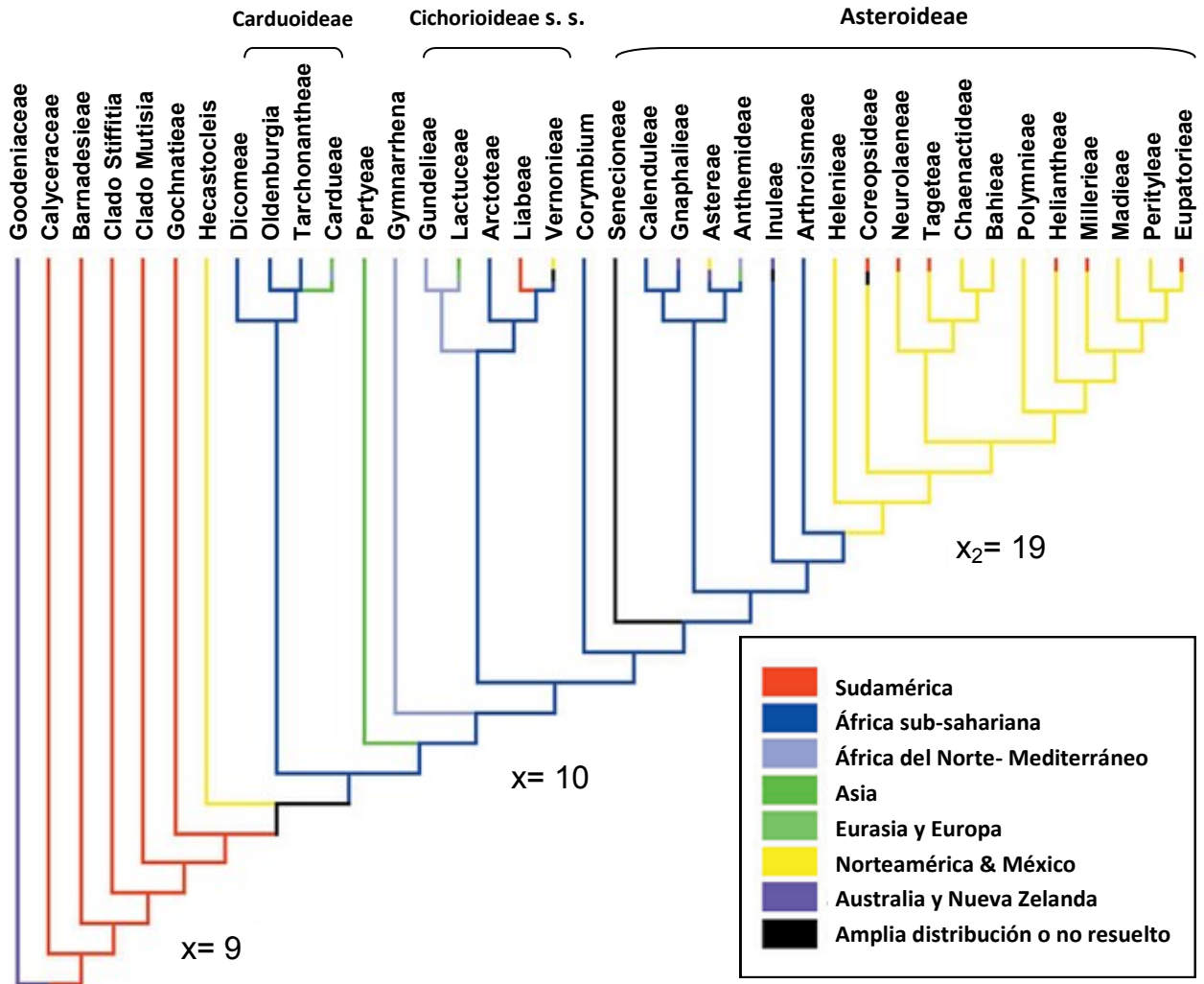


Figura 1. Árbol filogenético usado para interpretar la evolución de los números cromosómicos en Asteraceae (Funk *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Números básicos de las tribus de Asteraceae presentes en la República Mexicana (Castelo *et al.*, 2003-2005). Con asterisco se indican las tribus presentes en la REPSA.

| Tribu | Número básico (x) | Bibliografía |
|--|--|--|
| *Anthemideae Cass., 1819 | 5,6,7,8,9,10,11,17 | Heywood y Humphries 1977; Bremer y Humphries, 1993; Vallès <i>et al.</i> , 2005; Pellicer <i>et al.</i> , 2007; Vogt 1991. |
| *Astereae Cass., 1819 | 2,3,4,5,6,7,8,9 | Solbrig <i>et al.</i> , 1969; Semple, 1995; Nesom y Robinson, 2007. |
| Bahieae B.G.Baldwin, 2002 | 10,11,12,17 | Powell <i>et al.</i> , 1975; Turner <i>et al.</i> , 1961; Baldwin <i>et al.</i> , 2002. |
| *Cardueae Cass., 1819 | 8,9,10,11,12 | Susanna <i>et al.</i> , 1995. |
| Chaenactideae B.G. Baldwin, 2002 | 5, 6, 7, 8 | Mooring 1965. |
| *Eupatorieae Cass., 1819 | 4,5,9,10,11,12,15,16,17,18,25 | King <i>et al.</i> , 1976; Watanabe <i>et al.</i> , 1995. |
| Gnaphalieae Cass. ex Lecoq & Juillet, 1831 | 3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14 | Turner, 1970; Watanabe <i>et al.</i> , 1999. |
| *Helenieae Lindl., 1829 | 8,9,10,11,12,13,15,17,18,26 | Powell <i>et al.</i> , 1975; Raven y Kyhos, 1961. |
| *Heliantheae Cass., 1819 | 8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,25,30 | Solbrig <i>et al.</i> , 1972; <i>et al.</i> , 1981. |
| *Lactuceae Cass., 1819 | 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,10 | Spencer <i>et al.</i> , 1978. |
| Liabeae Rydb., 1927 | 6, 7, 9, 10, 12, 14, 16,18 | Robinson <i>et al.</i> , 1985. |
| Madieae Jeps., 1901 | 7,8,9,10,19 | Carlquist, 1956; Raven y Khyos, 1961; Keil y Pinkava, 1976; Baldwin y Panero, 2007. |
| *Millerieae Lindl., 1829 | 8,9,10,18, 19 | Stuessy, 1970; Robinson <i>et al.</i> , 1981. |
| *Mustisieae Cass., 1819 | 8, 9, 12, 13, 18, 23, 24, 25,27 | Powell <i>et al.</i> , 1974; Powell y Powell, 1978. |
| Neurolaeneae Rydb., 1927 | 8,11,12,13,19 | Powell y Turner, 1963; Sundberg <i>et al.</i> , 1986; Jansen <i>et al.</i> , 1984; Carr <i>et al.</i> , 1999. |
| Perityleae B. G. Baldwin, 2002 | 9,10,17 | Keil y Stuessy, 1975; Powell, 1972; Powell <i>et al.</i> , 1975. |
| Plucheeae (Benth) Anderb., 1991 | 10 | Watanabe <i>et al.</i> , 1999. |
| *Senecioneae Cass., 1819 | 5,6,8,9,10,19,20,22,23,24,29,30 | Ornduff <i>et al.</i> , 1963; 1967; Robinson <i>et al.</i> , 1997. |
| *Tageteae Cass., 1819 | 8,9,10,12,16,18 | Powell <i>et al.</i> , 1975; Keil y Stuessy, 1977; Keil <i>et al.</i> , 1988. |
| Vernonieae Cass., 1819 | 7, 8, 9, 10, 12,17 | Semple, 1974; Jones, 1974, 1979; Robinson <i>et al.</i> , 1985. |

Importancia de la investigación de la poliploidía en Asteraceae

Las Asteráceas son de gran interés en diversos estudios, debido a su origen relativamente reciente, el gran número de especies presentes, así como por su variación morfológica y plasticidad para colonizar nuevos ambientes (Stuessy *et al.*, 2004). Esta familia aún está en proceso de especiación (Stuessy *et al.*, 2004). La poliploidía confiere cambios genéticos y posibilita rearrreglos genómicos que podrían estar interviniendo en el origen de nuevas adaptaciones y en procesos de especiación activa en los miembros de la familia Asteraceae (Stebbins, 1950, 1966; Grant, 1971; 1981).

A pesar de que la familia Asteraceae es la más diversa en el mundo, y es de suma importancia en la composición de floras en algunos ecosistemas existen pocos estudios enfocados al fenómeno de su poliploidía. Algunos de los géneros estudiados presentes en la REPSA son *Artemisia* (McArthur y Snaderson, 1999, Pellicer *et al.*, 2007), *Aster* (Semple, 1979; Dean y Chambers, 1983), *Bidens* (Ballard, 1986), *Dahlia* (Gatt *et al.*, 1998; 1999), *Eupatorium* (Watanabe, 1986), *Melampodium* (Stuessy *et al.*, 2004 y Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2009) y *Stevia* (Watanabe *et al.*, 2001; Soejima *et al.*, 2001). Otros géneros estudiados no presentes en la REPSA, pero de importancia ecológica son *Centaurea* (Siljak-Yakovlev *et al.*, 2005), *Solidago* (Schlaepfer *et al.*, 2008) *Tragopogon* (Wilson, 1983, Meyers y Liston, 2005) y *Vernonia* (Angulo y Dematteis, 2009).

La importancia de la investigación de la familia Asteraceae en nuestro país reside en que México es el principal centro de diversificación, por lo que es fundamental estudiar el papel de la poliploidía de las Asteraceae en la colonización de ambientes hostiles. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel posee características geográficas, climáticas y biológicas que la convierten en una región propicia para el estudio del papel de la poliploidía en esta familia.

Importancia económica de la familia Asteraceae

Las Asteraceae en México se encuentran distribuidas en todos los biomas, especialmente en zonas con estacionalidad marcada (Funk *et al.* 2009). Poseen una relativa importancia económica, por ser fuentes de aceites comestibles (girasol *Helianthus annuus*, cártamo *Carthamus tinctorius*), edulcorantes (*Stevia rebaudiana*) y aditivos a tés e infusiones (*Anthemis nobilis* y *Matricaria chamomilla* ambas usadas como Manzanilla, y *Echinacea purpurea* en la medicina homeopática). Ciertas especies mexicanas son la base de un floreciente mercado horticultural a nivel internacional e incluyen a las zinnias (*Zinnia* spp.),

Cempoalxochitl o marigolds (*Tagetes* spp.), mirasoles (*Cosmos* spp.) y girasoles (*Helianthus* spp. y *Tithonia* spp.) (Panero *et al.*, 2005). El pericón (*Tagetes lucida*) se utiliza para fines etnobotánicos por poblaciones nahuas (Bye, 1993).

Muchas especies de Asteráceas producen aceites que contienen piretrina y otros insecticidas naturales que también reducen la herbivoría; de hecho, algunos son tan potentes que los insectos mueren si llegan a ingerirlos (Iannacone *et al.*, 2005; Chifundera, 2008). Algunas especies de *Tagetes* tienen uso industrial como fuentes de insecticidas naturales, tanto en México como en otros países. *Calendula officinalis* se ha utilizado ampliamente en medicina popular y homeopática por su acción antibacteriana, fungicida y antiespasmódica; la caléndula también se utiliza en el ámbito de la cosmética y dermofarmacia, en cremas hidratantes (productos solares pre y post exposición) ya que las saponinas, las gomas y los mucílagos tienen una gran capacidad humectante. Algunos estudios de fitoquímica han mostrado efectos citotóxicos de *Senecio stibianus* sobre líneas de células cancerígenas en humanos (Tundis *et al.*, 2009). El girasol (*Helianthus*) ha sido utilizado como un modelo en el estudio de hibridización y su papel en eventos de especiación (Rieseberg *et al.*, 2003).

Tamaño del genoma

El conocimiento del tamaño del genoma o contenido nuclear de ADN (ácido desoxirribonucleico) es un carácter importante en muchas áreas de la investigación vegetal. El tamaño del genoma nuclear en el genoma haploide o valor 1C (Greilhuber *et al.*, 2005) puede ser calculado mediante la cuantificación del contenido del ácido desoxirribonucleico nuclear, y se expresa en picogramos (pg), donde $1\text{pg} = 10^{-12}\text{g}$ (Cavalier-Smith, 1985) que equivale a 978 millones de pares de bases (Doležel *et al.* 2007). El valor C se define como la suma total del ADN de los núcleos gaméticos haploides sin replicar (1Cx, Swift, 1950, Greilhuber *et al.*, 2005) y es independiente de los niveles de ploidía del taxón (Kew Plant Genome Size Discussion Meeting 2003).

Los registros para el valor C varían alrededor de 80000 veces, de 0.009 picogramos (pg) en *Saccharomyces cerevisiae* a aproximadamente 700 pg en *Amoeba dubia* (Cavalier-Smith, 1985), sin una aparente correlación con la complejidad del organismo o el número de genes (paradoja del valor C, Thomas, 1971). En los registros de angiospermas la variación del valor C va de 0.1 pg, hasta 254.8 pg en *Fritillaria assyriaca*, esto representa una variación de alrededor de 25000 veces del valor menor con respecto al valor mayor (Bennett *et al.*, 2000). Una de las principales causas de variación del contenido del ADN son las altas tasas de ADN repetitivas a lo largo del genoma tales como secuencias que no codifican para

alguna función como simples secuencias nucleotídicas, satélites, secuencias repetitivas y elementos transponibles o transposones (Petrov, 2001). Los transposones son importantes porque pueden producir cambios y rearrreglos en los genomas (Kidwell y Lish, 2001); pueden inducir mutaciones y modificar el tamaño y la secuencia de bases en los genomas mediante sustituciones, deleciones e inserciones de nucleótidos simples o también por rearrreglos cromosómicos como duplicaciones, inversiones y translocaciones (Cáceres *et al.*, 1999; Kidwell y Lish, 2001). Se ha estimado que el genoma del maíz se ha duplicado a causa de los elementos transponibles en los últimos tres millones de años de su evolución (Fedoroff, 1988; Peterson, 1988). Las inserciones y deleciones espontáneas de unos pocos nucleótidos (indels) son una de las causas más importantes de la evolución del tamaño del genoma (Petrov, 2001).

Existe una correlación entre la variación en la longitud de las secuencias de ADN altamente repetitivas, conocidas como microsátélites y satélites con el tamaño del genoma. El número de unidades repetitivas varía considerablemente incluso entre individuos de la misma especie debido a una recombinación desigual y errores durante la replicación del ADN (Ingle *et al.*, 1975; Kidwell, 2002). Asimismo, la variación del tamaño del genoma correlaciona con el número de familias y el número total de copias de elementos transponibles en el genoma (Kumar y Bennetzen, 1999; Bennetzen, 2000).

Estimaciones del valor C en plantas

Para el año 2010 se ha estimado el contenido de ADN de aproximadamente 4427 especies de angiospermas, cuyos datos se encuentran en la base de datos de los jardines de Kew (Kew Royal Botanic Gardens b).

Las variaciones en el contenido de ADN en plantas de una misma especie con el mismo nivel de ploidía, se deben a adaptaciones de parte de sus genomas y al “efecto nucleotípico”, definido como el efecto de la variación del contenido de ADN en el fenotipo, debido a secuencias repetitivas que no codifican funciones (Bennett, 1972) y tiene influencia en varios parámetros celulares. El tamaño del genoma se considera un carácter adaptativo, pues mantiene fuertes correlaciones con el tamaño y volumen celular y nuclear, duración de mitosis y meiosis. En consecuencia, variaciones en el tamaño del genoma afectan de manera específica a las células y consecuentemente, la historia de vida de la planta (Bennett, 1972; 1987). Un resultado lógico de esperar en el estudio de niveles de ploidía, es que los poliploides posean valores de C mayores al de los diploides y que sea directamente proporcional al nivel de ploidía. Leitch y Bennett (2004) utilizaron la base de datos antes

mencionada, del valor C para el ADN de angiospermas y encontraron que la cantidad media de 1Cx (contenido de ADN a nivel de genoma básico) tiende a verse reducida con un nivel de ploidía mayor. Concluyeron que la pérdida de ADN, seguida por un incremento en el nivel de ploidía que solo ha sido reportada en pocas especies, puede ser un fenómeno generalizado.

Existen diversos estudios en los que se evidencia la estrecha relación del tamaño del genoma con aspectos fenotípicos, de fenología, comportamiento ecológico, taxonómicos, moleculares y paleontológicos (Greilhuber y Ehrendorfer, 1988; Masterson, 1994; Bennett y Leitch, 1995; Price y Johntson, 1996; Ohri, 1998; Bennett *et al.*, 1998; 2000; Bennett y Leitch 2005), por ejemplo, una mayor tolerancia a mayores latitudes en algunas especies con un mayor contenido de ADN. Al contar con el conocimiento del tamaño del genoma, se pueden realizar estudios comparativos a gran escala, como por ejemplo, estudios de la variación del contenido en ADN a lo largo de la evolución de las plantas superiores (Leitch *et al.*, 2005). Como un carácter de biodiversidad, se han realizado estudios para determinar el tamaño del genoma en áreas de la sistemática, para identificar especies próximas con un número cromosómico similar pero con contenidos de DNA distintos (Dimitrová *et al.*, 1999). El conocimiento del tamaño del genoma en plantas tiene aplicaciones directas en estudios moleculares, en las bibliotecas genómicas y en experiencias basadas en marcadores moleculares, como AFLPs y microsatélites (Fay *et al.*, 2005)

Citometría de flujo

Después de su desarrollo durante la década de los 50's con el intento de contar y analizar células sanguíneas, ha habido una variedad de esfuerzos no solo por conocer e incrementar la información relacionada con el valor C sino, también por entender las diferencias en el contenido de ADN en plantas y los mecanismos moleculares que llevan a estas diferencias (Petrov *et al.*, 2000; Bennett and Leitch, 2004; Bennetzen *et al.*, 2005a). La Citometría de flujo permite un cálculo eficaz y preciso de la cantidad de núcleos existentes en cada fase del ciclo celular (G0/G1, S y G2/M). Este tipo de análisis tiene gran impacto en diversas áreas de la biología vegetal, especialmente en áreas como la Biosistemática, la Biotecnología y mejora de plantas, la Biología de poblaciones y la Ecología.

La técnica empleada en la Citometría de Flujo se utiliza para medir el contenido de ADN nuclear mediante el análisis de parámetros, es decir, la diseminación de luz de fluorescencia de partículas en flujo que a velocidades altas, entre 10^2 - 10^3 partículas por segundo con respecto al punto donde son medidas. Los núcleos de parénquima foliar son medidos a velocidades de 40-50 núcleos por segundo. Los núcleos celulares son teñidos con

fluorocromos específicos que se intercalan en la doble hélice del ADN como el Bromuro de etidio (BE) y el Yoduro de propidio (IP). Las partículas teñidas son forzadas hidrodinámicamente en el centro de un haz líquido estrecho a través de un foco de luz intensa. Esto permite la excitación del fluorocromo presente en la superficie o dentro de la partícula individual, lo que resulta en una diseminación de luz. Los pulsos de la luz fluorescente diseminada se colectan utilizando un sistema detector óptico, que separado por filtros, convierte el haz fluorescente en pulsos eléctricos amplificados y digitalizados por un sistema computarizado que muestra los resultados de la medición de la longitud de onda emitida por las partículas teñidas a través de un histograma, cuya calidad queda definida por el valor del coeficiente de variación (CV) que es igual a la desviación estándar entre la medida del histograma. Durante el análisis del contenido nuclear de ADN en plantas, se considera necesario un valor de CV menor a cinco para validar las repeticiones (Doležel, 1991, 1995, Doležel *et al.*, 1998, Doležel y Bartos, 2005).

Existen también fluorocromos base-selectivos, como el DAPI o el Hoechst 33258 que se adhieren a las regiones ricas en Adenina-Timina y la Cromomicina A3 y Mitramicina que se adhieren a regiones ricas en Guanina-Citosina (Doležel *et al.*, 1992). Sin embargo, estos marcadores no son recomendables para utilizarlos en la cuantificación del contenido total de ADN, debido a que no tiñen en su totalidad a todo el ADN que se encuentra en el núcleo.

Además de lograr una buena calibración del citómetro de Flujo, es de suma importancia que la lámpara, el lente objetivo y el ocular queden correctamente alineados, con la finalidad de obtener un CV entre 0.98 y 1.96 (Palomino *et al.*, 1999).

Para determinar el contenido nuclear de ADN se requiere de la preparación de una suspensión de núcleos intactos con buffers hipotónicos, generalmente ricos en Mg^{+} o poliamidas como agentes estabilizadores, para preservar la integridad del núcleo y proteger el ADN de la degradación, así como para permitir una óptima tinción con un fluorocromo intercalar (Doležel, 1995). Otra función de estos buffers consiste en aislar los núcleos intactos para lograr CV bajos durante la lectura de los datos en el citómetro (Ulrich y Ulrich, 1991).

En la mayoría de las plantas, el análisis del contenido de ADN de núcleos aislados de parénquima de hojas jóvenes produce un histograma que corresponde a núcleos en la fase G_0/G_1 , con un contenido 2C de ADN y otro que corresponde a G_2 del ciclo celular, con un contenido 4C de ADN. Para estimar el nivel de ploidía, la posición del pico G_1 es comparado con el de una planta de referencia con ploidía conocida. Para determinar el tamaño del genoma, se utiliza la siguiente fórmula planteada por Doležel (1991):

$$\text{Contenido 2C planta problema (pg)} = \frac{\text{Media del histograma G}_0/\text{G}_1 \text{ planta problema}}{\text{Media del histograma G}_0/\text{G}_1 \text{ planta referencia}} \times \text{Contenido 2C ADN planta referencia (pg)}$$

Usos de la Citometría de flujo en el genoma de plantas

La estimación del contenido de ADN nuclear es la aplicación más frecuente del citómetro de flujo en las plantas. A diferencia del conteo cromosómico, la Citometría de flujo no requiere células en división (Doležel 1997), no destruye la planta y la preparación de las muestras es relativamente fácil y rápida. Pueden leerse en el citómetro de Flujo (CF) un promedio de 5-15000 núcleos por muestra, lo que se traduce en un análisis rápido para separar y definir subpoblaciones (Palomino, 1998).

El CF ofrece alternativas para determinar el tamaño, composición y niveles de poliploidía de genomas de especies con interés taxonómico y para el mejoramiento de plantas con importancia comercial, por ejemplo al analizar los niveles de ploidía en lotes de semillas o bien para estimar la proporción de plantas diploides en poblaciones vegetales (Doležel 1997, Bennett *et al.*, 2000, Doležel *et al.*, 2007). También puede utilizarse para detectar mixoloidías y endopoliploidías; las primeras ocurren en plantas regeneradas por cultivo *in vitro* y presentan dos o más líneas celulares, generalmente con número diploide y otro poliploide. Las segundas se definen como la condición que presentan algunas plantas para tener en sus tejidos células con diferentes niveles de ploidía, generando que el genoma nuclear de diferentes células presenten múltiplos del valor C (Doležel *et al.*, 2007). El análisis de estos parámetros sumado a los de Citometría de flujo, permite conocer la identidad de los genomas de estas especies y evaluar las variaciones intra e interespecíficas (citotipos) entre ellas. La precisión de esta técnica es tan alta que permite determinar diferencias significativas en el tamaño del genoma de hasta 0.02 pg (Doležel, 1997).

El cultivo *in vitro* se caracteriza por tener células mitóticas en bajas frecuencias, por lo que la Citometría de Flujo es útil en este campo para establecer la identidad genética en embriones somáticos y conocer la estabilidad en el nivel de ploidía. Esto con el fin de utilizar células somáticas embriogénicas de líneas *in vitro* para propagarlas por clonación y obtener semillas artificiales (Doležel *et al.*, 2007). También se utiliza en la detección de aneuploides, análisis del cariotipo y mapeo de genes, control del desarrollo y vigor en semillas con fines agronómicos. Otro uso importante es para el monitoreo de efectos de radiación y mutantes químicos y en el análisis de la genotoxicidad (Doležel, 1997).

Contenido de ADN en Asteráceas presentes en la REPSA

En Asteráceas están reportadas 355 estimaciones del contenido de ADN, en los que valor medio de 1C en pg es de 4.73, con un mínimo de 0.40 que corresponde a *Leontodon longirostris* (Marañón y Grubb, 1993) y un máximo de 26.15 de *Senecio pendulus* (Zonneveld *et al.*, 2005). *S. pendulus* es mayor 63.375 veces a *L. longirostris*. Son pocos los registros para especies que se encuentran reportadas para especies representadas en la REPSA y para las Asteráceas en general. En el cuadro 2 se muestran las especies de Asteraceae presentes en la REPSA con contenido de ADN y reportado en la literatura. Cabe destacar que no hay estudios previos para cuantificación de ADN por Citometría de flujo.

Cuadro 2. Especies de Asteraceae con contenido de ADN conocido que están representadas en la flora de la REPSA y reportadas en la literatura.

| Espece | 2n | Nivel de Ploidía | 2C (pg) | Método de Estimación | Referencia |
|-----------------------------|----|------------------|---------|----------------------|-----------------------------------|
| <i>Bidens pilosa</i> | 18 | 2x | 3.45 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Cirsium vulgare</i> | 68 | 4x | 5.15 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Cosmos bipinnatus</i> | 24 | 2x | 3.10 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Dahlia coccínea</i> | 32 | 2x | 4.64 | CF | Temsch <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Dahlia sorenseii</i> | 64 | 4x | 8.48 | CF | Temsch <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Galinsoga parviflora</i> | 16 | 2x | 2.50 | Fe | Bennett <i>et al.</i> , 1998. |
| <i>Lactuca serriola</i> | 18 | 2x | 3.70 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Picris echioides</i> | 10 | 2x | 2.40 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Senecio Vulgaris</i> | 40 | 4x | 3.15 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Sonchus oleraceus</i> | 32 | 4x | 3.20 | Fe | Plant DNA C-Value Database |
| <i>Tagetes erecta</i> | 24 | 2x | 2.38 | CF | Serrato-Cruz <i>et al.</i> , 2000 |
| <i>Tagetes tenuifolia</i> | 24 | 2x | 2.97 | CF | Serrato-Cruz <i>et al.</i> , 2000 |
| <i>Taraxacum officinale</i> | 24 | 3x | 2.56 | Fe | Bennett <i>et al.</i> , 1982b. |

Fe= Densitometría de Feulgen; CF= Citometría de flujo; pg= picogramos

Monitoreo de áreas naturales protegidas

Se denomina Área Natural Protegida al instrumento de política ambiental con mayor definición jurídica para la conservación de la biodiversidad. Son porciones terrestres o acuáticas del territorio nacional representativas de los diversos ecosistemas, en donde el ambiente original no ha sido alterado de manera considerable. Se crean mediante un decreto presidencial y las actividades que pueden llevarse a cabo en ellas se establecen de acuerdo con la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LEGEEPA).

Las áreas Naturales Protegidas (ANP) representan un amplio potencial de recursos naturales y servicios ambientales en las regiones y ayudan a impulsar el desarrollo social y sustentable. Los esfuerzos de conservación son indispensables en todas las ANP, con información actualizada de la valoración del estado de su conservación y de la eficiencia de las acciones realizadas sobre los diferentes sistemas biológicos. La protección de las ANP es uno de los mecanismos que hacen posible su conservación, ya que también en estos lugares se encuentran los recursos naturales y servicios ecosistémicos que son indispensables para las sociedades humanas.

Para la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), el monitoreo es una importante herramienta para saber que ocurre con la diversidad biológica, las comunidades, los ecosistemas y los cambios ambientales en las áreas naturales protegidas. Además, permite evaluar los programas institucionales cuyo objetivo es posibilitar la mejora continua y la rendición de cuentas. En este tipo de actividades han participado instituciones y organizaciones nacionales e internacionales con apoyo académico y financiero (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Acciones y Programas Prioritarios).

La REPSA es la primera reserva de la cuenca de México que permite no sólo la protección del ecosistema conocido como matorral de palo loco (*Pittocaulon praecox*), sino también proteger a las especies silvestres que aún la habitan. Anteriormente se encontraba distribuida a lo largo de la cuenca del Valle de México. La REPSA nació en 1983 con el esfuerzo conjunto de autoridades, académicos y estudiantes de la UNAM.

Restauración de ecosistemas

En la actualidad los ecosistemas están sujetos a diversos factores de degradación, ocasionados por actividades humanas que provocan cambios ecológicos considerables o que limitan el desarrollo de las comunidades naturales y que pueden ser de naturaleza física,

química o biótica. La restauración busca recuperar la estructura, funcionalidad y autosuficiencia semejantes a las presentadas originalmente en un ecosistema que ha sido degradado (Bradshaw, 1987; Ewel, 1987; Jordan III *et al.*, 1987, Meffé y Carroll, 1994). Esto implica que el terreno sea regresado precisamente al estado previo a su degradación, lo cual requiere reconstruir el suelo y colocar a las especies originarias del sitio (Brown *et al.*, 1986).

La Society for Ecological Restoration, International Science y el Policy Working Group consideran que la restauración ecológica es el proceso que ayuda a la recuperación de un ecosistema que ha sido degradado, dañado o destruido. En cuanto a la importancia para la conservación ecológica, México es tal vez el tercer país más importante del mundo, pues se calcula que alberga entre 8 y 12% del total de las especies del planeta (Mittermeier, 1988; Toledo y Eccardi, 1989; Mittermeier y Mittermeier, 1992). Aunque el conocimiento de la flora de México es incompleto, es probable que la riqueza de su flora vascular alcance el cuarto lugar mundial (Conservation Internacional, 1990).

OBJETIVOS

General

Obtener los números cromosómicos, nivel de ploidía y determinar el tamaño del genoma por Citometría de flujo de 14 especies de Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.

Particulares

Evaluar bibliográficamente el número de especies de Asteraceae con conteos cromosómicos reportados y presentes en la REPSA.

Contribuir al conocimiento de las especies de Asteraceae de la REPSA, mediante nuevos conteos cromosómicos y contenido de ADN por Citometría de flujo

Estimar la frecuencia de poliploidía en las especies de Asteraceae estudiadas de la REPSA.

Proporcionar información citogenética para integrar estudios taxonómicos, biosistemáticos y de conservación, que sirva de apoyo para futuras investigaciones relacionadas con el grupo de estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) está situada al sur de la ciudad de México dentro del campus de la Universidad Nacional Autónoma de México (19° 17' N, 99° 11' O). El 30 de septiembre de 1983 fue decretada zona ecológica para conservar la flora y la fauna de la comunidad natural de matorral xerófilo, cuya extensión inicial era de 1.24 km², que fue aumentando gracias a la incorporación de zonas de manejo especial o de amortiguamiento. Actualmente la extensión de la REPSA es de 237.3 hectáreas. De esta extensión, 171.4 hectáreas corresponden a las 3 zonas núcleo y 66.19 hectáreas correspondientes a 13 zonas de amortiguamiento (Figura 2 y Cuadro 3). En la reserva se presenta una variedad de microambientes, producto de su relieve topográfico, consecuencia del derrame de lava del volcán Xitle y conos adyacentes hace unos 2000 años. La reserva se ubica en el Eje Neovolcánico Transversal, cuya característica es ser la zona de transición de las regiones neotropical y neártica. Estos rasgos convierten a la vegetación del valle de México en un mosaico de ambientes con la presencia de especies endémicas y otras incorporadas de varias regiones. Los esfuerzos de conservación de esta zona son fundamentales debido al crecimiento desmedido de la ciudad de México, lo que ha provocado un rápido proceso de fragmentación y deterioro y la transformación de los ambientes naturales de la región (Carrillo, 1995; Ezcurra *et al.* 1999). La mayor parte del suelo de la reserva es de origen eólico y orgánico, con otras fuentes como podrían ser la erosión de la lava y el acarreo por lluvia o humano (Rzedowski, 1954). Así, el suelo es arenolimoso, moderadamente ácido, con gran cantidad de materia orgánica, potasio y calcio pero poco nitrógeno y potasio aprovechables (Rzedowski, 1954). La REPSA corresponde a la

Cuadro 3. Zonas núcleo y de amortiguamiento de la REPSA.

| Zonas núcleo | | Zonas de amortiguamiento | | | |
|--------------|-------------|--------------------------|-------------------------|----|------------------------------|
| 1 | Oriente | 4 | Biológicas | 11 | Espacio Escultórico |
| 2 | Poniente | 5 | Biomédicas | 12 | Estadio de Prácticas |
| 3 | Sur Oriente | 6 | Cantera Oriente | 13 | Jardín Botánico |
| | | 7 | Centro Cultural | 14 | Senda Ecológica |
| | | 8 | Circuito Exterior Norte | 15 | Vivero Alto |
| | | 9 | Circuito Exterior Sur | 16 | Zona Administrativa Exterior |
| | | 10 | Esculturas | | |



Figura 2. Mapa de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Las zonas núcleo aparecen delimitadas por rojo, las zonas de amortiguamiento por turquesa. En el cuadro 3 se indican las zonas núcleo y de amortiguamiento.

presencia de rocas erosionadas de origen volcánico en un ambiente árido, caracterizado por la presencia de hoyos, grietas, hondonadas, planos, etc. en su terreno (Rzedowski, 1954; Álvarez *et al.*, 1982; Panti, 1984).

Se denomina *Senecionetum* al tipo de asociación heterogénea de plantas que corresponde al tipo de matorral xerófilo predominante, debido a la abundancia de *Senecio* (= *Pittocaulon*) *praecox* y se caracteriza por un gran número de hierbas y pocos elementos arbóreos (Rzedowski, 1954; Álvarez *et al.*, 1982). En la reserva se observa un estrato herbáceo predominante, un estrato arbustivo menos abundante y un estrato arbóreo escaso (Valiente-Banuet y de Luna, 1990) y presenta una gran diversidad en su composición florística (Rzedowski, 1954; Álvarez *et al.*, 1982). El clima es templado subhúmedo, con lluvias en verano y una temperatura media anual de 15.5°C, pero que puede variar entre -6 y 34.6°C.; la precipitación promedio anual es de 835 mm y una altitud de 2200 a 2300 m.s.n.m., que es precisamente la altura en la que se desarrolla este tipo de matorral xerófilo (Valiente- Banuet y de Luna, 1990; Castillo- Argüero *et al.*, 2004, Cano-Santana *et al.*, 2008). Esta reserva presta muchos servicios ecosistémicos de vital importancia en la ciudad como son la producción de oxígeno, recarga de acuíferos, amortiguamiento climático y sonoro, entre otros (Carrillo, 1995)

Dentro de la reserva se encuentran protegidas algunas especies amenazadas como el pececito mexclapique (*Girardinichthys viviparus*), en peligro de extinción (la biznaga del chilito, *Mammillaria san-angelensis*), especies raras (la culebra, *Salvadora bairdi*) y una especie sujeta a protección especial (la víbora de cascabel, *Crotalus molossus*). Además de esto, la reserva posee un alto valor biológico, cultural y social.

Técnica de observación de cromosomas mitóticos

Se analizaron cromosomas mitóticos de células en metafase provenientes de meristemos apicales de las raíces de *Ageratina pazcuarensis*, *A. petiolaris*, *Bidens bigelovii* var. *angustiloba*, *B. odorata*, *B. pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Florestina pedata*, *Jaegeria hirta*, *Melampodium longifolium*, *M. perfoliatum*, *Piquería trinervia*, *Simsia amplexicaulis*, *Stevia tomentosa* y *S. viscida*. El número básico (x) considerado para las especies de este estudio es el que se reporta en reportes previos en la literatura. En el cuadro 4 se muestra el número de colecta y el colector para cada especie.

Cuadro 4. Números de colecta y colector para cada especie utilizada en este trabajo.

| Especie | Número de colecta | Colector |
|---|--------------------------|----------------------------|
| <i>Ageratina pazcuarensis</i> | 77 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | 82 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Bidens bigelovii</i> var. <i>angustiloba</i> | 158 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Bidens odorata</i> | 140 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Bidens pilosa</i> | 140bis | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Conyza bonariensis</i> | 582, 71 | Leonardo Céspedes Cárdenas |
| <i>Florestina pedata</i> | 203 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Jaegeria hirta</i> | 176 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Melampodium longifolium</i> | 227 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Melampodium perfoliatum</i> | 230 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Piquería trinervia</i> | 205 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Simsia amplexicaulis</i> | 175 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Stevia tomentosa</i> | 149 | Fabiola Soto Trejo |
| <i>Stevia viscida</i> | 142 | Fabiola Soto Trejo |

La obtención de los cromosomas mitóticos se realizó con base en el procedimiento que se detalla a continuación.

Recolección y tratamiento de semillas para la observación de cromosomas mitóticos

La planta de donde se extrajeron las semillas debe ser identificada taxonómicamente. Se verifica que la semilla haya madurado, pues generalmente adquieren una coloración oscura o parduzca. Se separan las inflorescencias con semillas de distintos individuos en bolsas de papel estraza, indicando en ésta el número de colecta y la especie, número de individuos, fecha y el nombre del colector. Durante la colecta, una gran cantidad de material orgánico es tomado junto con las semillas, por lo que es necesaria una limpieza exhaustiva y minuciosa para separar las semillas de otras estructuras como pétalos, sépalos, receptáculos, entre otros.

Una vez realizada la limpieza, se colocaron las semillas en bolsas de papel, se agregó un poco de Agrymicin 500 (antibacterial y antimicótico) con el fin de eliminar cualquier tipo de plaga. Las semillas se colocaron en bolsas de papel estraza dentro de cajas de plástico herméticamente cerradas con sílica gel, para evitar la humedad y se sometieron a una temperatura de por al menos 4°C.

Una vez tratadas las semillas para eliminar cualquier tipo de plaga, se colocaron en cajas petri sobre algodón y papel filtro húmedo para su germinación, que puede ser variable, dependiendo de las condiciones climáticas y de la semilla de cada especie. De acuerdo a su disponibilidad y tamaño se colocaban entre 10 y 100 semillas por caja.

Pretratamiento

Esta técnica consiste en que se someten las puntas de raíz con inhibidores o mitostáticos, que actúan durante la formación del huso acromático. Lo anterior impide el paso hacia la anafase y el consecuente acortamiento y dispersión de los cromosomas en el citoplasma durante la mitosis. La finalidad de los mitostáticos consiste en acumular el mayor número de células metafásicas en el meristemo, ya que durante la metafase los cromosomas alcanzan su máximo grado de condensación y presentan una forma característica que permite diferenciarlos y clasificarlos morfológicamente para realizar conteos cromosómicos y cariotipos. El huso acromático está formado por microtúbulos que empiezan a crecer desde la profase, hasta llegar a la metafase, donde algunos de ellos (en la mitosis) se unen a los cinetocoros del centrómero de los cromosomas, dirigiendo la migración de las cromátidas hermanas hacia los polos de la célula (Valladolid *et al.*, 2003).

Las semillas una vez germinadas y con raíces de un tamaño entre 1.0 y 3.0 cm se separan son pretratadas en una solución acuosa de 8-hidroxiquinoleína 0.002 molar, durante aproximadamente 5 horas en oscuridad a temperatura ambiente; o también se pretratan con alfa-bromonaftaleno en solución acuosa a 4°C durante 24 horas, también en oscuridad. El pretratamiento se realiza estrictamente antes de las 7 am.

Fijación

Una vez pretratadas las raíces, se lavan con agua destilada para ser fijadas en una solución Farmer (3:1 v/v Alcohol absoluto: Ácido acético glacial) con la finalidad de interrumpir rápidamente los procesos vitales de la raíces y conservar la estructura fina de las células, incrementar la naturaleza basófila de la cromatina y favorecer la tinción de los cromosomas. El etanol fija el citoplasma y el jugo nuclear, mientras que el ácido acético estabiliza las nucleoproteínas (Valladolid *et al.*, 2003). Posteriormente se almacenan las raíces fijadas de 24 a 48 horas antes de ser trabajadas.

Hidrólisis

Las raíces fijadas se lavan con agua para ser hidrolizadas en HCl 1N durante 10 minutos a una temperatura promedio de $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Las semillas antes de la inmersión para su hidrólisis se colocan en papel filtro para retirar el exceso de agua con la finalidad de evitar un cambio en el pH de la solución. El objetivo de la hidrólisis consiste en destruir la pared celular y la pectina de las uniones intercelulares, con la finalidad de provocar la disolución de las sales pécticas para facilitar la separación de las células para una óptima tinción y a su vez aclara el citoplasma (García, 1990; Valladolid *et al.*, 2003).

Tinción

Una vez hidrolizadas, las raíces se tiñen con una solución acuosa de reactivo de Schiff o Feulgen, durante aproximadamente 25 minutos y en oscuridad. Se utiliza la tinción de Feulgen, un colorante selectivo del ADN (García, 1990).

Observación, fotografiado y montaje

Se cortan los ápices radicales y se les coloca en un portaobjetos con una gota de propio-orceína al 1.8%. Una vez colocado el cubreobjetos, se procede a separar el tejido mediante leves golpeteos con una pinza de relojero para después darle aplastamiento con los dedos o con una goma de borrar de lápiz. El tejido se observó a 16x, 40x y 100x en un microscopio óptico Carl Zeiss para identificar células con cromosomas en metafase. Las preparaciones con cromosomas se colocan en hielo seco por lo menos una hora para que se congelen (Conger y Fairchild, 1953). Una vez fuera del hielo seco, la preparación se lava rápidamente en alcohol etílico al 96% y se escurre para ser deshidratada. Después de esto la preparación se monta en bálsamo de Canadá, substituyendo el cubreobjetos y posteriormente se coloca en una estufa a 57°C durante 2 o 3 semanas para su secado total. Las células en metafase fueron fotografiadas antes o después de ser fijadas utilizando un fotomicroscopio Carl-Zeiss Modelo II con una cámara digital Axio Vision de Carl-Zeiss. Se utilizó el programa Axio Vision Rel. 4.7 para la toma de fotografías y Adobe Photoshop para la edición de las imágenes.

Estimación de la frecuencia de la poliploidía en las Asteráceas de la REPSA

Se recopiló información bibliográfica de revisiones taxonómicas referente a conteos cromosómicos de Asteraceae presentes en la REPSA, en los que se obtuvieron números cromosómicos tanto haploides (n) como diploides ($2n$), así como la localidad y el nivel o niveles de ploidía.

El porcentaje de poliploidía en las Asteráceas fue calculado con base en tres métodos: la presencia de tres o más juegos básicos de cromosomas (x) presentan poliploidía (Stebbins, 1950); números haploides con $n= 14$ o más indican poliploidía (Grant, 1963; 1989); y especies con números haploides $n= 11$ o más indican poliploidía (Goldblatt, 1980).

Estimación de la viabilidad de polen en especies de Asteraceae

Se recolectaron muestras de polen de anteras recién abiertas con base en su disponibilidad y sin una estimación anterior de viabilidad por parte de esa especie. Las flores fueron colectadas durante la época de floración, que coincide en casi todas las especies de la REPSA, con la época de lluvias.

Para determinar la viabilidad del polen se utilizó la técnica del azul de algodón propuesta por Radford *et. al.* (1974). Se colocó una cantidad considerable de polen en un portaobjetos con una gota de azul de algodón al 1% en lactofenol, se colocó cuidadosamente un cubreobjetos durante 20 minutos. Las preparaciones se observaron en un microscopio. El número de granos de polen observados variaba dependiendo de la especie y se contaron de 39 a 1667 granos de polen en total. De esta manera, los granos teñidos de azul son considerados viables, mientras que los no viables no presentaban tinción por lo que se observaron transparentes o de un color amarillento, pudiendo no tener la forma común de un grano de polen.

Técnica para la obtención de ADN por Citometría de flujo

Para determinar el tamaño del genoma en picogramos (pg), su composición en millones de pares de bases (Mpb) y los niveles de poliploidía por Citometría de flujo de *Ageratina pazcuarensis*, *A. petiolaris*, *Bidens bigelovii* var. *angustiloba*, *B. odorata*, *B. pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Florestina pedata*, *Jaegeria hirta*, *Melampodium longifolium*, *M. perfoliatum*, *Piqueria trinervia*, *Simsia amplexicaulis*, *Stevia tomentosa* y *S. viscida* se realizaron los siguientes pasos:

Manejo del material biológico

Se colectaron plantas y/o semillas dentro de la REPSA. En el caso de las plantas, se utilizaron hojas en buen estado, en el caso de que no se encontraran suficientes individuos, se colectaban semillas para germinarlas en cajas petri para después trasplantarlas en macetas con una mezcla de partes iguales de agrolita, tierra negra y peat moss. Al cabo de dos a cuatro semanas, las plantas juveniles ya presentaban hojas para utilizarse en el citómetro de flujo. También se cultivaron las plantas testigo, con tamaño de genoma conocido y utilizadas para estimar este parámetro en las especies de Asteraceae, se utilizaron *Solanum lycopersicum*, *Zea mays* y *Pisum sativum*, que también fueron cultivadas junto con las Asteraceae (Cuadro 5). Preparación de reactivos para medir el contenido de ADN por Citometría de flujo

Los reactivos se necesitan para la preparación de los núcleos de eritrocitos de pollo (NEP), que se usan para la calibración del citómetro de flujo y para la elaboración y análisis de muestras de las plantas de interés. Se emplearon los siguientes reactivos: solución 1 y 2 de OTTO (Otto 1990) (Cuadro 6.) como buffer, Yoduro de propidio (1mg/ml, Doležel *et al.*, 1992) (Cuadro 7.), así como colorante fluorescente y RNAsa (1mg/ml) (Cuadro 8.) para eliminar el ARN que se encuentra en el núcleo de mitocondrias y cloroplastos (Doležel *et al.*, 1992).

Cuadro 5. Especies y cultivares empleados en la Citometría de flujo como plantas de referencia.

| Especie y cultivar | Contenido 2C de ADN (pg) |
|--|---------------------------------|
| <i>Raphanus sativus</i> Saxa (Doležel <i>et al.</i> , 1992) | 1.11 |
| <i>Solanum lycopersicum</i> Stupické polní rane (Doležel <i>et al.</i> , 1992) | 1.96 |
| <i>Glycine max</i> Polanka (Doležel <i>et al.</i> , 1994) | 2.50 |
| <i>Zea mays</i> CE-777 (Lyzák y Doležel, 1998) | 5.43 |
| <i>Pisum sativum</i> Ctírad (Doležel <i>et al.</i> , 1998) | 9.09 |
| <i>Secale cereale</i> Daňkovské (Doležel <i>et al.</i> , 1998) | 16.19 |
| <i>Vicia faba</i> Inovec (Doležel <i>et al.</i> , 1992) | 26.90 |
| <i>Allium cepa</i> (Doležel <i>et al.</i> , 1998) | 34.89 |

Cuadro 6. Composición y preparación del buffer OTTO (Otto, 1990).

| OTTO 1 | |
|---|-----------------------------|
| Ácido cítrico (0.1M) | 4.2g |
| Tween 20 (0.5%) | 1.0ml |
| Aforar a 200ml con agua desionizada | |
| Filtrar con una malla de nylon de 4.7 µm | |
| Almacenar en refrigeración a 4°C | |
| OTTO 2 | |
| Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O (0.4M) | 28.65g (Calentar a 50-60°C) |
| Aforar a 200ml en agua desionizada | |
| Filtrar con una malla de nylon de 0.47 µm | |
| Almacenar a temperatura ambiente y en oscuridad | |

Cuadro 7. Composición y preparación de la solución stock de Yoduro de propidio (IP) (1mg/ml) (Tomado de Doležel *et al.*, 1992).

| |
|---|
| Disolver 25 mg de IP EN 25 ml de agua deionizada (17 MOhms) y agitar durante 60 minutos |
| Pasar la solución con un filtro de 0.22 µm. |
| Distribuir en alícuotas de 500 µl. |
| Almacenar en refrigeración a -20°C. |

Cuadro 8. Composición y preparación de la solución stock de RNAsa (Doležel *et al.*, 1992).

| |
|---|
| Disolver 25 mg de RNAsa en 25 ml de agua deionizada (17 MOhms). |
| Inactivar la RNAsa a una temperatura de 90°C por 15 minutos, en baño maría donde la RNAsa debe estar a 90°C y la temperatura en agitación en un rango de 95°C-97°C. |
| Pasar la solución con un filtro de 0.22 µm. |
| Distribuir en alícuotas de 500 µl. |
| Almacenar en refrigeración a -20°C. |

Calibración del citómetro de flujo

Se utilizó un citómetro de flujo Partec CA II calibrado con NEP (Palomino *et al.*, 1999). El citómetro de flujo se calibra con el propósito de alinear correctamente la lámpara, el lente objetivo 40x y el lente ocular, con la finalidad de lograr un coeficiente de variación (CV) de 0.98-1.96 (Palomino *et al.*, 1999), (Cuadro 9).

Cuadro 9. Calibración del citómetro del flujo con núcleos de eritrocitos de pollo (NEP) y Yoduro de propidio.

Tomar 500 μ l de OTTO 1.

Agitar vigorosamente la muestra del stock de NEP.

Agregar 10 μ l de solución stock de NEP (equivalente a 369×10^3 núcleos de eritrocitos).

Agitar con una jeringa de 1 ml. Si se observan muchos agrupamientos en la pantalla del citómetro de flujo, repetir la muestra.

Añadir 2 ml de OTTO 2.

Añadir 125 μ l de solución stock de IP.

Añadir 125 μ l de solución stock de RNAsa.

Filtrar con una malla de nylon de 30-50 μ m.

Preparación de las muestras

Se utilizó como referencia *Solanum lycopersicum* 2C ADN= 1.96 pg (Doležel *et al.*, 1992), *Zea Mays* 1C ADN= 2.73 (Bennett *et al.*, 1976) y *Pisum sativum* 1C ADN= 4.88 pg. Se obtuvieron las cantidades de tejido foliar de especies testigo dependiendo del tamaño del genoma de las plantas problema y de tejido foliar joven de las Asteráceas que fueron picados con una navaja de rasurar en una caja petri con 1.5 ml de OTTO 1 (Cuadro 10). Ambos tejidos foliares fueron mezclados en la caja petri.

Cuadro 10. Peso en miligramos de las especies problema y especies testigo.

| Especie/ Control | Peso (mg) |
|--|------------------|
| <i>Ageratina pazcuarensis/Zea mays</i> | 20/39 |
| <i>Ageratina petiolaris/Zea mays</i> | 26/36 |
| <i>Bidens bigelovii</i> var. <i>angustiloba/Zea mays</i> | 30/30 |
| <i>Bidens odorata/Zea mays</i> | 37/30 |
| <i>Bidens pilosa/Pisum sativum</i> | 30/10 |
| <i>Conyza bonariensis/Zea mays</i> | 30/25 |
| <i>Florestina pedata/Solanum lycopersicum</i> | 43/10 |
| <i>Jaegeria hirta/Solanum lycopersicum</i> | 63/10 |
| <i>Melampodium longifolium/Zea mays</i> | 40/40 |
| <i>Melampodium perfoliatum/Zea mays</i> | 40/40 |
| <i>Piquería trinervia/Zea mays</i> | 26/49 |
| <i>Simsia amplexicaulis/Zea mays</i> | 25/10 |
| <i>Stevia tomentosa/Zea mays</i> | 44/15 |
| <i>Stevia viscida/Zea mays</i> | 50/20 |

mg= miligramos

Una vez macerado el material, se filtró en una malla de nylon de 30-50 μm .

La muestra filtrada se centrifugó dos veces por 3 minutos a 1000 rpm, quitando el sobrenadante. Al precipitado que contiene los núcleos, se le agregaron 500 μl de OTTO 1.

A los núcleos con OTTO 1, se le añadieron 2 ml de OTTO 2.

Se le agregaron 125 μl de RNAsa y 125 μl de IP.

Finalmente, se filtró la solución y se analizó en el citómetro de flujo.

Procedimiento para medir el contenido de ADN en el citómetro de flujo.

Se analizaron cinco plantas por especie con tres repeticiones cada una. En cada réplica se analizaron al menos 10 000 núcleos. El tamaño del genoma nuclear se calculó con la siguiente fórmula planteada por Doležel (1991).

Análisis estadísticos

Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, de tipo balanceado con un solo criterio de clasificación para evaluar las diferencias en el promedio del tamaño del genoma en picogramos (pg) de las 14 especies de Asteraceae contempladas en este trabajo. El primer nivel de análisis correspondió a las especies, el segundo nivel a cinco individuos por especie. Se realizó el promedio de tres repeticiones para cada individuo (14 especies x 5 individuos). Se comprobó la normalidad de los residuales así como la homogeneidad de varianzas. En caso de existir diferencias significativas en los datos ($p < 0.0001$), se emplea la Prueba de Tukey Kramer HSD para una comparación múltiple de medias del tamaño del genoma para cada una de las especies. Con las 14 especies, también se realizó una correlación de Pearson entre el total de ADN 1Cx y el número cromosómico básico. Se utilizó el software JMP versión 7.0 (SAS company).

Distribución geográfica y comparación de la distribución de especies entre *Melampodium longifolium* y *M. perfoliatum*; *Stevia tomentosa* y *S. viscida*

Con la finalidad de observar si existen diferencias en la distribución geográfica entre especies del mismo género partiendo de diferencias significativas en el contenido nuclear de ADN, se elaboraron mapas para conocer la distribución de *Melampodium longifolium* y *M. perfoliatum* y de *Stevia tomentosa* y *S. viscida*.

Estos géneros se seleccionaron por presentar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$) en el contenido de ADN nuclear entre sus especies. La información de la distribución geográfica para cada especie se obtuvo de una base de datos recopilada a partir de las localidades de registro de ejemplares de herbario y proporcionada por el Dr. José Luis Villaseñor y colaboradores, además de la información de números cromosómicos encontrados en la literatura. La realización del mapa en donde se ubican las localidades se hizo con la ayuda de un Sistema de Información Geográfica, sobre la cual se dibujó una red de tendido mínimo para ilustrar el trazo individual de cada especie mediante el programa ArcView GIS 3.2.

RESULTADOS

Revisión de listados florísticos de la REPSA

Se llevó a cabo una revisión de los distintos listados elaborados para la flora de la Reserva del Pedregal de San Ángel. Los listados de Rzedowski (1954) y Álvarez *et al.* (1982) fueron previos al decreto de la reserva en 1983, y corresponden a una extensión mayor, denominada Pedregal de San Ángel, que corresponde a un área de aproximadamente 80 km² (Rzedowski, 1954). Por esta razón algunas especies ya no han sido reportadas en los trabajos posteriores al decreto de la reserva. Otra razón por la que diversas especies ya no han sido reportadas se debe también al desarrollo urbano y posiblemente también por la presencia de especies exóticas. A lo largo de los trabajos florísticos de la reserva, se han registrado 143 especies de Asteraceae. El último trabajo, correspondiente a Céspedes (2010), reporta un gran número de especies, algunas de ellas sin un reporte anterior, lo que sugiere la invasión de especies ajenas a la zona del pedregal (Cuadro 11).

Cuadro 11. Número de especies de Asteraceae en los listados florísticos para la REPSA hasta la fecha.

| Autores | Número de Especies |
|---|--------------------|
| Rzedowski (1954) | 58 |
| Álvarez <i>et al.</i> (1982) | 64 |
| Panti (1984) | 44 |
| Valiente y De Luna (1990) | 54 |
| Castillo-Argüero <i>et al.</i> , (2004) | 72 |
| Soto (2007) | 75 |
| Castillo-Argüero <i>et al.</i> (2009) | 105 |
| Céspedes (2010) | 93 |

Existen especies de amplia distribución en la reserva, que también coinciden en que se encuentran documentadas en todos los listados florísticos: *Brickellia veronicifolia*, *Dahlia coccinea*, *D. sorensenii*, *Florestina pedata*, *Montanoa tomentosa*, *Pittocaulon praeocx*, *Stevia ovata*, *S. salicifolia*, *Verbesina virgata* y *Zinnia peruviana*. También las siguientes especies se han reportado en todos los trabajos, aunque actualmente, su distribución no es tan

abundante: *Ageratum corymbosum*, *Baccharis pterionoides*, *Chromolaena pulchella*, *Lagascea rigida*, *Piquería trinervia*, *Schkuria pinnata* y *Tagetes micrantha*.

Otras especies que no han sido reportadas en todos los trabajos, pero que actualmente se encuentran ampliamente distribuidas en la REPSA son: *Ageratina cylíndrica*, *Baccharis sordescens*, *Bidens odorata*, *Bidens pilosa*, *Conyza bonariensis*, *Galinsoga parviflora*, *Jaegeria hirta*, *Laennecia sophiifolia*, *Picris echioides*, *Pseudoagnaphalium luteoalbum*, *Tagetes tenuifolia*, *Taraxacum officinale* y *Tithonia tubiformis*, principalmente.

Números cromosómicos obtenidos para especies de Asteraceae de la REPSA.

Se obtuvieron los números cromosómicos de células mitóticas de 14 especies distintas, que corresponden al segundo reporte de números cromosómicos para individuos de la REPSA. Se muestra el cuadro 12 con los números cromosómicos; las fotografías de los cromosomas somáticos para cada especie aparecen en las figuras 3-16.

Cuadro 12. Números cromosómicos obtenidos para especies de Asteraceae de la REPSA.

| Especie | 2n | x | Nivel de ploidía |
|---|-----------|----------|-------------------------|
| <i>Ageratina pazcuarensis</i> | 51 | 17 | 3x |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | 34 | 17 | 2x |
| <i>Bidens bigelovii</i> var. <i>angustiloba</i> | 24 | 12 | 2x |
| <i>Bidens odorata</i> | 24 | 12 | 2x |
| <i>Bidens pilosa</i> | 72 | 12 | 6x |
| <i>Conyza bonariensis</i> | 54 | 9 | 6x |
| <i>Florestina pedata</i> | 20 | 10 | 2x |
| <i>Jaegeria hirta</i> | 36 | 18 | 4x |
| <i>Melampodium longifolium</i> | 18 | 9 | 2x |
| <i>Melampodium perfoliatum</i> | 24 | 12 | 2x |
| <i>Piqueria trinervia</i> | 24 | 12 | 2x |
| <i>Simsia amplexicaulis</i> | 34 | 17 | 2x |
| <i>Stevia tomentosa</i> | 33 | 11 | 3x |
| <i>Stevia viscida</i> | 33 | 11 | 3x |

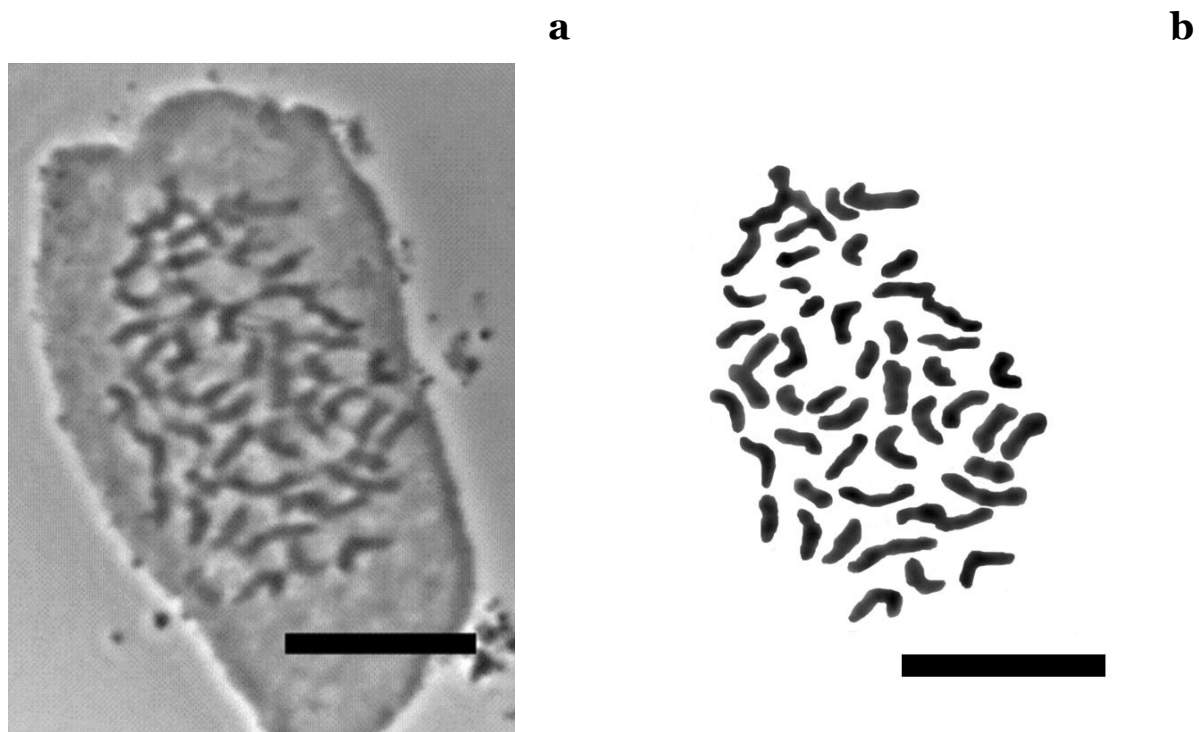


Figura 3. *Ageratina pazcuarensis*, triploide $2n= 51$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 µm.

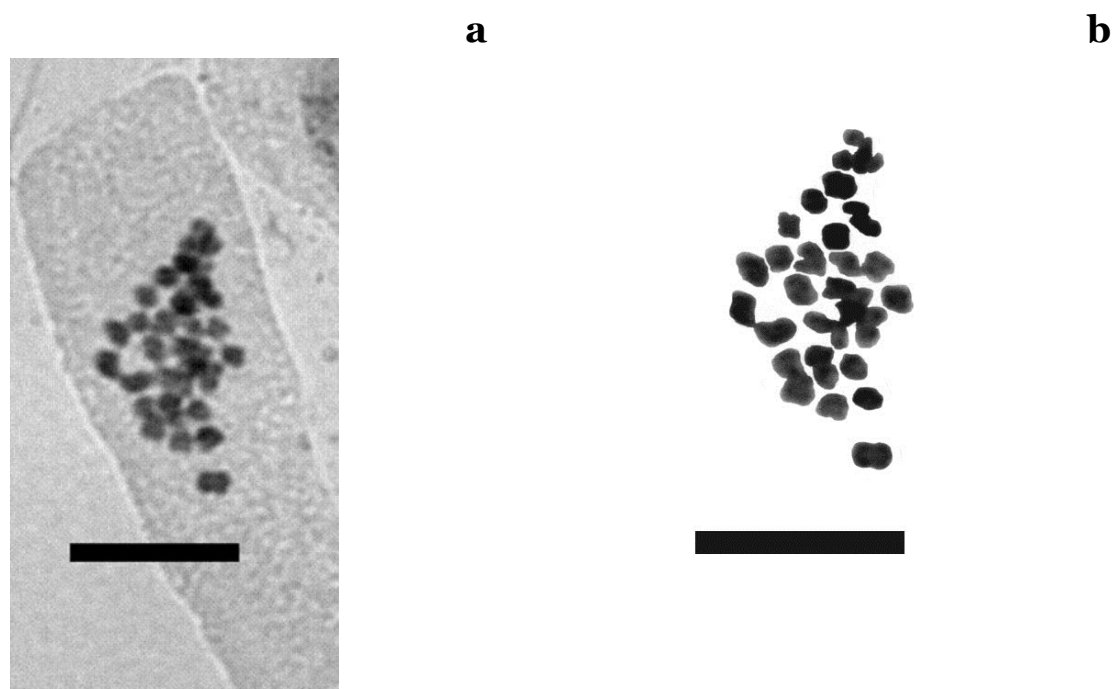


Figura 4. *Ageratina petiolaris*, diploide $2n= 34$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 µm.

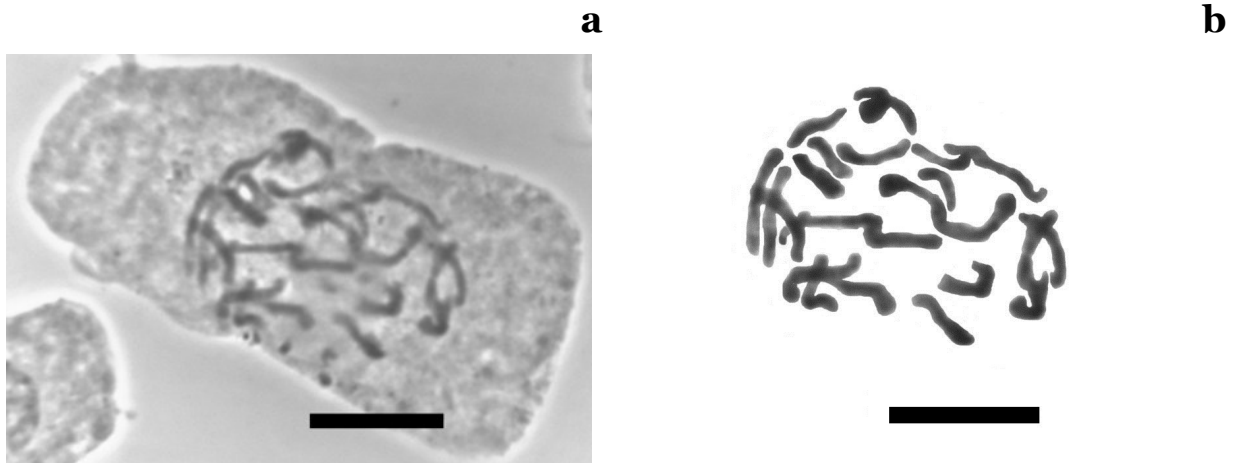


Figura 5. *Bidens bigelovii* var. *angustiloba*, diploide $2n= 24$. a) Célula en prometafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

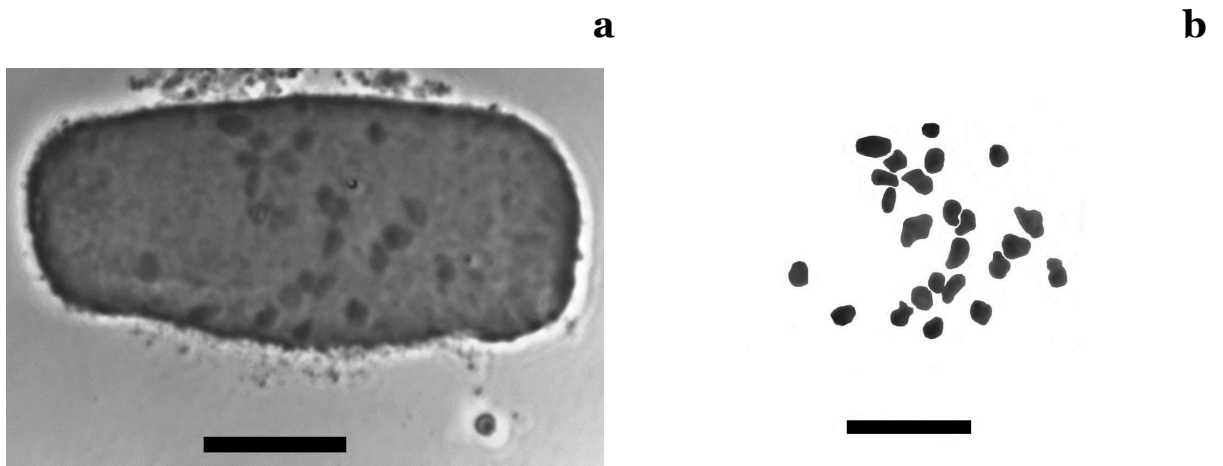


Figura 6. *Bidens odorata*, diploide $2n= 24$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

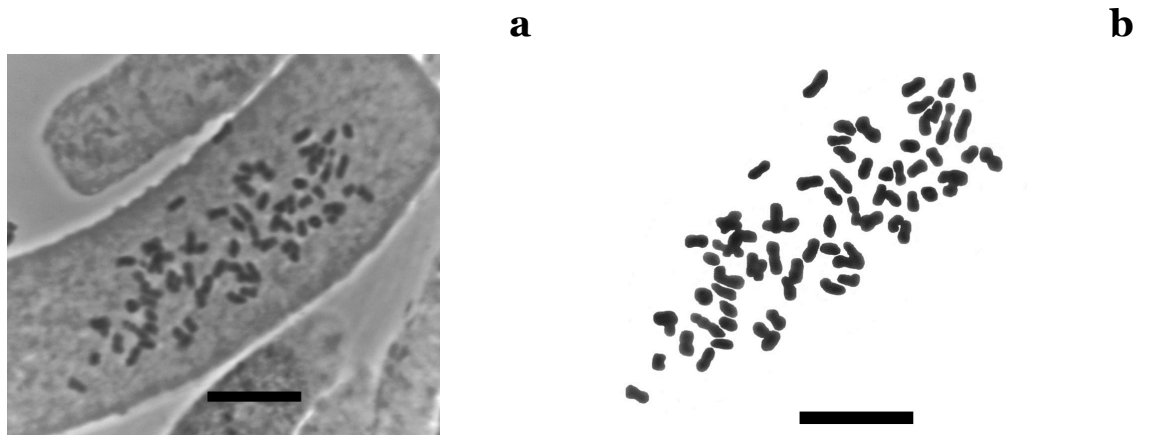


Figura 7. *Bidens odorata*, hexaploide $2n= 72$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

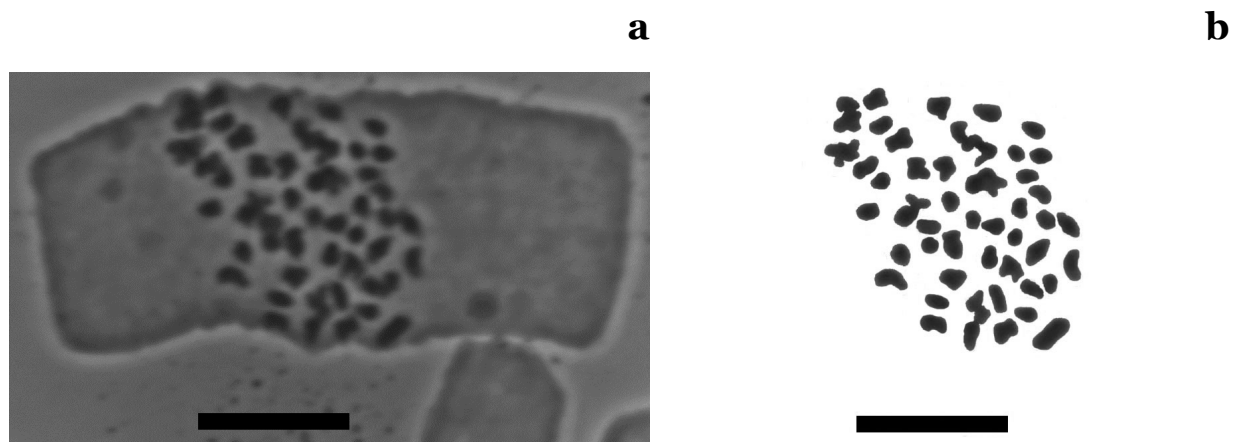


Figura 8. *Conyza bonariensis*, hexaploide $2n= 54$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

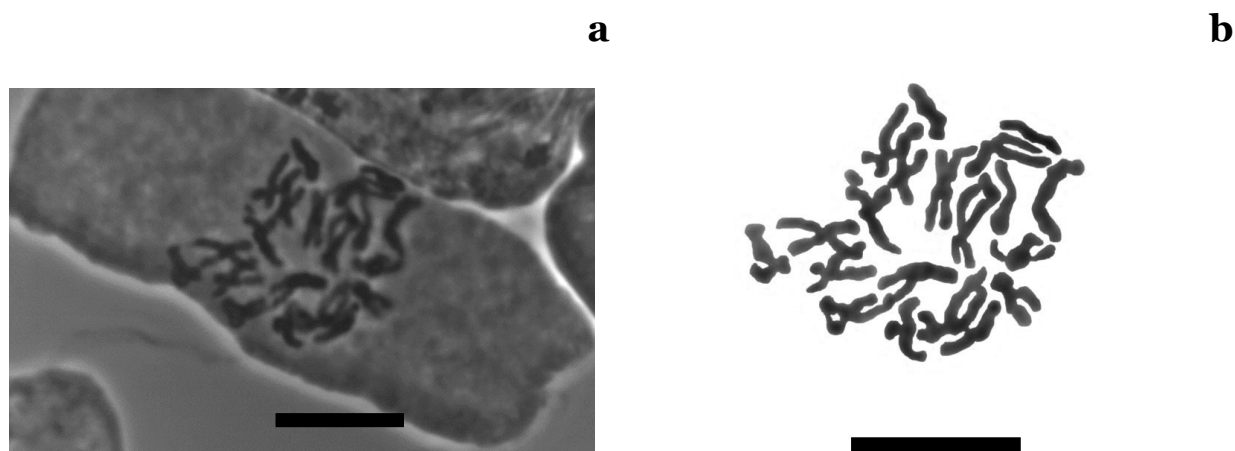


Figura 9. *Florestina pedata*, diploide $2n= 20$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

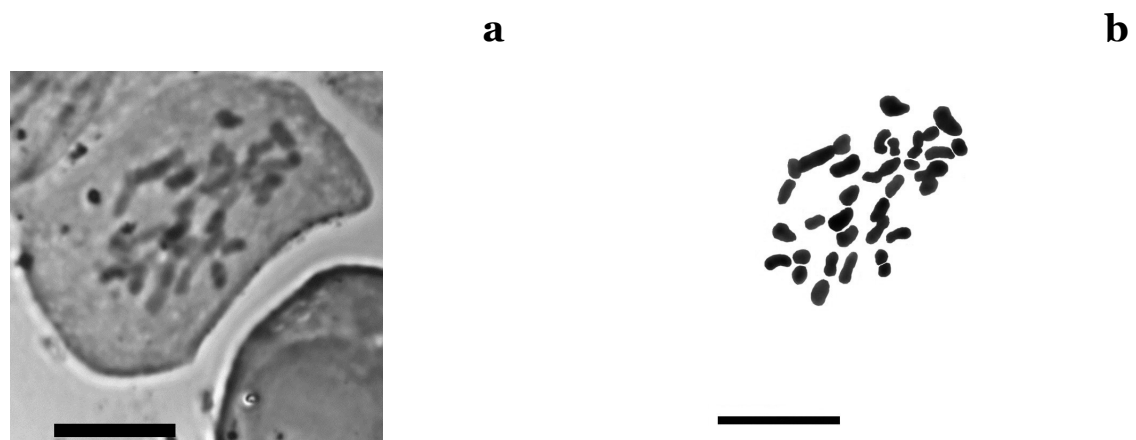


Figura 10. *Jaegeria hirta*, tetraploide $2n= 36$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

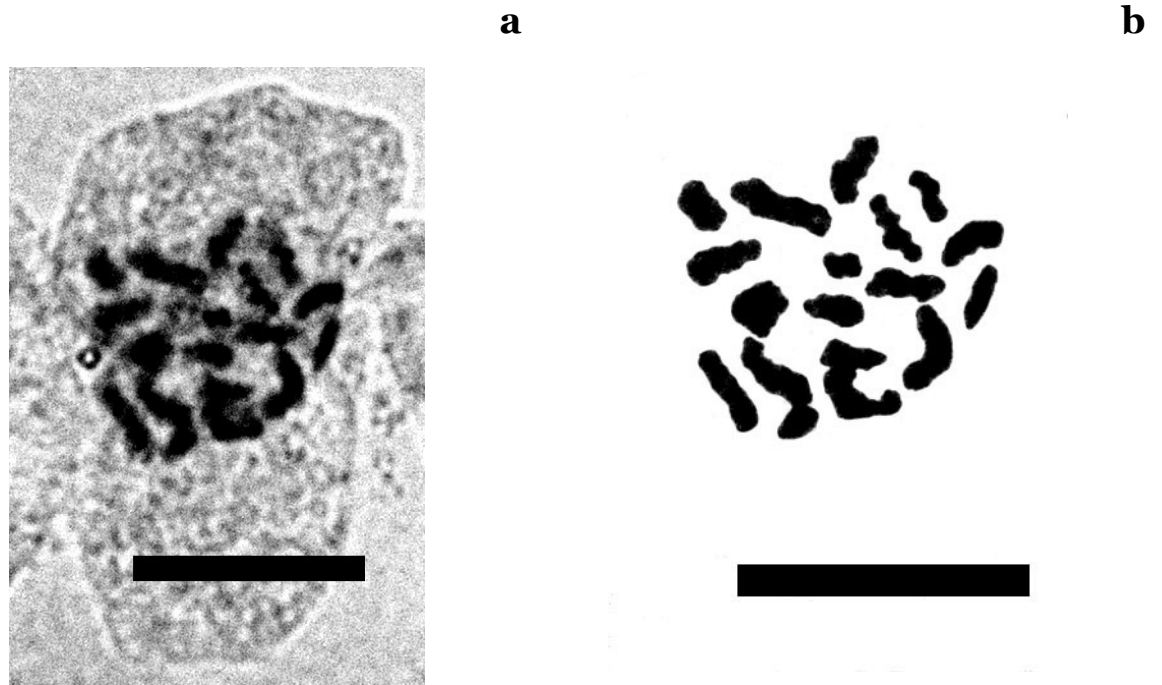


Figura 11. *Melampodium longifolium*, diploide $2n= 18$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

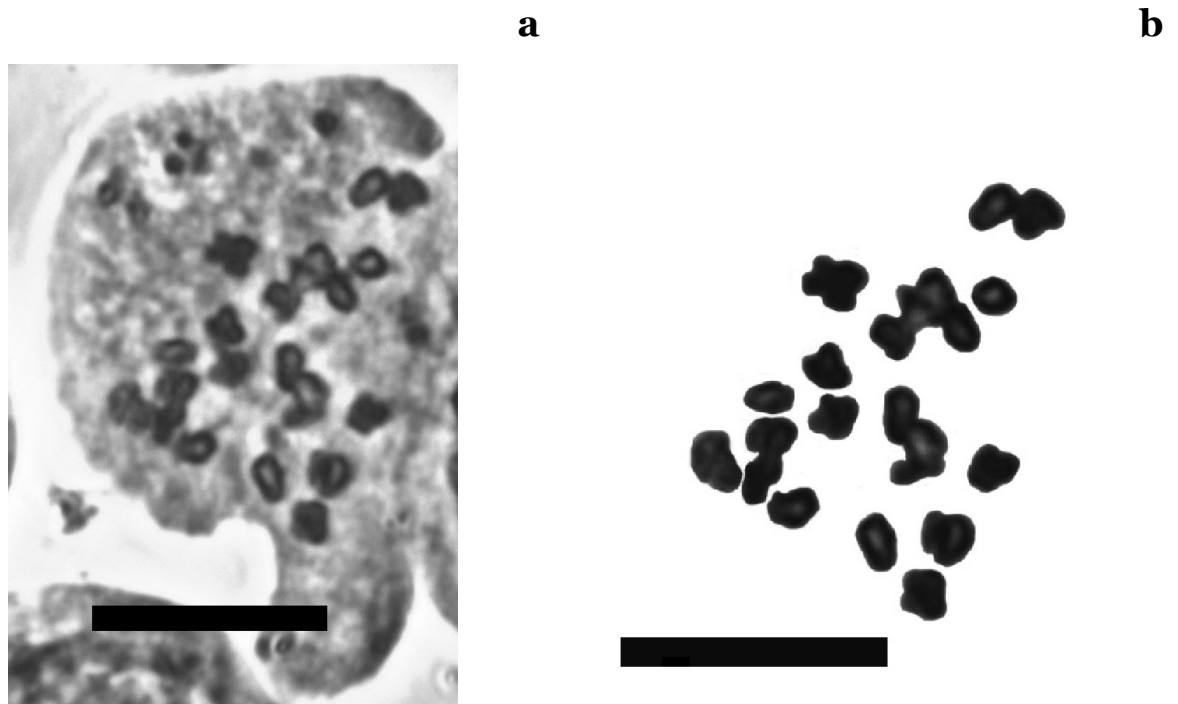


Figura 12. *Melampodium perfoliatum*, diploide $2n= 22$. a) Células en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

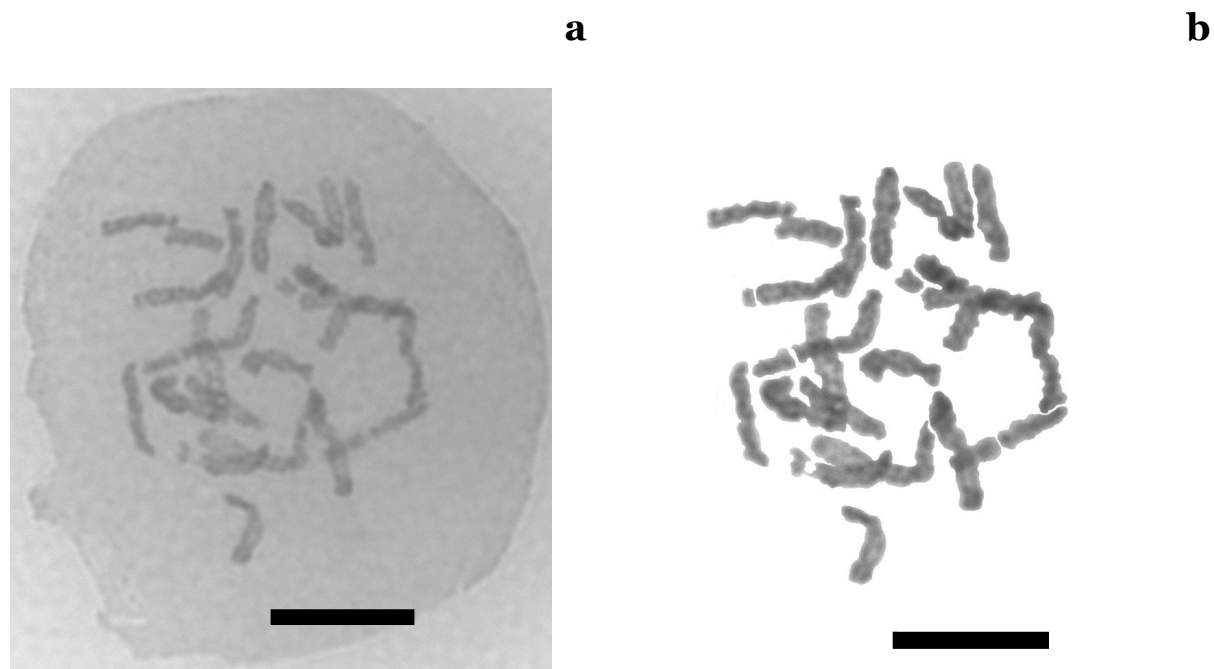


Figura 13. *Piqueria trinervia*, diploide $2n= 24$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

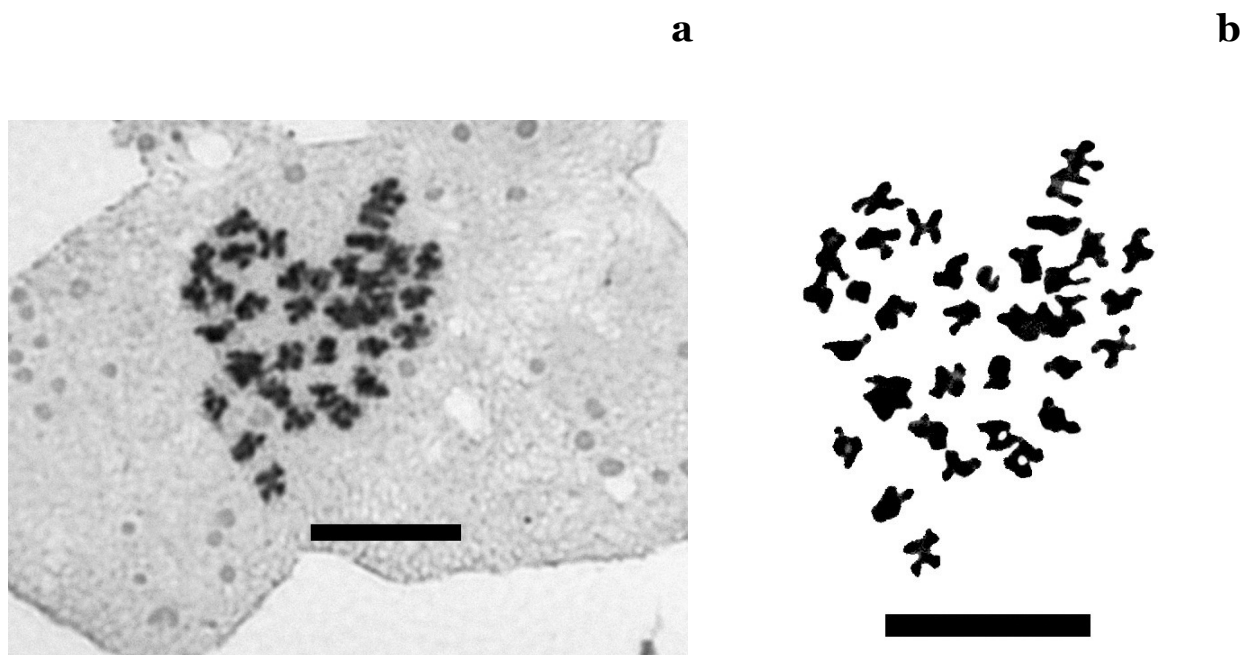


Figura 14. *Simsia amplexicaulis*, diploide $2n= 34$. a) Metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 μm .

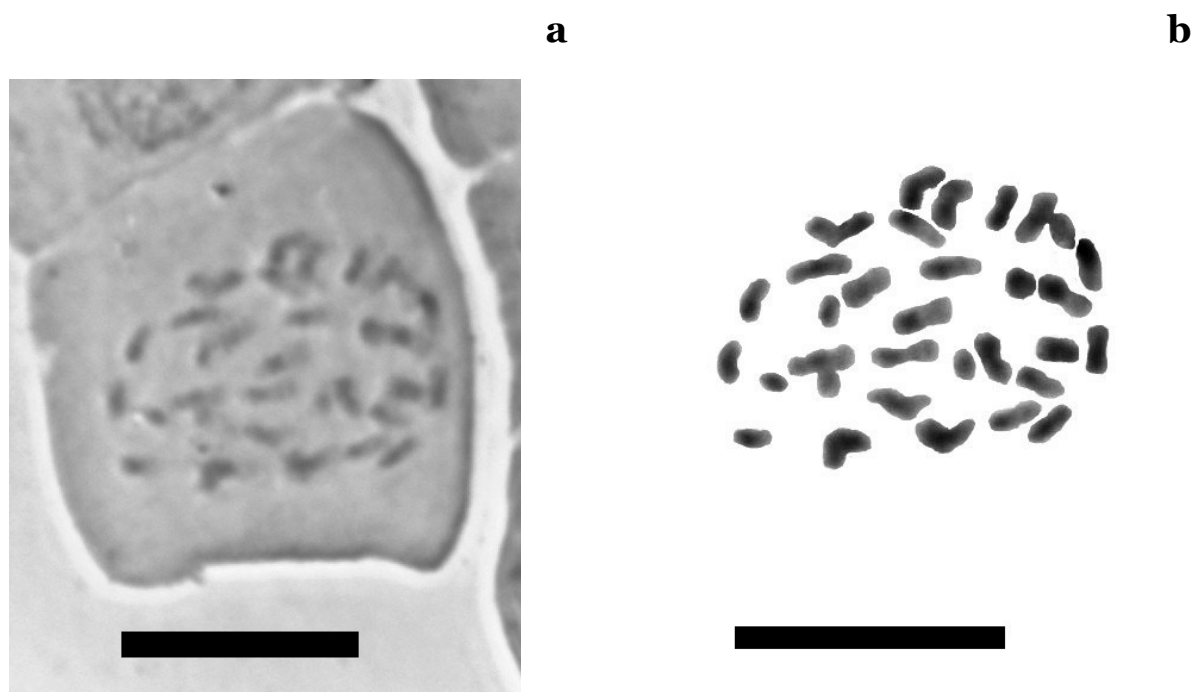


Figura 15. *Stevia tomentosa*, triploide $2n= 33$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 µm.

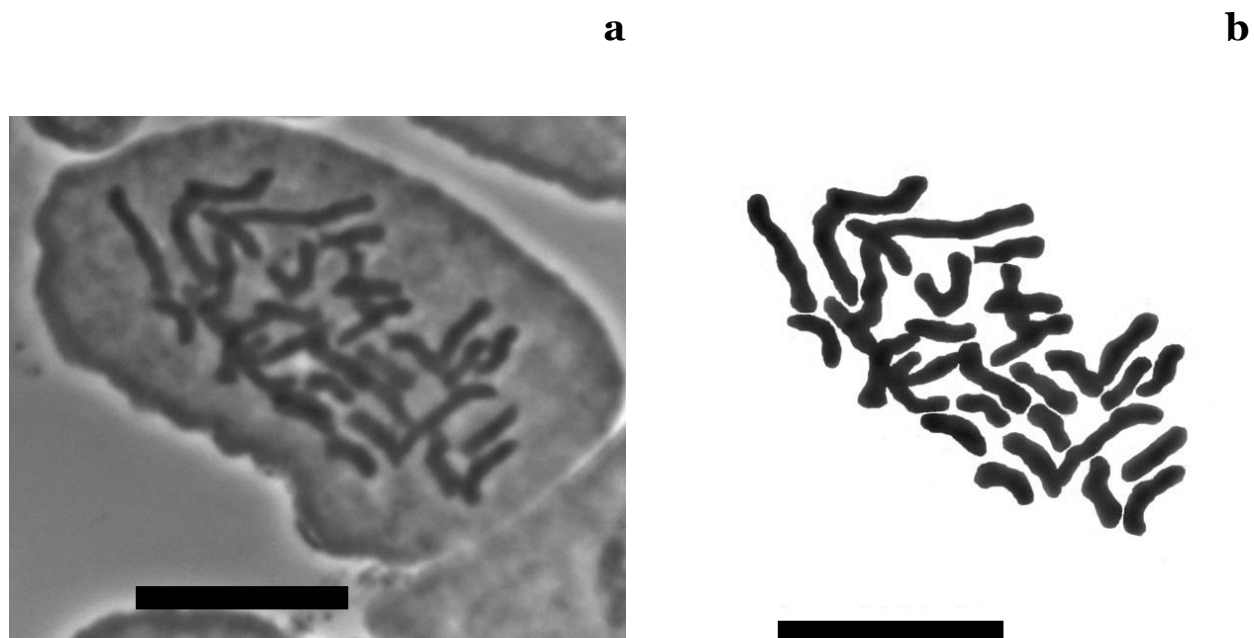


Figura 16. *Stevia viscida*, triploide $2n= 33$. a) Célula en metafase somática. b) Cromosomas somáticos. Escala 10 µm.

Estimación de la poliploidía en especies de Asteraceae de la REPSA

Se consideraron las especies del listado florístico más reciente (Céspedes, 2010) con al menos un conteo cromosómico reportado en la literatura. También se tomaron en cuenta los 25 conteos realizados por Soto (2007), además de los que se obtuvieron en el presente trabajo para analizar la frecuencia de poliploidía para las Asteraceae (Cuadro 13).

Cuadro 13. Números cromosómicos de especies de Asteraceae presentes en la REPSA y reportados en la literatura.

| Especie | n | 2n | Nivel de ploidía | Referencia |
|---|-------|--------|------------------|---|
| <i>Acmella repens</i> | 39 | 26,52, | 2x,4x,6X | Jansen (1985). |
| * <i>Acourtia cordata</i> | 27 | 54 | 2x | Soto (2007). |
| <i>Ageratina adenophora</i> | | 51 | 3x | Keil <i>et al.</i> (1988). |
| * <i>Ageratina brevipes</i> | 17 | | 2x | Sundberg <i>et al.</i> (1986). |
| * <i>Ageratina cylindrica</i> | | 34 | 2x | Soto. (2007). |
| * <i>Ageratina deltoidea</i> | | 34 | 2x | Grashoff <i>et al.</i> (1972). |
| <i>Ageratina pazcuarensis</i> | | 51 | 3x | Sundberg <i>et al.</i> (1986). Moore (1974), este estudio |
| * <i>Ageratina petiolaris</i> | 17 | 34 | 2x | King <i>et al.</i> (1976); este estudio. |
| <i>Ageratum corymbosum</i> | 10,20 | 40 | 2x,4x | Keil y Stuessy 1975; Soto (2007). |
| <i>Ambrosia confertiflora</i> | 36,54 | | 4x,6x | Payne <i>et al.</i> (1964). |
| <i>Ambrosia psilostachya</i> | 36 | | 4x | Payne <i>et al.</i> (1964); Soto (2007). |
| <i>Artemisa ludoviciana</i> | 18 | | 4x | Keil y Stuessy (1975). |
| ** <i>Baccharis heterophylla</i> | 9 | | 2x | Keil y Stuessy (1977). |
| <i>Baccharis salicifolia</i> | 9,18 | | 2x,4x | Keil y Pinkava (1977). |
| * <i>Baccharis sordescens</i> | 9 | | 2x | Keil y Stuessy (1977); Soto. (2007). |
| <i>Barkleyanthus salicifolius</i> | 30 | | 2x | Turner y Flyr (1966), Soto (2007). |
| <i>Bidens bigelovii</i> var. <i>angustiloba</i> | 12 | 24 | 2x | Olsen (1980), este estudio. |
| <i>Bidens odorata</i> | 12 | | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988); Soto (2007); este estudio. |
| <i>Bidens pilosa</i> | 36 | 72 | 6x | Ballard (1986), Turner y King (1964); este estudio. |
| * <i>Brickellia secundiflora</i> | 9 | | 2x | Turner <i>et al.</i> (1962); Soto (2007). |
| <i>Brickellia veronicifolia</i> | 9 | | 2x | King <i>et al.</i> (1976) Soto (2007). |

Cuadro 13. (continua)

| Especie | n | 2n | Nivel de ploidía | Referencia |
|-----------------------------------|----------|-----------|-------------------------|--|
| <i>Carminatia tenuiflora</i> | 10 | | 2x | King <i>et al.</i> (1976). |
| <i>Cirsium vulgare</i> | | 68 | 4x | Ozcan <i>et al.</i> (2008). |
| <i>Conyza bonariensis</i> | 27 | 18, 54 | 2x,6x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), este estudio. |
| <i>Conyza canadiensis</i> | 9 | | 2x | Turner <i>et al.</i> (1962). |
| <i>Conyza coronopifolia</i> | 9 | | 2x | Keil y Stuessy (1977). |
| <i>Cosmos bipinnatus</i> | 12 | | 2x | Carr <i>et al.</i> (1999), Soto (2007). |
| <i>Cosmos parviflorus</i> | 12 | | 2x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Cotula australis</i> | 18 | | 4x | Powell <i>et al.</i> (1974). |
| <i>Dahlia coccinea</i> | 16 | 32 | 2x | Gatt <i>et al.</i> (1998), Soto (2007). |
| <i>Dahlia sorensenii</i> | 32 | | 4x | Hansen y Hjerting (1996). |
| <i>Dyssodia papposa</i> | 13 | 26 | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988). |
| <i>Erigeron delphinifolius</i> | 9,18 | | 2x,4x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Erigeron karwinskianus</i> | 9,18 | 27,36 | 2x,3x,4x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Erigeron longipes</i> | 9,18 | | 2x,4x | Sundberg <i>et al.</i> (1986). |
| <i>Fleischmannia pycnocephala</i> | 20 | | 4x | Soto (2007). |
| <i>Florestina pedata</i> | 10,11 | | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988), este estudio. |
| <i>Galisonga parviflora</i> | | 16,32,48 | 2x,4x,6x | Canne (1983), Lane y Li (1993), Strother y Panero (2001), Soto (2007). |
| * <i>Gamochoaeta americana</i> | 14 | | 4x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Heterosperma pinnatum</i> | 25 | | 4x | Keil y Stuessy (1975). |
| <i>Jaegeria hirta</i> | 18 | | 4x | Keil y Stuessy (1975), este estudio. |
| <i>Lactuca serriola</i> | 9 | | 2x | Spencer <i>et al.</i> (1978), Soto (2007). |
| <i>Laennecia filaginoides</i> | | 18 | 2x | (Flora of North America a) |
| <i>Laennecia sophiifolia</i> | 9 | | 2x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Lagascea rigida</i> | 17 | | 2x | Stuessy (1978), Soto (2007). |
| * <i>Melampodium longifolium</i> | 9 | | 2x | Turner y King (1962), este estudio. |
| <i>Melampodium perfoliatum</i> | 11,12 | | 2x | Keil y Stuessy (1975), este estudio. |
| * <i>Montanoa grandiflora</i> | 19 | | 2x | Solbrig <i>et al.</i> (1972), Soto (2007). |
| * <i>Montanoa tomentosa</i> | 19 | | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988). |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 17 | | 2x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| ** <i>Pectis prostrata</i> | | 12 | 2x | Keil y Pinkava (1976). |
| <i>Picris echioides</i> | 5 | 10 | 2x | Keil y Pinkava (1976), Soto (2007). |
| <i>Piqueira trinervia</i> | 11,12 | | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988) este estudio. |
| * <i>Pittocaulon praecox</i> | 30 | | 2x | Strother (1983), Soto (2007). |

Cuadro 13. (continua)

| Especie | n | 2n | Nivel de ploidía | Referencia |
|---------------------------------------|----------|-----------|-------------------------|--|
| <i>Pseudognaphalium canescens</i> | | 28 | 4x | (Flora of North America b). |
| * <i>Pseudoagnaphalium chartaceum</i> | 14 | 28 | 4x | Keil y Stuessy (1977). |
| <i>Pseudoagnaphalium luetoalbum</i> | 7 | 14 | 2x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Pseudoagnaphalium viscosum</i> | 14 | 28 | 4x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| * <i>Roldana sessilifolia</i> | | 60 | 2x | Zhao y Turner (1993). |
| <i>Sanvitalia procumbens</i> | 8 | | 2x | Solbrig <i>et al.</i> (1972). |
| <i>Schkuria pinnata</i> | 10,20 | | 2x,4x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Senecio vulgaris</i> | 20 | | 2x | Ornduff <i>et al.</i> (1967) |
| <i>Sigesbeckia agrestis</i> | 15 | | 2x | Strother y Panero (2001). |
| <i>Simsia amplexicaulis</i> | 17 | 34 | 2x | Jansen y Stuessy (1980), este estudio. |
| <i>Sonchus oleraceus</i> | 16 | | 4x | Turner <i>et al.</i> (1961), Soto (2007). |
| <i>Stevia micranatha</i> | | 22,24 | 2x | Watanabe <i>et al.</i> (2001). |
| * <i>Stevia origanoides</i> | | 22,33,44 | 2x,3x,4x | Soejima <i>et al.</i> (2001), Soto (2007). |
| <i>Stevia ovata</i> | | 22,33,44 | 2x,3x,4x | Soejima <i>et al.</i> (2001). |
| <i>Stevia salicifolia</i> | 12 | 24 | 2x | Watanabe <i>et al.</i> (1995), Soto (2007). |
| ** <i>Stevia subpubescens</i> | 12 | | 2x | Keil y Stuessy (1977). |
| * <i>Stevia tomentosa</i> | | 33,44 | 3x,4x | Watanabe <i>et al.</i> (1995), este estudio. |
| <i>Stevia viscida</i> | 11 | 22,33,44 | 2x,3x,4x | Watanabe <i>et al.</i> (2001), este estudio. |
| <i>Symphotrichum expansum</i> | | 10 | 2x | Powell <i>et al.</i> (2010). |
| <i>Tagetes erecta</i> | | 24 | 2x | Towner (1962). |
| <i>Tagetes lucida</i> | 11 | | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988). |
| <i>Tagetes micrantha</i> | 12 | | 2x | Keil y Stuessy (1975). |
| <i>Tagetes tenuifolia</i> | | 24 | 2x | Keil <i>et al.</i> (1988), Soto (2007). |
| <i>Tanacetum parthenium</i> | 9 | | 2x | Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Taraxacum officinale</i> | | 16,24,32 | 2x,3x,4x | Bennett <i>et al.</i> (1982a). |
| <i>Tithonia tubiformis</i> | 17 | | 2x | Keil y Stuessy (1977), Soto (2007). |
| * <i>Verbesina tetraptera</i> | 17 | | 2x | Turner <i>et al.</i> (1961). |
| * <i>Verbesina virgata</i> | 17 | | 2x | Turner <i>et al.</i> (1961). |
| * <i>Viguiera buddleiiformis</i> | 17 | | 2x | Soto (2007). |
| <i>Zinnia peruviana</i> | 12 | | 2x | Torres (1963), Soto (2007). |

*Especies endémicas de México.

** Reportada durante la realización de esta tesis.

Con base en la presencia de tres o más juegos cromosómicos básicos, 33.3% de las especies de Asteraceae de la REPSA con número cromosómico conocido, son poliploides. Stebbins (1950) basado en el mismo método, calculó que alrededor del 30-35% de las angiospermas y 36% de las monocotiledóneas son poliploides.

Utilizando el criterio de Grant (1963, 1989), en el que especies con $n = 14$ o más indica poliploidía. Se observa que 59.8% de las Asteraceae de la reserva con número cromosómico conocido son poliploides. Grant (1963) estimó que 47% de 17138 reportes de especies de angiospermas resultaron poliploides.

El criterio de Goldblatt (1980) considera que especies con $n = 11$ o más indica poliploidía. 73.6% de las especies de las Asteraceae de la reserva con número cromosómico conocido resultaron poliploides con este criterio. Goldblatt (1980) estimó que 68% de 10580 especies de monocotiledóneas son poliploides. En el cuadro 14 se encuentra la frecuencia de poliploidía para las especies endémicas del país presentes en la reserva y su comparación con el total de especies de la reserva con conteo cromosómico reportado en la literatura.

Cuadro 14. Porcentajes de poliploidía en Asteraceae de la REPSA basados en los criterios de los tres autores señalados.

| | Total de especies | ≥ 3 genomas (Stebbins, 1950) | $n \geq 14$ (Grant, 1963) | $n \geq 11$ (Goldblatt, 1980) |
|---|-------------------|--------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| Especies de la REPSA | 84 | (30) 35.7% | (52) 62% | (68) 81% |
| Especies de la REPSA y endémicas de México | 17 | (4) 23.5% | (13) 76.5% | (13) 76.5 % |

De las especies del cuadro 13, se reportaron 27 especies con nivel de ploidía tetraploide ($4x$), entre las que se encuentran *Ageratum corymbosum*, *Ambrosia psilostachya*, *Fleischmannia pycnocephala*, *Jaegeria hirta* y *Sonchus oleraceus*, obtenidas a partir de individuos de la REPSA (Soto, 2007). Se presentaron ocho especies de origen triploide ($3x$); *Ageratina pazcuarensis*, *Stevia organoides*, *S. tomentosa* y *S. viscida* se obtuvieron a partir de individuos de la REPSA (Soto, 2007). Este nivel de ploidía en *Stevia* es generalmente asociado con reproducción asexual (agamospermia) (King *et al.*, 1976). Cuatro de origen hexaploide ($6x$), de estas últimas, *Conyza bonariensis* ($2n = 6x = 54$) y *Bidens pilosa* ($2n = 6x = 72$), cuyos conteos fueron obtenidos en este trabajo, no fueron reportadas en los primeros listados florísticos de la reserva; sin embargo, se les puede ver distribuidas tanto en zonas núcleo como en zonas de amortiguamiento.

Algunas de las especies diploides que se encuentran en la REPSA, presentan números cromosómicos altos, tales como *Acourtia cordata* (n= 27), *Ageratina deltoidea* (n= 17), *A. petiolaris* (n= 17), *Barkleyanthus salicifolius* (n= 30), *Cirsium vulgare* (n= 34), *Dahlia coccínea* (n= 16), *Lagascea rigida* (n= 17), *Montanoa grandiflora* (n= 19), *M. tomentosa* (n= 19), *Pittocaulon praecox* (n= 30), *Roldana lobata* (n= 30), *R. sessilifolia* (n= 30), *Senecio vulgaris* (n= 20), *Tithonia tubiformis* (n= 17), *Verbesina virgata* (n= 17) y *Viguiera buddleiformis* (n= 17). Grant (1963, 1989) y Goldblatt (1980) consideran que especies diploides con números cromosómicos altos pudieron haber sido derivados por poliploidía, por lo que estas especies pueden ser de origen poliploide.

Poliploidía en géneros de Asteraceae presentes en la REPSA

El listado florístico de la familia Asteraceae para la REPSA más reciente corresponde a Céspedes (2010) en el que se encuentran reportados 52 géneros de Asteraceae, de los cuales, 75% presentan poliploidía, es decir, contienen especies con tres o más juegos cromosómicos completos con respecto al número básico (x) para cada género (Cuadro 15). Se ha visto que la condición poliploide se presenta en la mayoría de los géneros de la REPSA. De 29 géneros con al menos un conteo cromosómico realizados en este trabajo y en Soto (2007), 26% presentan más de tres genomas, mientras que los géneros con $n \geq 14$ representan 57% y los géneros con $n \geq 11$ representan 76%.

Cuadro 15. Números básicos y niveles de ploidía en los géneros de Asteraceae presentes en la REPSA y reportados en la literatura.

| Género | Número básico (x) | Ploidía | Referencias |
|-----------------------|-------------------|-----------------|--|
| <i>Acmella</i> | 13 | 2x,4x,6x | Jansen (1985). |
| <i>Acourtia</i> | 27 | 2x | Powell y Powell (1978). |
| <i>Ageratina</i> | 17 | 2x, 3x, 4x, 5x | King <i>et al.</i> (1976). |
| <i>Ageratum</i> | 10 | 2x, 3x, 4x | Turner y King (1964), Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Ambrosia</i> | 18 | 2x, 4x, 6x, 8x | Payne <i>et al.</i> (1964), Robinson <i>et al.</i> (1989) |
| <i>Archibaccharis</i> | 9 | 2x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), Powell <i>et al.</i> (1974) |
| <i>Artemisa</i> | 9 | 2x, 4x, 6x, 8x | McArthur y Sanderson, (1999). |
| <i>Baccharis</i> | 9 | 2x, 4x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Barkleyanthus</i> | 30 | 2x | Robinson <i>et al.</i> (1997). |
| <i>Bidens</i> | 10, 11, 12, 14 | 2x, 4x, 6x, 12x | Solbrig <i>et al.</i> (1972), Ballard (1986), Robinson <i>et al.</i> (1989). |

Cuadro 15. (continua)

| Género | Número básico (x) | Ploidía | Referencias |
|---------------------|--------------------------|----------------------------|--|
| <i>Brickellia</i> | 9 | 2x | Robinson <i>et al.</i> (1997). |
| <i>Carminatia</i> | 10 | 2x | King <i>et al.</i> (1976). |
| <i>Chromolaena</i> | 10 | 2x, 4x, 6x | King <i>et al.</i> (1976) Keil y Pinkava (1976). |
| <i>Cirsium</i> | 12, 15, 16, 17 | 2x, 4x | Ownbey <i>et al.</i> (1975). |
| <i>Conyza</i> | 9 | 2x, 4x, 6x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Cosmos</i> | 11, 12 | 2x 4x 6x | Solbrig <i>et al.</i> (1972), Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Cotula</i> | 9 | 2x, 4x | Powell <i>et al.</i> (1974), Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Critonia</i> | 10 | 2x | King <i>et al.</i> (1976). |
| <i>Dyssodia</i> | 7, 8, 13 | 2x, 4x | Robinson <i>et al.</i> (1989), Powell y Turner (1963). |
| <i>Erigeron</i> | 9 | 2x, 4x, 6x, 8x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), Semple (1995). |
| <i>Fleishmania</i> | 10 | 2x, 4x, 6x, 8x | Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Florestina</i> | 10 | 2x | Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Galinsoga</i> | 8 | 2x, 4x, 6x, 8x | Solbrig <i>et al.</i> (1972), Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Gamochoaeta</i> | 7 | 2x, 4x | Keil <i>et al.</i> (1988). |
| <i>Heterosperma</i> | 11, 13 | 2x, 4x | Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Jaegeria</i> | 9 | 2x, 4x, 8x | Solbrig <i>et al.</i> (1972), Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Lactuca</i> | 9 | 2x, 4x | Spencer <i>et al.</i> (1978). |
| <i>Laennecia</i> | 9 | 2x, 4x, 6x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), Carr <i>et al.</i> (1999). |
| <i>Lagascea</i> | 17 | 2x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Melampodium</i> | 9, 10, 11, 12 | 2x, 3x, 4x, 6x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Montanoa</i> | 19 | 2x, 3x, 4x, 6x, 8x, 12x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Parthenium</i> | 17 | 2x, 4x, 6x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Pectis</i> | 6 | 2x, 4x | Keil <i>et al.</i> (1988). |
| <i>Picris</i> | 5 | 2x, 4x, 6x | Spencer <i>et al.</i> (1978). |
| <i>Piqueria</i> | 11, 12 | 2x, 4x | Turner <i>et al.</i> (1962); King <i>et al.</i> (1976). |

Cuadro 15. (continua)

| Género | Número básico (x) | Ploidía | Referencias |
|-------------------------|--------------------------|--------------------|---|
| <i>Pittocaulon</i> | 30 | 2x | Robinson <i>et al.</i> (1997). |
| <i>Pseudognaphalium</i> | 7 | 2x, 4x | Powell y Turner (1963); Keil <i>et al.</i> (1988). |
| <i>Roldana</i> | 30 | 2x | Robinson <i>et al.</i> (1997). |
| <i>Sanvitalia</i> | 8 | 2x, 4x | Jansen y Stuessy (1980). |
| <i>Schkuria</i> | 10, 12 | 2x, 4x | Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Senecio</i> | 10, 11, 15 | 2x, 4x | Ornduff <i>et al.</i> (1967). |
| <i>Sigesbeckia</i> | 15 | 2x | Jansen y Stuessy (1980). |
| <i>Simsia</i> | 17 | 2x | Powell y Turner (1963). |
| <i>Sonchus</i> | 8, 9 | 2x, 3x, 4x | Spencer <i>et al.</i> (1978). |
| <i>Stevia</i> | 11, 12, 17 | 2x, 3x, 4x, 5x, 6x | Turner (1964), King <i>et al.</i> (1976). |
| <i>Symphotrichum</i> | 9,8,5 | 2x,6x,8x | Solbrig <i>et al.</i> (1969), Semple (1995), Owen <i>et al.</i> (2006). |
| <i>Tagetes</i> | 11, 12, 18 | 2x, 4x | Ralston <i>et al.</i> (1989), Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Tanacetum</i> | 9, 12 | 2x, 4x | Spooner <i>et al.</i> (1995), Ghaffari y Kellich (2006). |
| <i>Tithonia</i> | 16, 17 | 2x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Verbesina</i> | 16, 17, 18 | 2x, 4x, 5x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Viguiera</i> | 8, 12, 17, 18, 21 | 2x, 4x, 6x | Solbrig <i>et al.</i> (1972), Robinson <i>et al.</i> (1989). |
| <i>Zinnia</i> | 8, 9, 10, 11, 12 | 2x, 4x, 8x | Solbrig <i>et al.</i> (1972); Robinson <i>et al.</i> (1989). |

Viabilidad de polen en especies de Asteraceae de la REPSA.

Con base en su disponibilidad en el campo, se analizaron muestras de polen teñidas con azul algodón de 12 especies diferentes de Asteraceae de la REPSA (Cuadro 16). La mayoría de las especies presentan un porcentaje elevado de polen viable.

Cuadro 16. Porcentaje de polen viable para especies de Asteraceae en la REPSA obtenidos en este estudio y en Soto (2007).

| Especie | Granos observados | Polen viable (%) |
|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| <i>*Acourtia cordata</i> | 285 | 88.42 |
| <i>Ageratina cylindrica</i> | 506 | 95.65 |
| <i>*Ageratina deltoidea</i> | 132 | 56.06 |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | 219 | 92.68 |
| <i>Ambrosia confertiflora</i> | 519 | 93.83 |
| <i>Ambrosia psilostachya</i> | 516 | 97.48 |
| <i>Artemisa ludoviciana</i> | 438 | 90.18 |
| <i>Aster subulatus</i> | 332 | 97.89 |
| <i>Baccharis pteronioides</i> | 360 | 82.77 |
| <i>Baccaris salicifolia</i> | 444 | 99.32 |
| <i>Barkleyanthus salicifolius</i> | 318 | 80.50 |
| <i>Bidens odorata</i> | 537 | 98.69 |
| <i>*Bidens pilosa</i> | 656 | 96.16 |
| <i>*Brickellia scoparia</i> | 695 | 89.49 |
| <i>*Chromolaena pulchella</i> | 591 | 94.92 |
| <i>*Cirsium vulgare</i> | 551 | 84.93 |
| <i>*Conyza bonariensis</i> | 138 | 86.95 |
| <i>Conyza coronopifolia</i> | 400 | 98.25 |
| <i>Cosmos bipinnatus</i> | 565 | 98.58 |
| <i>Cosmos parviflorus</i> | 472 | 97.88 |
| <i>Dahlia coccinea</i> | 509 | 99.21 |
| <i>Dahlia sorensenii</i> | 550 | 98.18 |
| <i>Dyssodia papposa</i> | 350 | 99.14 |
| <i>Florestina pedata</i> | 457 | 97.81 |
| <i>Heterosperma pinnatum</i> | 422 | 93.36 |
| <i>Jaegeria hirta</i> | 175 | 91.46 |
| <i>Lagascea rigida</i> | 439 | 98.63 |
| <i>Melampodium longifolium</i> | 181 | 95.26 |
| <i>Melampodium perfoliatum</i> | 236 | 80.08 |
| <i>Montanoa grandiflora</i> | 209 | 91.86 |
| <i>Montanoa tomentosa</i> | 604 | 91.39 |
| <i>Parthenium hyterophorus</i> | 492 | 98.57 |
| <i>*Pectis prostrata</i> | 192 | 93.75 |
| <i>Picris echioides</i> | 366 | 95.08 |

Cuadro 16. (Continúa)

| Especie | Granos observados | Polen viable (%) |
|---------------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| <i>Piquería trinervia</i> | 270 | 93.70 |
| <i>Pittocaulon praecox</i> | 256 | 98.14 |
| * <i>Pseudognaphalium semilanatum</i> | 39 | 82.01 |
| <i>Sanvitalia procumbens</i> | 519 | 97.49 |
| <i>Schkuria pinnata</i> | 69 | 95.65 |
| <i>Simsia amplexicaulis</i> | 485 | 93.40 |
| * <i>Sonchus oleraceus</i> | 232 | 79.74 |
| * <i>Stevia ovata</i> | 298 | 81.87 |
| <i>Stevia salicifolia</i> | 310 | 89.67 |
| <i>Tagetes lucida</i> | 517 | 98.25 |
| <i>Tagetes micrantha</i> | 336 | 94.05 |
| <i>Tagetes tenuifolia</i> | 523 | 98.66 |
| * <i>Taraxacum officinale</i> | 1667 | 96.76 |
| <i>Tithonia tubiformis</i> | 556 | 99.28 |
| <i>Verbesina virgata</i> | 389 | 95.27 |
| <i>Viguiera excelsa</i> | 453 | 99.55 |
| <i>Zinnia peruviana</i> | 400 | 98.00 |

*especies de este estudio

Contenido de ADN por Citometría de flujo para especies de Asteraceae de la REPSA.

Se calibró el citómetro de flujo con núcleos de eritrocitos de pollo (NEP) para alinear correctamente la lámpara, el objetivo y el ocular y lograr un coeficiente de variación (CV) menor a 1. Se obtuvo el tamaño de genoma en millones de pares de bases (Mpb) y el contenido de ADN nuclear 2C expresado en picogramos (pg) de las especies de Asteraceae presentes en el Cuadro 16. En las figuras 17-30 se muestran los histogramas obtenidos para cada especie. Los valores obtenidos oscilaron entre 1.676 pg para *Bidens bigelovii* var. *angustiloba*, diploide con $2n= 24$ y 5.969 pg para *Bidens pilosa*, hexaploide con $2n= 72$.

Cuadro 17. Valores promedio del contenido nuclear de ADN en 14 especies de Asteraceae de la REPSA.

| Especie | Nivel de ploidía | 2n | ADN 2C (pg) * | ADN 1Cx (pg) | Tamaño del genoma 1Cx Mpb |
|--|------------------|----|------------------|--------------|---------------------------|
| | | | $\bar{X} \pm EE$ | \bar{X} | |
| <i>Ageratina pazcuarensis</i> | 3x | 51 | 4.161 ± 0.0298 | 1.387 | 1356 |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | 2x | 34 | 3.140 ± 0.0523 | 1.570 | 1536 |
| <i>Bidens bigelovii var. angustiloba</i> | 2x | 24 | 1.676 ± 0.0114 | 0.838 | 819 |
| <i>Bidens odorata</i> | 2x | 24 | 1.774 ± 0.0282 | 0.887 | 868 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 6x | 72 | 5.969 ± 0.0284 | 0.995 | 973 |
| <i>Conyza bonariensis</i> | 6x | 54 | 4.165 ± 0.0520 | 0.694 | 679 |
| <i>Florestina pedata</i> | 2x | 20 | 3.676 ± 0.0116 | 1.838 | 1798 |
| <i>Jaegeria hirta</i> | 4x | 36 | 3.843 ± 0.0248 | 0.961 | 948 |
| <i>Melampodium longifolium</i> | 2x | 18 | 1.727 ± 0.0437 | 0.863 | 844 |
| <i>Melampodium perfoliatum</i> | 2x | 22 | 3.784 ± 0.0819 | 1.892 | 1850 |
| <i>Piqueria trinervia</i> | 2x | 24 | 3.830 ± 0.0275 | 1.915 | 1873 |
| <i>Simsia amplexicaulis</i> | 2x | 34 | 4.676 ± 0.0227 | 2.338 | 2286 |
| <i>Stevia tomentosa</i> | 3x | 33 | 2.616 ± 0.0264 | 0.872 | 853 |
| <i>Stevia viscida</i> | 3x | 33 | 2.898 ± 0.0528 | 0.966 | 945 |

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

*1 picogramo (pg) = 978 millones de pares de bases (Doležel *et al.*, 2007).

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

1Cx = Mpb en el grupo de cromosomas monoploide (Greilhuber *et al.*, 2005).

En el Cuadro 18 se agrupa a las especies del presente estudio en sus respectivas tribus, para observar si existe una relación entre la agrupación taxonomía y el promedio del contenido 1Cx de ADN para cada especie.

Cuadro 18. Contenido de ADN del genoma básico (1Cx) en picogramos (pg) de cada una de las 14 especies de este estudio, y las tribus a las que pertenecen.

| Familia Asteraceae | | ADN 1Cx (pg) |
|-------------------------------|---|---------------------|
| | | <i>X</i> |
| Subfamilia Asteroideae | | |
| Supertribu Asteroideae | | |
| Tribu Astereae: | <i>Conyza bonariensis</i> | 0.694 |
| Supertibu Helianthodae | | |
| Tribu Eupatorieae: | <i>Ageratina pazcuarensis</i> | 1.387 |
| | <i>Ageratina petiolaris</i> | 1.570 |
| | <i>Piqueria trinervia</i> | 1.915 |
| | <i>Stevia tomentosa</i> | 0.872 |
| | <i>Stevia viscida</i> | 0.966 |
| Tribu Bahieae: | <i>Florestina pedata</i> | 1.838 |
| Tribu Heliantheae: | <i>Bidens bigelovii</i> var. <i>angustiloba</i> | 0.838 |
| | <i>Bidens odorata</i> | 0.887 |
| | <i>Bidens pilosa</i> | 0.995 |
| | <i>Simsia amplexicaulis</i> | 2.338 |
| Tribu Millerieae: | <i>Jaegeria hirta</i> | |
| | <i>Melampodium longifolium</i> | 0.863 |
| | <i>Melampodium perfoliatum</i> | 1.892 |

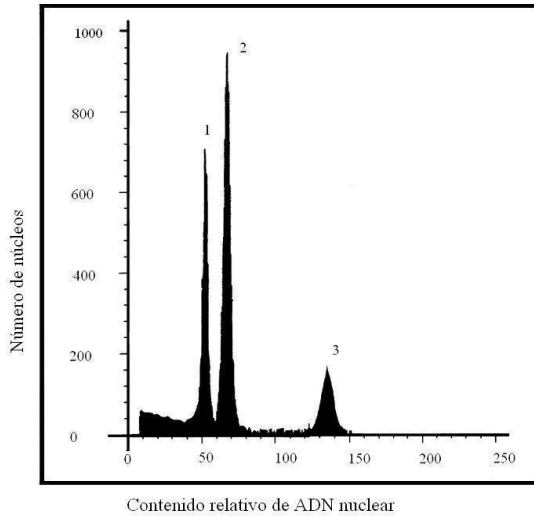


Figura 17. Contenido relativo 2C de ADN de *Ageratina pazcuarensis*. El histograma 1 representa los núcleos G₁ de *A. pazcuarensis* (2n= 3x= 51), el 2 y 3 los núcleos en G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

Figura 18. Contenido relativo 2C de ADN de *Ageratina petiolaris*. Los histogramas 1 y 3 representan los núcleos G₁ y G₂ de *A. petiolaris* (2n= 2x= 34), el 2 y 4 los núcleos en G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

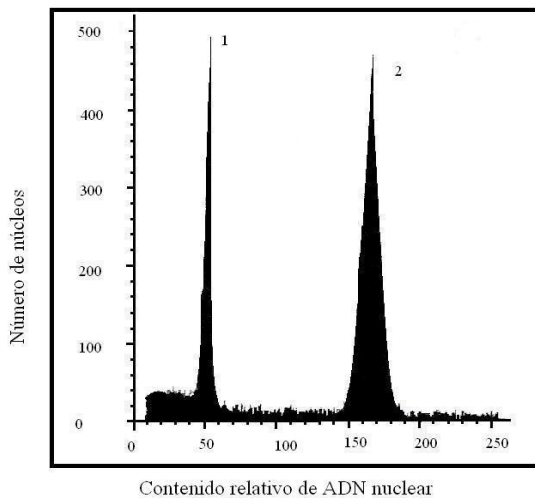
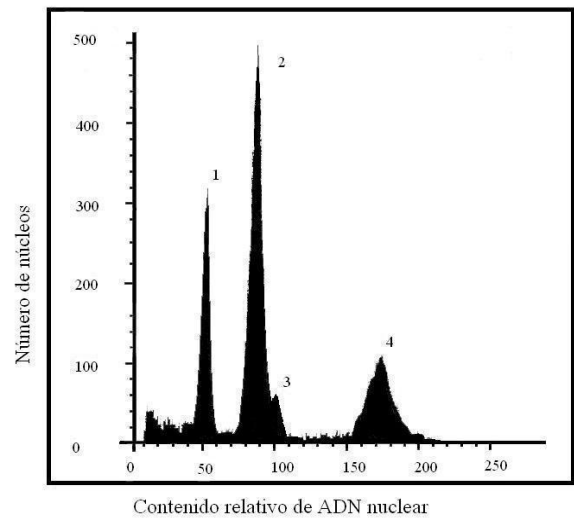


Figura 19. Contenido relativo 2C de ADN de *Bidens bigelovii*. El histograma 1 representa los núcleos G₁ de *B. bigelovii* (2n= 2x= 24), el 2 los núcleos en G₁ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

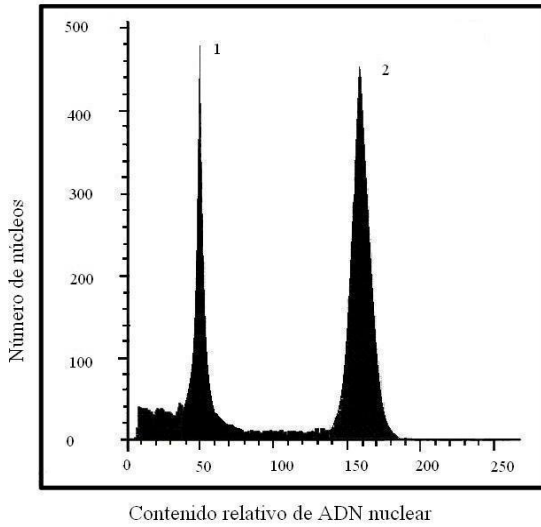


Figura 20. Contenido relativo 2C de ADN de *Bidens odorata*. El histograma 1 representa los núcleos G₁ de *B. odorata* (2n= 2x= 24), el 2 los núcleos en G₁ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

Figura 21. Contenido relativo 2C de ADN de *Bidens pilosa*. El histograma 1 representa los núcleos G₁ de *B. pilosa* (2n= 6x= 72), el 2 y 3 los núcleos en G₁ y G₂ de *Pisum sativum* 2C ADN= 9.01 pg (planta referencia).

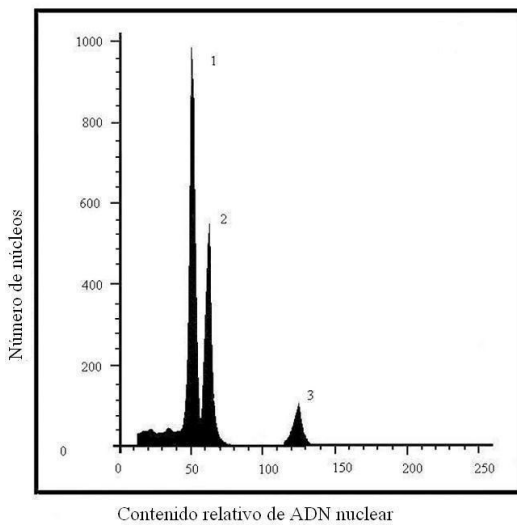
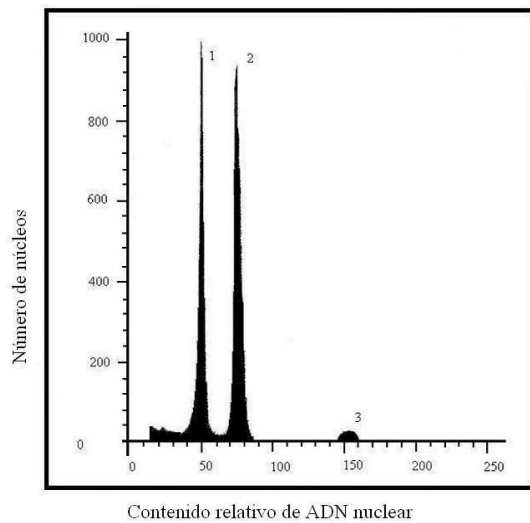


Figura 22. Contenido relativo 2C de ADN de *Conyza bonariensis*. El histograma 1 representa los núcleos G₁ de *C. bonariensis* (2n= 6x= 54), el 2 y 3 los núcleos en G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

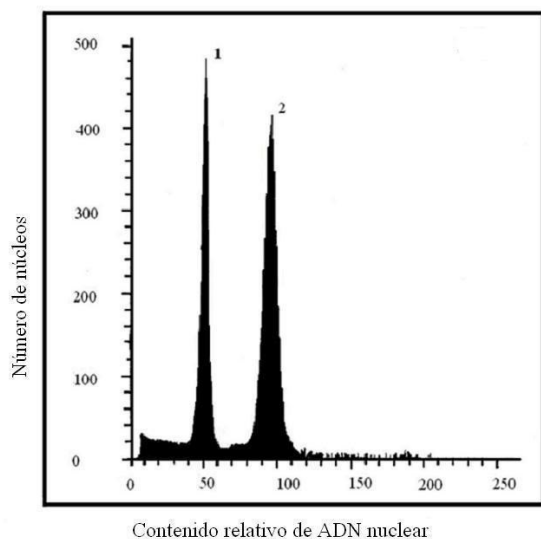


Figura 23. Contenido relativo 2C de ADN de *Florestina pedata* ($2n=2x=20$). El histograma 1 representa los núcleos en G_1 de *Solanum lycopersicum* 2C ADN= 1.96 pg (planta referencia), el 2 representa los núcleos G_1 de *F. pedata*.

Figura 24. Contenido relativo 2C de ADN de *Jaegeria hirta*. El histograma 1 representa los núcleos en G_1 de *Solanum lycopersicum* 2C ADN= 1.96 pg (planta referencia), el 2 los núcleos G_1 de *J. hirta* ($2n= 4x= 36$).

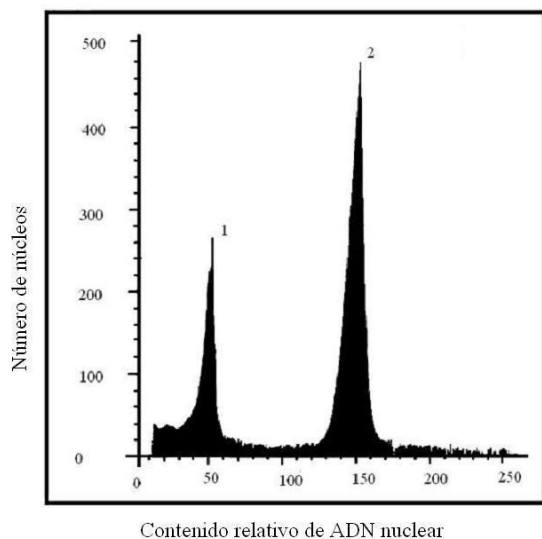
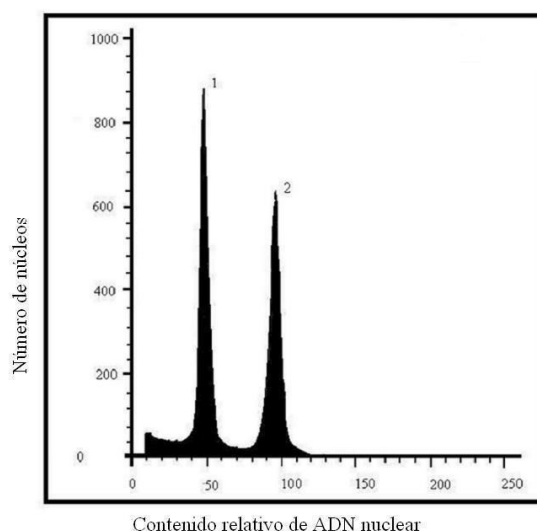


Figura 25. Contenido relativo 2C de ADN de *Melampodium longifolium*. El histograma 1 representa los núcleos en G_1 de *M. longifolium* ($2n= 2x= 18$), el 2 los núcleos en G_1 de *Zea mays* 2C= 5.43 pg (planta referencia).

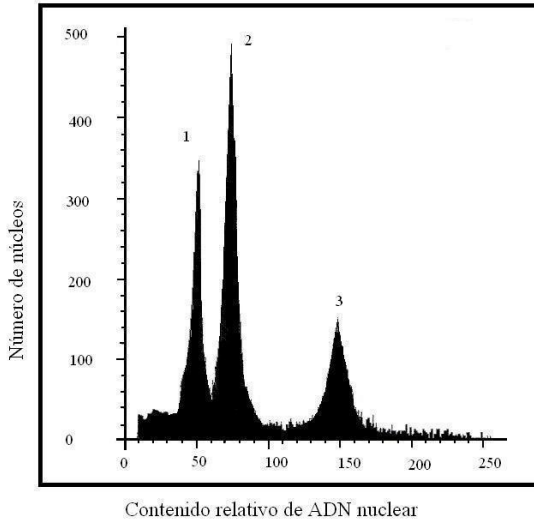


Figura 26. Contenido relativo 2C de ADN de *Melampodium perfoliatum*. El histograma 1 representa los núcleos en G₁ de *M. perfoliatum* (2n= 2x= 22), el 2 y 3 los núcleos en G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

Figura 27. Contenido relativo 2C de ADN de *Piqueria trinervia*. El histograma 1 representa núcleos en G₁ de *P. trinervia* (2n= 2x= 24), el 2 y 3 los núcleos G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

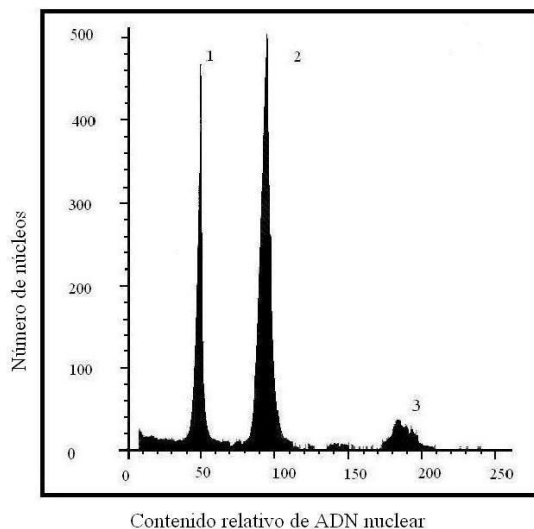
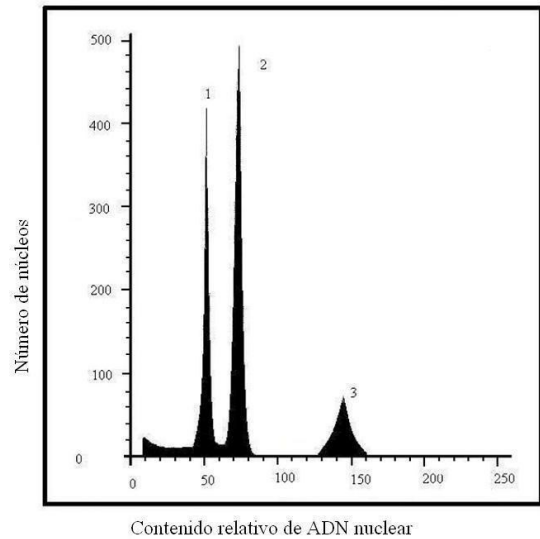


Figura 28. Contenido relativo 2C de ADN de *Simsia amplexicaulis*. El histograma 1 representa núcleos en G₁ de *S. amplexicaulis* (2n= 2x= 34), el 2 y 3 los núcleos en G₁ y G₂ de *Pisum sativum* 2C ADN= 9.01 pg (planta referencia).

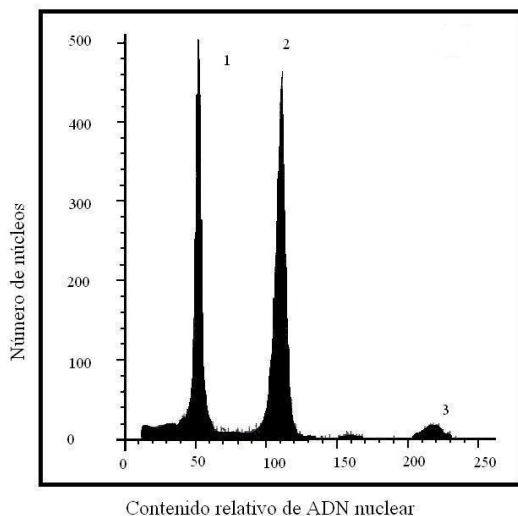
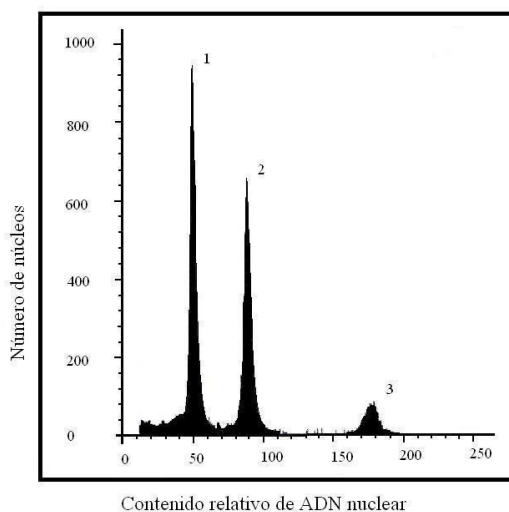


Figura 29. Contenido relativo 2C de ADN de *Stevia tomentosa*. El histograma 1 representa núcleos en G₁ de *S. tomentosa* (2n= 3x= 33), el 2 y 3 los núcleos G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).

Figura 30. Contenido relativo 2C de ADN de *Stevia viscida*. El histograma 1 representa núcleos en G₁ de *S. viscida* (2n= 3x= 33), el 2 y 3 los núcleos G₁ y G₂ de *Zea mays* 2C ADN= 5.43 pg (planta referencia).



Resultados del análisis estadístico para el contenido de ADN

Los resultados obtenidos del Análisis de Varianza (ANOVA) arrojaron la presencia de diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre especies en el contenido 2C de ADN (pg) (Cuadro 19).

Cuadro 19. Análisis de Varianza (ANOVA) del contenido nuclear de ADN en 14 especies de Asteraceae de la REPSA.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | Valor de F | Valor de p |
|---------------------|--------------------|-------------------|------------------|------------|------------|
| Especie | 13 | 96.876169 | 7.45201 | 956.1643 | <0.0001 |
| Individuos | 56 | 0.436445 | 0.00779 | | |
| Total | 69 | 97.312614 | | | |

No se encontraron diferencias significativas en los valores del contenido de ADN entre repeticiones y entre individuos de cada especie (Apéndice 1), lo que muestra estabilidad en sus genomas. Debido a la presencia de diferencias significativas entre el contenido 2C (pg) de ADN entre especies, se realizó una prueba de Tukey-Kramer HSD para definir diferencias significativas entre las especies. Los resultados se muestran en el cuadro 18 y en la figura 31.

La prueba de Tukey arroja diferencias significativas al comparar el contenido de ADN o tamaño del genoma en casi todas las especies, lo cual es de esperarse, debido al número cromosómico distinto, el nivel de poliploidía y que también pertenecen a géneros diferentes (Cuadro 15). *Bidens bigelovii* y *B. odorata* no presentan una diferencia significativa. Sin embargo, las especies *Stevia tomentosa* y *S. viscida* tienen un tamaño de genoma significativamente diferentes a pesar de ser especies del mismo género y con nivel de ploidía 3x. *Melampodium longifolium* y *M. perfoliatum* con números cromosómicos $2x = 2n = 18$ y $2x = 2n = 22$ presentan una diferencia en el contenido 2C de ADN superior al doble de una respecto a la otra.

Cuadro 20. Prueba de Tukey para la comparación de medias del contenido de ADN en 14 especies de Asteraceae de la REPSA.

| Especie | Agrupamiento de Tukey | ADN 2C (pg) |
|--|-----------------------|-------------|
| <i>Bidens pilosa</i> | a | 5.97 |
| <i>Simsia amplexicaulis</i> | b | 4.68 |
| <i>Conyza bonariensis</i> | c | 4.17 |
| <i>Ageratina pascuarensis</i> | c | 4.16 |
| <i>Jaegeria hirta</i> | d | 3.89 |
| <i>Piqueria trinervia</i> | d e | 3.83 |
| <i>Melampodium perfoliatum</i> | d e | 3.78 |
| <i>Florestina pedata</i> | e | 3.68 |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | f | 3.14 |
| <i>Stevia viscida</i> | g | 2.90 |
| <i>Stevia tomentosa</i> | h | 2.61 |
| <i>Bidens odorata</i> | i | 1.77 |
| <i>Melampodium longifolium</i> | i | 1.73 |
| <i>Bidens bigelovii</i> var <i>angustiloba</i> | i | 1.68 |

$\alpha = 0.05$

Las letras distintas indican diferencia significativa en el contenido 2C de ADN.

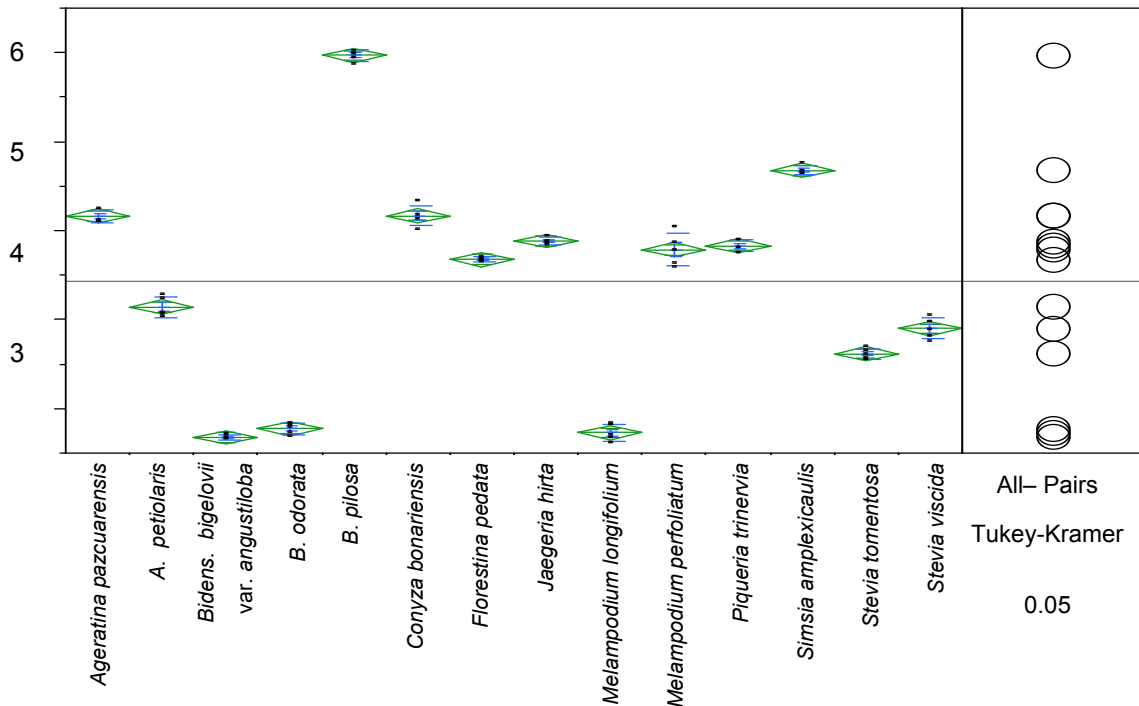


Figura 31. Comparación de medias del contenido 2C de ADN de 14 especies por la prueba de Tukey.

También se encontró que existe una correlación positiva moderada ($r= 0.5141$, $p < 0.6$) entre el contenido 1Cx de ADN expresado en millones de pares de bases (Mpb) y el número básico (x) en las 14 especies de Asteraceae de este estudio (Figura 32).

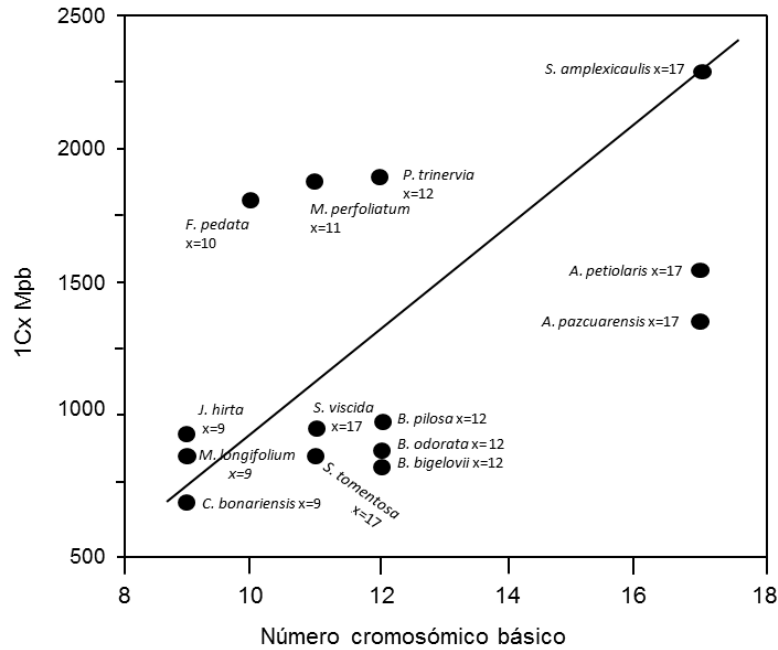


Figura 32. Correlación entre el contenido 1Cx en Mpb y el número cromosómico básico (x).

Distribución geográfica y comparación de la distribución de especies entre *Melampodium longifolium* y *M. perfoliatum*, y *Stevia tomentosa* y *S. viscida*

Melampodium, perteneciente a la tribu Millerieae; contiene 40 especies distribuidas principalmente en México y Centroamérica, aunque su distribución abarca desde el sur de Estado Unidos hasta Colombia y Brasil (Stuessy, 1972; Turner, 1988, 1993, Weiss-Schneeweiss *et al.* 2009).

Melampodium longifolium se distribuye en una pequeña porción de la Sierra Madre Oriental, parte del Altiplano Central, la región oriental del Eje Volcánico Transversal hasta el norte de Oaxaca (Fig. 33). El único número cromosómico encontrado en la literatura de $n= 9$ (Turner y King 1962, Weiss-Schneeweiss *et al.* 2009, localidades no reportadas) corresponde a una localidad en San Luis Potosí. En contraste, la distribución de

Melampodium perfoliatum se encuentra a lo largo de la Sierra Madre Occidental, su distribución a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal es mucho más extensa que *M. longifolium*. Se distribuye también hacia la Cuenca del Balsas y a lo largo del Estado de Oaxaca hasta la región centro y sur de Chiapas (Fig. 34). Algunos de sus registros son de zonas costeras del Pacífico. *M. perfoliatum* presenta dos citotipos, $n=11$ y 12 , cuyos registros son de Michoacán y Puebla.

Se considera que los cambios en el contenido de ADN involucran pérdida o ganancia de secuencias repetitivas de ADN (Price, 1988) y que estos cambios pueden modificar al ciclo mitótico y celular o la duración de la meiosis (Bennett, 1987). Algunos autores consideran que las pérdidas o incrementos en las secuencias de ADN repetitivo están asociadas con la adaptación a diversas condiciones ambientales (Cavallini y Natali, 1991). Por lo tanto se puede considerar que *M. perfoliatum* presenta un incremento en el contenido de ADN mucho mayor al de *M. longifolium*, que le proporciona diferencias a nivel fenotipo y una mayor capacidad de dispersión y de colonizar un mayor número de

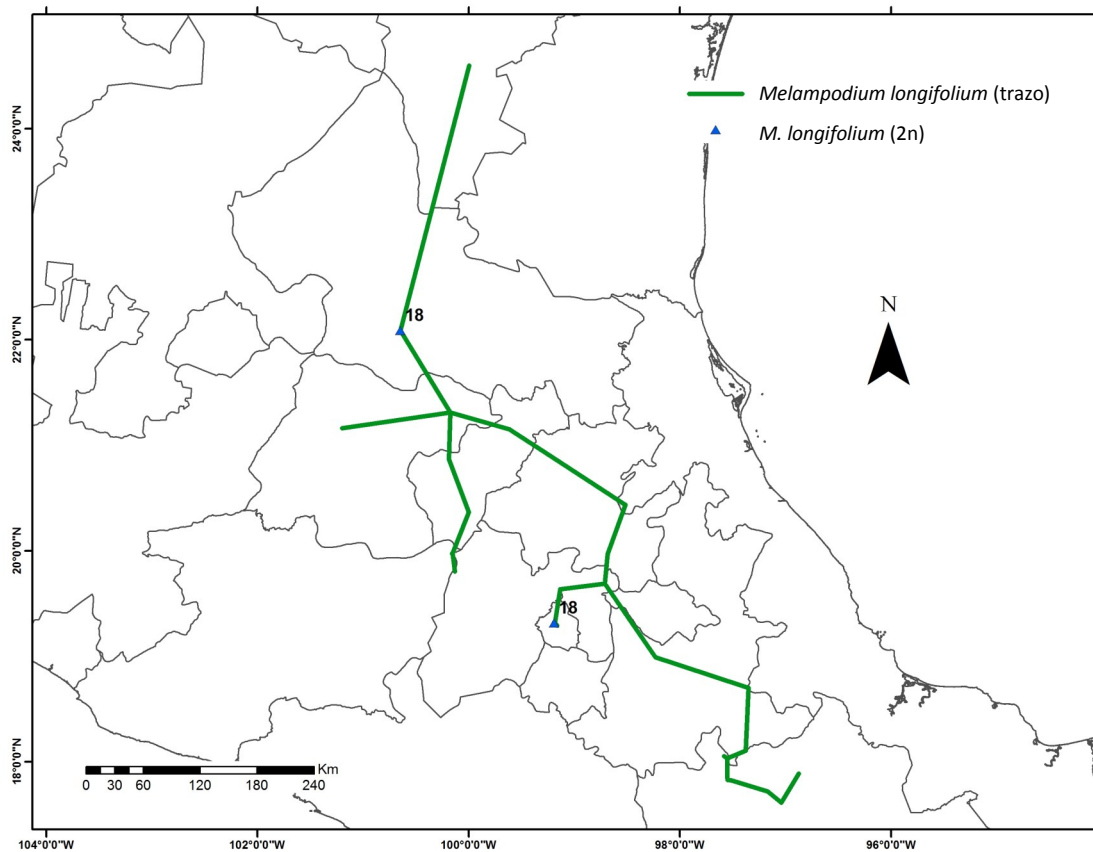


Figura 33. Distribución geográfica de *Melampodium longifolium*.



Figura 34. Distribución geográfica de *Melampodium perfoliatum*.

ambientes. El número cromosómico básico $x=10$ ha sido propuesto como el número ancestral para este grupo, por lo que los números de $n=9$ y 11 pudieron haber surgido por eventos de aneuploidía (Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2009).

La distribución de *Stevia tomentosa* va desde la parte norte de la Sierra Madre Oriental, en donde existe un registro de $2n=44$. El trazo individual continúa hacia el Altiplano Central y una pequeña parte de la Sierra Madre Occidental. Más al centro del país existen varios registros en la zona oriente del Eje Neovolcánico Transversal y en la zona norte de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur (Fig 35). Casi todos los registros de conteos cromosómicos, con excepción de uno, son de $2n=33$ (Watanabe *et al.* 2001; Grashoff *et al.* 1972). La distribución de *Stevia viscida* es a lo largo de toda la Sierra Madre Occidental y parte de la Altiplanicie Septentrional. Se presenta en la parte sur del Altiplano Central. Los registros para esta especie en el Eje Neovolcánico Transversal ocurren en la parte central y en el occidente, principalmente Jalisco. También el trazo se prolonga en la Cuenca del Balsas y en la Sierra Madre del Sur. Solamente hay un registro para *S. viscida* en la Sierra Madre

Oriental y es en la parte norte. Se han reportado citotipos tetraploides en la parte norte de la Sierra Madre Occidental y uno más al norte de Michoacán (Fig. 36). También se reportó un citotipo diploide en Jalisco. Sin embargo, tal y como ocurre con frecuencia en el género *Stevia*, la mayoría de los reportes son para citotipos triploides.

En México, la agamospermia acompañada de poliploidía, parece ser el modo más frecuente de reproducción entre las especies de *Stevia*. Los individuos triploides originados por agamospermia son las formas más abundantes y ampliamente distribuidas en especies de *Stevia* (Soejima *et al.*, 2001; Watanabe *et al.*, 2001). Las diferencias significativas en el contenido de ADN en *Stevia* en conjunto con la determinación de su distribución nos pueden ayudar a tomar decisiones taxonómicas, ya que en algunas especies, la identificación fenotípica suele ser complicada, lo que conlleva a registros incorrectos, como se ha dado el caso con la identificación de algunas especies del género *Pseudognaphalium* presentes en la REPSA.

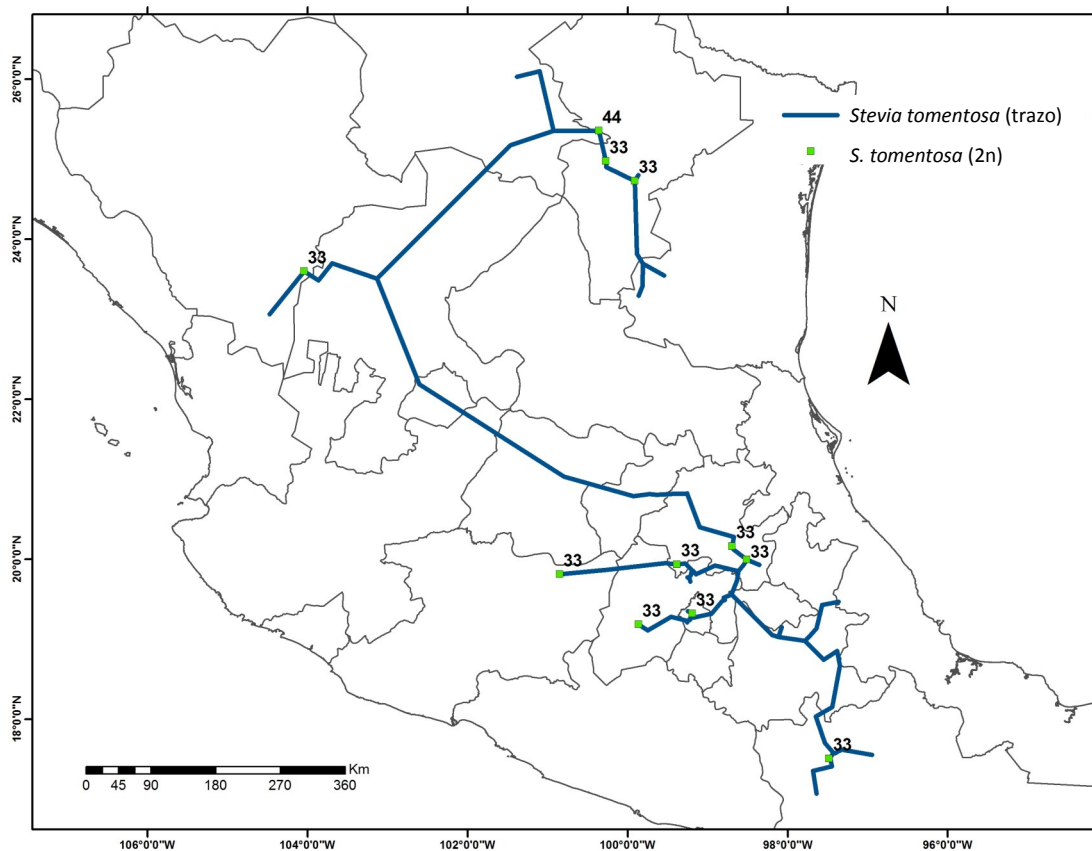


Figura 35. Distribución geográfica de *Stevia tomentosa*.

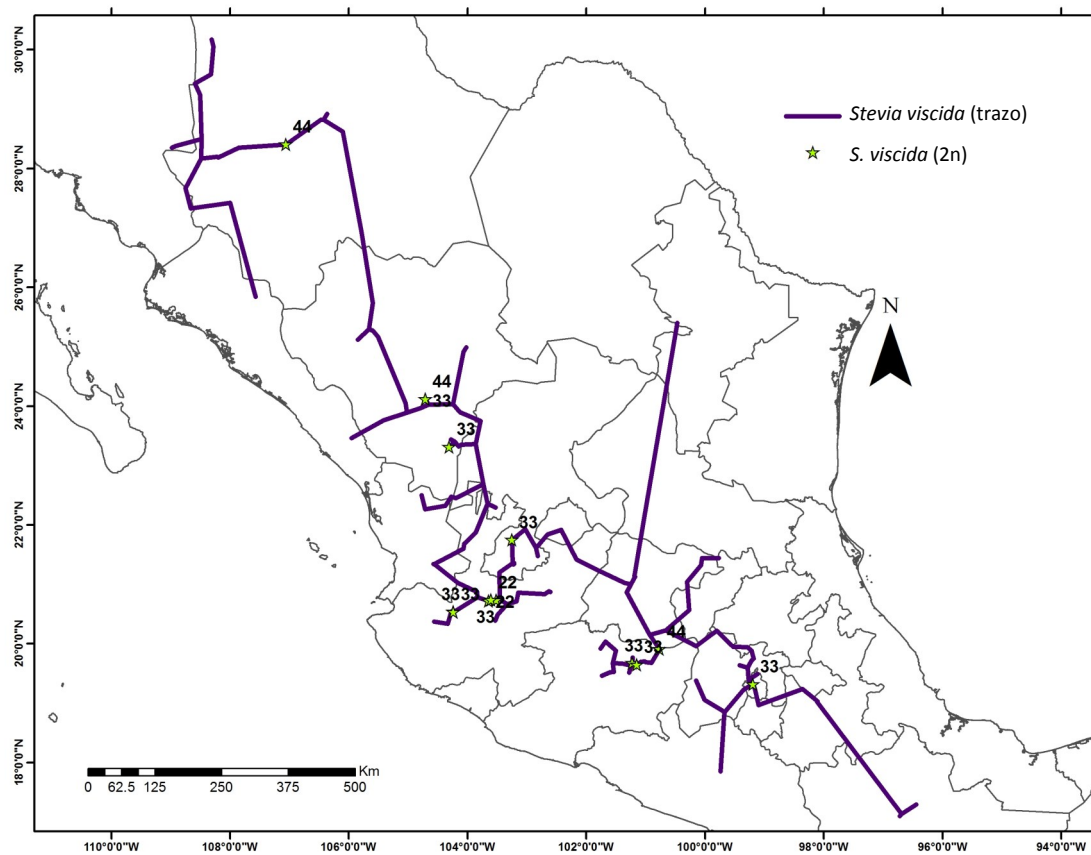


Figura 36. Distribución geográfica de *Stevia viscida*.

DISCUSIÓN

Conteos cromosómicos y poliploidía

El presente trabajo es el segundo que realiza conteos cromosómicos y el primero que reporta contenidos de ADN en especies de Asteraceae de la REPSA. El trabajo de Soto (2007) reportó 25 números cromosómicos para la REPSA.

Las 93 especies registradas en el trabajo de Céspedes (2010) son las que se utilizaron para evaluar la poliploidía de las Asteraceae de la REPSA; algunas de las especies reportadas representan el primer registro para la REPSA, como *Bellis perennis*, *Cirsium vulgare*, *Cotula australis* y *Tagetes erecta*. Además, se reportaron durante el transcurso del desarrollo del presente trabajo las especies *Baccharis heterophylla*, *Pectis prostrata* y *Stevia subpubescens*, que no fueron incluidas en el listado de Céspedes (2010).

Se obtuvieron 14 conteos cromosómicos de especies de Asteraceae de la REPSA. Los números cromosómicos obtenidos para *Ageratina pascuarensis* ($2n=3x=51$), *A. petiolaris* ($2n=2x=34$), *Bidens bigelovii* var. *angustiloba* ($2n=2x=24$), *B. odorata* ($2n=2x=24$), *B. pilosa* ($2n=6x=72$), *Conyza bonariensis* ($2n=6x=54$), *Florestina pedata* ($2n=2x=20$), *Jaegeria hirta* ($2n=4x=36$), *Melampodium longifolium* ($2n=2x=18$), *M. perfoliatum* ($2n=2x=22$), *Piqueria trinervia* ($2n=2x=24$), *Simsia amplexicaulis* ($2n=2x=34$), *Stevia tomentosa* ($2n=3x=33$) y *S. viscida* ($2n=3x=33$) (Cuadro 12), son consistentes con reportes previos y con los números cromosómicos básicos determinados para esos géneros (Sundberg *et al.*, 1986; King *et al.*, 1976 y 1988; Olsen 1980; Ballard, 1986; Keil y Stuessy, 1975; Weiss-Schneeweiss *et al.* 2009; Jansen y Stuessy, 1980; Solbrig *et al.*, 1969; Watanabe *et al.*, 1995 y 2007).

En *Conyza bonariensis* se han observado números cromosómicos $2n=18$ y 54 . En este estudio se observó el citotipo hexaploide ($2n=6x=54$), número cromosómico ya reportado para otras poblaciones dentro de México (Solbrig *et al.*, 1969) (Cuadros 11 y 12)

En *Melampodium perfoliatum* han sido reportados citotipos de $2n=2x=24$ ($n=12$ en Keil y Stuessy, 1975), aunque el citotipo encontrado con más frecuencia en la literatura (Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2009) $2n=2x=22$, es el observado en la REPSA (Cuadros 11 y 12).

Dentro de la REPSA se presenta el citotipo más frecuente para *Stevia viscida* ($2n=3x=33$). Para esta especie también se han reportando dipolides ($2n=2x=22$) y

tetraploides ($2n=4x=44$) (Watanabe *et al.*, 2001). En *Stevia tomentosa* se encontró el citotipo triploide ($2n=3x=33$) que aparece como el más frecuente dentro de este género, habiendo solamente un reporte de un número cromosómico $2n=4x=44$ (Watanabe *et al.* 2007) (Cuadros 11 y 12).

Para *Florestina pedata* se han reportado citotipos $n=10$ y 11 , aunque el segundo sólo se ha reportado en una ocasión. El citotipo encontrado en la REPSA de $2n=2x=20$ corresponde con reportes previos (Keil *et al.* 1988) (Cuadros 11 y 12).

En *Piqueria trinervia* han sido reportados citotipos de $n=11$ y 12 . El número cromosómico reportado en este estudio ($2n=2X=24$), aparece como el más frecuente en la literatura (Keil *et al.*, 1988) (Cuadros 11 y 12).

Frecuencia de poliploidía en especies de Asteraceae

Se estimó la frecuencia de poliploidía en especies de Asteraceae de la REPSA, con base en los criterios de Stebbins (1950), Grant (1963) y Goldblatt (1980), los porcentajes obtenidos fueron 35.7%, 62% y 81% respectivamente. La frecuencia de la poliploidía varía con la metodología utilizada, siendo elevada en todos los casos (Cuadro 13).

El criterio de Stebbins (≥ 3 genomas) se enfoca en la poliploidía intragenérica. Sin embargo, existen tribus, principalmente de Norteamérica, con números básicos derivados (x_2) que posiblemente se traten de poliploides antiguos (Funk *et al.*, 2005), lo que convierte en parcial la metodología de Stebbins (1950), debido a que excluye a grupos taxonómicos por encima del nivel de especie, ya que una gran parte de las tribus y géneros poseen números básicos derivados elevados, por ejemplo $x_2=19, 24, 25$ y 27 , (Figura 1, Cuadro 1). Goldblatt (1980) considera que determinar la poliploidía con $n \geq 14$ era demasiado conservador; por lo que propuso que $n \geq 11$ era más apropiado. Los análisis de Grant (1963) y Goldblatt (1980) pueden considerar grupos de poliploides antiguos con números básicos derivados; tal es el caso de varias tribus de México y Norteamérica, cuyos números básicos se derivan de $x_2=19$ (Figura 1. Funk *et al.*, 2005).

Un porcentaje alto de géneros presentes en la REPSA (75%) presentan poliploidía, es decir, contienen especies con tres o más juegos de cromosomas (Cuadro 14). Sin embargo, algunos géneros, únicamente reportan el citotipo diploide en la REPSA. Entre los géneros que presentan diferentes niveles de ploidía son *Ageratina*, *Bidens*, *Erigeron*, *Fleischmannia*, *Melampodium*, *Montanoa* y *Stevia*. Dadas las hipótesis en las que el número ancestral para las Asteráceas es de $x=9$ (Raven *et al.*, 1961, Solbrig 1977) y de que los números básicos

para varios de los géneros estudiados en el presente trabajo se encuentran entre $x=9-17$, las 14 especies del presente estudio se pueden considerar de origen poliploide. Soto (2007) reporta números básicos de $x=27$ y 30 en *Acourtia cordata* y *Pittocaulon praecox*, que también pueden ser considerados de origen poliploide (Stebbins, 1971; Grant, 1989). Soto (2007) reporta pocos géneros con números cromosómicos pequeños en el rango de $x=5-10$ como *Picris echioides* y *Galinsoga parviflora*. En este trabajo se reportaron únicamente tres especies que comprenden este rango, aunque *Conyza bonariensis* aparece como hexaploide.

Algunos géneros como *Conyza* de origen sudamericano (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Rosario; Desarrollo Rural AER A. Seco C.R. Santa Fe), presentan distintos niveles de ploidía ($2x$, $4x$, $6x$) (Solbrig *et al.*, 1969; Carr *et al.*, 1999). En la REPSA se encuentra el citotipo hexaploide de *Conyza bonariensis* ($2n=6x=54$), mientras que las poblaciones diploides de esta especie solo han sido reportadas en Sudamérica (Solbrig *et al.*, 1969). Esto apoya la hipótesis de que los poliploides tienen mayor habilidad para colonizar y establecerse en nuevos hábitats, ya que *Conyza bonariensis* es una especie exótica y una de las especies de borde más abundantes en la REPSA (Céspedes, 2010).

En casi todas las especies de Asteraceae examinadas, el porcentaje de polen viable fue superior al 80% (Cuadro 15). El mayor porcentaje en especies analizadas, así como el mayor número de granos observados fue en *Taraxacum officinale* (96.8%), aunque Soto (2007) también reportó un porcentaje de viabilidad de 99.5% en *Viguiera excelsa*. *Ageratina deltoidea* presentó el menor porcentaje de viabilidad (56.1%) y su porcentaje de viabilidad difiere drásticamente de las demás especies de *Ageratina* (Soto, 2007), por lo que es necesario evaluar más individuos de esta especie para determinar posibles anomalías en su floración.

Los altos porcentajes de polen viable hacen descartar que las especies se consideren neopoliploides, los cuales presentan una viabilidad de polen reducida, en comparación con los diploides. Sin embargo, se ha observado que cuando una nueva especie comienza a establecerse y colonizar nuevos hábitats, su adaptación se ve acompañada por estrategias como la producción de células más grandes, poliploidía y mayores porcentajes de polen viable (Bennett, 1995; Ohri, 1998). Esto último es de gran importancia ya que especies poliploides con números cromosómicos de $n=14$ o más experimentan un proceso de diploidización, trayendo consigo un comportamiento parecido al de un diploide y una alta viabilidad de polen (Grant, 1989; Soltis *et al.*, 2003)

Contenido de ADN para especies de Asteraceae de la REPSA

Los valores de contenido de ADN (pg) para las 14 especies de este estudio se encuentran dentro del intervalo 2C de ADN= 1.676 pg en *Bidens bigelovii* (2x) y 2C de ADN= 5.969 pg en *Bidens pilosa* (6x). Sin embargo los valores para el tamaño del genoma básico (1Cx) oscilaron entre 0.694 pg en *Conyza bonariensis* y 2.338 pg en *Simsia amplexicaulis*. En *Bidens odorata* ($2n= 2x= 24$, 1.774 ± 0.0282 pg) y *Bidens pilosa* ($2n= 6x= 72$, 5.969 ± 0.0284 pg), el contenido de ADN nuclear aumenta con relación al nivel de ploidía. *Bidens odorata* era considerada una variedad de *B. pilosa* (Ballard, 1986), por lo que uno de los criterios para considerarlas especies distintas fue el nivel de ploidía que presentan. *Ageratina pazcuarensis* ($2n= 3x= 51$, 4.161 ± 0.0298 pg) y *A. petiolaris* ($2n= 2x= 34$, 3.140 ± 0.0523 pg), especies del mismo género, también presentan diferencias proporcionales con relación al nivel de ploidía.

En estudios previos, el tamaño del genoma básico (1Cx) en poliploides muestra una tendencia a reducirse en comparación con los diploides, con excepción de autoploides recientes (Coulaud *et al.*, 1995). La disminución en el contenido de ADN en poliploides a nivel del genoma básico (1Cx) es un fenómeno común (Leitch y Bennett, 2004) y ha sido reportado en varios géneros tales como *Aegilops*, *Centaurea*, *Ranunculus*, *Sesleria*, *Triticum*, y *Zingeria* (Lyzak y Dolezel, 1998; Ozkan y Feldman 2001; Hörandl y Greilhuber, 2002; Kotseruba *et al.*, 2003; Siljak-Yakovlev *et al.*, 2005). Esto también se observó en *Ageratina pazcuarensis*, especie triploide, con relación a *A. petiolaris*, que es una especie diploide. La delección de ciertas secuencias repetitivas en los cromosomas, es considerada como el principal mecanismo responsable de la disminución del tamaño del genoma (Petrov, 2001; Gregory, 2003; Bennetzen *et al.*, 2005).

Bidens bigelovii (1.676 pg) presenta un contenido de ADN semejante al de *B. odorata* (1.774 pg), ambas diploides con $2n= 24$. Se puede observar que no existe diferencia significativa entre repeticiones e individuos de una especie ($p < 0.0001$), lo que indica que el contenido nuclear de ADN (pg) es estable entre las especies estudiadas (Cuadro 17, Anexo 2). Sin embargo, se encontró variación significativa al comparar el contenido 2C ADN entre especies de distintos géneros. En la prueba de Tukey se observó que ciertas especies pertenecientes al mismo género y nivel de ploidía, no presentaron diferencias significativas en el tamaño del genoma, como *Bidens odorata* (2C ADN= 1.774 pg) y *Bidens bigelovii* var. *angustiloba* (2C ADN= 1.676 pg), ambas con $2n= 2x= 24$. Sin embargo, las diferencias no significativas en el contenido de ADN en las dos especies de *Bidens*, pueden mostrar diferencias en la expresión génica que dan como resultado una distribución geográfica y

ocupación de distintos nichos en un mismo ecosistema. Céspedes (2010) reportó una mayor distribución de *B. odorata* a lo largo de los polígonos en los que se divide la REPSA, en relación a *Bidens bigelovii* var. *angustiloba*.

Stevia tomentosa con 2C ADN= 2.616 pg y *S. viscida* con 2C ADN= 2.898 pg, ambas triploides con $2n= 3x= 33$, presentaron diferencias significativas ($p<0.0001$). Esto sugiere que la Citometría de flujo puede ayudar en la toma de decisiones taxonómicas. Los resultados de la distribución geográfica en la República Mexicana de ambas especies muestra que *S. viscida*, con mayor contenido de ADN posee una distribución mayor que la de *S. tomentosa*.

De especial interés resultó la diferencia altamente significativa, de más del doble entre las especies diploides *Melampodium longifolium*, $2n= 18$, 2C ADN= 1.727 pg y *M. perfoliatum*, $2n= 22$, 2C ADN= 3.784 pg. Sin embargo, esto se ha observado también en especies de *Artemisia*, donde *A. fragans* con $2n= 18$, 2C ADN= 5.35 pg y *A. judaica* con $2n= 16$, 2C ADN= 11.52 pg, ambas diploides, también poseen diferencias significativas de más del doble entre sus tamaños del genoma. El género *Artemisia* comprende alrededor de 180 especies y tiene una variada distribución geográfica. La gran variación en el tamaño del genoma en este género puede ser una respuesta a las condiciones ambientales y ecológicas a la que es sometida, tomando en cuenta que su distribución geográfica es amplia. (Torrell y Valles, 2001). En cuanto a la distribución geográfica de las dos especies de *Melampodium*, se puede observar que *M. perfoliatum* tiene una distribución geográfica mayor, a lo largo de la Sierra Madre Oriental y Occidental, el Eje Volcánico Transversal y en el sur del país hasta Chiapas. Por otra parte, *M. longifolium* se distribuye únicamente a lo largo de la Sierra Madre Occidental y parte del Eje Volcánico Transversal.

Se observó una correlación positiva moderada ($r= 0.5141$, $p< 0.6$); entre el contenido de ADN en Mpb del genoma básico (1Cx) y el número cromosómico básico de las 14 especies estudiadas. Esto indica que existe una tendencia a poseer un contenido de ADN (Mpb) a nivel del genoma básico mayor, a medida que el número cromosómico básico se incrementa. Leitch y Bennett (2004) encontraron que la cantidad media del tamaño del genoma básico tiende a reducirse con un nivel de ploidía mayor. Por ejemplo, Gustafson y Bennett (1982) reportaron que algunos cromosomas de centeno (*Secale cereale*) perdieron hasta 100% de su heterocromatina telomérica, que comprendía principalmente secuencias repetitivas. Entre los mecanismos que generan cambios en el contenido de ADN en poliploides, se encuentran la activación de transposones, eliminación de secuencias específicas de ADN y la recombinación de cromosomas homeólogos, que trae como consecuencia la pérdida de algunas secuencias de ADN (Leitch y Bennett, 2004). La importancia de la reducción del

tamaño del genoma en poliploides puede corresponder a eventos de selección natural, para reducir los costos bioquímicos asociados con un mayor contenido de ADN (Hanson *et al.*, 2001). Leitch y Bennett (2004) concluyeron que la disminución en el tamaño del genoma de organismos poliploides puede ser un fenómeno biológico común. Este trabajo no apoya completamente esta idea, ya que se esperaba que el contenido de ADN en el tamaño del genoma básico (1Cx) de *B. pilosa* con 0.995 pg, especie hexaploide, fuera menor al de *B. odorata* con 0.887 pg o *B. bigelovii* con 0.838 pg, especies diploides, debido al incremento del nivel de ploidía, aunque podría tratarse de un evento de poliploidía reciente. La diferencia resultó estadísticamente significativa entre la especie hexaploide con respecto a las diploides a nivel de genoma básico (1Cx). Lo observado por Bennett y Leitch (2004) sí concuerda con los datos obtenidos en el contenido de ADN del genoma básico (1Cx) de *A. pazcuarensis*, con 1.387 pg, especie triploide, en relación con *A. petiolaris* con 1.570 pg, especie diploide, aunque la diferencia es mínima.

La única especie con reportes previos para el contenido de ADN, como en este estudio es *Bidens pilosa*, con un contenido de 2C ADN de 3.45 pg (Plant DNA C-Values Database), mientras que el reportado en este trabajo fue de 2C ADN= 5.696 pg. Sin embargo, no se tiene registro del número cromosómico de la población de *B. pilosa* del trabajo que reporta un contenido 2C de ADN de 3.45 pg, por lo que podría corresponder a un citotipo con otro nivel de ploidía. No existen registros previos del contenido de ADN para otras especies reportadas en este trabajo. Dentro del presente estudio, se trabajaron géneros como *Ageratina*, con 290 especies y *Stevia*, con 230 especies (Watanabe *et al.*, 2001), sin registros previos para el contenido de ADN. Lo anterior es debido a que en especies de Asteraceae de la flora mexicana no se han realizado estudios sobre su contenido de ADN.

En un estudio en el que se reporta el contenido de ADN nuclear de siete especies de *Carthamus* (Anjani y Pallavi, 2010), no se encuentra una relación aparente entre el contenido de ADN y el nivel de ploidía (paradoja del valor C, Thomas, 1971), a pesar de que las especies están cercanamente relacionadas. *Carthamus lanatus* subsp. *lanatus* con $2n= 44$ aparece con un contenido 2C ADN= 7.708 pg, mientras que *C. lanatus* subsp. *turkestanicus* con $2n= 64$ tiene un contenido 2C ADN= 5.799 pg. *C. oxyacantha* y *C. palaestinus*, ambos con $2n= 24$ tienen un contenido de 7.077 pg y 1.708 pg respectivamente. La paradoja del valor C también se puede notar cuando se analiza el valor C de las 14 especies de este estudio; se puede ver una variación en el tamaño del genoma básico sin aparente relación con la complejidad de la especie, ni con su clasificación taxonómica. Sin embargo, a nivel de género, sí se puede apreciar una relación entre el nivel de ploidía, el contenido de ADN y la complejidad de la especie (Cuadro 18). Eupatorieae y Heliantheae aparecen como las tribus

con mayor representación en este trabajo, además de que son las que presentan mayor diversidad y abundancia en la REPSA. Las variaciones en el contenido de ADN están asociadas a un incremento o decremento en la proporción de secuencias repetitivas de ADN no codificables (Petrov, 2001; Kidwell, 2002) y son atribuidas principalmente a transposones. Esta variación está directamente ligada a eventos evolutivos, tales como presiones de selección y deriva génica, que pueden variar entre especies. Lo cual podría explicar el por qué algunas especies cercanas taxonómicamente, por ejemplo, pertenecientes a una misma tribu, presenten diferencias muy grandes en el contenido de ADN.

CONCLUSIONES

Los resultados de los números cromosómicos en las 14 especies de Asteraceae de este estudio oscilan entre $2n= 18$ para *Melampodium longifolium* y $2n= 72$ en *Bidens pilosa* y coinciden con reportes previos en la literatura. En algunas de las especies del presente trabajo se reportó más de un número cromosómico básico en la literatura, por ejemplo en *Piqueria trinervia* ($x= 11$ y 12), *Florestina pedata* ($x= 10$ y 11), *Melampodium longifolium* ($x= 9$ y 10) y *Melampodium perfoliatum* ($x= 11$ y 12), aunque los números cromosómicos encontrados en los individuos de la REPSA son los que aparecen con mayor frecuencia en la literatura. En *Stevia viscida* y *Stevia tomentosa* han sido reportadas poblaciones diploides, triploides y tetraploides. $2n= 33$ aparece como el citotipo más frecuente en la literatura y coincide con el que se encuentra en la REPSA.

Se observó un elevado porcentaje de poliploides en las Asteráceas de la REPSA. Además existen varios géneros con números cromosómicos básicos elevados de origen poliploide. Esto sugiere que la condición poliploide en Asteraceae pudo haber facilitado la colonización y el establecimiento de las Asteraceae como una de las familias más abundantes dentro de un ecosistema que atraviesa por severos problemas de fragmentación y deterioro como lo es la REPSA.

Los porcentajes de poliploides en las Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) varían según el criterio utilizado para definir una especie como poliploide. De acuerdo con el criterio de Stebbins (1950), 35.7% son poliploides, con el criterio de Grant (1963) 62% y de acuerdo con Goldblatt (1980) 81% son poliploides. El criterio de Stebbins (1950) puede no evaluar de manera total la poliploidía, ya que solo considera a las especies y no toma en cuenta las categorías de género y tribu, que pueden poseer números cromosómicos derivados (x_2) de origen poliploide. En cambio, los criterios de Grant (1963) y Goldblatt (1980) toman en cuenta grupos de ploiploides antiguos y recientes, que pueden estar representados tanto en géneros como en tribus.

El porcentaje de polen viable fue elevado en casi todas las especies analizadas, por lo que pueden ser consideradas especies fértiles a pesar de que existen especies que pueden tener un origen híbrido.

Existen pocos registros para especies de la REPSA con contenido de ADN y todos se han obtenido con la técnica de microdensitometría de Feulgen. Este es el tercer trabajo que reporta el contenido de ADN por Citometría de flujo para algunas especies de Asteraceae presentes en la REPSA. Los informes anteriores corresponden a *Dahlia coccinea* con 2C

ADN= 4.64 pg y *Dahlia sorensenii* con 2C ADN= 8.48 pg (Temsch *et al.*, 2008) y a *Tagetes tenuifolia* con 2C ADN= 2.97 pg y *Tagetes erecta* con 2C ADN= 2.38 pg (Serrato-Cruz *et al.*, 2000).

Se observaron diferencias significativas en el contenido 2C ADN entre las especies de Asteraceae, lo cual era esperado dado que las especies de este estudio pertenecen a diferentes géneros y tribus. Sin embargo, en especies del mismo género, número cromosómico y nivel de ploidía se esperaban obtener diferencias no significativas; sin embargo, este no fue el caso de *Stevia tomentosa* y *Stevia viscida*.

Los valores determinados para el tamaño del genoma en picogramos (pg) oscilan entre 2C ADN= 5.969 pg en *Bidens pilosa*, y 2C ADN= 1.676 pg en *Bidens bigelovii*. Es importante mencionar que se observó cierta relación entre el tamaño del genoma y el nivel de ploidía. Por ejemplo, en *Bidens odorata* ($2n= 2x= 24$, 1.774 ± 0.0282 pg) y *Bidens pilosa* ($2n= 6x= 72$, 5.969 ± 0.0284 pg). El genoma de *B. pilosa* es 3.65 veces mayor al de *B. odorata*, dos especies muy relacionadas taxonómicamente. Las diferencias en el contenido de ADN nos pueden indicar que *B. pilosa* se puede tratar de una especie de poliploidía reciente.

El conteo cromosómico, apoyado por la determinación del contenido nuclear de ADN, constituye un carácter útil en taxonomía, biogeografía y ecología, pues ayuda a lograr una mejor comprensión de aspectos filogenéticos dentro de la familia Asteraceae. Puede además servir de complemento a otras herramientas, como la caracterización morfológica y la biología molecular.

La importancia de estos resultados relacionados con la REPSA radica en poder servir de apoyo en la planeación y la manera de conservación de la flora de la reserva, así como comprender sus relaciones citogenética y taxonómica con otras floras de México, desde un aspecto biogeográfico. Todo ello aunado a que la REPSA representa uno de los últimos reductos de los ecosistemas del sur del valle de México.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, S. F., J. Carabias, J. Meave, P. Moreno, D. Nava, F. Rodríguez, C. Tovar y A. Valiente. 1982. Proyecto para la creación de una reserva en el Pedregal de San Ángel. Serie Cuadernos de Ecología No. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Angulo, M. B. y M. Dematteis. 2009. Karyotype analysis in eight species of *Vernonia* (Vernonieae, Asteraceae) from South America. *Caryologia*. 62: 81-88.
- Anjani, K. Y. Pallavi. India. 2010. Report on Nuclear Dna content of seven *Carthamus* species. *En IPGRI newsletter for Asia, the Pacific and Oceania* No. 50. 2.
- Ayala, F. J. y J. Kiger. 1980. Modern Genetics, XVII. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park. 884 p.
- Baker, J. M. 2005. Adaptive speciation: The role of natural selection in mechanisms of geographic and non-geographic speciation. *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 36: 303–326.
- Baldwin, B. G., B. L. Wessa y J. L. Panero. 2002. Nuclear rDNA evidence for major lineages of helenioid Heliantheae (Compositae). *Systematic Botany* 27: 161-198.
- Baldwin, B. G. y J. L. Panero. 2007. Tribe Madieae (Asteraceae). *En* J. W. Kadereit and C. Jeffrey (eds.). The families and genera of vascular plants, volume VIII: flowering plants, eudicots, Asterales. Págs. 492-507. Springer, Berlin.
- Ballard, R. 1986. *Bidens pilosa* complex (Asteraceae) in North and Central America. *American Journal of Botany* 73: 1452-1465.
- Baxter, A. y J. Farley. 1979. Mendel and meiosis. *Journal of History Biology* 12: 137-173.
- Benitez, G. 1986. Árboles y flores del Ajusco. Publicación núm. 17. Instituto de Ecología, México.
- Bennett, M. D. 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society of London* 274: 227-274.
- Bennett, M. D. 1987. Variation in genome form in plants and its ecological implications. *New Phytologist* 106: 177-200.
- Bennett, M. D., J. B. Smith y J. S. Heslop- Harrison. 1982a. Nuclear DNA amount in angiosperms. *Proceedings of the Royal Society of London* 216: 179-199.
- Bennett, M. D., Smith J. B., Lewis y R. I. Smith. 1982b. DNA amounts of angiosperms from the Antarctic and South Georgia. *Environmental and Experimental Botany* 22: 307-318.
- Bennett, M. D. y I. J. Leitch. 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany* 76: 113-176.
- Bennett, M D, I. J. Leitch y L. Hanson. 1998. DNA amounts in two samples of angiosperm weeds. *Annals of Botany* 82: 121-134.

- Bennett, M. D., P. Bhandol y I. J. Leitch. 2000. Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. *Annals of Botany* 86: 859-909.
- Bennett, M. D. y I. J. Leitch. 2004. Plant DNA C-values Database (Release 3.0, Dec. 2004).
- Bennett, M. D. y I. J. Leitch. 2005. Genome size evolution in plants. En T.R. Gregory (ed.), *The Evolution of the Genome*. Págs. 89–162. San Diego, Elsevier.
- Bennetzen, J. L. 2000 Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. *Plant Molecular Biology* 42: 251-269.
- Bennetzen, J. L., R. Liu y M. A. Pontaroli. 2005 Maize genome structure and rearrangement. *Maydica* 50: 387-392.
- Bennetzen, J. L., J. Ma y K. M. Devos. 2005. Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of Botany* 95: 127-132.
- Bold, H. 1977. *The plant kingdom*. Prentice Hall. Nueva Jersey. 410 p.
- Bradshaw, A. D. 1987. The Reclamation of derelict land and the ecology of ecosystems. En W. R. Jordan, M. Gilpin y J. D. Aber (eds.), *Restoration Ecology*. Págs. 23-29. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bremer, K. 1994. *Asteraceae: Cladistic & classification*. Timber Press. Portland.
- Bremer, K. C. y J. Humphries. 1993. Generic monograph of the Asteraceae-Anthemideae. *Bulletin of the Natural History Museum of London (Botany)* 23: 71–177.
- Brown, D., R. G. Hallman, C. R. Lee, J. G. Skogerboe, K. Eskew, R. A. Price, N. R. Page, M. Clar, R. Kort y H. Hopkins. 1986. Reclamation and vegetative restoration of problem soils and disturbed land. *Pollution Technology Review* 1: 166-181.
- Burton, T. L. y B. C. Husband. 1999. Population cytotype structure in the polyploid *Galax urceolata* (Diapensiaceae). *Heredity* 82: 381–390.
- Burton, T. L. y B. C. Husband. 2000. Fitness differences among diploids, tetraploids, and their triploid progeny in *Chamerion angustifolium*: mechanisms of inviability and implications for polyploid evolution. *Evolution* 54: 1182–1191.
- Bye, R. 1993. The role of humans in the diversification of plants in Mexico. En T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.), *Biological Diversity of Mexico*. Págs. 707–731. Oxford University Press, New York.
- Cáceres, M., A. Ranz, M. Barbadilla, M. Long y A. Ruiz. 1999. Generation of a widespread *Drosophila* inversión by a transposable element. *Science* 285: 415-418.
- Canne, J. M. 1983. Cytological and morphological observations in *Galinsoga* and related genera (Asteraceae). *Rhodora* 85: 355-366.
- Cano-Santana, Z., S. Castillo-Argüero, Y. Martínez-Orea y S. Juárez-Orozco. 2008. Análisis de la riqueza vegetal y el valor de conservación de tres áreas incorporadas a la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Distrito Federal (México). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 82: 1-14.

- Carlquist, S. 1956. On the generic limits of *Eriophyllum* (Compositae) and related genera. *Madroño* 13: 226–239.
- Carr, D. G., R. M. King, A. M. Powell y H. Robinson. 1999. Chromosome numbers in the Compositae. XVII. *American Journal of Botany* 86: 1003-1013.
- Carrillo T. C. 1995. El Pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Castelo, E., O. Ricalde y J. Panero. 2003-2005. Catálogo de Autoridades de Asteráceas Mexicanas y Actualización de tribus Heliantheae y Eupatorieae. University of Texas. Base de datos SNIB-CONABIO. Proyectos V004, AE012 y CS011. Mexico, D. F.
- Castillo-Argüero, S., G. Montes-Cartas, M. A. Romero, Y. Martínez, P. Guadarrama, I. Sánchez y O. Núñez. 2004. Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (D. F. México). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 74: 51-75.
- Castillo-Argüero S., Y. Martínez-Orea, J. A. Meave, M. Hernández-Apolinar, O. Nuñez – Castillo, G. Santibañez-Andrade y P. Guadarrama-Chávez. 2009. Flora: susceptibilidad de la comunidad a la invasión de malezas nativas y exóticas. *En* Lot, A. y Z. Cano-Santana (eds.), Biodiversidad del Ecosistema del Pedregal de San Ángel. Págs. 107-124. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Cavalier-Smith, T. 1985. Eukaryotic gene numbers, non coding DNA and genome size. *En* T. Cavalier-Smith (ed). The evolution of genome size. Págs. 70-103. John Wiley. Chichester. Reino Unido.
- Cavallini L. y L. Natali. 1991. Intra specific variation of nuclear DNA content in plant species. *Caryologia* 44: 93-107.
- Céspedes, L. 2010. Riqueza florística de Asteraceae en los fragmentos de vegetación de la Reserva Ecológica del Pedregal de San ángel, México D. F. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.
- Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Agrupación Sierra Madre A.C. México.
- Chifundera, K. 2008. Livestock diseases and the traditional medicine in the bushi area, Kivu province, Democratic Republic of Congo. *African Study Monographs* 19: 13-33.
- Comings, D. E. y T. A. Okada. 1971. Triple chromosome pairing in triploid chickens. *Nature* 227: 451-456.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Acciones y Programas Prioritarios. http://www.conanp.gob.mx/acciones/monitoreo_simec.php (Diciembre 2010).
- Conger, D. D. y L. M. Fairchild. 1953. A quick freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technology* 28: 281-283.

- Conservation International. 1990. *Tropicus. Wealth of plants and animals unites Megadiversity countries. Quaternary Report. Vol. IV. Num. 1.*
- Coulaud, J., S. C. Brown y S. Siljak-Yakovlev .1995. First cytogenetic investigation in populations of *Acacia heterophylla*, endemic from La Reunion Island, with reference to *A. melanoxylon*. *Annals of Botany* 75: 95–100.
- Dean, M. L. y K. L. Chambers. 1983. Chromosome numbers and evolutionary patterns in the *Aster occidentalis* (Asteraceae) polyploid complex of western North America. *Brittonia* 35: 189-196.
- Desalle, R. y J. A. Hunt. 1987. Molecular evolution in Hawaiian drosophilids. *Trends in Ecology Evolution* 2: 213-216.
- Dimitrová, D., I. Ebert, J. Greilhuber y S. Kozhuharov. 1999. Karyotype constancy and genome size variation in Bulgarian *Crepis foetida* s. l. (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 217: 245-257.
- Doležel, J. 1991. Flow cytometry analysis of nuclear DNA content in higher plants. *Phytotechnical Analysis* 2: 143-154.
- Doležel, J., S. Sgorbati y S. Lucreti. 1992. Comparison of three fluorochromes for flow cytometry estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 625-631.
- Doležel, J. 1995. Flow cytometry principles and applications in mutation breeding. En Fourteenth IAEA/FAO, Interregional training course on advances in plant mutation techniques. Viena Austria (C7-INT-5.135). 1-25.
- Doležel, J. 1997. Applications of flow cytometry for the study of plant genomes. *Journal of Applied Genetics* 38: 285-302.
- Doležel, J., M. Doleželova y F. J. Novak. 1994. Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). *Biologia Plantarum* 36: 351 – 357.
- Doležel, J., Bartos J., Voglmayr H. y Greilhuber J. 1998. Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. *Annals of Botany* (London) 82:17-26.
- Doležel, J. y J. Bartos. 2005. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany* 95: 99-110.
- Doležel, J., J. Greilhuber y J. Suda. 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2: 2233-2244.
- Ehrendorfer, F. 1980. Polyploidy and distribution. En W. H. Lewis, (ed.), *Polyploidy biological relevance*. Págs. 45-60. Plenum Press. New York.
- Ewel, J. J. 1987. Restoration is the ultimate test of ecological theory. En W.R. Jordan III, M. E. Gilpin y J. D. Aber, (eds.), *Restoration ecology: A synthetic approach to ecological*, 53-74. Cambridge University Press. New York.

- Ezcurra, E., M. Mazari-Hiriart, I. Pisanty y A. G. Aguilar. 1999. *The Basin of Mexico: Critical Environmental Issues and Sustainability*. Clark University-United Nations University Press, Tokyo.
- Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Rosario; Desarrollo Rural AER A. Seco C.R. Santa Fe. http://www.inta.gov.ar/actual/alert/09/rama_negra_barbechos.pdf (Enero 2011).
- Fay, M. F., R. S. Conwan y I. J. Leitch. 2005. The effects of nuclear DNA content (C-value) on the quality and utility of AFLP fingerprints. *Annals of Botany* 95: 237-246.
- Fedoroff, N. V. 1988. Mobile genetic elements in maize. *En*: G. M. Malacinski (ed.). *Developmental genetics of higher organisms. Primer in developmental biology*. Págs. 97-125. MacMillan, Londres.
- Felber, F. 1991. Establishment of a tetraploid cytotype in a diploid population: effect of relative fitness of the cytotypes. *Journal of Evolutionary Biology* 4: 195–207.
- Feschotte, C., N. Jiang y S. R. Wessler, 2002. Plant transposable elements: Where genetics meets genomics. *Natural Review of Genetics* 3: 329–341.
- Flora of North America a). http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=250007280 (Diciembre 2010).
- Flora of North America b). http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=250067387 (Diciembre 2010).
- Fowler, N. L. y D. A. Levin. 1984. Ecological constraints on the establishment of a novel polyploidy in competition with its diploid progenitor. *American Naturalist* 124: 703-711.
- Funk, V. A., J. B. Randall, K. Sterling, R. Chan, L. Watson B. Gemeinholzer, E. Schilling, J. L. Panero, B. G. Baldwin, N. Garcia-Jacas, A. Susanna y R. K. Jansen. 2005. Everywhere but Antarctica: Using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biologische Skrifter* 55: 343-374.
- Funk, V. A., A. Arne, A. Anderberg, B. G. Baldwin, R. J. Bayer, J. M. Bonifacio, I. Breitweiser, L. Brouillet, R. Carbajal, R. Chan, A. X. P. Coutinho, D. J. Crawford, J. V. Crisci, M. O. Dillon, S. E. Freire, M. Galbany-Casals, N. Garcia-Jacas, B. Gemeinholzer, M. Gruenstaeudl, H. V. Hansen, S. Himmelreich, J. W. Kadereit, M. Källersjö, V. Karaman-Castro, P. O. Karis, L. Katinas, S. C. Keeley, N. Kilian, R. T. Kimball, T. K. Lowrey, J. Lundberg, R. J. McKenzie, M. Tadesse, M. E. Mort, B. Nordenstam, C. Oberprieler, S. Ortiz, P. B. Pelsner, C. P. Randle, H. Robinson, N. Roque, G. Sancho, J. C. Semple, M. Serrano, T. F. Stuessy, A. Susanna, M. Unwin, L. Urbatsch, E. Urtubey, J. Vallès, R. Vogt, S. Wagstaff, J. Ward y L. E. Watson. 2009. Compositae meta-supertree: The next generation. *En* V. A. Funk, A. Susanna, T. F. Stuessy and R. J. Bayer (eds.). *Systematics, Evolution, and Biogeography of the Compositae*. International Association for Plant Taxonomy. Págs. 747–777. Institute of Botany, University of Vienna, Vienna, Austria.

- García, A. 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 144 p.
- Gatt, M., H. Ding, K. Hammett y B. Murray. 1998. Polyploidy and Evolution in Wild and Cultivated *Dahlia* species. *Annals of Botany* 8: 647-656.
- Gatt, M., K. Hammett y B. Murray. 1999. Conformation of ancient polyploidy in *Dahlia* (Asteraceae) species using genomic in situ hybridization. *Annals of Botany* 84: 39-48.
- Ghaffari, S. M. y K. Kelich. 2006. New or rare chromosome counts of some angiosperm species from Iran. *Iran Journal of Botany* 12: 81-86.
- Goldblatt, P. 1980. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. En W.H. Lewis (ed.). Polyploidy: biological relevance. Págs. 219-239. Plenum Press, New York.
- Grant, V. 1963. The origin of adaptations, Columbia University Press. New York.
- Grant, V. 1971. Plant Speciation. Columbia University Press. New York.
- Grant, V. 1981. Plant speciation. Columbia University Press. New York.
- Grant, V. 1989. Especiación vegetal. Editorail Limusa. México.
- Grashoff, J. L., M. W. Bierner y D. K. Northington. 1972. Chromosome numbers in North and Central American Compositae. *Brittonia* 24: 379-394.
- Gregory, T. R. 2003. Variation across amphibian species in the size of the nuclear genome supports a pluralistic, hierarchical approach to the C-value enigma. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 329-339.
- Greilhuber, J. y F. Ehrendorfer. 1988. Karyological approaches to plant taxonomy. En A. M. Grimwade (ed.), *ISI Atlas of science: plants and animals*. Págs. 289-297. Institute of Scientific Information, Philadelphia.
- Greilhuber, J., J. Doležal, M. A. Lysak y M. D. Bennett. 2005. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms "genome size" and "C-value" to describe nuclear DNA contents. *Annales of Botany* 95: 255-260.
- Grime, J. P. 1998 Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* 86: 902-910.
- J. P. Gustafson y M. D. Bennett. 1982. The effect of telomeric heterochromatin from *Secale cereale* L. on triticale (X *Triticosecale* Wittmack). II. The presence or absence of blocks of heterochromatin in isogenic backgrounds, *Canadian Journal of Genetic Cytology* 24: pp. 93-100.
- Hansen, H. V. y J. P. Hjerting. 1996. Observations on chromosome numbers and biosystematics in *Dahlia* (Asteraceae, Heliantheae) with an account on the identity of *D. pinnata*, *D. rosea* and *D. coccínea*. *Nordic Journal of Botany* 16: 445-455.
- Hanson, L., K. A. McMahon, M. A. T. Johnson y M. D. Bennett. 2001. First nuclear DNA C -values for 25 angiosperm families. *Annals of Botany* 87: 251-258.

- Harlan, J. R. y J. M. de Wet. 1975. On Ö. Winge and a prayer: The Origins of Polyploidy. *Botany Review* 41: 361-390.
- Heywood, V. H. y C. J. Humphries. 1977. Anthemideae. Systematic review. En V. H. Heywood, J. B. Harborne y B. L. Turner (eds.). The biology and chemistry of the Compositae, Vol. II. Págs. 851–898. Academic Press, London.
- Hörandl, E. y J. Greilhuber. 2002. Diploid and autotetraploid sexuals and their relationships to apomicts in the *Ranunculus cassubicus* group: insights from DNA content and isozyme variation. *Plant Systematic and Evolution* 234: 85-100.
- Iannacone, J., A. Hildebrando y A. Román. 2005. Efectos toxicológicos de cuatro plantas sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Curculionidae) y sobre el gorgojo de las galletas *Stegobium paniceum* (Linnaeus 1761) (Coleoptera: Anobiidae) en Perú. *Gayana* 69: 234-240.
- Index to chromosome numbers in Asteraceae <http://www.lib.kobe-u.ac.jp/products/asteraceae/index.html>. (Diciembre 2010).
- Ingle, J. J. N. Timmis y J. Sinclair. 1975. The relationship between satellite deoxyribonucleic acid, ribosomal ribonucleic acid gene redundancy, and genome size in plants. *Plant Physiology* 55: 496–501.
- Ito, M., Miyamoto J. y Y. Mori. 2000. Genome and chromosome dimensions of *Lotus japonicus*. *Journal of Plant Research*. 113: 435-442.
- Jain, S. K. 1976. The Evolution of inbreeding in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7: 469-495.
- Jansen, R. K. 1985. Systematic significance of chromosome numbers in *Acmella* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 72: 1835-1841.
- Jansen, R. K. y T. F. Stuessy. 1980. Chromosome counts of Compositae from Latin America. *American Journal of Botany* 67: 585-594.
- Jansen, R. K., T. F. Stuessy, S. Diaz-Piedrahita y V. A. Funk. 1984. Recuentos cromosómicos en Compositae de Colombia. *Caldasia* 15: 7-20.
- Jeffrey, C. 2007. Compositae: Introduction with key to tribes, Families and Genera of Vascular Plants, vol. VIII. En J. W. Kadereit y C. Jeffrey, (eds.). Flowering Plants, Eudicots, Asterales, 61-87. Springer-Verlag, Berlin.
- Jones, S. B. 1974. Vernoniae (Compositae) chromosome numbers. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 101: 31–34.
- Jones, S. B. 1979. Chromosome numbers of Vernoniae (Compositae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 106: 79–84.
- Jordan III, W. R., M. E. Gilpin y J. D. Aber. 1987. Restoration ecology: ecological restoration as a technique for basic research. En W. R. Jordan III, M. E. Gilpin y J. D. Aber (eds.). Restoration ecology: A synthetic approach to ecological. Págs. 166-172. Cambridge University Press. Cambridge.

- Juel, H. O., 1900. Vergleichende Untersuchungen uber typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung *Antennaria*. *Kg. Svenska Vetenskapsakad Handl.* 33: 1-59.
- Keil, D. J. y T. F. Stuessy. 1975. Chromosome counts of Compositae from the United States, Mexico and Guatemala. *Rhodora* 77: 171-195.
- Keil, D. J. y D. J. Pinkava. 1976. Chromosome counts and taxonomic notes for Compositae from the United States and Mexico. *American Journal of Botany* 63: 1393-1403.
- Keil, D. J. y T. F. Stuessy. 1977. Chromosome counts of the Compositae from Mexico and the United States. *American Journal of Botany* 64: 791-798.
- Keil, D. J., M. A. Luckow y D. J. Pinkava. 1988. Chromosome studies in Asteraceae from the United States, Mexico, the West Indies, and South America. *American Journal of Botany* 75: 652-668.
- Kenton, A. 1986. Importancia de los cromosomas en la especiación y evolución como base para el conocimiento y caracterización de especies vegetales con valor potencial. *En G. H. Palomino (ed.)*, II Seminario Maximino Martínez: La aplicación de la Citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México. 11-36. Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM, México.
- Kew Plant Genome Size Discussion Meeting 2003. <http://data.kew.org/cvalues/cvalConferenceHome.html>
- Kew Royal Botanic Gardens a). <http://www.kew.org/science/compositae.html> (Diciembre 2010).
- Kew Royal Botanic Gardens b). <http://data.kew.org/cvalues/> (Diciembre 2010).
- Khoshoo, T. N. 1959: Polyploidy in gymnosperms. *Evolution* 13: 24-39.
- Kidwell, M. G. 2002. Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetics*. 115: 49-63.
- Kidwell, M. G. y D. R. Lisch. 2001. Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. *Evolution* 55: 1-24.
- King, M. 1993. *Species Evolution*: Cambridge University Press, Cambridge. 336 p.
- King, R. M., D. W. Kyhos, A. M. Powell, P. H. Raven y H. Robinson. 1976. Chromosome numbers in Compositae. XIII. Eupatorieae. *Annals of the Missouri Botanical* 63: 862-888.
- Kotseruba V., D. Gernand, A. Meister y A. Houben. 2003. Uniparental loss of ribosomal DNA in the allotetraploid grass *Zingieria trichopoda* ($2n = 8$). *Genome* 46: 156-163.
- Kumar, A. y J. L. Bennetzen. 1999. Plant retrotransposons. *Annual Review of Genetics* 33: 479-532.
- Lacadena, J. R. 1988. *Genética*. (ed.).. Aagesa, Madrid. 1303 p.
- Lacadena, J. R. 1996. *Citogenética*. Editorial Complutense S. A., Madrid.

- Lane, M. A., y J. Li. 1993. Documented chromosome numbers, 1993. 1. Chromosome number reports in Compositae with emphasis on tribe Astereae of the southwestern United States and Mexico. *Sida* 15: 539–546.
- Land, W. J. G. 1900. Double fertilization in Compositae. *Botanical Gazette*. 30: 252-261.
- Leitch I. J. y M. D. Bennett. 1997. Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2: 470–476.
- Leitch I. J. y M. D. Bennett. 2004. Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of Linnean Society* 82: 651-663.
- Leitch, I. J., D. E. Soltis, P. S. Soltis y M. D. Bennett. 2005. Evolution of DNA amounts across land plants (Embryophyta). *Annals of Botany* 95: 207-217.
- Levin, D. A. 1983. Polyploidy and novelty in flowering plants. *American Naturalist* 122: 1-25.
- Levin, D. A. 2000. The origin, expansión, and demise of plant species. Oxford University Press. 230 p.
- Levy, M. y D. A. Levin. 1975. Genic heterozygosity and variation in permanent translocation heterozygotes of the *Oenothera Biennis* complex. *Genetics* 79: 493-512.
- Liu, B., J. M. Vega, G. Segal, S. Abbo, M. Rodova y M. Feldman. 1998. Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops*. I. Changes in low copy noncoding DNA sequences. *Genome* 41: 272-277.
- Loidl, J. y G. H. Jones. 1986. Synaptonemal complex spreading in *Allium*. I. Triploid *A. sphaerocephalon*. *Chomosoma* 93: 420-428.
- Löve, A. y D. Löve. 1949 The geobotanical significance of polyploidy. I. Polyploidy and lalitude. *Portugaliae Acta Biologica Serie A* 273-352.
- Lyzák, M. A. y J. Doležel. 1998. Estimation of nuclear DNA content in *Sesleria* (Poaceae). *Caryologia* 52: 123-132.
- Marañón, T. y P. J. Grubb 1993. Physiological basis and ecological significance of the seed size and relative growth rate relationship in Mediterranean annuals. *Functional Ecology* 7: 591-599.
- Masterson, J. 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for poliploidy in majority of angiosperms. *Science* 264: 421-424.
- Mayr, E. 1963. Animal Species and Evolution. Harvard University Press, Cambridge. 797 p.
- Matsuura, H. 1949. Chromosome studies in *Trillium kamtschaticum* Pall and its allies. XVIII. The role of the kinetocore. *Chromosoma* 4: 284-297.
- Matzke, M. A. y A. J. M. Matzke. 1998. Epigenetic silencing of plant transgenes as a consequence of diverse cellular defense responses. *Cell Molecular Life Science* 54: 94–103.

- McArthur, E. D. y S. C. Sanderson. 1999. Cytogeography and chromosome evolution of sugenue Artemisia (Asteraceae). *American Journal of Botany* 86: 1754-1775.
- McCoy, T. J. 1982. The inheritance of 2n pollen formation in diploid alfalfa *Medicago sativa*. *Canadian Journal of Genetics* 24: 315-323.
- Meffe, G. K. y C. R. Carroll. 1994. Principles of Conservation Biology. Sinauer Associates, Inc. Sunderland. 729 p.
- Merrell, W. D. 1900. A contribution to the life history of *Silphium*. *Botanical Gazette* 29: 99-133
- Meyers, S. C. y A. Liston. 2005. An investigation of putative *Tragopogon mirus* (Asteraceae) populations in Oregon, USA. *Madroño* 52: 35-7.
- Mittermeier, R. A. 1988. Primate diversity and the tropical forest. Case studies from Brazil and Madagascar and the importance of the megadiversity countries. En E. O. Wilson (ed.), Biodiversity. Washington, DC. National Academy Press. Págs. 145-154.
- Mittermeier, R. y G. Mittermeier. 1992. La importancia de la diversidad biológica de México. En J. Sarukhán (ed.). México ante los retos de la biodiversidad. Págs. 63-73. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Mok, D. W. y S. J. Peloquin. 1975. The inheritance of three mechanisms of diplandroid (2n pollen) formation in diploid potatoes. *Heredity* 35: 295-302.
- Moore, R. J. 1974. Index to plant chromosome numbers for 1972. *Regnum Vegetal* 91: 1-108.
- Mooring, J. S. 1965. Chromosome studies in *Chaenactis* and *Chamaechaenactis* (Compositae, Helenieae) *Brittonia* 17: 17-25.
- Morescalchi, A. 1977. Adaptation and karyotype in Amphibia. *Italian Journal of Zoology* 44: 287-294.
- Morgan, T. H. y E. Cattell. 1912. Data for the study of sexlinked inheritance in *Drosophila*. *Experimental Zoology* 13: 79-101.
- Müntzing, A. 1953. Arftlighets Forskning. LTs Forlag, Estocolmo.
- Nesom, G. L. y H. Robinson. 2007. Astereae. En K. Kubitzki (ed.). Families and Genera of Vascular Plants. Págs. 284-342. Flowering Plants - Eudicots Asterales. Springer, Verlag
- Nuismer, S. L., y J. N. Thompson. 2001. Plant polyploidy and non-uniform effects on insect herbivores. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 268: 1937-1940.
- Ohri, D. A. 1998. Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany* 82: 75-83.
- Olsen, J. 1980. En Chromosome numbers reports LXVII. *Taxon* 29:347-367.
- Ornduff, R., T., P. H. Raven, D. W. Khyos y A. R. Kruckeberg. 1963. Chromosomes numbers in the Compositae. III. Senecioneae. *American Journal of Botany* 50: 131-139.

- Ornduff, R., T. Mosquin, D. W. Kyhos, P. H. Raven, y A. R. Kruckenberg. 1967. Chromosome numbers in the Compositae. VI. Senecioneae. II. *American Journal of Botany* 50: 205-213.
- Otto, F. 1990. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. En Z. Darzynkiewicz y H. A. Crissman (eds.). *Methods in Cell Biology*. Págs. 105-110. Springer, Verlag Heidelberg. Alemania.
- Otto, S. P. y J. Whitton. 2000. Polyploidy incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*. 34: 401-437.
- Owen, E., J. C. Semple y B. R. Baum. 2006. A multivariate morphometric analysis of the *Symphotrichum boreale*, *S. nahanniense* and *S. welshii* complex (Asteraceae: Astereae). *Canadian Journal of Botany* 84: 1282-1297.
- Ownbey, G. B., P. H. Raven D. W. y Kyhos. 1975. Chromosome numbers in some American species of the genus *Cirsium*. III. Western United States, Mexico and Guatemala. *Brittonia* 27: 297-304.
- Ozcan, M., S. Hayirlioglu-Ayaz y H. Inceer. 2008. Chromosome counts of some *Cirsium* (Asteraceae, Cardueae) taxa from Turkey. *Caryologia* 61: 375-382.
- Ozkan. H. y M. Feldman. 2001. Genotypic variation in tetraploid wheat affecting homoeologous pairing in hybrids with *Aegilops peregrina*. *Genome* 44: 1000-1006.
- Palomino, G. 1991. La importancia del enfoque interdisciplinario en el conocimiento de los recursos Filogenéticos de México. En Ortega P.R., G. Palomino, F. Castillo, V. A. Gonzáles y M. Livera (eds.). *Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de Mexico*, págs. 63-68. SOMEFI. Chapingo, México.
- Palomino, G. 1998. Análisis del genoma en plantas por citometría de flujo. Sociedad Mexicana de Genética, Sociedad Mexicana de Toxicología Genética. V Congreso Conjunto. 27 de septiembre al 2 de octubre de 1998. Acapulco, Gro., México.
- Palomino, G., J. Doležel, R. Cid, I. Brunner, I. Méndez y A. Rubluo. 1999. Nuclear genomes stability of *Mammillaria san-angelensis* (Cactaceae) regenerants induced by auxins in long-term in vitro culture. *Plant Science* 141: 191-200.
- Palomino, G. 2000. Genome analysis of mexican flora. *Genetics and Molecular Biology* 4: 921-924.
- Panero, J. L. y V. A. Funk 2002. Toward a phylogenetic classification for the Compositae (Asteraceae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 115: 909-922.
- Pantí, M. 1984. Contribución al conocimiento del Pedregal de San Ángel sobre el problema de su flora y su conservación. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.
- Payne, W. W., P. H. Raven y D. W. Kyhos. 1964. Chromosome numbers in the Compositae from the United States and Mexico. *American Journal of Botany* 64: 680-686.
- Pellicer, J., S. Garcia, T. Garnatje, O. Hidalgo, A. Korobkov, S. Dariimaa y J. Vallès. 2007. Chromosome counts in Asian *Artemisia* L. (Asteraceae) species: from diploids to the

- first report of the highest polyploid in the genus. *Botanical Journal of the Linnean Society* 153: 301-310.
- Peterson, P. A. 1988. Transposons in maize and their role in corn breeding progress. En *Proceedings of the 43rd Annals on Corn and Sorghum Industrial. Research Conference*. Págs. 55-71. Chicago.
- Petrov, D. A. 2001. Evolution of genome size: new approaches to an old problem. *Trends of Genetics* 17: 23-28.
- Petrov, D. A., T. A. Sangster, J. S. Johnston, D. L. Hartl y K. L. Shaw. 2000. Evidence for DNA loss as a determinant of genome size. *Science* 287: 1060–1062.
- Plant C-Values Database. <http://data.kew.org/cvalues/updates.html>
- Poggio, L. y C. A. Naranjo. 2004. Citogenética. En V. Echenique, C. Rubinstein y L. Mroginski (eds.), *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*. Págs. 69-79. INTA. Buenos Aires.
- Powell, A. M. 1972. Taxonomy of Amauria (Compositae Peritylinae). *Madroño* 21: 516-525.
- Powell, A. M. y B. L. Turner. 1963. Chromosome numbers in the Compositae VII. Additional species from the southwestern United States and Mexico. *Madroño* 17: 18-140.
- Powell, A. M., D. W. Kyhos y P. H. Raven. 1974. Chromosome numbers in Compositae. X. *American Journal of Botany* 61: 909-913.
- Powell, A. M., D. W. Kyhos, y P. H. Raven. 1975. Chromosome numbers in Compositae. XI. Helenieae. *American Journal of Botany* 62: 1100-1103.
- Powell, A. M. y S. A. Powell. 1978. Chromosome numbers in the Asteraceae. *Madroño* 25: 160-169.
- Powell, A. M. y B. L. Turner. 2010. Miscellaneous chromosome numbers: Texas plant species. *Phytologia* 92: 96-102.
- Price, H. J y J. S. Johnston. 1996. Analysis of plant DNA content by Feulgen microspectrophotometry and flow cytometry, En *Methods of genome analysis in plants*. CRC Press. EUA. 7: 115-132.
- Price, H. J. 1988. DNA content variation among higher plants. *Missouri Botanical Garden Press* 75: 1248-1275.
- Qu, L., y N. Vorsa. 1999. Desynapsis and spindle abnormalities leading to 2n pollen formation in *Vaccinium darrowii*. *Genome* 42: 35-40.
- Qureshi, K. M., M. N. Malik, y M. I. Chaudhry, 1985. Effect of different rootstocks on mineral contents of leaves in Kaghzi Lime, (*Citrus auranti filia*, Swing) *Pakistan Journal of Agricultural Research* 22: 206.
- Radford, A., Dickinson, J. Massey y C. Ritchie. 1974. *Vascular Plants Systematics*. Harper & Row, Publishers. New York. 981 p.

- Ralston, B., G. L. Nesom y B. L. Turner. 1989. Documented plant chromosome numbers 1989: 1. Chromosome numbers in Mexican Asteraceae with special reference to the tribe Tageteae. *Sida* 13: 359-268.
- Ramsey, J. y D. W. Schemske. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 467-501.
- Ramsey, J. y D. W. Schemske. 2002. Neoployploidy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 589-639.
- Raven, P. H. y D. W. Kyhos. 1961. Chromosome numbers in Compositae II. Helenieae. *American Journal of Botany* 48: 842-850.
- Ridley, R. 1960. The secondary pairing of bivalents with genetically similar chromosomes. *Nature* 185: 751-752.
- Rieger, R., A. Michaelis y M. M. Green. 1982. Diccionario de genética y citogenética clásica y molecular. Alhambra, Madrid. 647 p.
- Rieseberg, L. H. 2001. Polyploid evolution: Keeping the peace at genomics reunions. *Current Biology* 11: 925-928.
- Rieseberg, L. H., O. Raymond, D. M. Rosenthal, Z. Lai, K. Livingstone, T. Nakazato y J. L. Durphy. 2003. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science* 301: 1211-1216.
- Robinson, H., A. M. Powell, R. M. King y J. F. Weedin. 1981. Chromosome numbers in Compositae, XII: Heliantheae. *Smithsonian Contributions to Botany* 52: 1-28.
- Robinson, H., G. D. Carr, R. M. King y J. F. Weedin. 1985. Chromosome number in Compositae XV: Liabeae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84: 893-90.
- Robinson, H., A. M. Powell, G. D. Carr, R. M. King y J. F. Weedin. 1989. Chromosome numbers in Compositae XVI: Eupatorieae. II. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 1004-1011.
- Robinson, H., G. D. Carr, R. M. King y A. M. Powell. 1997. Chromosome number in Compositae XVII. Senecioneae. III. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84: 893-900.
- Rodriguez, D. J. 1996. A model for the establishment of polyploidy in plants. *American Naturalist* 147: 33-46.
- Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel (D. F. México). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional* 8: 59-128.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México, D. F. 432 p.
- Rzedowski, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana* 14: 3-21.
- Sax, K. 1937 Effect of variations in temperature on nuclear and cell division in *Tradescantia*. *American Journal of Botany* 24: 218-225.

- Schlaepfer, D. R., P. Edwards, J. C. Semple y R. Billeter. 2008. Cytogeography of *Solidago gigantea* (Asteraceae) and its invasive ploidy level. *Journal of Biogeography* 35: 2219-2127.
- Segraves, K. A. y J. N. Thompson 1999. Plant polyploidy and pollination: floral traits and insect visits to diploid and tetraploid *Heuchera grossulariifolia*. *Evolution* 53: 1114-1127.
- Semple, J. 1974. Chromosome Numbers of Phanerogams, 5. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61: 902-903.
- Semple, J. C. 1979. The cytogeography of *Aster lanceolatus* (synonymous *A. simplex* and *A. paniculatus*) in Ontario with additional counts from populations in the United States. *Canadian Journal of Botany* 57: 397-402.
- Semple, J. C. 1995. A review of hypotheses on ancestral chromosomal base numbers in the Astereae and the genus *Aster*. En D. J. N. Hind, C. Jeffrey y G. V. Pope (eds.), *Advances in Compositae Systematics*. Págs. 153-165. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Serrato-Cruz M. A., M. Hernández y Y. Savidan. 2000. Contenido de ADN y nivel de ploidía en *Tagetes* spp. utilizando citómetro de flujo. *Agrociencia* 34: 729-734.
- Shaked, H., K. Kashkush, H. Ozkan, M Feldman y A. A. Levy. 2001 Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat. *The Plant Cell* 13: 749-1759.
- Siljak-Yakovlev, S., M. E. Solic y O. Catrice. 2005. Nuclear DNA content and chromosome number in some diploid and tetraploid *Centaurea* (Asteraceae: Cardueae) from Dalmatia region. *Plant Biology* 7: 397-404.
- Siljak-Yakovlev, S., M. E. Solic, O. Catrice, S. C. Brown y D. Papes. 2008. Nuclear DNA Content and Chromosome Number in Some Diploid and Tetraploid *Centaurea* (Asteraceae: Cardueae) from the Dalmatia Region. *Plant Biology* 7: 397-404.
- Soejima, A., T. Yahara y K. Watanabe. 2001. Distribution and variation of sexual and agamospermus populations of *Stevia* (Asteraceae: Eupatorieae) in the lower latitudes, Mexico. *Plant Species Biology* 16: 91-105.
- Solbrig, O. T. 1977. Chromosomal cytology and evolution in the family Compositae. En V. H. Heywood, J. B. Harborne y B. L. Turner (eds.), *The biology and chemistry of the Compositae*, 267-281. Academic Press. London.
- Solbrig, O. T., L. C. Anderson, D. W. Kyhos, y P. H. Raven. 1969. Chromosome numbers in the Compositae. VII. Astereae III. *American Journal of Botany* 56: 348-353.
- Solbrig, O. T., D. W. Kyhos, A. M. Powell y P. H. Raven. 1972. Chromosome numbers in the Compositae. VIII. Heliantheae. *American Journal of Botany* 59: 869-878.
- Soltis, D. E. y Soltis P. S. 1993. Molecular data facilitate a reevaluation of traditional tenets of polyploid evolution. *Critical Reviews in Plant Sciences* 12: 243-273.
- Soltis, D. E. y P. S. Soltis. 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 348-352.

- Soltis, D. E., P. S. Soltis y J. A. Tate. 2003. Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. *New Phytologist* 161: 173-191.
- Soto, F. 2007. Poliploidía en las Asteraceae en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. México, D. F. Tesis de Maestría (Posgrado en Ciencias Biológicas), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.
- Spencer, A., K. L. Chambers, D. W. Kyhos, A. M. Powell y P. H. Raven. 1978. Chromosome numbers in the Compositae. XIV. Lactuceae. *American Journal of Botany* 65: 717-721
- Spooner D. M., D. C. De Jong, B. Y. Sun, T. F. Stuessy, K. M. Gengler, G. L. Nesom y P. E. Berry. 1995. Chromosome Counts of Compositae from Ecuador and Venezuela. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 596-602.
- Stebbins, G. L. 1950. Variation and Evolution in Plants. Columbia University Press, New York. 643 p.
- Stebbins, G. L. 1966. Chromosomal variation and evolution. *Science* 152: 1463-1469.
- Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London. 468 p.
- Stevens, P. F. 2001. Asteraceae. Angiosperm Phylogeny Website. Version 7, Mayo 2006.
- Strother, J. L. 1983. More chromosome studies in Compositae. *American Journal of Botany* 70: 1217-1224.
- Strother, J. L. y J. L. Panero. 2001. Chromosome studies: Mexican Compositae. *American Journal of Botany* 88: 499-502.
- Stuessy, T. F. 1970. Chromosome studies in *Melampodium* (Compositae-Heliantheae). *Madroño* 20: 365-372.
- Stuessy T. F. 1972. Revisión of the genus *Melampodium* (Compositae, Heliantheae). *American Journal of Botany* 58: 732-736.
- Stuessy, T. F. 1978. Revision of *Lagascea* (Compositae, Heliantheae). *Fieldiana Botany* 38: 75-133.
- Stuessy, T. F., H. Weiss-Schneeweiss, y D. J. Keil. 2004. Diploid and polyploid cytotype distribution in *Melampodium cinereum* and *M. leucanthum* (Asteraceae, Heliantheae). *American Journal of Botany* 96: 889-898.
- Sundberg, S., C. P. Cowan y B. L. Turner. 1986. Chromosome counts of Latin American Compositae. *American Journal of Botany* 73: 33-38.
- Susanna, A., N. Garcia, D. E. Soltis y P. S. Soltis. 1995. Phylogenetic relationships in tribe Cardueae (Asteraceae) based on ITS sequences. *American Journal of Botany* 82: 1056-1068.
- Swift, H. H. 1950. The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S.* 36: 643-654.

- Temsch, E. M., J. Greilhuber, K. R. Hammett y B. Murray. 2008. Genome size in *Dahlia* Cav. (Asteraceae-Coreoideae). *Plant Systematics and Evolution* 276: 157-166.
- Thomas, C. 1971. The genetic organization of chromosomes. *Review of Genetics* 5: 237-256.
- Thompson, J. D. y R. Lumaret. 1992. The evolutionary dynamics of polyploid plants: origins, establishment and persistence. *Trends in Ecology Evolution* 7: 302-307.
- Thompson, J. N., B. M. Cunningham, K. A. Seagraves, D. M. Althoff, y D. Wagner. 1997. Plant polyploidy and insect/plant interactions. *American Naturalist* 150: 730-743.
- Thompson, J. N., S. L. Nuismer y K. Merg 2004. Plant polyploidy and the evolutionary ecology of plant/animal interactions. *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 511-519.
- Tischler, G. 1935. Die Bedeutung der Polyploidie für die Verbreitung der Angiospermen. *Botanischer Jahrbücher*. 67: 1-36.
- Toledo, V. M. y F. Eccardi. 1989. Mexico: cornucopia de la diversidad, *Oasis*, 6: 32-47.
- Torrell, M. y J. Valles 2001. Genome size in 21 *Artemisia* L. species (Asteraceae, Anthemideae): systematic, evolutionary, and ecological implications. *Genome* 44: 231-238.
- Torres, A. M. 1963. *Taxonomy of Zinnia*. *Brittonia* 15: 1-25.
- Towner, J. W. 1962. Cytogenetic of *Tagetes jalisciensis* X *T. erecta*. *American Journal of Botany* 59: 1064-1067.
- Tundis, R., M. R. Loizzo, M. Bonesi, F. Menichini, D. Dodaro, N. G. Passalacqua, G. Statti y F. Menichini. 2009. *In vitro* cytotoxic effects of *Senecio stibianus* Lacaita (Asteraceae) on human cancer cell lines. *Natural Product Research* 23: 1707-1718.
- Turner, B. L. 1970. Chromosome numbers in the Compositae. XII. Australian species. *American Journal of Botany* 57: 382-389.
- Turner, B. L. 1988. A new species of *Melampodium* (Asteraceae-Heliantheae) from Oaxaca, Mexico. *Phytologia* 64: 445-447.
- Turner, B. L. 1993. A new species of *Melampodium* (Asteraceae, Heliantheae) from Jalisco, Mexico. *Phytologia* 75: 136-139.
- Turner, B. L., W. L. Ellison y R. M. King. 1961. Chromosome numbers in the Compositae. IV. North American species, with phyletic interpretations. *American Journal of Botany* 48: 216-223.
- Turner, B. L. y R. M. King. 1962. A cytotaxonomic survey of *Melampodium* (Compositae-Heliantheae). *American Journal of Botany* 49: 263-269.
- Turner, B. L., M. Powell y R. M. King. 1962. Chromosome numbers in the Compositae. VI. Additional Mexican and Guatemalan species. *Rhodora* 64: 251-269.
- Turner, B. L. y R. M. King. 1964. Chromosome numbers in the Compositae. VIII. Mexican and Central American species. *Southwestern Naturalist* 9: 27-39.

- Turner, B. L. y D. Flyr. 1966. Chromosome numbers in the Compositae. X. North American species. *American Journal of Botany* 53: 24-33.
- Turner, B. L. y G. Nessom. 1998. Biogeografía, diversidad y situación de peligro o amenaza de Asteraceae en México. En T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.), Diversidad biológica de México: orígenes y distribución, 545-561. Instituto de Biología, UNAM, México.
- Ulrich, I. y W. Ulrich. 1991. High-resolution flow cytometry of nuclear DNA in higher plants. *Protoplasma* 165: 212-215.
- Valdés, B. 1997. Caracteres taxonómicos, Citología y Citogenética. En J. Izco, E. Barreo, M. Bruguéz, M. Costa, J. Devesa, F. Fernández, T. Gallardo, X. Llimona, E. Salvo, S. Talavera y B. Valdés (eds.), Botánica. Págs. 133-154., McGraw-Hill, Madrid.
- Valiente-Banuet, A. y E. G. de Luna. 1990. Una lista florística para la reserva del Pedregal de San Ángel. *Acta Botanica Mexicana* 9: 13-30.
- Valladolid, A., R. Blas y R. Gonzáles. 2003. Introducción al recuento de cromosomas somáticos en raíces andinas. En Juan Seminario (ed.). Seminario de Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). Raíces andinas, contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Págs. 95-99. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú.
- Vallès J., Garnatje T., S. Garcia, M. Snaz y A. A. Korobkov. 2005. Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae). *Botanical Journal of Linnean Society* 148: 77-85.
- Veilleux, R. E., N. A. McHale y F. I. Lauer. 1982. $2n$ gametes in diploid *Solanum*: Frequency and types of spindle abnormalities. *Genome* 24: 301-314.
- Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* 28: 160-167.
- Vogt, R. 1991. Die Gattung *Leucanthemum* Mill. (Compositae-Anthemidae) auf der Iberischen Halbinsel. Ruizia. Alemania..
- Watanabe, K. 1986. The cytogeography of the genus *Eupatorium* (Compositae). *Plant Species Biology* 1: 99-116.
- Watanabe, K., E. M. King, T. Yahara, M. Ito, J. Yokoyama, T. Suzuki y D. J. Crawford. 1995. Chromosomal cytology and evolutions in Eupatorieae (Asteraceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 8: 2581-2592.
- Watanabe, K., P. S. Short, T. Denda, N. Konishi, M. Ito y K. Kosuge. 1999. Chromosome numbers and karyotypes in the Australian Gnaphalioideae and Plucheae (Asteraceae). *Australian Systematic Botany* 12: 781-802.
- Watanabe, K., T. Yahara, A. Soejima y M. Ito. 2001. Mexican species of the genus *Stevia* (Eupatorieae, Asteraceae). Chromosome numbers and geographical distribution. *Plant Species Biology* 16: 49-68.

- Watanabe, K., T. Yahara, G. Hashimoto, Y. Nagatani, A. Soejima, T. Kawahara y M. Nakazawa. 2007. Chromosome numbers and karyotypes in Asteraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 644-655.
- Weiss-Schneeweiss, H., T. F. Stuessy y J. L. Villaseñor. 2009. Chromosome numbers, karyotypes, and evolution in *Melampodium* (Asteraceae). *International Journal of Plant Science* 170:1168-1182.
- Wendel, J. F. 2000. Genome evolution in polyploids. *Plant Molecular Biology* 42: 225-249.
- White, M. J. D. 1978. Modes of Speciation. W. H. Freeman and Company. San Francisco. 455 p.
- Wilson, D. 1983. Karyotypes of *Tragopogon* (Compositae: Lactuceae). *Brittonia* 35: 341-350.
- Winkler, H. 1916. Über die experimente erzeugung von pflanzen miy abweichenden chromosomenzahlen. *Zeitschrift Fur Botanik* 8: 417-531.
- Winge, Ö. 1917. The chromosomes: their number and general importance. En R.C. Jackson y D. Hauber, (eds), *Polyploidy*. Págs. 131-275. Stroudsbery, Hutchinson Ross. E. U. A.
- Wolfe, K. H. 2001. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Natural Review of Genetics* 2: 333-341.
- Zhao, Z. y B. L. Turner. 1993. Documented chromosomes numbers 1993: 3. Miscellaneous U.S.A. and species, mostly Asteraceae. *Sida* 15: 649-653.
- Zonneveld, B. J. M., I J. Leitch y M. D. Bennett. 2005. First nuclear DNA amounts in more than 300 angiosperms. *Annals of Botany* 96: 229-244.

APÉNDICE. Tablas del contenido de ADN nuclear de cada uno de los individuos. Se muestran las 3 repeticiones para cada uno de los 5 individuos de cada una de las 14 especies de Asteraceae de este trabajo y sus números de colecta de campo.

Tabla 1. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Ageratina pazcuarensis*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidía | Media Agera | Media Zea | CV Agera | CV Zea | No de núcleos | Contenido | Tamaño |
|------------------------|------------------------------|------------------------|----------------|--------------|--------------|------------|------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| | | | | | | | | 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | del genoma 1Cx (Mpb) |
| | | | <i>Agera</i> | <i>Zea</i> | <i>Agera</i> | <i>Zea</i> | | | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 1-1 | 3x | 52 | 68 | 5.00 | 5.00 | 26040 | 4.155 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 1-2 | 3x | 49 | 65 | 5.00 | 5.10 | 15405 | 4.096 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 1-3 | 3x | 48 | 64 | 5.00 | 5.00 | 16436 | 4.074 | |
| \bar{X} | | | | | | | 57981 | 4.103 ± 0.0197 | 1337 |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 2-1 | 3x | 49 | 64 | 5.00 | 5.00 | 14641 | 4.159 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 2-2 | 3x | 51 | 68 | 4.90 | 4.41 | 14279 | 4.075 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 2-3 | 3x | 50 | 66 | 5.00 | 3.79 | 12448 | 4.116 | |
| \bar{X} | | | | | | | 41368 | 4.117 ± 0.0198 | 1342 |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 3-1 | 3x | 50 | 64 | 2.00 | 2.34 | 18015 | 4.244 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 3-2 | 3x | 50 | 64 | 3.00 | 3.13 | 10549 | 4.244 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 3-3 | 3x | 50 | 64 | 3.00 | 3.10 | 10996 | 4.244 | |
| \bar{X} | | | | | | | 49560 | 4.244 ± 0.0000 | 1383 |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 4-1 | 2x | 49 | 65 | 3.06 | 3.08 | 11002 | 4.096 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 4-2 | 2x | 47 | 62 | 4.26 | 3.23 | 10001 | 4.118 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 4-3 | 2x | 44 | 58 | 3.41 | 3.45 | 18836 | 4.121 | |
| \bar{X} | | | | | | | 39839 | 4.112 ± 0.0064 | 1340 |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 5-1 | 2x | 52 | 67 | 2.88 | 3.73 | 15032 | 4.216 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 5-2 | 2x | 50 | 64 | 4.00 | 3.13 | 15447 | 4.244 | |
| <i>A. pazcuarensis</i> | 5-3 | 2x | 48 | 62 | 3.13 | 3.23 | 14809 | 4.266 | |
| \bar{X} | | | | | | | 45288 | 4.222 ± 0.0093 | 1376 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 234036 | 4.161 ± 0.0298 | 1356 |

\bar{X}_p = Media de la población

Mpb= Millones de pares de bases de nucleótidos del grupo de cromosomas monoploide (1Cx)

Tabla 2. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Ageratina petiolaris*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidía | Media | | CV | | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|----------------------|------------------------------|------------------------|-------|-----|-------|------|------------------|--|---|
| | | | Agera | Zea | Agera | Zea | | | |
| <i>A. petiolaris</i> | 1-1 | 2x | 46 | 75 | 3.26 | 4.00 | 17020 | 3.332 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 1-2 | 2x | 50 | 83 | 4.00 | 4.22 | 11187 | 3.273 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 1-3 | 2x | 51 | 85 | 3.92 | 4.71 | 11865 | 3.260 | |
| \bar{X} | | | | | | | 40072 | 3.288 ± 0.0181 | 1607 |
| <i>A. petiolaris</i> | 2-1 | 2x | 52 | 86 | 3.85 | 4.07 | 11232 | 3.285 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 2-2 | 2x | 52 | 88 | 3.85 | 3.98 | 10880 | 3.210 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 2-3 | 2x | 53 | 89 | 3.77 | 3.93 | 11100 | 3.235 | |
| \bar{X} | | | | | | | 33212 | 3.243 ± 0.0180 | 1589 |
| <i>A. petiolaris</i> | 3-1 | 2x | 49 | 86 | 4.08 | 5.00 | 11366 | 3.095 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 3-2 | 2x | 49 | 88 | 4.09 | 4.98 | 12243 | 3.025 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 3-3 | 2x | 51 | 90 | 4.90 | 4.98 | 12831 | 3.079 | |
| \bar{X} | | | | | | | 36440 | 3.066 ± 0.0170 | 1499 |
| <i>A. petiolaris</i> | 4-1 | 2x | 48 | 84 | 4.17 | 4.96 | 16621 | 3.104 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 4-2 | 2x | 49 | 87 | 4.08 | 4.60 | 10211 | 3.060 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 4-3 | 2x | 49 | 87 | 5.00 | 4.02 | 10038 | 3.060 | |
| \bar{X} | | | | | | | 36876 | 3.074 ± 0.0120 | 1503 |
| <i>A. petiolaris</i> | 5-1 | 2x | 51 | 91 | 3.92 | 4.95 | 10187 | 3.045 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 5-2 | 2x | 49 | 88 | 4.99 | 3.98 | 14686 | 3.025 | |
| <i>A. petiolaris</i> | 5-3 | 2x | 50 | 90 | 4.00 | 4.40 | 10000 | 3.018 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34873 | 3.029 ± 0.0066 | 1481 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 181467 | 3.140 ± 0.0523 | 1536 |

Tabla 3. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Bidens bigelovii* var. *angustiloba*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media Bidens | Media Zea | CV Bidens | CV Zea | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|---------------------|------------------------|------------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|--|-----------------------------|
| | | | Bidens | Zea | Bidens | Zea | | | |
| <i>B. bigelovii</i> | 1-1 | 2X | 47 | 152 | 4.26 | 4.28 | 17462 | 1.680 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 1-2 | 2X | 49 | 161 | 4.08 | 3.73 | 17617 | 1.653 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 1-3 | 2X | 49 | 161 | 4.99 | 3.73 | 14477 | 1.653 | |
| \bar{X} | | | | | | | 49556 | 1.662 ± 0.0090 | 812 |
| <i>B. bigelovii</i> | 2-1 | 2X | 48 | 159 | 4.99 | 4.09 | 13350 | 1.640 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 2-2 | 2X | 53 | 170 | 3.77 | 4.41 | 10790 | 1.694 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 2-3 | 2X | 51 | 168 | 3.92 | 3.87 | 10016 | 1.649 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34156 | 1.661 ± 0.0167 | 812 |
| <i>B. bigelovii</i> | 3-1 | 2X | 51 | 163 | 4.90 | 3.37 | 14098 | 1.699 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 3-2 | 2X | 51 | 165 | 3.92 | 3.33 | 13963 | 1.679 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 3-3 | 2X | 50 | 162 | 4.89 | 3.09 | 12836 | 1.677 | |
| \bar{X} | | | | | | | 40897 | 1.685 ± 0.0057 | 824 |
| <i>B. bigelovii</i> | 4-1 | 2X | 49 | 163 | 4.08 | 3.68 | 13650 | 1.633 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 4-2 | 2X | 51 | 166 | 3.92 | 3.31 | 13793 | 1.669 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 4-3 | 2X | 50 | 163 | 4.00 | 3.07 | 19890 | 1.666 | |
| \bar{X} | | | | | | | 47333 | 1.656 ± 0.0094 | 810 |
| <i>B. bigelovii</i> | 5-1 | 2X | 50 | 158 | 4.89 | 2.85 | 17124 | 1.719 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 5-2 | 2X | 52 | 158 | 4.90 | 3.80 | 10166 | 1.753 | |
| <i>B. bigelovii</i> | 5-3 | 2X | 52 | 165 | 4.90 | 3/64 | 21179 | 1.679 | |
| \bar{X} | | | | | | | 48469 | 1.717 ± 0.0175 | 840 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 220411 | 1.676 ± 0.0114 | 819 |

Tabla 4. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Bidens odorata*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media Bidens | Media Zea | CV Bidens | CV Zea | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|-------------------|------------------------|------------------|--------------|-----------|-----------|--------|---------------|--|-----------------------------|
| <i>B. odorata</i> | 1-1 | 2x | 53 | 160 | 3.85 | 3.75 | 15640 | 1.766 | |
| <i>B. odorata</i> | 1-2 | 2x | 51 | 161 | 4.90 | 4.01 | 17612 | 1.721 | |
| <i>B. odorata</i> | 1-3 | 2x | 51 | 161 | 4.80 | 4.04 | 16409 | 1.721 | |
| \bar{X} | | | | | | | 49661 | 1.736 ± 0.0122 | 849 |
| <i>B. odorata</i> | 2-1 | 2x | 52 | 167 | 4.90 | 4.95 | 14283 | 1.692 | |
| <i>B. odorata</i> | 2-2 | 2x | 50 | 162 | 5.00 | 4.83 | 16725 | 1.678 | |
| <i>B. odorata</i> | 2-3 | 2x | 52 | 167 | 3.92 | 4.89 | 14356 | 1.692 | |
| \bar{X} | | | | | | | 45364 | 1.687 ± 0.0038 | 825 |
| <i>B. odorata</i> | 3-1 | 2x | 60 | 175 | 4.17 | 2.86 | 13872 | 1.852 | |
| <i>B. odorata</i> | 3-2 | 2x | 50 | 150 | 4.90 | 4.03 | 11396 | 1.811 | |
| <i>B. odorata</i> | 3-3 | 2x | 54 | 159 | 3.70 | 3.14 | 17135 | 1.845 | |
| \bar{X} | | | | | | | 42403 | 1.836 ± 0.0103 | 898 |
| <i>B. odorata</i> | 4-1 | 2x | 50 | 149 | 4.90 | 3.367 | 14267 | 1.823 | |
| <i>B. odorata</i> | 4-2 | 2x | 48 | 148 | 3.13 | 2.98 | 13999 | 1.762 | |
| <i>B. odorata</i> | 4-3 | 2x | 48 | 147 | 4.98 | 4.05 | 15571 | 1.774 | |
| \bar{X} | | | | | | | 43837 | 1.786 ± 0.0152 | 873 |
| <i>B. odorata</i> | 5-1 | 2x | 51 | 149 | 4.90 | 3.38 | 13985 | 1.859 | |
| <i>B. odorata</i> | 5-2 | 2x | 51 | 152 | 4.90 | 2.98 | 15890 | 1.828 | |
| <i>B. odorata</i> | 5-3 | 2x | 49 | 148 | 4.89 | 4.05 | 14036 | 1.799 | |
| \bar{X} | | | | | | | 43911 | 1.828 ± 0.0141 | 894 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 2256176 | 1.774 ± 0.0282 | 868 |

Tabla 5. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Bidens pilosa*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidía | Media Bidens | Media Zea | CV Bidens | CV Zea | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|------------------|------------------------|------------------|--------------|-----------|-----------|--------|---------------|--|-----------------------------|
| <i>B. pilosa</i> | 1-1 | 6x | 50 | 78 | 3.00 | 3.21 | 14461 | 5.827 | |
| <i>B. pilosa</i> | 1-2 | 6x | 50 | 79 | 3.00 | 3.90 | 10910 | 5.902 | |
| <i>B. pilosa</i> | 1-3 | 6x | 51 | 79 | 3.96 | 3.16 | 11491 | 5.868 | |
| \bar{X} | | | | | | | 32862 | 5.866 ± 0.0177 | 956 |
| <i>B. pilosa</i> | 2-1 | 6x | 51 | 77 | 2.94 | 2.60 | 11068 | 6.021 | |
| <i>B. pilosa</i> | 2-2 | 6x | 51 | 77 | 2.94 | 2.67 | 11721 | 6.021 | |
| <i>B. pilosa</i> | 2-3 | 6x | 51 | 76 | 3.06 | 2.70 | 11553 | 6.010 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34342 | 6.017 ± 0.0030 | 981 |
| <i>B. pilosa</i> | 3-1 | 6x | 49 | 74 | 3.06 | 2.70 | 11532 | 6.019 | |
| <i>B. pilosa</i> | 3-2 | 6x | 52 | 79 | 2.80 | 2.56 | 12143 | 6.060 | |
| <i>B. pilosa</i> | 3-3 | 6x | 50 | 76 | 4.00 | 3.19 | 12204 | 5.980 | |
| \bar{X} | | | | | | | 35876 | 6.020 ± 0.0190 | 981 |
| <i>B. pilosa</i> | 4-1 | 6x | 50 | 76 | 3.00 | 3.29 | 12300 | 5.980 | |
| <i>B. pilosa</i> | 4-2 | 6x | 51 | 76 | 2.94 | 2.63 | 12238 | 6.010 | |
| <i>B. pilosa</i> | 4-3 | 6x | 50 | 76 | 3.00 | 3.29 | 12475 | 5.980 | |
| \bar{X} | | | | | | | 37017 | 5.990 ± 0.0082 | 976 |
| <i>B. pilosa</i> | 5-1 | 6x | 50 | 76 | 4.00 | 3.29 | 19470 | 5.980 | |
| <i>B. pilosa</i> | 5-2 | 6x | 49 | 75 | 4.08 | 3.33 | 20349 | 5.939 | |
| <i>B. pilosa</i> | 5-3 | 6x | 51 | 78 | 2.94 | 3.21 | 11841 | 5.935 | |
| \bar{X} | | | | | | | 51660 | 5.952 ± 0.0117 | 970 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 191757 | 5.969 ± 0.0284 | 973 |

Tabla 6. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Conyza bonariensis*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media Conyza | Media Zea | CV Conyza | CV Zea | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx |
|-----------------------|------------------------|------------------|--------------|-----------|-----------|--------|---------------|--|-----------------------|
| <i>C. bonariensis</i> | 1-1 | 6x | 49 | 67 | 3.00 | 4.97 | 15,012 | 3.973 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 1-2 | 6x | 52 | 66 | 3.85 | 3.79 | 10,097 | 4.280 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 1-3 | 6x | 51 | 65 | 4.90 | 3.85 | 10,636 | 4.263 | |
| | \bar{X} | | | | | | 36,375 | 4.172 ± 0.0813 | 680 |
| <i>C. bonariensis</i> | 2-1 | 6x | 51 | 67 | 3.92 | 4.48 | 11,490 | 4.135 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 2-2 | 6x | 50 | 65 | 4.00 | 4.62 | 11,073 | 4.179 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 2-3 | 6x | 51 | 66 | 3.92 | 3.79 | 10,437 | 4.198 | |
| | \bar{X} | | | | | | 33,000 | 4.171 ± 0.0152 | 680 |
| <i>C. bonariensis</i> | 3-1 | 6x | 50 | 62 | 4.00 | 3.23 | 11,017 | 4.381 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 3-2 | 6x | 50 | 63 | 3.00 | 3.17 | 10,770 | 4.312 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 3-3 | 6x | 50 | 63 | 4.00 | 3.17 | 18,547 | 4.312 | |
| | \bar{X} | | | | | | 40,334 | 4.335 ± 0.0188 | 706 |
| <i>C. bonariensis</i> | 4-1 | 6x | 51 | 68 | 3.92 | 3.68 | 11,822 | 4.075 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 4-2 | 6x | 50 | 68 | 4.00 | 3.68 | 11,001 | 3.995 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 4-3 | 6x | 51 | 70 | 3.92 | 4.29 | 11,555 | 3.995 | |
| | \bar{X} | | | | | | 33,778 | 4.009 ± 0.0282 | 653 |
| <i>C. bonariensis</i> | 5-1 | 6x | 53 | 70 | 3.77 | 3.57 | 11,670 | 4.113 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 5-2 | 6x | 50 | 65 | 4.00 | 3.85 | 11,893 | 4.179 | |
| <i>C. bonariensis</i> | 5-3 | 6x | 50 | 66 | 4.00 | 4.55 | 12,553 | 4.116 | |
| | \bar{X} | | | | | | 35,115 | 4.136 ± 0.0176 | 674 |
| | \bar{X}_p | | | | | | 179,600 | 4.165 ± 0.0520 | 679 |

Tabla 8. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Jaegeria hirta*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media | Media | CV | CV | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|-----------------|------------------------|------------------|-------|-------|-------|-------|---------------|--|-----------------------------|
| | | | Jaege | Solan | Jaege | Solan | | | |
| <i>J. hirta</i> | 1-1 | 4x | 49 | 98 | 4.08 | 3.57 | 14138 | 3.920 | |
| <i>J. hirta</i> | 1-2 | 4x | 50 | 101 | 4.08 | 2.97 | 14610 | 3.959 | |
| <i>J. hirta</i> | 1-3 | 4x | 51 | 103 | 2.94 | 2.91 | 14075 | 3.958 | |
| \bar{X} | | | | | | | 42823 | 3.948 ± 0.0088 | 965 |
| <i>J. hirta</i> | 2-1 | 4x | 50 | 98 | 5.00 | 2.55 | 14375 | 3.842 | |
| <i>J. hirta</i> | 2-2 | 4x | 49 | 97 | 4.08 | 2.58 | 14805 | 3.880 | |
| <i>J. hirta</i> | 2-3 | 4x | 49 | 98 | 4.00 | 2.55 | 12607 | 3.920 | |
| \bar{X} | | | | | | | 41787 | 3.881 ± 0.0184 | 949 |
| <i>J. hirta</i> | 3-1 | 4x | 50 | 99 | 3.00 | 3.03 | 10422 | 3.881 | |
| <i>J. hirta</i> | 3-2 | 4x | 50 | 99 | 4.00 | 3.03 | 10064 | 3.881 | |
| <i>J. hirta</i> | 3-3 | 4x | 48 | 95 | 5.00 | 3.68 | 11008 | 3.879 | |
| \bar{X} | | | | | | | 31494 | 3.880 ± 0.0054 | 949 |
| <i>J. hirta</i> | 4-1 | 4x | 49 | 96 | 4.08 | 3.13 | 15437 | 3.840 | |
| <i>J. hirta</i> | 4-2 | 4x | 45 | 89 | 5.00 | 3.93 | 18147 | 3.876 | |
| <i>J. hirta</i> | 4-3 | 4x | 49 | 97 | 5.00 | 3.61 | 17789 | 3.880 | |
| \bar{X} | | | | | | | 51363 | 3.865 ± 0.0104 | 945 |
| <i>J. hirta</i> | 5-1 | 4x | 48 | 95 | 5.00 | 3.98 | 14442 | 3.879 | |
| <i>J. hirta</i> | 5-2 | 4x | 50 | 98 | 4.00 | 3.61 | 11031 | 3.842 | |
| <i>J. hirta</i> | 5-3 | 4x | 49 | 95 | 3.06 | 3.68 | 10516 | 3.800 | |
| \bar{X} | | | | | | | 35984 | 3.840 ± 0.0186 | 934 |
| \bar{X}_ρ | | | | | | | 203451 | 3.843 ± 0.0248 | 948 |

Tabla 9. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Melampodium longifolium*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media | Media | CV | CV | No de núcleos | Contenido | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|-----------------------|------------------------------|------------------------|-------|-------|-------|------|------------------|---------------------------------------|---|
| | | | Melam | Zea | Melam | Zea | | 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | |
| <i>M. longifolium</i> | 1-1 | 2x | 50 | 156 | 4.90 | 4.17 | 12,872 | 1.741 | |
| <i>M. longifolium</i> | 1-2 | 2x | 51 | 162 | 4.86 | 4.32 | 15,422 | 1.710 | |
| <i>M. longifolium</i> | 1-3 | 2x | 45 | 155 | 4.99 | 4.96 | 14,359 | 1.577 | |
| \bar{X} | | | | | | | 42,653 | 1.676 ± 0.0411 | 819 |
| <i>M. longifolium</i> | 2-1 | 2x | 44 | 150 | 4.95 | 3.67 | 10,072 | 1.594 | |
| <i>M. longifolium</i> | 2-2 | 2x | 47 | 159 | 4.95 | 3.77 | 17,241 | 1.606 | |
| <i>M. longifolium</i> | 2-3 | 2x | 47 | 156 | 4.98 | 4.17 | 16,688 | 1.637 | |
| \bar{X} | | | | | | | 44,001 | 1.612 ± 0.0104 | 788 |
| <i>M. longifolium</i> | 3-1 | 2x | 48 | 142 | 5.00 | 3.17 | 18,145 | 1.836 | |
| <i>M. longifolium</i> | 3-2 | 2x | 46 | 140 | 5.00 | 3.21 | 11,432 | 1.785 | |
| <i>M. longifolium</i> | 3-3 | 2x | 55 | 164 | 4.90 | 3.96 | 12,588 | 1.822 | |
| \bar{X} | | | | | | | 32,165 | 1.814 ± 0.0124 | 887 |
| <i>M. longifolium</i> | 4-1 | 2x | 49 | 157 | 5.00 | 3.82 | 10,097 | 1.695 | |
| <i>M. longifolium</i> | 4-2 | 2x | 44 | 142 | 5.00 | 4.63 | 14,198 | 1.683 | |
| <i>M. longifolium</i> | 4-3 | 2x | 51 | 161 | 4.90 | 4.66 | 13,211 | 1.721 | |
| \bar{X} | | | | | | | 37,506 | 1.699 ± 0.091 | 831 |
| <i>M. longifolium</i> | 5-1 | 2x | 55 | 163 | 4.95 | 4.58 | 11,638 | 1.833 | |
| <i>M. longifolium</i> | 5-2 | 2x | 56 | 163 | 4.86 | 3.59 | 10,891 | 1.866 | |
| <i>M. longifolium</i> | 5-3 | 2x | 53 | 160 | 4.88 | 3.33 | 11,540 | 1.799 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34,069 | 1.832 ± 0.0163 | 895 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 190,394 | 1.727 ± 0.0437 | 844 |

Tabla 10. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Melampodium perfoliatum*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media | | CV | CV | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx |
|-----------------------|------------------------------|------------------------|-------|-----|------|------|------------------|--|--------------------------------|
| | | | Melam | Zea | | | | | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 1-1 | 2x | 50 | 69 | 4.80 | 4.07 | 14,120 | 3.937 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 1-2 | 2x | 48 | 68 | 4.90 | 3.68 | 14,010 | 3.835 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 1-3 | 2x | 48 | 68 | 4.21 | 3.68 | 13,350 | 3.835 | |
| \bar{X} | | | | | | | 41,480 | 3.869 ± 0.0278 | 1892 |
| <i>M. perfoliatum</i> | 2-1 | 2x | 50 | 76 | 5.00 | 4.96 | 10,083 | 3.574 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 2-2 | 2x | 48 | 74 | 4.95 | 4.05 | 16,726 | 3.524 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 2-3 | 2x | 50 | 74 | 4.90 | 4.73 | 17,427 | 3.671 | |
| \bar{X} | | | | | | | 44,236 | 3.589 ± 0.0352 | 1755 |
| <i>M. perfoliatum</i> | 3-1 | 2x | 50 | 66 | 4.00 | 4.55 | 10,543 | 4.116 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 3-2 | 2x | 48 | 65 | 4.90 | 3.85 | 15,419 | 4.012 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 3-3 | 2x | 48 | 65 | 4.95 | 3.85 | 12,903 | 4.012 | |
| \bar{X} | | | | | | | 38,865 | 4.046 ± 0.0283 | 1978 |
| <i>M. perfoliatum</i> | 4-1 | 2x | 47 | 65 | 5.05 | 4.00 | 12,232 | 3.928 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 4-2 | 2x | 50 | 78 | 5.00 | 3.85 | 13,735 | 3.483 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 4-3 | 2x | 50 | 78 | 5.00 | 3.68 | 11,340 | 3.484 | |
| \bar{X} | | | | | | | 37,307 | 3.631 ± 0.1211 | 1775 |
| <i>M. perfoliatum</i> | 5-1 | 2x | 47 | 66 | 4.97 | 5.00 | 10,080 | 3.869 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 5-2 | 2x | 47 | 66 | 5.04 | 5.00 | 12,143 | 3.869 | |
| <i>M. perfoliatum</i> | 5-3 | 2x | 48 | 72 | 4.98 | 4.96 | 10,072 | 3.622 | |
| \bar{X} | | | | | | | 32,295 | 3.787 ± 0.0672 | 1852 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 194,183 | 3.784 ± 0.0819 | 1850 |

Tabla 11. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Piqueria trinervia*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media Piquer | Media Zea | CV Piquer | CV Zea | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx |
|---------------------|------------------------------|------------------------|-----------------|--------------|--------------|-----------|------------------|--|--------------------------------|
| | | | | | | | | | |
| <i>P. trinervia</i> | 1-1 | 2x | 50 | 77 | 4.00 | 3.42 | 10952 | 3.721 | |
| <i>P. trinervia</i> | 1-2 | 2x | 51 | 74 | 4.00 | 3.38 | 12519 | 3.744 | |
| <i>P. trinervia</i> | 1-3 | 2x | 51 | 73 | 3.92 | 4.79 | 13283 | 3.796 | |
| \bar{X} | | | | | | | 36754 | 3.754 ± 0.0181 | 1836 |
| <i>P. trinervia</i> | 2-1 | 2x | 52 | 74 | 2.88 | 3.38 | 20597 | 3.818 | |
| <i>P. trinervia</i> | 2-2 | 2x | 51 | 73 | 2.94 | 3.42 | 18805 | 3.796 | |
| <i>P. trinervia</i> | 2-3 | 2x | 51 | 73 | 2.94 | 2.74 | 10861 | 3.796 | |
| \bar{X} | | | | | | | 50263 | 3.803 ± 0.0059 | 1860 |
| <i>P. trinervia</i> | 3-1 | 2x | 51 | 72 | 2.94 | 2.78 | 11042 | 3.848 | |
| <i>P. trinervia</i> | 3-2 | 2x | 51 | 73 | 2.94 | 2.74 | 10391 | 3.796 | |
| <i>P. trinervia</i> | 3-3 | 2x | 50 | 72 | 4.00 | 2.78 | 11473 | 3.773 | |
| \bar{X} | | | | | | | 32906 | 3.806 ± 0.018 | 1861 |
| <i>P. trinervia</i> | 4-1 | 2x | 50 | 70 | 3.00 | 2.14 | 13750 | 3.881 | |
| <i>P. trinervia</i> | 4-2 | 2x | 51 | 71 | 2.94 | 2.11 | 14088 | 3.902 | |
| <i>P. trinervia</i> | 4-3 | 2x | 51 | 71 | 2.98 | 2.11 | 14680 | 3.902 | |
| \bar{X} | | | | | | | 42518 | 3.895 ± 0.0057 | 1904 |
| <i>P. trinervia</i> | 5-1 | 2x | 49 | 69 | 3.06 | 2.17 | 10020 | 3.858 | |
| <i>P. trinervia</i> | 5-2 | 2x | 50 | 70 | 2.00 | 2.14 | 10384 | 3.881 | |
| <i>P. trinervia</i> | 5-3 | 2x | 50 | 69 | 1.96 | 2.17 | 10510 | 3.937 | |
| \bar{X} | | | | | | | 30914 | 3.892 ± 0.0191 | 1903 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 193,355 | 3.830 ± 0.0275 | 1873 |

Tabla 12. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Simsia amplexicaulis*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidía | Media | Media | CV | CV | No de núcleos | Contenido | Tamaño del genoma |
|-------------------------|------------------------|------------------|-------|-------|------|------|---------------|----------------|-------------------|
| | | | Sims | Zea | Sims | Zea | | 2C de ADN (pg) | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 1-2 | 2X | 48 | 94 | 4.17 | 4.26 | 10018 | 4.642 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 1-2 | 2X | 50 | 96 | 4.90 | 3.65 | 18099 | 4.734 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 1-3 | 2X | 49 | 96 | 4.08 | 3.65 | 18512 | 4.639 | |
| \bar{X} | | | | | | | 46629 | 4.672 ± 0.0254 | 2284 |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 2-1 | 2X | 51 | 98 | 2.94 | 2.04 | 11319 | 4.730 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 2-2 | 2X | 51 | 96 | 1.94 | 2.08 | 11224 | 4.821 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 2-3 | 2X | 51 | 98 | 3.92 | 3.06 | 12667 | 4.730 | |
| \bar{X} | | | | | | | 35210 | 4.763 ± 0.0269 | 2329 |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 3-1 | 2X | 49 | 96 | 2.04 | 2.08 | 10763 | 4.639 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 3-2 | 2X | 49 | 96 | 4.08 | 3.13 | 11545 | 4.639 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 3-3 | 2X | 51 | 98 | 4.00 | 3.06 | 12453 | 4.638 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34761 | 4.638 ± 0.0003 | 2268 |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 4-1 | 2X | 52 | 101 | 2.48 | 2.48 | 10345 | 4.680 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 4-2 | 2X | 53 | 103 | 2.43 | 2.43 | 12281 | 4.677 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 4-3 | 2X | 51 | 100 | 2.94 | 2.50 | 12228 | 4.636 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34854 | 4.664 ± 0.0116 | 2281 |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 5-1 | 2X | 48 | 94 | 3.13 | 3.72 | 11799 | 4.642 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 5-2 | 2X | 47 | 92 | 4.26 | 3.80 | 11568 | 4.644 | |
| <i>S. amplexicaulis</i> | 5-3 | 2X | 49 | 96 | 3.06 | 3.13 | 10527 | 4.639 | |
| \bar{X} | | | | | | | 33894 | 4.642 ± 0.0019 | 2270 |
| \bar{X}_p | | | | | | | | 4.676 ± 0.0227 | 2286 |

Tabla 13. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Stevia tomentosa*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media | Media | CV | CV | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx |
|---------------------|------------------------|------------------|--------|-------|--------|------|---------------|--|-----------------------|
| | | | Stevia | Zea | Stevia | Zea | | | |
| <i>S. tomentosa</i> | 1-1 | 3x | 49 | 105 | 4.08 | 3.33 | 16,311 | 2.535 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 1-2 | 3x | 49 | 102 | 5.10 | 3.48 | 14,534 | 2.609 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 1-3 | 3x | 49 | 104 | 5.10 | 3.85 | 18,493 | 2.559 | |
| \bar{X} | | | | | | | 49,348 | 2.568 ± 0.0178 | 837 |
| <i>S. tomentosa</i> | 2-1 | 3x | 50 | 104 | 4.00 | 2.40 | 14,339 | 2.612 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 2-2 | 3x | 48 | 101 | 4.17 | 2.48 | 16,088 | 2.582 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 2-3 | 3x | 52 | 107 | 4.81 | 3.27 | 13,483 | 2.640 | |
| \bar{X} | | | | | | | 43,910 | 2.611 ± 0.0137 | 851 |
| <i>S. tomentosa</i> | 3-1 | 3x | 51 | 102 | 4.90 | 3.43 | 11,547 | 2.716 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 3-2 | 3x | 52 | 104 | 3.85 | 2.88 | 12,449 | 2.716 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 3-3 | 3x | 49 | 100 | 5.10 | 3.50 | 13,821 | 2.662 | |
| \bar{X} | | | | | | | 37,817 | 2.698 ± 0.0147 | 880 |
| <i>S. tomentosa</i> | 4-1 | 3x | 52 | 109 | 3.85 | 2.75 | 19,409 | 2.591 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 4-2 | 3x | 51 | 109 | 3.92 | 2.75 | 14,928 | 2.542 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 4-3 | 3x | 48 | 103 | 4.17 | 3.40 | 18,228 | 2.531 | |
| \bar{X} | | | | | | | 52,565 | 2.554 ± 0.0150 | 833 |
| <i>S. tomentosa</i> | 5-1 | 3x | 54 | 112 | 4.63 | 3.57 | 19,332 | 2.619 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 5-2 | 3x | 50 | 102 | 4.00 | 2.94 | 10,047 | 2.663 | |
| <i>S. tomentosa</i> | 5-3 | 3x | 51 | 104 | 4.90 | 3.85 | 10,687 | 2.664 | |
| \bar{X} | | | | | | | 40,066 | 2.649 ± 0.0121 | 863 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 223,706 | 2.616 ± 0.0264 | 853 |

Tabla 14. Contenido de ADN nuclear y tamaño del genoma de *Stevia viscida*.

| Especie | Individuo y repetición | Nivel de ploidia | Media | | CV | CV | No de núcleos | Contenido 2C de ADN (pg) $\bar{X} \pm EE$ | Tamaño del genoma 1Cx (Mpb) |
|-------------------|------------------------|------------------|--------|-----|------|------|---------------|--|-----------------------------|
| | | | Stevia | Zea | | | | | |
| <i>S. viscida</i> | 1-1 | 3x | 54 | 101 | 3.70 | 3.96 | 10,035 | 2.905 | |
| <i>S. viscida</i> | 1-2 | 3x | 53 | 100 | 2.83 | 3.50 | 10,047 | 2.879 | |
| <i>S. viscida</i> | 1-3 | 3x | 52 | 98 | 2.88 | 3.57 | 10,045 | 2.883 | |
| \bar{X} | | | | | | | 30,927 | 2.889 ± 0.0066 | 942 |
| <i>S. viscida</i> | 2-1 | 3x | 49 | 95 | 4.08 | 4.21 | 10,016 | 2.802 | |
| <i>S. viscida</i> | 2-2 | 3x | 50 | 98 | 4.00 | 4.59 | 10,232 | 2.772 | |
| <i>S. viscida</i> | 2-3 | 3x | 50 | 100 | 4.00 | 5.00 | 11,006 | 2.716 | |
| \bar{X} | | | | | | | 32,154 | 2.763 ± 0.0206 | 901 |
| <i>S. viscida</i> | 3-1 | 3x | 51 | 89 | 3.92 | 2.81 | 14,165 | 3.113 | |
| <i>S. viscida</i> | 3-2 | 3x | 50 | 90 | 4.00 | 2.73 | 13,711 | 3.018 | |
| <i>S. viscida</i> | 3-3 | 3x | 49 | 88 | 3.06 | 2.84 | 14,060 | 3.025 | |
| \bar{X} | | | | | | | 41,935 | 3.051 ± 0.0241 | 994 |
| <i>S. viscida</i> | 4-1 | 3x | 50 | 92 | 4.00 | 3.26 | 13,511 | 2.953 | |
| <i>S. viscida</i> | 4-2 | 3x | 49 | 89 | 5.00 | 3.37 | 10,654 | 2.991 | |
| <i>S. viscida</i> | 4-3 | 3x | 50 | 91 | 4.00 | 2.75 | 13,531 | 2.985 | |
| \bar{X} | | | | | | | 37,696 | 2.976 ± 0.0096 | 970 |
| <i>S. viscida</i> | 5-1 | 3x | 49 | 95 | 5.00 | 3.16 | 12,208 | 2.802 | |
| <i>S. viscida</i> | 5-2 | 3x | 51 | 99 | 4.90 | 4.04 | 11,202 | 2.799 | |
| <i>S. viscida</i> | 5-3 | 3x | 51 | 98 | 4.90 | 4.08 | 11,160 | 2.827 | |
| \bar{X} | | | | | | | 34,570 | 2.809 ± 0.0072 | 916 |
| \bar{X}_p | | | | | | | 177,282 | 2.898 ± 0.0528 | 945 |