

104



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANALISIS CARIOLOGICO DE VARIAS ESPECIES DE *Caesalpinia* (Leguminosae: Caesalpinioideae) ENDÉMICAS DE LA DEPRESION DEL RIO BALSAS Y VALLE DE TEHUACAN - CUICATLAN, MEXICO.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G O  
P R E S E N T A :  
MONSERRAT IBARRA GONZALEZ



DIRECTOR DE TESIS:  
M. en C. PEDRO MÉRCADO RUARO.

FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ES/2002R

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA 14  
MEXICO

**M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA**

Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

Análisis cariológico de varias especies de Caesalpinia (Leguminosae: Caesalpinioideae)  
endémicas de la Depresión del Río Balsas y Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México.

realizado por Monserrat Ibarra González.

con número de cuenta 9560168-1 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

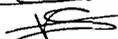
Director de Tesis

Propietario M. en C. Pedro Mercado Ruaro. 

Propietario Biól. José Luis Contreras Jiménez. 

Propietario Dr. Alfonso Delgado Salinas. 

Suplente Biól. Miguel Angel Meneses Pérez. 

Suplente M. en C. Susana Valencia Avalos. 

FACULTAD DE CIENCIAS  
U N A M.

Consejo Departamental de BIOLOGIA 



Dra. Patricia Ramos Morales.

DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGIA

## DEDICATORIAS:

*A mi madre por su cariño incondicional  
y sobre todo por su ejemplo de valor y tenacidad.*

*A mi abuela por transmitirme  
su enorme amor y respeto hacia la naturaleza y  
enseñarnos que con perseverancia todo se logra.*

cuidarme siempre, no solo en las prácticas de campo, de no ahogarme ni en mis problemas, ni en el agua, a Renato y José Juan por las travesuras y locuras compartidas dentro y fuera de clases, a todos ustedes gracias por crecer conmigo.

A F. Ángel Lámbarri por su cariño, por compartir conmigo los momentos más bonitos y sobrellevar los malos siempre, y sobretodo por existir y estar conmigo, a mis primos José Luis, Sandra, Bertha, Mayra, Carmen, Jesús, Enrique, Alvaro, Karina y Sergio, a mis tíos, Aarón, Sergio, Yolanda y Manuela, a mi hermanita Viridiana, a mis padrinos Guillermo y Alba, a mi mamá y a mi abuelita a todos ustedes gracias por enseñarme el valor de la familia, por creer en mí y apoyarme siempre y por enseñarme que la familia no es la que se une por sangre si no la que comparte contigo lo bueno y lo malo y nunca te deja caer, por mostrarme que cuando se quiere algo se lucha hasta que se consigue siendo constante y dando lo mejor, gracias por darme lo mejor de ustedes los quiero mucho.

## CONTENIDO

Resumen .....	1
Introducción.....	2
Antecedentes .....	5
Estudios cromosómicos realizados en el género <i>Caesalpinia</i> .....	6
Números cromosómicos reportados en la literatura para el género <i>Caesalpinia</i> .....	7
Estudios citogenéticos.....	10
Meiosis.....	10
Mitosis .....	10
Cariotipo.....	11
Número cromosómico .....	11
Número básico .....	12
Tamaño absoluto .....	12
Tamaño relativo .....	13
Relación de brazos .....	13
Constricciones secundarias .....	13
Distribución y tamaño de la eucromatina y la heterocromatina .....	14
Cariotipo e idiograma .....	15
Importancia del cariotipo en sistemática.....	15
Evolución del cariotipo .....	16
Mutaciones .....	16
Duplicación.....	17
Delección.....	18
Inversiones.....	18

Translocaciones.....	19
Importancia de los estudios sobre evolución del cariotipo.....	22
Número fundamental.....	22
Simetría-Asimetría.....	23
Planteamiento del problema y justificación.....	25
Objetivos.....	27
Materiales y métodos.....	28
Resultados.....	36
Discusión.....	57
Conclusiones.....	60
Bibliografía.....	61

## RESUMEN

El género *Caesalpinia* presenta una gran variación morfológica en cuanto a estructuras vegetativas y reproductivas, propiciando que su taxonomía sea confusa.

Los estudios citogenéticos han sido empleados en algunos grupos vegetales como una herramienta que ayuda a resolver problemas taxonómicos.

Se realizó el análisis cariológico de 3 especies de *Caesalpinia*: *C. hintonii*, *C. epifanioi* y *C. nelsonii* con el objetivo de ayudar a resolver la taxonomía del género.

Las observaciones se realizaron en células meristemáticas de raíces utilizando la técnica de Feulgen. Para las observaciones meióticas se utilizaron botones florales obtenidos de plantas en invernadero, la tinción se realizó con acetocarmin al 2%.

Los números diploides encontrados en *C. hintonii* y *C. epifanioi* fueron de  $2n = 24$ , mientras que el número haploide para *C. nelsonii* fue  $n = 12$ .

Las fórmulas cariotípicas para los fenotipos Infiernillo y Zicuitaro de *C. hintonii* fueron idénticas:  $8m+4sm$ , mientras que para el fenotipo Valerio Trujano su fórmula resultó ser:  $12m$ .

Para *C. epifanioi* el fenotipo con glándulas presenta una fórmula igual a  $2m+8sm+2st$ , mientras que la fórmula para el fenotipo sin glándulas es:  $4m+8sm$ .

Se propone que el número básico para el género *Caesalpinia* en México es  $x = 12$  y se observa que las características morfológicas se corresponden a las cariológicas y se propone que la tendencia es hacia un incremento en la longitud de la cromatina y hacia cariotipos asimétricos, esto último se observa tanto para *C. hintonii* como para *C. epifanioi*.

Es recomendable para entender mejor las tendencias evolutivas y la taxonomía en este grupo de plantas aumentar el número de estudios al respecto.

## INTRODUCCION

En el mundo existen más de 170 países pero sólo 12 de ellos son considerados como megadiversos, México es uno de estos países que en conjunto albergan entre el 60 y el 70% de la biodiversidad total del planeta. Una de las familias de plantas superiores más ampliamente diversificadas en el mundo es la de las Fabaceae o Leguminosae, ocupando el tercer lugar después de las Asteraceae y Orchidaceae, ésta familia cuenta con 650 géneros y 18,000 especies (Polhill, 1994), en México se encuentra representada por 26 tribus, 135 géneros y de 1,724 a 1,800 especies; de las cuales, 896 son endémicas a México (Sousa y Delgado, 1993).

La familia Leguminosae se divide en tres subfamilias: Caesalpinioideae, Mimosoideae y Papilionoideae, para ésta última el Código Internacional de Nomenclatura Botánica permite una nomenclatura alternativa, reemplazándola por la de Faboideae (Polhill, 1994).

La subfamilia Mimosoideae está formada por plantas arbóreas y herbáceas, casi todas de zonas intertropicales, comprende 40 géneros y aproximadamente 2,500 especies (Judd et al., 1999), sus géneros más representativos son *Acacia* con aproximadamente 500 especies en su mayoría de Australia y Polinesia y *Mimosa* formado por alrededor de 350 especies en gran parte americanas (Gola et al., 1965). La subfamilia Papilionoideae se compone de plantas herbáceas, arbustivas o arbóreas con 419 géneros y 12,615 especies aproximadamente (Judd et al., 1999), dispersas en todo el mundo (Gola et al., 1965).

La subfamilia Caesalpinioideae cuenta con 150 géneros y aproximadamente 2,700 especies (Judd et al., 1999) agrupadas en las Tribus Caesalpinieae, Cassieae, Cercideae y una amalgama entre Detarieae y Amherstieae (Polhill, 1994), las cuales se distribuyen en 3 principales zonas geográficas: Sudamérica, región tropical de África y sureste de Asia (Contreras, 1991).

La tribu Caesalpinieae circunscrita por Polhill y Vidal (1981), contiene alrededor de 47 géneros y 410 especies, concentradas en 8 grupos informales: *Caesalpinia*, *Gleditsia*, *Acrocarpus*, *Peltophorum*, *Poeppegia*, *Pterogyne*, *Dimorphandra* y *Sclerolobium* (Lewis y Schire, 1995).

El grupo *Caesalpinia* se caracteriza por tener flores con sépalo abaxial fuertemente modificado y presentar estructuras de defensa como son aguijones, glándulas y tricomas glandulares en el tallo, hojas y frutos, los miembros del grupo son árboles o arbustos predominantemente de selvas secas y desiertos de los trópicos y subtropicos del Viejo y del Nuevo Mundo (Contreras, 1991).

Polhill y Vidal (1981) mencionan que el grupo *Caesalpinia* contiene 16 géneros y 176 especies, de los cuales *Stahlia*, *Stuhlmannia*, *Lemuropisum*, *Wagatea* (= *Moullava*), *Balsamocarpon*, *Zuccagnia*, *Stenodrepanum* y *Lophocarpinia* son monotípicos. De los 8 restantes: *Cordeauxia* contiene 2 especies; *Conzattia* y *Haematoxylum* 3 cada uno; *Cenostigma* 6; *Pterolobium* 11; *Parkinsonia* (incluyendo *Cercidium*) 15; *Hoffmannseggia* 28 y *Caesalpinia* el más numeroso con alrededor de 150 especies (Lewis y Schire, 1995).

El género *Caesalpinia* se caracteriza por presentar flores hermafroditas (perfectas), raramente unisexuales (imperfectas), zigomorfas; con cáliz dialisépalo, con 5 sépalos imbricados o casi valvares, el sépalo inferior más o menos cóncavo y frecuentemente cubriendo a los restantes, caducos; hipanto corto, raramente campanulado, pedicelos frecuentemente articulados; corola de 5 pétalos, amarillos o rojos, el superior siempre con larga uña tubular; con 10 estambres, fértiles, libres; filamentos pilosos, anteras dorsifijas, con dehiscencia longitudinal; ovario sub-sésil o estipitado; estilo igual o excediendo el androceo en longitud; estigma apical, cóncavo, legumbre variada, generalmente comprimida, glabra, pubescente, glandulosa o espinosa, dehiscente o no, coriácea a leñosa; semillas variadas usualmente exalbuminadas. Generalmente con hojas

bipinnadas, con o sin impar terminal, raramente pinnadas, raquis inerme o no; pinnas opuestas o alternas, folíolos comúnmente numerosos, enteros, glabros, pubescentes o glandulosos, cuando lo hay el indumento es de pelos simples, glandulares pedicelados o inmersos, o dendromorfos, inflorescencias generalmente en racimos o panículas, terminales o axilares, brácteas frecuentemente caducas. (*Especie tipo: Caesalpinia brasiliensis* L.); (Ulibarri, 1996).

### **IMPORTANCIA**

La familia Leguminosae es una de las que tiene una fuerte intervención en la vida del hombre como un recurso genético disponible y utilizado para el bienestar y satisfacción de sus necesidades, como alimento directo, forraje o en el proceso de fijación del nitrógeno (Mroginski y Kartha, 1984), entre otros usos.

Debido a la combinación de caracteres morfológicos que presenta, la tribu Caesalpinieae puede ser considerada como ancestral o muy reciente, como lo dan a notar las observaciones hechas por Polhill y Vidal (1981) los cuales la describen como la base de toda la subfamilia Caesalpinioideae mientras que Lewis (1998) con base en sus observaciones menciona que algunos de los grupos de leguminosas superiores son transiciones de Caesalpinieae y a ésta la considera como un complejo de especiación reciente, esto último lo confirman las observaciones hechas por Sousa y Delgado (1993) en las que varias especies de regiones áridas del Pacífico muestran un estado activo de especiación y señalan que algunas de estas caesalpinias pueden ser consideradas ancestros en Norte América.

De las aproximadamente 150 especies del género *Caesalpinia*, 45 se encuentran en México, 31 de las cuales son endémicas, *Caesalpinia hintonii*, *C. caladenia*, *C. exostemma* y *C. mexicana* del grupo Poincianella son especies que se encuentran bien representadas en México y en Sudamérica (Sousa y Delgado, 1993).

## ANTECEDENTES

El género *Caesalpinia* fue formalmente definido por Linneo en 1753 en honor al botánico, filósofo y médico italiano Andrea Caesalpinio (1524(5)-1603). Britton y Rose (1930) reconocen siete grupos fenéticos para el género *Caesalpinia*: *Guilandina*, *Poinciana*, *Brasilettia*, *Russelodendron*, *Libidibia*, *Caesalpinia* y *Poincianella*.

Por otra parte Lewis (1998) reconoce a *Guilandina* y a *Mezoneuron* como subgéneros y solo seis grupos fenéticos: *Libidibia*, *Brasilettia*, *Erythrostemon*, *Caesalpinia*, *Russelodendron* y *Poincianella*.

Este último es uno de los más grandes y diversos en América, incluye a especies inermes con hojas terminadas en una pinna, tamaño de los estambres no más de dos veces el largo de la corola, con legumbre falcada, elásticamente dehiscente, con o sin glándulas en la superficie de las valvas (aún en diferentes individuos de la misma especie) y semillas planas, entre otros caracteres (Contreras, 1991).

Tiene dos centros de diversidad, uno en las zonas tropicales secas de América del sur y otro en México, en condiciones ecológicas similares; en México se encuentran las siguientes especies: *C. hintonii*, *C. epifanioi*, *C. nelsonii*, *C. caladenia*, *C. eriostachys*, *C. laxa*, *C. macvaughii*, *C. mexicana* y *C. exostemma* (Contreras, 1991). Esta última tiene una distribución más amplia llegando hasta Centroamérica (Lewis y Schire, 1995; Lewis, 1998).

## ESTUDIOS CROMOSÓMICOS REALIZADOS EN EL GÉNERO *Caesalpinia*.

Algunos de los trabajos que han acumulado mayor información citológica han sido los hechos por: Atchison (1949, 1951); Turner y Fearing (1959) y los de Mangenot (1958, 1962) citados por Goldblatt en 1981.

Además en el mismo año postula un número cromosómico base de  $x = 14$  en la tribu Caesalpinieae, pero observa que el género *Caesalpinia* muestra diferencias relativas teniendo números de  $n = 12$  (número común y tal vez basal en Detarieae- Macrolobieae).

En los conteos cromosómicos revisados por Goldblatt (1981) en 24 especies de *Caesalpinia* observó en casi todos  $2n = 24$ , desechó conteos de  $2n = 22$  y  $n = 11$  únicamente en dos de las veinticuatro especies (*C. pulcherrima* y *C. japonica*) como errores de conteo, aunque no duda de números haploides de  $n = 11$  para *C. cucullatum* y *C. kawaiense* en el subgénero *Mezoneuron*.

En la tabla 1 se aprecia que, de las aproximadamente 150 especies con que cuenta el género únicamente 31 tienen número cromosómico reportado, es decir sólo el 20.6 %.

Tabla 1. Números cromosómicos citados en la literatura para el género *Caesalpinia*.

Especie	<i>n.</i>	<i>2n.</i>	Referencia.
<i>C. bahamansis</i> Lam.		24	f. Atchinson; 1951.
<i>C. bonduc</i> Roxb.		24	f. Atchinson; 1951.
<i>C. bonduc</i> Roxb.	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. bonducella</i> Flem.		24	f. Pantula, 1942.
<i>C. bonducella</i> Flem.	12	24	a. Bir and Kumari, 1975.
<i>C. bonducella</i> Flem.	12		a. Bir and Kumari, 1977.
<i>C. bracteosa</i> .		48	g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. cacalaco</i> H.B.K	12		g. Lewis; 1998.
<i>C. cacalaco</i> H.B.K	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. cacalaco</i> H.B.K	12		c. Sarkar et al., 1982.
<i>C. coriaria</i> (Jacq.) Willd.		24	f. Atchinson, 1951; Ghose, A. K. 1952
<i>C. coriaria</i> (Jacq.) Willd.	12	24	b. Bir and Kumari; 1979.
<i>C. crista</i> L.		24	e. Yeh et al; 1986.
<i>C. crista</i> Thunb.		24	f. Atchinson; 1951.
<i>C. decapetala</i> . (Roth) Alston.	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. decapetala</i> (Roth) Alston.	11		a. Malla et al; 1977.
<i>C. decapetala</i> (Roth) Alston.		24	e. Peng et al; 1986.
<i>C. decapetala</i> (Roth) Alston.		22	e. Huang et al; 1986.
<i>C. decapetala</i> (Roth) Alston.	12		d. Gill et al., 1984a
<i>C. exostemma</i> .	12		g. Lewis; 1998.
<i>C. exostemma</i> .	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. ferrea</i> Mart.	24	48	g. Guerra (citado en Lewis, 1998).

Especie.	n.	2n.	Referencia
<i>C. ferrea</i> Mart.		24	f. Atchinson; 1951. Turner, Irwin; 1961.
<i>C. floribunda</i> Tul.		24	f. Covas, Schnack; 1946.
<i>C. gillesi</i>	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. gillesi</i> Wall ex Hook.		24	f. Covas, Schnack; 1946. Turner, 1956.
<i>C. globulorum</i> Bak. F. And Koyen.		24	e. Yeh et al; 1986.
<i>C. hughessi</i>	12		g. Lewis; 1998.
<i>C. japonica</i> Sieb and Zucc.		22	f. Sakai, B; 1951.
<i>C. melanadenia</i>	12		g. Lewis; 1998.
<i>C. mexicana</i> A. Gray.		24	Atchinson; 1951.
<i>C. mimosoides</i> Lam.		24	f. Gajapathy; 1962.
<i>C. nelsoni</i> .	12		g. Lewis; 1998.
<i>C. nuga</i> (L) Ait.		24	f. Atchinson; 1951.
<i>C. pauciflora</i> (Griseb) C. Wright.		24	f. Atchinson, 1951.
<i>C. paucijuga</i> Benth.		24	f. Atchinson; 1951.
<i>C. pulcherrima</i> Swartz.	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. pulcherrima</i> Swartz.		24	f. Senn; 1938. Jacob; 1940. Atchinson; 1951. Berger, C. A; 1958.
<i>C. pulcherrima</i> Swartz.	12		c. Sarkar et al., 1982.
<i>C. pulcherrima</i> (L.) Sw.	12	24	b. Bir and Kumari; 1979.
<i>C. pulcherrima</i> (L.) Sw.	12	24	d Gill and Husaini 1985.
<i>C. robicunda</i> (Vog.) Benth.		24	f. Covas, 1949.
<i>C. sappan</i> L.	12	24	g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. sappan</i> L.		24	f. Ghose, A. K; 1952. Berger, C. A et al; 1958
<i>C. sappan</i> L.	12	24	b. Bir and Kumari; 1979.
<i>C. sepiaria</i> Roxb.	12	24	a Bir and Kumari; 1977.

Tabla 1. Continuación

Especie	n	2n	Referencia
<i>C. sepiaria</i> Roxb.	12		d. Gill et al., 1984.
<i>C. spinosa</i> (Molina) Kuntze.		24	f. Turner, Irwin, 1961.
<i>C. tinctoria</i> Benth.		24	f. Diers, 1961.
<i>C. velutina</i> .	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).
<i>C. vesicaria</i> L.		24	f. Atchinson, 1951.
<i>C. yucatanensis</i>	12		g. Guerra (citado en Lewis, 1998).

Los datos aportados en ésta tabla fueron obtenidos en: (a) Goldblatt, 1981; (b) Goldblatt, 1984; (c) Goldblatt, 1985; (d) Goldblatt, 1988; (e) Goldblatt y Jhonson, 1990; (f) Federov, 1974 y (g) Lewis, 1998.

## **ESTUDIOS CITOGENÉTICOS**

Los estudios citogenéticos en plantas superiores, comprenden la obtención del número cromosómico, el análisis de poliploides, así como el conocimiento de la forma y estructura de los cromosomas, lo cual nos permite comprender la dirección de los procesos de evolución del cariotipo, además de poder ver las relaciones entre variedades o especies cercanas (Palomino, 1985).

Del mismo modo la citogenética estudia la regularidad de la distribución de los genes de generación en generación (meiosis) y de célula a célula (mitosis), así como su origen y la relación con la transmisión y la recombinación génica (Puertas, 1999).

### **MEIOSIS**

En eucariontes, la reproducción sexual está asociada a un proceso especial de división del núcleo (meiosis), por el cual las células que contienen dos juegos completos de cromosomas (diploide,  $2n$ ) producen gametos con únicamente un juego de cromosomas ( $n$ ), es decir, un haploide (García, 1988).

Para observar cromosomas meióticos se utiliza una técnica que consiste en el maceramiento de anteras, tinción con acetorceína y observación en fresco al microscopio de luz (García, 1988). El análisis de los cromosomas meióticos, así como el comportamiento de los mismos permite conocer el número haploide de una especie en particular, colaborando al establecimiento del número básico de un grupo de plantas (Palomino, 1985). Además de ser muy útil en especies que tienen números cromosómicos muy grandes.

### **MITOSIS**

La determinación del número cromosómico y análisis del cariotipo se realiza en cromosomas mitóticos metafásicos observados en células somáticas obtenidas de tejido meristemático, las cuales son sometidas al tratamiento de un mitostático, previo a la fijación y tinción (García, 1988). Con ésta técnica también se puede determinar el número

básico ( $x$ ) de grupos de ligamiento génico y cuántas veces se repiten, proporcionando un indicador rápido de la similitud génica entre poblaciones y especies, además de que se obtiene el número cromosómico somático ( $2n$ ) de una planta o un grupo de plantas relacionadas, la estructura de los cromosomas o cariotipos, así como los niveles de poliploidía (Palomino, 1995).

### **CARIOTIPO**

El cariotipo puede ser definido como la apariencia fenotípica de los cromosomas somáticos en metafase (Jackson, 1971), ésta descripción puede ser realizada de diferentes maneras de acuerdo a la técnica usada para la obtención del mismo, sin embargo, los cariotipos se definen según el mismo autor, esencialmente con respecto a seis características cromosómicas:

- 1) Número cromosómico y de ser posible también el número básico.
- 2) Tamaño absoluto.
- 3) Tamaño relativo.
- 4) Constricciones secundarias.
- 5) Relación de brazos.
- 6) Distribución y tamaño de segmentos hetero y eucromáticos.

### **NÚMERO CROMOSÓMICO**

Representa la cantidad de cromosomas que hay por célula, éste número puede ser incorporado dentro de las clasificaciones florísticas y utilizado en análisis taximétricos y cladísticos (Stace, 2000).

Pero el número cromosómico tiene un significado más allá de éste, ya que la amplia homología en los números cromosómicos determina el comportamiento y la fertilidad y éstas originan el proceso y los patrones de variación, conocimientos que son fundamentales para conseguir una clasificación que refleje evolución (Stace, 2000).

## **NÚMERO BÁSICO ( $x$ )**

Es una de las características mejor conocidas y la más utilizada en la determinación de la posición taxonómica y filogenética de las especies, éste número representa el número haploide más pequeño de cromosomas de una serie poliploide (García, 1988).

El número básico de un género puede ser diferente al número básico de la familia a la cual pertenece, la cual a su vez puede tener un número básico distinto al del orden o clase a la que es asignada, en las Poaceae, por ejemplo, las subfamilias se caracterizan por tener diferente número básico: Bambusoideae tiene  $x=12$ ; Arundinadae muestra  $x=9$  ó  $12$ ; Chloridoideae tiene  $x=9$  ó  $10$ ; Panicoideae tiene  $x=5,9$  ó  $10$  y Pooideae tiene  $x=7$  (Stace, 2000).

## **TAMAÑO ABSOLUTO**

El tamaño absoluto se refiere a la longitud y diámetro, expresados en micras, de todo el complemento cromosómico (García, 1988). Siendo éste un promedio de todas las longitudes de los cromosomas tomadas.

## **TAMAÑO RELATIVO**

Es la relación que guarda la longitud de un cromosoma particular con respecto a la de los demás y al total del cariotipo. Esta es una característica constante y permite la identificación y clasificación del complejo cromosómico. Los distintos pares de cromosomas se arreglan en orden decreciente de tamaño y se numeran progresivamente partiendo de uno para el par más largo. Esta estimación ayuda a visualizar más claramente las diferencias o similitudes entre cromosomas de especies diferentes (García, 1988).

## **RELACION DE BRAZOS**

La característica morfológica más obvia de los cromosomas es la variación de la posición del centrómero o constricción primaria (Stace, 2000). El centrómero separa al cromosoma en dos regiones o brazos y su localización puede ser expresada en términos de relación de brazos, que se estima mediante la división de la longitud del brazo más largo entre la del más corto.

Levan et al. (1964) clasifican los cromosomas en cuatro grupos: metacéntricos (m) en el que el centrómero divide al cromosoma en dos brazos iguales o casi iguales en longitud; submetacéntricos (sm), el centrómero se localiza un poco desplazado del centro del cromosoma; subteloecéntricos (st), el centrómero se localiza casi al final del cromosoma, presentándose un brazo largo y otro muy corto; telocéntricos (t) el centrómero se localiza al final del cromosoma, presentándose un solo brazo claramente distinguible. Stace(2000) menciona que pocos grupos de plantas no presentan constricción primaria denominándose a estas acéntricas.

## **CONSTRICCIONES SECUNDARIAS**

Es un adelgazamiento en la longitud del cromosoma (Fig. 1.) y puede ser corta como la del centrómero o larga como un filamento (García, 1988). Es la región de ADN que produce ARN ribosómico y que también es conocido como regiones de organización nucleolar (NOR's) o sitios rADN (Stace, 2000). En todas las especies existe al menos una pareja de organizadores nucleolares aunque en muchas especies existen más (Puertas, 1999).

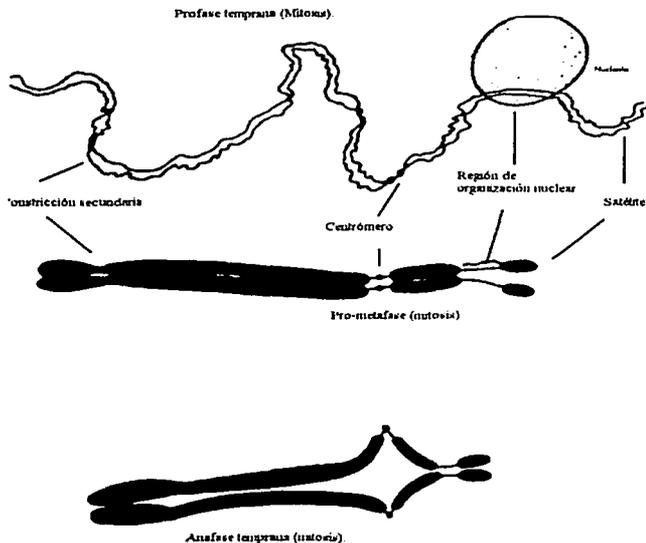


Fig. 1. Constricciones secundarias (Stebbins, 1971).

## DISTRIBUCIÓN Y TAMAÑO DE EUCROMATINA Y HETEROCROMATINA.

El término heterocromatina fue introducido por Heitz en 1928 (García, 1988), para describir ciertas regiones de cromosoma que tiene una estructura densa y se colorean intensamente durante la interfase del ciclo celular. A los segmentos restantes de los cromosomas que pierden gran parte de su identidad visual durante la interfase, se les considera como euromáticas (García, 1988).

Debido a que estos dos tipos de cromatina se tiñen de diferente manera en el cromosoma es que hay bandas e interbandas en él y por lo tanto no es una entidad

homogénea, éstas bandas son importantes para hacer comparaciones en los cromosomas con técnicas especiales (Puertas, 1999).

### **CARIOTIPO E IDIOGRAMA**

En el cariotipo o cariograma (Fig. 2) se representa el complejo cromosómico mediante el arreglo de las fotomicrografías de cada uno de los cromosomas, los cuales se disponen en pares de homólogos y en series de tamaños decrecientes (García, 1988).

En el idiograma cada cromosoma se representa por una línea o barra en la que se indica la posición relativa del centrómero, constricciones secundarias, cromómeros y otras marcas citológicas (si existen). Esta representación diagramática del cariotipo se integra con la información de varias células (García, 1988).

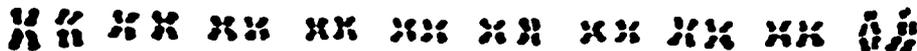


Fig. 2 Representación diagramática de *Phaseolus leptostachyus*. (Mercado-Ruaro y Delgado-Salinas, 1998).

### **IMPORTANCIA DEL CARIOTIPO EN SISTEMÁTICA**

Debido a que las características del cariotipo son constantes para las especies, éstas pueden utilizarse al igual que la morfología externa, para su clasificación taxonómica. A su vez, es recomendable relacionar las características morfológicas con las citológicas, ya que un cariotipo particular puede ser asociado con un grupo de características morfológicas propias de una familia, tribu, género, especie o raza y basándonos en ello podemos decir que cambios en el cariotipo pueden acompañar o preceder cambios en el fenotipo externo, es decir, las similitudes morfológicas de los taxa, relacionadas a grandes diferencias en el cariotipo básico sugieren diferencias citológicas, las cuales pueden ser provocadas por

repentinas fragmentaciones, translocaciones, etcétera, mientras que la correspondencia parcial de la morfología y el cariotipo implica cambios paralelos (Jackson, 1971).

El análisis comparativo de los cariotipos puede mostrar las diferencias entre y dentro de las especies, y también puede dar indicios de cómo surgieron éstas diferencias en el curso de la evolución. Esto permite detectar interrelaciones entre las distintas categorías taxonómicas (García, 1988).

### **EVOLUCIÓN DEL CARIOTIPO**

El desarrollo de nuevas técnicas para la elaboración del cariotipo ha permitido que la descripción de éste sea más completa y el entendimiento de las bases citogenéticas sea más preciso, lo cual, al comparar los cariotipos de distintas especies nos ayuda a suponer el origen de las diferencias entre ellos y comprender las implicaciones evolutivas que éstas tienen, gracias a esto podemos decir que el principal instrumento de evolución en muchas plantas han sido las mutaciones estructurales y numéricas, como son: la adición o delección de cromosomas completos o conjuntos de cromosomas (Jenkins, 1982).

### **MUTACIONES**

La constancia del material genético en el proceso de transcripción de la información hereditaria puede verse alterado por mutaciones que son cambios en la estructura y disposición de los segmentos cromosómicos, las mutaciones según Jenkins (1982) pueden ser de tres tipos: Estructurales, numéricas y puntuales.

Las mutaciones cromosómicas más sencillas que pueden ser identificadas citológicamente son las alteraciones numéricas que ocurren cuando se añaden o quitan cromosomas, pudiendo ser: aneuploidía cuando hay eliminación de cromosomas o euploidía cuando hay conjuntos adicionales completos de cromosomas.

Las mutaciones estructurales o cambios en la secuencia de los genes dentro de los cromosomas, son más difíciles de identificar citológicamente, éstas incluyen las

inversiones (alteraciones intracromosómicas de la secuencia de los genes), deleciones (pérdida de información genética), translocaciones (transposición de genes de un cromosoma a otro no homólogo) y duplicaciones (adición de más cantidad de información genética de la normal) (Jenkins,1982).

Las mutaciones puntuales son aún más difíciles de identificar citológicamente que las estructurales ya que implican sólo el cambio de uno o varios nucleótidos o de una base en un gen, ya sea por sustitución, adición o eliminación (Robertis y Robertis,1990).

### **DUPLICACIÓN**

La presencia de un fragmento de material cromosómico extra, repetido más allá del complemento normal, es lo que se conoce como duplicación (Fig.3).

La duplicación puede detectarse en una de las varias configuraciones cromosómicas durante la meiosis que se dan dependiendo de la posición y secuencia de los genes duplicados (Jenkins,1982).

Hay varias formas por las que se pueden originar las duplicaciones, una de las más frecuentes es por un entrecruzamiento desigual en la meiosis que produce un cromosoma con un segmento duplicado y otro con una deficiencia para el mismo segmento (Jenkins,1982).

Las duplicaciones son significativas por su impacto en la especiación y en los procesos de divergencia genética, ya que los organismos que pertenecen a diferentes especies tienen a menudo diferentes cantidades de información genética (Jenkins,1982).

**EVOLUCIONDEL CARIOTIPO**

Secuencia silvestre

**EVOLUCIONDEL CARIOTIPO**

Secuencia con duplicación

Fig. 3. Duplicación.

## DELECIÓN

La pérdida de una porción de información genética se denomina como deleción (Fig. 4), como las duplicaciones, las deleciones pueden ocurrir de diversas maneras, pero una de las más comunes es el rompimiento de la cadena de DNA con la perdida de bases nitrogenadas (Puertas, 1999).

### EVOLUCIONDEL CARIOTIPO

Secuencia de tipo silvestre

### EVOLUCIONDEL CARIOTIPO

Secuencia después de una deleción.

Fig. 4. Deleción

## INVERSIONES

Las inversiones implican alteraciones en el orden de los genes pero en la mayoría de los casos no en su número, generalmente se forman cuando ocurren dos rompimientos en un cromosoma y el segmento roto se reinserta en el lugar opuesto después de un giro de 180°.

Las inversiones se clasifican de acuerdo a si el segmento invertido incluye o no el centrómero, las inversiones que no incluyen al centrómero se llaman inversiones paracéntricas y las que lo incluyen inversiones pericéntricas las cuales, pueden también alterar la morfología del cromosoma (Jenkins, 1982).

## TRANSLOCACIONES

A diferencia de las duplicaciones, deleciones e inversiones, que son cambios estructurales intracromosómicos, las translocaciones son cambios estructurales intercromosómicos caracterizados por la separación de segmentos cromosómicos y su unión con cromosomas homólogos y no homólogos, existen tres tipos fundamentales de translocaciones: sencillas, de cambio y las recíprocas.

En las translocaciones sencillas, terminales o recíprocas (Fig.5) se transfiere un

trozo de un cromosoma al extremo de un cromosoma no homólogo intacto, esto no se observa frecuentemente porque los telómeros de los cromosomas intactos no son "pegajosos", mientras que los cromosomas fragmentados sí lo son.



Estos cuatro cromosomas representan dos pares de homólogos del cariotipo estándar.



Si en dos de ellos se produce una rotura y se intercambian los segmentos se forma un heterocigoto estructural para una translocación recíproca.



En la descendencia del heterocigoto puede aparecer el homocigoto estructural. Estos individuos forman bivalentes normales en la meiosis, porque los dos pares de cromosomas son homólogos, aunque con una nueva ordenación de los grupos de ligamiento.

Fig. 5. Translocaciones (Puertas, 1999)

En las translocaciones de cambio o intercalares, se transfiere un segmento interior de un cromosoma que ha sido inducido por dos fracturas, al interior de un cromosoma roto, no homólogo, que ha sido obtenido por una rotura, este tipo de translocación es más común que la anterior, quizás porque están implicados extremos "pegajosos", pero el tipo más común y estudiado es la translocación recíproca, este tipo requiere una sola rotura por cromosoma y el intercambio recíproco de los trozos (Jenkins, 1982).

Las consecuencias genéticas de las translocaciones son profundas ya que, alteran grupos de ligamiento, provocando que un gen o serie de genes que forman parte de uno de estos grupos, pueda ser translocado a un cromosoma no homólogo y formar un

nuevo grupo de ligamiento, además, los heterócigos en una translocación son generalmente semiestériles porque producen gametos que contienen cromosomas duplicados y deficientes, esto es el resultado del entrecruzamiento y segregación causado por la conformación característica en forma de cruz de los cromosomas apareados.

Cuando un heterócigo con una translocación recíproca entra en meiosis, se forman las características configuraciones en cruz durante la profase y la metafase de la primera división meiótica, la segregación de los cromosomas en la anafase I se da en tres formas diferentes: segregación alternativa (se refiere al movimiento de los cromosomas translocados no homólogos a un polo y los no translocados no homólogos al otro polo), la segregación adyacente-1 (es el movimiento de los cromosomas no homólogos, uno translocado y el otro no translocado a cada polo), la segregación adyacente-2 (es el movimiento a un mismo polo de los cromosomas homólogos).

Solamente en el caso de la segregación alternativa se consiguen gametos con un conjunto completo de los genes, en los dos tipos de segregación restantes los gametos contienen deleciones y duplicaciones y generalmente no son funcionales o dan lugar a cigotos no viables, siendo ésta la base de la semisterilidad de los heterocigotos para translocaciones en tejidos somáticos el tiempo de intercambio no deben ser demasiado largo en los segmentos cromosómicos ya que provocarían la formación de una nueva pared celular en plantas y el rompimiento de los cromosomas en animales (Jenkins, 1982).

El establecimiento de translocaciones en una población puede depender de factores preadaptativos ambientales que regulen la orientación meiótica, los cuales pueden ser genéticos o estructurales; los factores genéticos pueden relacionarse con la distribución, número y grado de terminación del quiasma lo cual está relacionado a su vez con la estructura natural del centrómero, su posición y la distribución de la heterocromatina; los cromosomas metacéntricos son la preadaptación ideal ya que contienen bloques de

heterocromatina proximal y rompimientos localizados adyacentes a los centrómeros (Jackson, 1971).

Los rearrreglos y algunos rompimientos excepto del centrómero deben ocurrir en la porción no funcional del material genético o si el rompimiento ocurre a través de un cistrón funcional, éste cistrón debe estar duplicado en un estado funcional en otra parte del genoma, éstos rompimientos y rearrreglos sólo son exitosos si persisten en la naturaleza y son detectados en su condición homóciga, además, el éxito también depende de la extensión o la presencia de DNA repetitivo el cual puede también propiciar un sistema preadaptativo para otro cambio (Jackson, 1971).

Los factores que favorecen la aparición de estas mutaciones cromosómicas y por tanto la evolución del cariotipo son; según Jackson (1971):

- El ambiente celular que exista debe conducir al rompimiento del cromosoma.
- Los puntos de rompimiento en el cromosoma deben ser en sitios no funcionales.
- Los arreglos y adiciones cromosomales deben ser de tal tipo que puedan resistir el rigor de la mitosis y la meiosis.
- Los arreglos o adiciones deben acarrear un complejo de genes adaptativos o bien deben ser capaces de compensar las propiedades no adaptativas por medio de un mecanismo especial, el cual debe asegurar su transmisión.
- El sistema de producción debe tener una probabilidad razonable de sobrevivencia.

### **IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS SOBRE LA EVOLUCION DEL CARIOTIPO**

Los estudios sobre la evolución del cariotipo buscan la manera de conocer las tendencias y los grados de los cambios ocurridos en los cromosomas, en estos estudios se emplean dos conceptos para ayudar en la definición de dichas tendencias o patrones de evolución. El primero es el número fundamental (nf), para referirse al número total de brazos mayores que forman un cariotipo: dos para cada cromosoma metacéntrico y

submetacéntrico y uno por cada acro y telocéntrico. El segundo término es el de simetría-asimetría, para referirse a las diferencias en tamaño y de relación de brazos entre cromosomas no homólogos de un genomio (García, 1988).

### NÚMERO FUNDAMENTAL

El término número fundamental tiene su explicación en el hecho de que mediante fusiones o fisiones centroméricas o Robertsonianas o ambas, los cromosomas reacomodan el material genético al cambiar su morfología y posiblemente su número total, con cambios mínimos o nulos en la cantidad de ADN. Por ejemplo en *Zebrina pendula* Schnizl, se observan formas o citotipos con  $2n = 21$ ,  $n = 22$ , 23 y 24 que coinciden en el número fundamental de 28 (Tabla 2), lo cual indica que no ha habido pérdida de material cromosómico en esta serie de cambios estructurales y de número somático de cromosomas, sino que únicamente se ha reorganizado (García, 1985).

Tabla 2. Número cromosómico en *Zebrina pendula* con n.f. 28. (García, 1988).

$2n$	Número fundamental	Metacentrico	Acrocentrico	Telocentrico
21	28	7	5	9
22	28	6	5	11
23	28	5	6	12
24	28	4	6	14

### SIMETRÍA-ASIMETRÍA

Levitzky (1931) propone una teoría en la que desarrolla los términos simétrico y asimétrico, en donde el primero está relacionado a cariotipos con cromosomas metacéntricos y submetacéntricos. Estos cromosomas, mediante cambios en la posición del centrómero, como inversiones pericéntricas, translocaciones o por acumulación de

diferencias en el tamaño relativo, van originando cariotipos asimétricos.

Un cariotipo simétrico es la condición en la que los cromosomas son aproximadamente del mismo tamaño y poseen, además, un centrómero medio o submedio (García, 1988).

De acuerdo con sus estudios, Stebbins (1971) propone que en el reino vegetal la tendencia evolutiva ha sido de un cariotipo simétrico a uno asimétrico. Esto lo observó en la familia Ranunculaceae, en donde cariotipos asimétricos están asociados con la alta especiación de las flores zigomórficas, mientras que los cariotipos más simétricos tienden a poseer flores menos especializadas como las actinomorfas.

La tendencia hacia la asimetría en el cariotipo de ninguna manera es irreversible, Jones (1978), señala que la tendencia del cariotipo hacia la asimetría es reversible, dando origen primero a cromosomas metacéntricos por la fusión de cromosomas acrocéntricos y telocéntricos, mientras que cromosomas acrocéntricos y telocéntricos se originan de la fisión de cromosomas metacéntricos. También propone que, pese a que los cambios Robertsonianos no son eventos esporádicos en el reino vegetal, pocos son los estudios realizados en plantas para demostrar que estas mutaciones juegan un papel importante en la diferenciación de especies y poblaciones naturales de plantas.

Los conceptos de número fundamental y de simetría- asimetría pueden complementarse a fin de establecer los posibles mecanismos de evolución cromosómica, ya que junto con los cambios en el número fundamental pueden ocurrir cambios en simetría afectando el número básico ( $x$ ) de cromosomas (García, 1988).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La gran variación morfológica que presentan las estructuras reproductivas y partes vegetativas de las especies de *Caesalpinia* han propiciado que su taxonomía se dificulte, sugiriendo que se reexamine a los miembros de la Tribu Caesalpininae, en particular a las especies del género *Caesalpinia*.

Contreras (1991) encontró en *Caesalpinia hintonii*, tres fenotipos a lo largo de la Depresión del Río Balsas los cuales se encuentran aislados geográficamente, por lo que es necesario decidir si las variaciones tienen una base genética o se deben a factores ambientales.

Lo anterior los hace material excelente para realizar una relación entre el patrón de variación morfológico con el cariológico.

*C. hintonii* tiene una distribución geográfica amplia en comparación con *C. nelsonii* conocida únicamente en los límites de los estados de Guerrero y Oaxaca.

En *C. epifanioi* al igual que en *C. hintonii* Contreras (1991) encontró dos variantes morfológicas, solo que estas se dan en individuos de una misma población no existiendo barreras geográficas.

La mayoría de los estudios que se han realizado en *Caesalpinia* se basan en la descripción morfológica de las especies (Contreras, 1991; Lewis, 1998), desarrollo floral (Kantz y Tucker, 1994), síndrome floral (Cocuccii et al., 1992), metabolitos secundarios (Nageshwar et al., 1984; Kite y Lewis, 1994; Contreras et al., 1995), marcadores isoenzimáticos (Sotuyo, 1999), mientras que los estudios citogenéticos han estado restringidos al conocimiento del número cromosómico (Goldblatt, 1981a; White, 1996 y Zhao, 1996).

Debido a esto se hace necesario ampliar el conocimiento citogenético que se tiene del género, ya que, los análisis citogenéticos, de acuerdo con Stebbins (1971) pueden

contribuir al entendimiento de las relaciones sistemáticas dentro de un grupo de plantas (de nivel taxonómico mayor) y permitir una reorganización del sistema taxonómico del grupo en cuestión.

A pesar de la importancia mencionada por Stebbins (1971), el impacto de la citogenética ha sido poco explotado, debido a que estos análisis consumen una considerable cantidad de tiempo.

Debido a lo anterior, de los 650 géneros con que cuentan las leguminosas, aproximadamente un 43% carece de información citogenética; sin embargo, dentro de la tribu Caesalpinieae 54% del total de sus géneros cuenta con al menos una especie con determinación de su número cromosómico (Goldblatt, 1981a). En el género *Caesalpinia* de sus aproximadamente 150 especies sólo 31 cuentan con número cromosómico reportado.

## OBJETIVOS

Con base en lo mencionado anteriormente los objetivos del presente estudio son:

### *EN FORMA GENERAL:*

- Aportar datos cariológicos que ayuden al entendimiento de la taxonomía de las *Caesalpinieae* y observar si el patrón de variación morfológico se correlaciona al cariológico.

### *PARTICULARMENTE:*

- Determinar el número cromosómico diploide de las siguientes especies y poblaciones:

*Caesalpinia hintonii* (Infiernillo)

*C. hintonii* (Cuenca Alta)

*C. hintonii* (Zicuitaro)

*C. epifanioi* (Con glándulas)

*C. epifanioi* (Sin glándulas)

*C. nelsonii*.

- Elaborar los cariotipos de *C. hintonii* y de *C. epifanioi*.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### Mitosis.

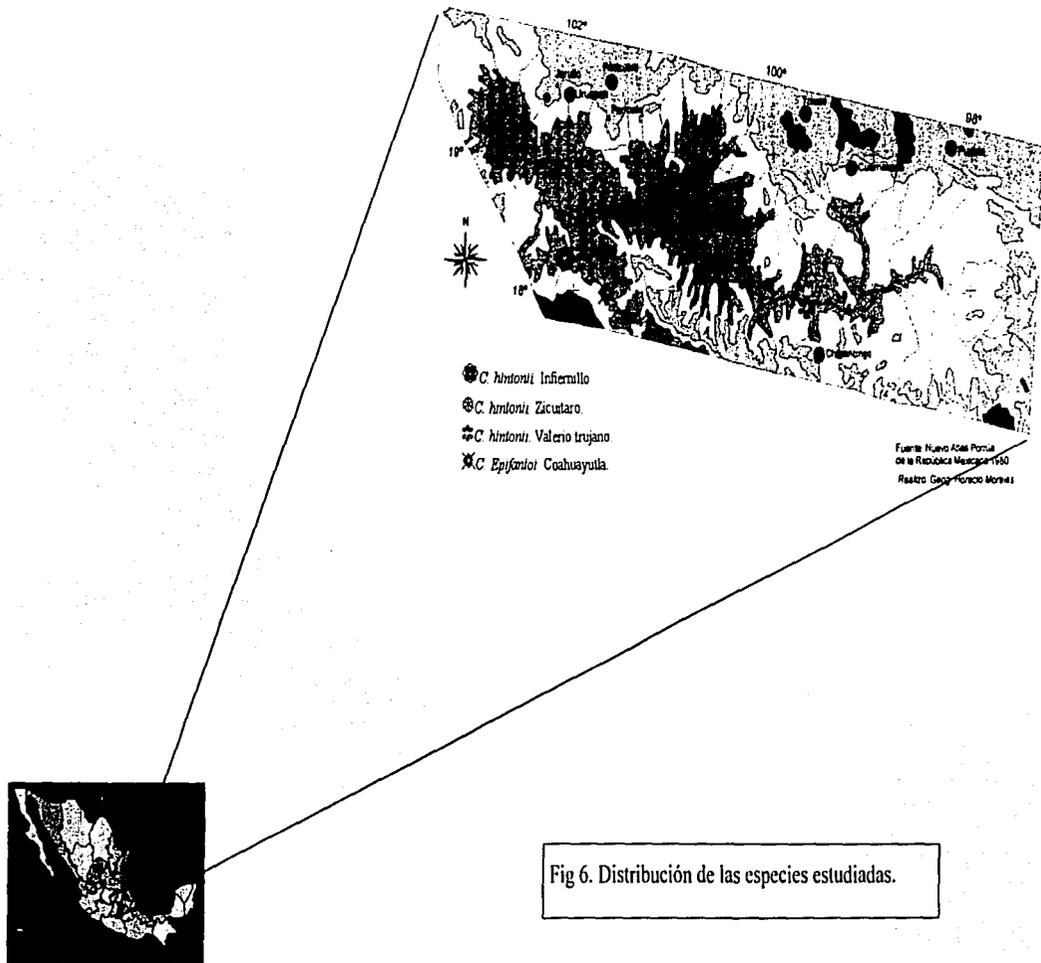
Para el estudio mitótico se utilizaron semillas de individuos de las localidades mostradas en la Fig. 6, los datos de colecta se presentan en la Tabla 3:

Tabla 3. Datos de colecta de las especies observadas.

ESPECIE.	DATOS DE COLECTA.
<i>Caesalpinia hintonii</i> (Infiernillo).	Municipio de Coahuayutla (Guerrero). Colmeneros, en las afueras del poblado, frente al cementerio, camino a Coahuayutla. 310 msnm. Bosque tropical caducifolio alterado, suelo arenoso. Arbusto de 2.5 m con flores color rosa o salmón, fruto con glándulas estipitadas rojizas, frecuente en la localidad. 2-marzo-1991. J.L. Contreras 2860.
<i>C. hintonii</i> (Cuenca Alta o Valerio Trujano).	Municipio de Eduardo Neri (Guerrero). 1 km por el camino a Atzala, al E de Valerio Trujano. 17° 37' 24.5" N, 99° 31' 54.8" O. Bosque tropical caducifolio en ladera sur, lutitas de la formación Mezcala. 500 msnm. Arbol de 2 m de alto con frutos glandulares, glándulas de color verde-limón, semillas amarillentas. Frecuente en la localidad. 1-marzo-1991. J.L. Contreras 2851.

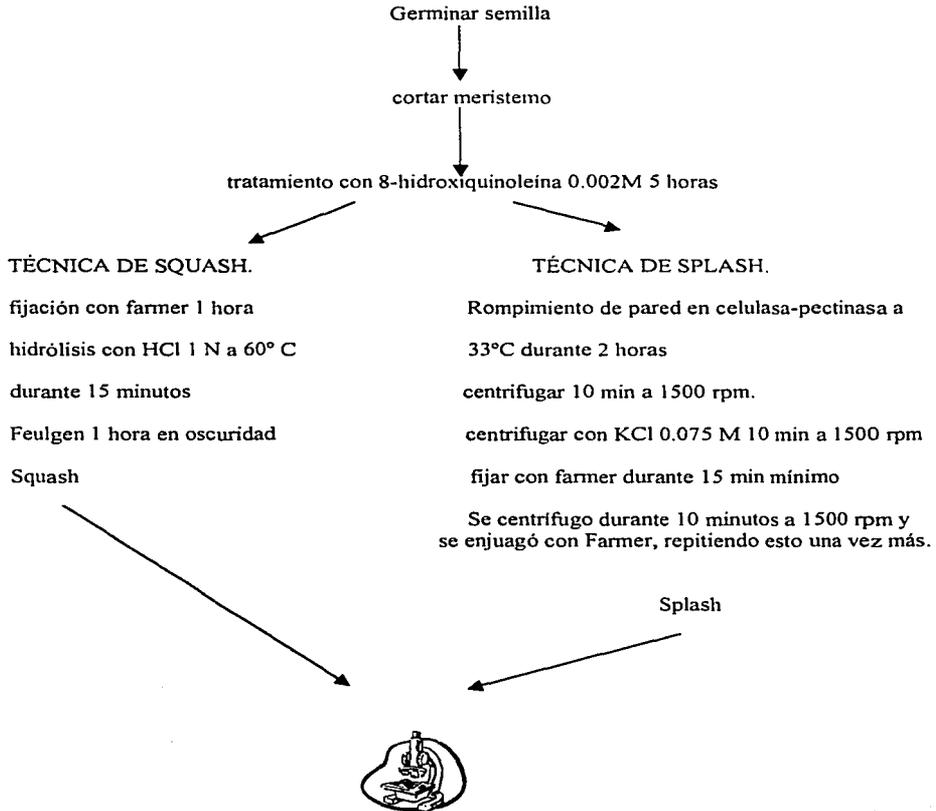
Tabla 3. Continuación.

ESPECIE.	DATOS DE COLECTA.
<i>Caesalpinia hintonii</i> (Zicuitaro).	Municipio de Coyuca de Catalán (Guerrero). Zicuitaro 2 km al N de El Naranjo, por el camino a El Jabali. 550 msnm. Bosque tropical caducifolio alterado, a orilla de un arroyo, suelo arenoso. Arbusto de 2 m de alto, corteza gris-verdosa, con abundantes lenticelas blancas transversales. Legumbres maduras cubiertas por glándulas estipitadas rojizas. 1-marzo-1991. J.L. Contreras 2855
<i>Caesalpinia epifanioi</i> (Con y sin glándulas).	Municipio de Hitzuco de los Figueroa (Guerrero). 1 km al este de San Francisco Ozomatlan, camino a Ahuetlixpa. 550 msnm. Bosque tropical caducifolio en laderas de lutitas y calizas. Arbol de 3 m de alto con frutos maduros, frecuente en la localidad. 31-enero-1988. J.L. Contreras 2293.
<i>Caesalpinia nelsonii</i>	Oaxaca Ca. 6-8 Km al noroeste de Pinotepa Nacional, sobre la carretera 125 hacia Putla. 16°27' N, 98°05' Oeste 265 msnm. 25- Marzo-1989. G.P Lewis 1794. Los botones florales utilizados se obtuvieron de material de invernadero germinando las semillas de la colecta mencionada.



## MATERIAL Y METODOS:

Para determinar el número cromosómico diploide se realizó lo siguiente:



#### **a) Pre-tratamiento**

- Se tomaron de 8 a 10 semillas de cada especie y se escurificaron con una lija de agua, posteriormente se indujo su germinación en cajas de petri que contenían una capa de algodón y papel filtro humedecidos con agua destilada; se dejaron en una estufa a una temperatura de 30° C en oscuridad.
- Una vez que las semillas germinaron y la raíz alcanzó una longitud de 1 a 3 centímetros se cortó y pre-trató con el mitostático 8-hidroxiquinoleína 0.002M durante 5 horas en oscuridad y a una temperatura ambiente (entre 19°C ± 1).

#### **TÉCNICA DE SQUASH**

##### **b) Fijación**

- Posterior al tratamiento con 8- hidroxiquinoleína las raíces se lavaron y se fijaron en solución Farmer (3:1 Alcohol etílico absoluto-ácido acético glacial), durante una hora como mínimo.

##### **c) Hidrólisis**

- Las raíces pre-tratadas y fijadas se lavaron con agua destilada y se expusieron en ácido clorhídrico 1 N a 60° C durante 15 minutos.

##### **d) Tinción**

- Posterior a la hidrólisis las raíces se colocaron en solución Feulgen elaborada a base de fucsina básica (García, 1988) en oscuridad durante 1 hora.

##### **e) Elaboración de preparaciones permanentes**

- Una vez que los meristemas presentaron una coloración rosada:
- Se realizaron cortes de meristemo de raíz sobre un portaobjetos.
- Se agregó una gota de acetorceína 1% y se colocó el cubreobjetos.
- Se realizó el aplastamiento aplicando un ligero golpeteo para separar las células y después observarlas al microscopio.
- A las preparaciones que presentaron cromosomas metafásicos se les aplicó un aplastamiento (squash) para lograr la máxima separación de éstos y observarlos en un solo plano.

- Las preparaciones con mejores campos se hicieron permanentes por el método del hielo seco (Conger y Fairchild, 1953), que consistió en colocar la preparación sobre hielo seco durante 10 minutos.
- Se separó cuidadosamente el cubreobjetos del portaobjetos (todo esto sobre el hielo seco) y se enjuagaron varias veces con alcohol etílico absoluto y se dejaron secar.
- Se agregó una gota de bálsamo de Canadá y se colocó nuevamente el cubreobjetos, dejando secar la preparación en una estufa a 50° C. durante una a dos semanas.

#### **TÉCNICA DE SPLASH** (Tapia y Mercado, 2001)

a) Pre-tratamiento con 8-hidroxiquinoleína. (Ya descrita)

b) Fijación en Farmer. (Ya descrita).

#### **ROMPIMIENTO DE PARED**

- Se lavaron las raíces con agua destilada durante 10 min.
- Se cortaron los meristemos.
- Se colocaron los meristemos en una mezcla de enzimas (celulasa-pectinasa) en tubos eppendorf agitándose a 1000 r.p.m. a 33° C durante 2 horas.

#### **c) Tratamiento**

- Transcurridas las 2 horas se centrifugó durante 10 minutos a 1500 r.p.m.
- Se eliminó el sobrenadante.
- Se agregó solución recién preparada de KCl 0.075 M. para “hinchar” la célula.
- Se centrifugó durante 10 minutos a 1500 r.p.m.
- Se eliminó el sobrenadante.

#### **d) Fijación**

- Se fijó en solución Farmer durante 15 minutos como mínimo.
- Se centrifugó durante 10 minutos a 1500 r.p.m. y se enjuagó con Farmer, repitiendo esto una vez más.

### **e) Tinción**

- Se extendió el botón en 6 preparaciones goteando el contenido del tubo eppendorf con una micropipeta hacia los portaobjetos a una distancia de 50 a 75 centímetros de alto.
- Ya evaporada la solución Farmer se tiñó sumergiendo los portaobjetos que contenían a las células expandidas por el impacto del goteo en giemsa al 10% durante 13 minutos.
- Se enjuagaron las preparaciones teñidas a agua corriente y se observó.

### **f) Observaciones**

- Se revisaron las preparaciones y los mejores campos fueron fotografiados utilizando un fotomicroscopio axioscop Carl Zeiss.
- De las fotografías obtenidas para cada especie se determinó el número de cromosomas, se midió la longitud de cada uno y del total de los cromosomas, de 2 a 3 células por fenotipo sacando después el promedio.

### **MEIOSIS**

- Para el análisis meiótico de las células madre del polen (CMP) se utilizaron botones florales colectados en el campo y otros que se obtuvieron de plantas en invernadero, fijados en Farmer para cada una de las especies.
- Con ayuda del microscopio de disección o estereoscópico se separaron las anteras, de los botones florales.
- Una vez separadas se colocaron en un portaobjetos y se maceraron con una gota de acetocarmin al 2% para lograr la salida de las células madre y lograr la tinción de las mismas.
- Se calentó rápidamente el portaobjetos con el material para lograr una mejor tinción del material cromosómico.
- Se agregó una gota de solución Hoyer y se mezcló con el material teñido, después se colocó el cubreobjetos y se observó al microscopio.

- Si la preparación presentaba CMP en fases como: diacinesis, metafase I y/o II, y anafase I y/o II, se aplicaba una ligera presión para separar los cromosomas y ponerlos en un solo plano.
- Se dejó secar de dos a tres días y después se colocaron a los lados del cubreobjetos pinzas de presión para obtener una máxima separación de los cromosomas.
- Después de 15 horas se retiraron las pinzas y se dejó secar durante 2 o 3 semanas y nuevamente se revisaron para seleccionar los mejores campos y fotografiarlos y hacer las preparaciones semipermanentes rodeando a el cubreobjetos con una capa de barniz transparente.

## ELABORACIÓN DE CARIOTIPOS

Se eligieron de 2 a 3 células de cada fenotipo y se fotografiaron y amplificaron. De los cromosomas de estas fotografías se tomaron las siguientes medidas: longitud total (la longitud promedio de todo el juego cromosómico), longitud del brazo corto y longitud del brazo largo.

Los cromosomas se clasificaron de acuerdo al criterio de Levan et al. (1964) calculando como un radio (r).

$$r = \text{largo} / \text{corto}$$

Y después calculando la posición del centrómero con:

$$d = 10 (r-1) / r + 1$$

Y comparando el resultado con la clasificación del Tabla 4:

Tabla 4. Valores "d" para determinar la posición del centrómero (basado en Levan, 1964).

Símbolo.	Nombre del cromosoma	Localización.	Valor de d.
M	Metacéntrico	Punto medio	0.0
M	Metacéntrico	Región media	0.1 - 2.5
Sm	Sub-metacéntrico	Región submedia	2.6 - 5.0
St	Sub-telocéntrico	Región subterminal	5.1 - 7.5
T	Telocéntrico	Región terminal	7.6 - 9.5
T	Telocéntrico	Punto terminal	10.0

## RESULTADOS

El número diploide encontrado en los tres fenotipos de *C. hintonii* y en los dos de *C. epifanioi* es de  $2n= 24$ , este número es reportado por primera vez para éstas especies, se determinó el número haploide únicamente para *C. nelsonii* debido a que solo se contó con material floral para el estudio de ésta especie siendo este  $n= 12$ , confirmando el ya dado por Lewis (1998).

El promedio de la longitud total de los cromosomas y brazos de los 12 homólogos de los tres fenotipos de *C. hintonii* se observan las tablas 5, 6 y 7 y de los dos fenotipos de *C. epifanioi* se presentan en los cuadros 8 y 9:

La longitud total de los cromosomas en los 5 fenotipos fue variable, a continuación se describirán dichas variaciones separando las especies:

Para *C. hintonii* se observó cierta similitud entre los fenotipos de Infiernillo y Zicuitaro mostrando el primero una longitud total de los cromosomas de  $43.98\mu\text{m}$  y el segundo de  $46.94\mu\text{m}$  mientras que el fenotipo de Valerio Trujano (Cuenca Alta) presentó la menor longitud siendo esta de  $37.29\mu\text{m}$ .

En *C. epifanioi* la diferencia en longitud total entre los dos fenotipos fue importante siendo para el fenotipo con glándulas de  $51.46\mu\text{m}$  y para el fenotipo sin glándulas de  $47.96\mu\text{m}$ .

Los tiempos de germinación fueron variables siendo de 1 a 2 en *C. hintonii* Infiernillo y de 1 día en Valerio Trujano y en *C. epifanioi*, la población más difícil de trabajar fue la de Zicuitaro debido a que presentó problemas desde su germinación la cual tardaba de 3 a 4 días, ésta tardanza no es atribuible al tiempo de almacenamiento de las semillas ya que las 3 poblaciones tienen el mismo tiempo de haber sido recolectas, además la resistencia que presentaba a los hongos fue mucho menor que las otras dos.

Tabla 5. Longitud total y de los brazos, valores r y d de los 12 homólogos de *C. hintonii* Infiernillo.

Homólogo	Brazo Largo	Brazo corto	Long. Total del cromosoma	r	d	Cromosoma
1	1.4650	1.0043	2.4693	1.4587	1.8658	m
2	1.3989	1.0295	2.4284	1.3587	1.5209	m
3	1.1645	0.7349	1.8994	1.5844	2.2615	m
4	0.9537	0.7327	1.6865	1.3015	1.3101	m
5	0.9016	0.6494	1.5510	1.3882	1.6256	m
6	0.8779	0.6252	1.5032	1.4041	1.6809	m
7	0.8026	0.5252	1.3279	1.5281	2.0890	m
8	0.6887	0.4301	1.1188	1.6012	2.3113	m
9	1.8451	0.9784	2.8236	1.8857	3.0693	sm
10	1.4096	0.7392	2.1489	1.9069	3.1198	sm
11	1.0715	0.6408	1.7123	1.6719	2.5149	sm
12	0.8456	0.4741	1.3198	1.7834	2.8146	sm

Tabla 6. Longitud total y de los brazos, valores  $r$  y  $d$  de los 12 homólogos de *C. hintonii* Valerio Trujano.

Homólogo	Brazo Largo	Brazo corto	Long. Total del cromosoma	$r$	$d$	Cromosoma
1	1.4231	1.0763	2.4994	1.3221	1.3873	m
2	1.1817	0.75	1.9317	1.5756	2.2349	m
3	1.1451	0.8129	1.9580	1.4087	1.6968	m
4	0.9473	0.7241	1.6715	1.3080	1.3348	m
5	0.8844	0.5634	1.4478	1.5696	2.2168	m
6	0.8661	0.6575	1.5236	1.3172	1.3690	m
7	0.7865	0.5919	1.3784	1.3287	1.4118	m
8	0.7763	0.6526	1.4290	1.1894	0.8653	m
9	0.6854	0.5666	1.2521	1.2096	0.9489	m
10	0.6817	0.5424	1.2241	1.2566	1.1374	m
11	0.6526	0.6526	1.3053	1	0	M
12	0.5446	0.4790	1.0236	1.1369	0.6407	m

Tabla 7. Longitud total y de los brazos, valores  $r$  y  $d$  de los 12 homólogos de *C. hintonii* Zicuitaro.

Homólogo.	Brazo Largo	Brazo corto	Long. Total del cromosoma	$r$	$d$	Cromosoma
1	1.4344	1.2874	2.7218	1.1141	0.5398	m
2	1.4215	1.0413	2.4629	1.3650	1.5435	m
3	1.4192	0.9819	2.4011	1.4453	1.8212	m
4	1.2279	0.8816	2.1096	1.3928	1.6417	m
5	1.0577	0.8408	1.8985	1.2579	1.1425	m
6	0.8489	0.8326	1.6816	1.0196	0.0970	m
7	0.7230	0.5924	1.3154	1.2204	0.9929	m
8	0.6180	0.4711	1.0892	1.3118	1.3490	m
9	1.6559	0.8443	2.5002	1.9613	3.2462	sm
10	1.3760	0.6588	2.0349	2.0884	3.5243	sm
11	1.1405	0.6320	1.7725	1.8044	2.6842	sm
12	0.9749	0.5072	1.4822	1.9218	3.1549	sm

Tabla 8. Longitud total y de los brazos, valores r y d de los 12 homólogos de *C. epifanioi* (c/g).

Homólogo	Brazo Largo	Brazo corto	Long. Total del cromosoma	r	d	Cromosoma
1	1.9467	1.5258	3.4725	1.2758	1.7982	m
2	0.7225	0.5475	1.2701	1.3196	1.3778	m
3	1.7290	1.2080	2.9370	1.4312	4.0103	sm
4	1.5354	1.1612	2.6967	1.3222	3.3442	sm
5	1.3483	0.9387	2.2870	1.4364	4.0234	sm
6	1.0870	0.9258	2.0129	1.1742	2.4836	sm
7	1.0483	1.7774	1.9370	1.1796	2.5234	sm
8	1.0677	0.85	1.9177	1.2561	3.0643	sm
9	0.9064	0.7306	1.6370	1.2406	2.7840	sm
10	0.7693	0.5370	1.3064	1.4324	4.0172	sm
11	1.7209	0.9258	2.6467	1.8588	5.6157	st
12	1.0177	0.5919	1.6096	1.7193	5.1830	st

Tabla 9. Longitud total y de los brazos, valores de d y de r de los 12 homólogos de *C. epifanioi* (s/g).

Homólogo.	Brazo Largo	Brazo corto	Long. Total del cromosoma	r	d	Cromosoma
1	1.3419	1.1483	2.4903	1.1685	2.4471	m
2	1.0354	1.0290	2.2161	1.0062	0.0309	m
3	1.1112	1.0096	2.1209	1.1006	1.8834	m
4	1.0516	0.8661	2.7225	1.2141	0.9669	m
5	0.9258	0.9016	2.4483	1.0268	5.0184	sm
6	1.0048	0.8725	1.9419	1.1515	2.8341	sm
7	1.0032	0.8387	1.8419	1.1961	2.6378	sm
8	1.0693	0.7935	1.7983	1.3475	3.1027	sm
9	1.1112	0.7403	1.7693	1.5010	3.8138	sm
10	1.1806	0.7661	1.6919	1.5410	2.7092	sm
11	0.8564	0.6790	1.5451	1.2612	3.1595	sm
12	0.8161	0.5790	1.3951	1.4094	3.9330	sm

Del análisis de resultados obtenidos se indican las siguientes características cromosómicas en la Tabla 10: longitud total, diferencia en la longitud de los cromosomas (cromosoma más largo – cromosoma más pequeño), el número cromosómico haploide únicamente para *C. nelsonii*. Y el diploide para las otras dos especies. Así como sus cariogramas (Figuras 7,8,9,10 y 11) los cuales fueron diseñados con el programa Microsoft Excel 1998 y sus microfotografías en Microsoft Power Point 1998 (Figuras 12-17).

Tabla 10. Longitud total, diferencia en la longitud de los cromosomas y números cromosómicos.

Especie Población	y	Formúla cariotípica	Número 2n	Número n	Longitud total.	Diferencia en long de cromosomas (><)
<i>C. hintonii</i> Infiernillo		8m+4sm	24	12	43.97µm	1.70 µm
<i>C. hintonii</i> Valerio Trujano		12m	24	12	37.29µm	1.47 µm
<i>C. hintonii</i> Zicuitaro		8m+4sm	24	12	46.94µm	1.63µm
<i>C. epifanioi</i> (c/g).		2m+ 8sm+2st	24	12	51.46µm	2.2µm
<i>C. epifanioi</i> (s/g).		4m+8sm	24	12	47.96µm	1.09µm
<i>C. nelsonii</i>		¿?	24	12	¿?	¿?

¿? = Aún no reportado.

#### *Caesalpinia hintonii* Infiernillo.

Como se puede observar la longitud del cromosoma más largo es de 2.8136µm mientras que la del más corto es de 1.1188µm, por lo tanto la diferencia en la longitud de los cromosomas (Tabla 10) es de 1.70 µm, la posición del centrómero para la clasificación de los cromosomas no produjo incertidumbre ya que los valores “d” no estaban cerca de los límites para cada uno de los tipos de cromosomas, teniendo una fórmula cariotípica de 8m+4sm.

### *Caesalpinia hintonii* Valerio Trujano.

Tanto morfológica como cariológicamente (Tabla 11), ésta población es distinta de las otras dos debido a que presenta una longitud total de los cromosomas menor siendo de 37.29  $\mu\text{m}$ , también la diferencia entre el cromosoma más largo y el más pequeño es la menos de los tres fenotipos siendo de 1.47  $\mu\text{m}$  (Tabla 10).

A diferencia de las otras dos poblaciones la obtención de cromosomas metafásicos fue relativamente más sencilla con éste fenotipo, el número de células óptimas para el estudio fue mayor. El cariograma fue totalmente simétrico sin tener problemas de incertidumbre en la clasificación de los cromosomas.

### *Caesalpinia hintonii* Zicuitaro.

Con respecto a la técnica utilizada para la obtención de los cromosomas en ésta población fue necesario aplicar la de splash debido a que la separación de los cromosomas fue nula con la de squash, y como se aprecia en la Fig. 14 el resultado tampoco fue muy óptimo, y debido a que no se contaba con más material para trabajar se utilizaron estos cromosomas para la elaboración de los cariotipos, pero se sugiere se continúe con la obtención de cromosomas metafásicos en ésta población.

La longitud total de los cromosomas es de 46.94  $\mu\text{m}$ , presentando el cromosoma más grande una longitud de 2.7218  $\mu\text{m}$  y el menor 1.0892  $\mu\text{m}$  dando como resultado una diferencia en longitud de los cromosomas de 1.63  $\mu\text{m}$ , su cariograma fue igual que el Infiernillo (8m+4sm).

### *Caesalpinia epifanioi* c/g.

Este fenotipo presentó una longitud total de los cromosomas mayor que el fenotipo sin glándulas siendo de 51.46  $\mu\text{m}$ , la longitud entre su cromosoma más largo y el menor también fue mayor con respecto al otro fenotipo (3.4725  $\mu\text{m}$  y 1.2701  $\mu\text{m}$  respectivamente) observándose una diferencia entre la longitud de dichos cromosomas de 2.2  $\mu\text{m}$  su fórmula cariotípica es 2m+8sm+2st.

*Caesalpinia epifanioi* s/g

Este fenotipo muestra una longitud total de 47.96  $\mu\text{m}$  y una diferencia en longitud de sus cromosomas de 1.09  $\mu\text{m}$ , siendo el más largo de 2.7225  $\mu\text{m}$  y el más corto de 1.3951  $\mu\text{m}$ , su fórmula cariotípica es de 4m+8sm es decir más simétrico que el de el otro fenotipo (Tabla 10).

Estos dos fenotipos no presentaron muchas células en metafase así que al igual que en *C. hintonii* Infiernillo solo observamos células metafásicas tempranas o profases tardías.

**MEIOSIS.**

Solo se observaron cromosomas meióticos en *C. nelsonii* debido a que solo se contaba con botones florales de ésta especie la cual presentó la formación de 12 bivalentes como se muestra en la Fig.17.

Tabla 11. Correlación de las características morfológicas con las cariológicas.

Especie.	Características morfológicas.	Características cariológicas.
<i>C. hintonii</i> Infiernillo.	Inflorescencias arqueadas y péndulas, con los pedicelos gráciles, reclinados y torcidos de tal manera que <b>las flores se encuentran resupinadas</b> , indumento de tricomas simples mezclado con glándulas, <b>flores escarlata</b> con pedicelos articulados en o cerca de la base del tubo calicino y legumbre con abundantes glándulas estipitadas cupuliformes de color rojo (Contreras, 1991).	La longitud total de los cromosomas es de 43.98 $\mu$ m y la diferencia entre el cromosoma más largo y más corto es de 1.70 $\mu$ m, su fórmula cariotípica es de 8m+4sm.
<i>C. hintonii</i> Valerio Trujano (Cuenca alta).	<b>Inflorescencias erectas o ascendentes, flores no resupinadas de color rojo salmón</b> , foliolos elípticos u obovados, en su mayoría con puntos negros en el margen, legumbre falcada con glándulas estipitadas cupuliformes o anulares, de color verde limón en la mitad inferior (Contreras, 1991; Sotuyo 1999).	La longitud total de los cromosomas es de 37.29 $\mu$ m y la diferencia entre el cromosoma más largo y más corto es de 1.48 $\mu$ m, su fórmula cariotípica es de 12 m.

Tabla 11. Continuación.

Especie.	Característica morfológica.	Característica cariológica.
<i>C. hintonii</i> Zicuitaro.	Inflorescencias arqueadas y péndulas, pedicelos gráciles casi horizontales o en ocasiones reclinados, con indumento de tricomas simples y glandulas; pedicelos articulados en o cerca de la base del tubo calicino, flores escarlata, fruto con glándulas estipitadas cupuliformes rojas (Sotuyo 1999).	La longitud total de los cromosomas es de $46.94\mu\text{m}$ y la diferencia entre el cromosoma más largo y más corto es de $1.63\mu\text{m}$ , su fórmula cariotípica es de $8\text{m}+4\text{sm}$ .
<i>C. epifanioi</i> c/g	Inflorescencias racemosas surgiendo de braquiblastos, brácteas, sépalos y tubo calicino con glándulas estipitadas, mientras el ovario está cubierto por glándulas cupuliformes rojas que persisten en el fruto (Contreras, 1991).	La longitud total de los cromosomas es de $51.46\mu\text{m}$ y la diferencia entre el cromosoma más largo y más corto es de $2.2\mu\text{m}$ , su fórmula cariotípica es de $2\text{m}+8\text{sm}+2\text{st}$ .
<i>C. epifanioi</i> s/g.	Inflorescencias racemosos surgiendo de braquiblastos. Sin glándulas en las estructuras referidas en la descripción anterior (Contreras, 1991).	La longitud total de los cromosomas es de $47.96\mu\text{m}$ y la diferencia entre el cromosoma más largo y más corto es de $1.09\mu\text{m}$ , su fórmula cariotípica es de $4\text{m}+8\text{sm}$ .

Pares de cromosomas.

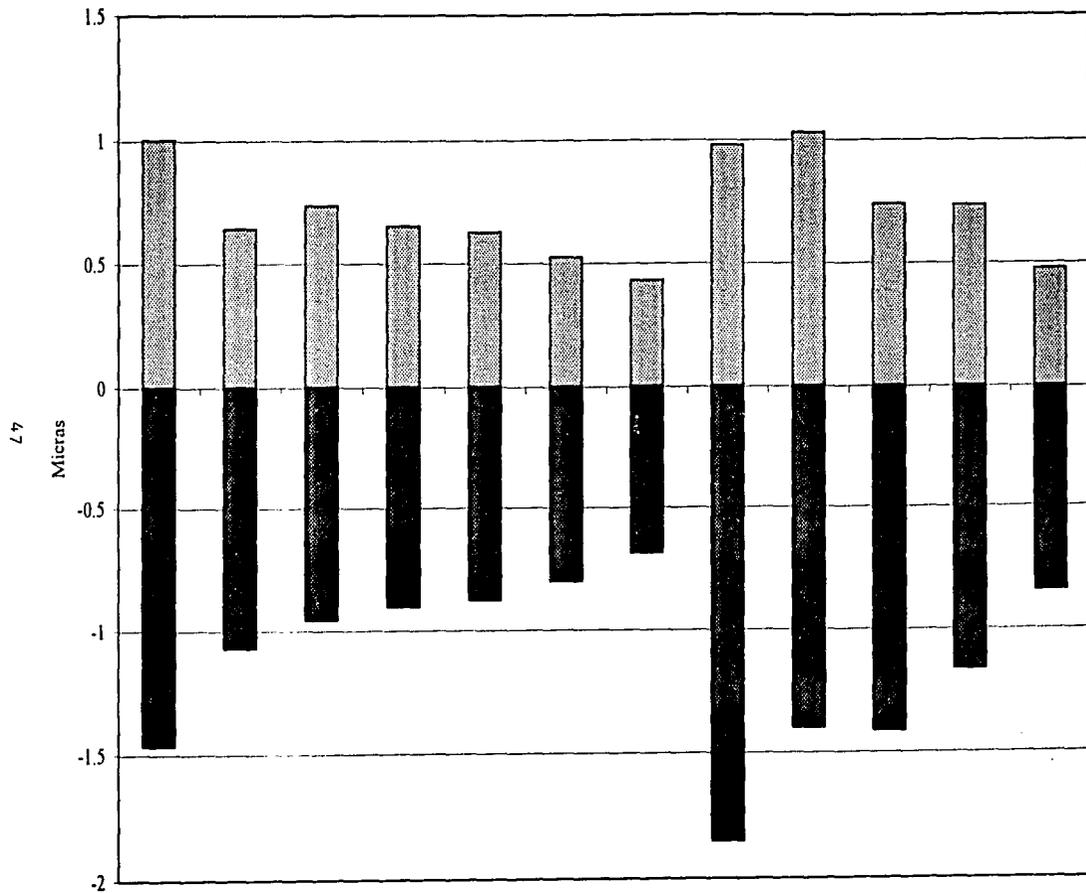


Fig. 7. Cariograma de *C. hintonii* (Infiernillo).

Pares de cromosomas

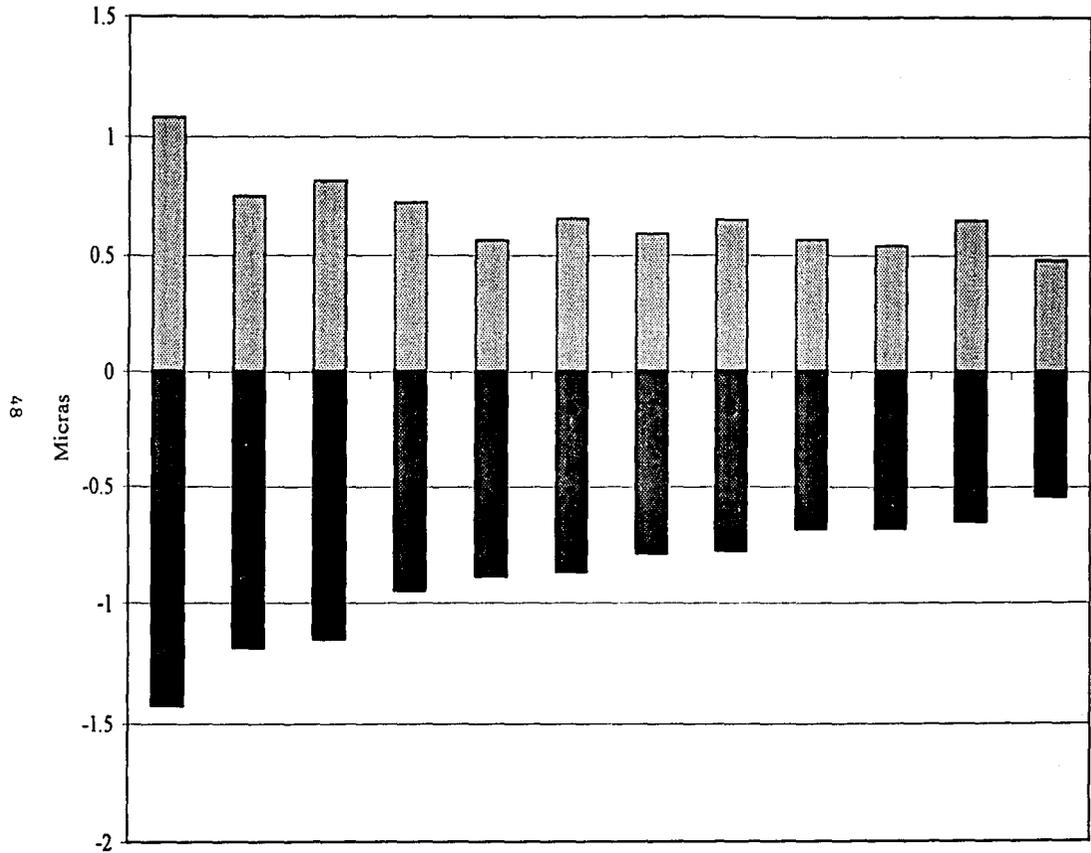


Fig 8. Cariograma de *C. hintonii* (Valerio Trujano)

Pares de cromosomas.

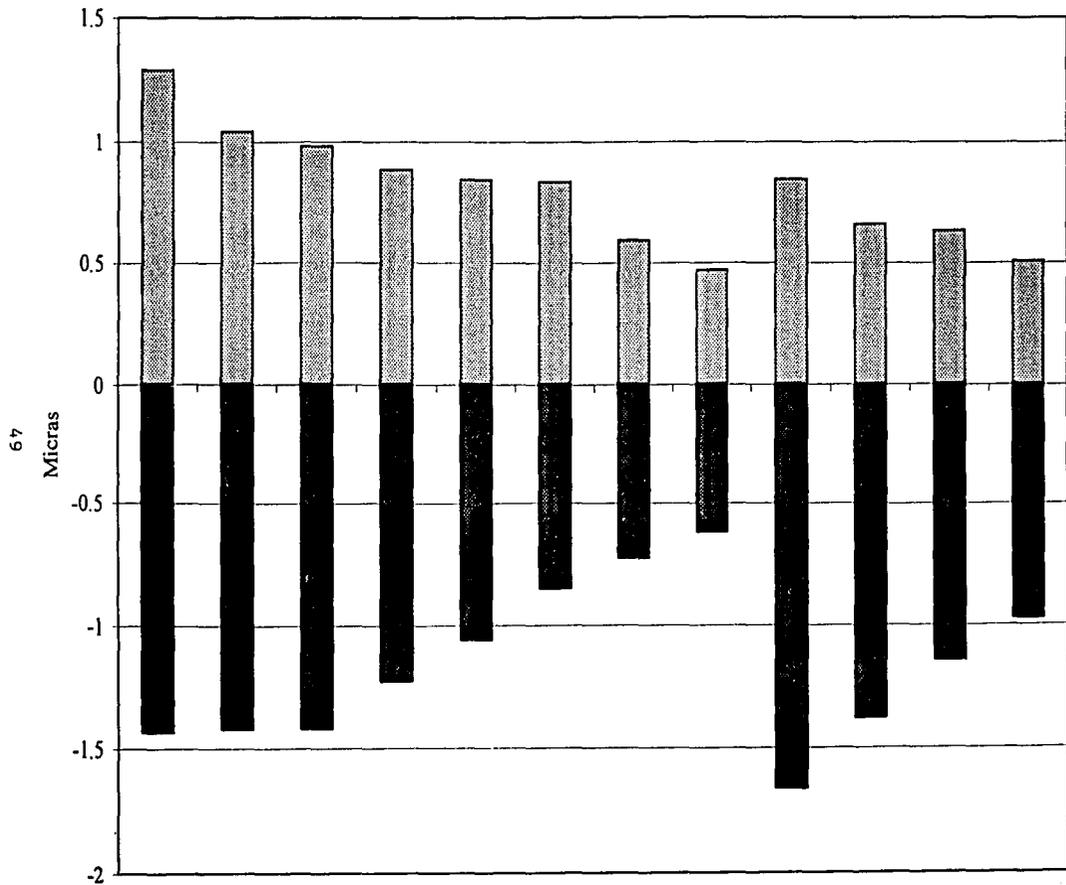


Fig.9. Cariograma de *C. hintonii* (Zicuitaro).

Pares de cromosomas

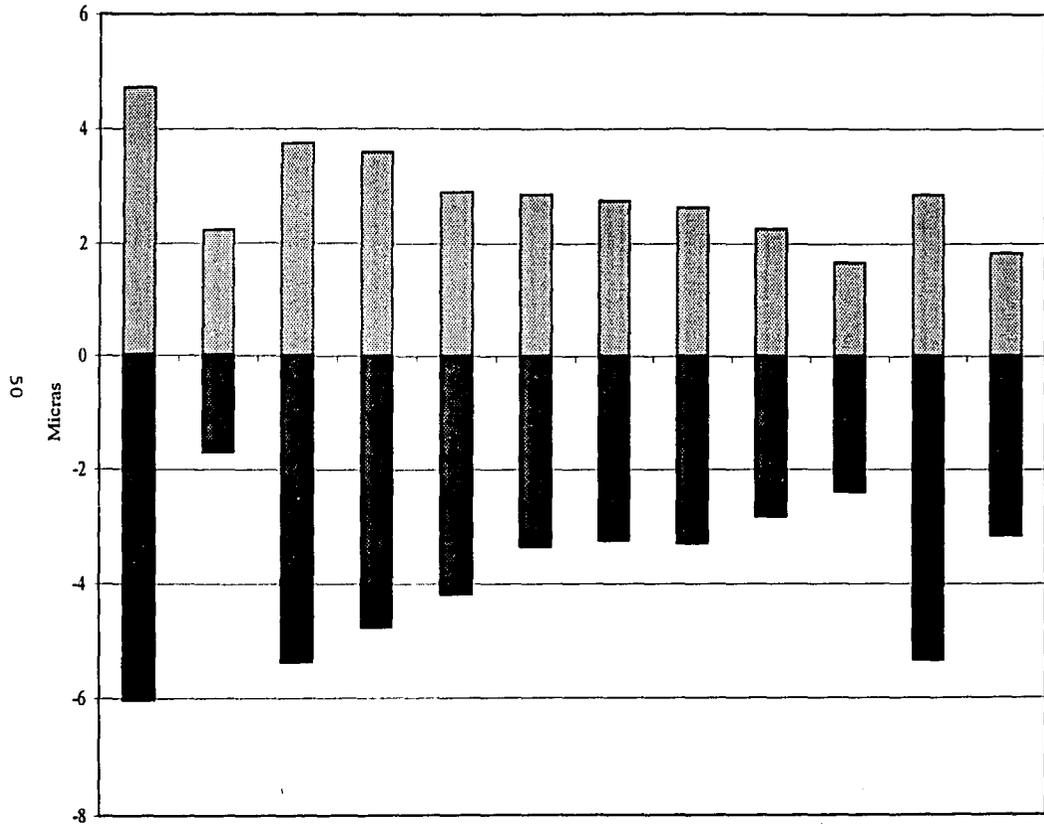


Fig. 10. Cariograma de *C. epifanioi* clg

Pares de cromosomas.

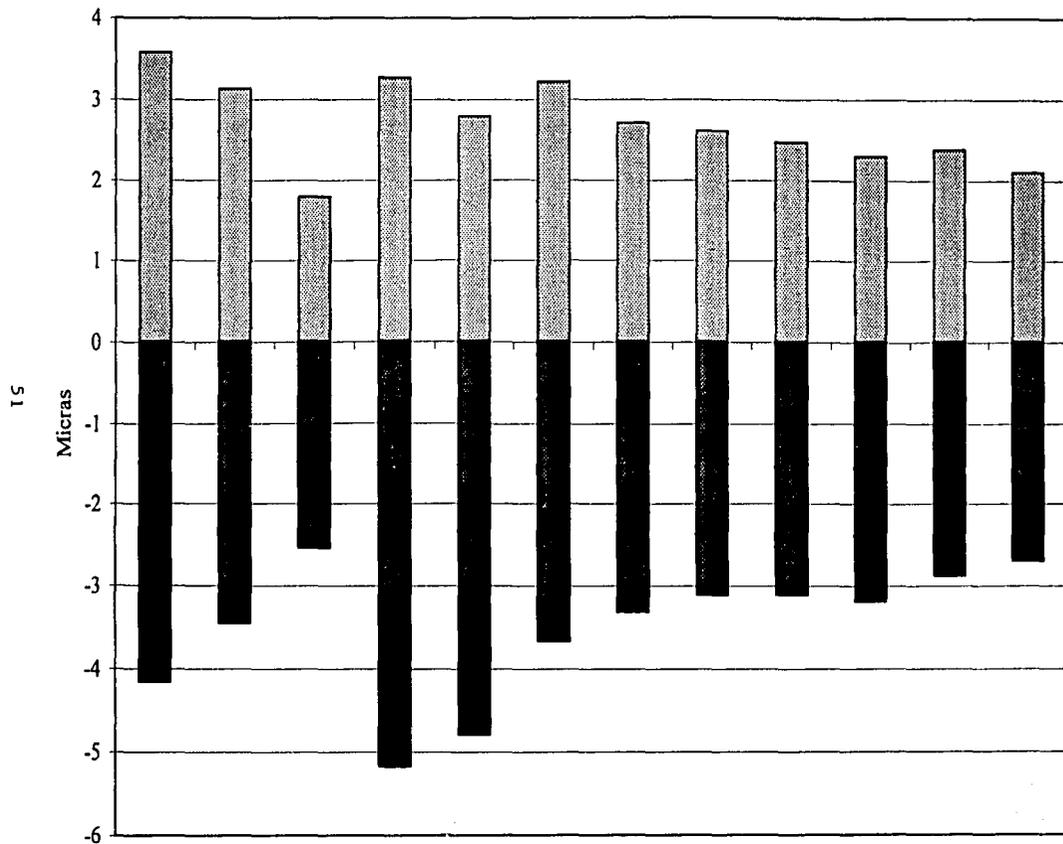
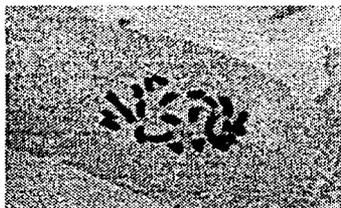
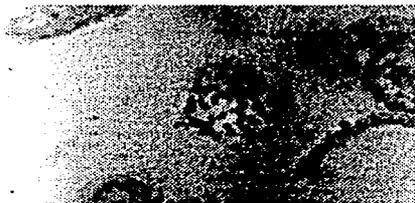


Fig. 11. Cariograma de *C. epifanioi* s/g



**Fig.12.** Cromosomas mitóticos en metafase temprana o profase tardía de *C. hintonii* Infiernillo.  $2n = 24$ .  $8m+4sm$ .



Fig 13. Cromosomas mitóticos en metafase de *C. hintonii*  
Valerio Trujano.  $2n = 24$ . 12m.

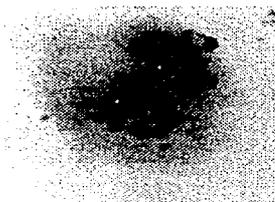
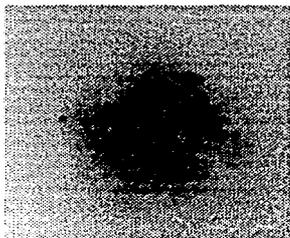


Fig 14. Cromosomas mitóticos en metafase temprana o profase tardía de *C. hintonii* Zicuitaro.  $2n = 24$ .  $8m+4sm$



Fig. 15. Cromosomas mitóticos en metafase temprana o profase tardía de *C. epifanioi c/g*.  $2n = 24$ .  $2m+8sm+2st$



Fig. 16. Cromosomas mitóticos en metafase temprana o profase tardía de *C. epifanioi slg*.  $2n = 24$ .  $4m+8sm$

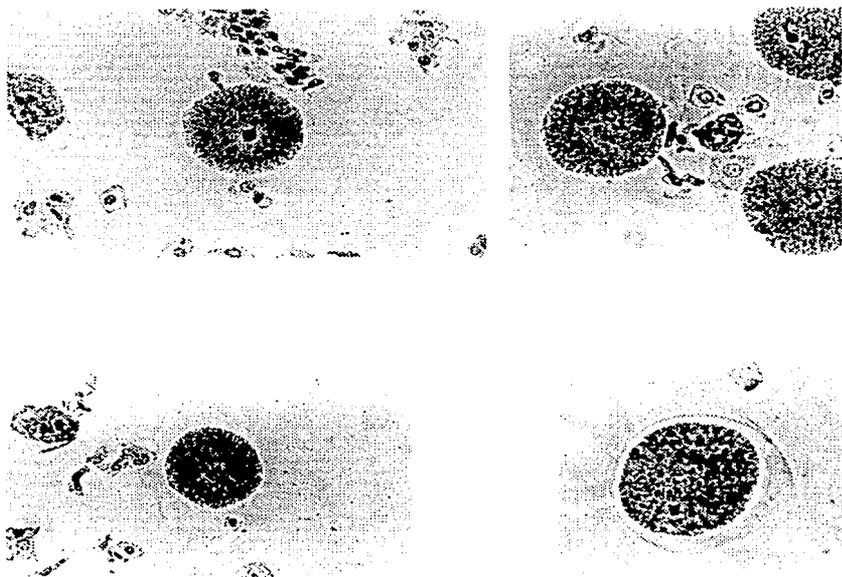


Fig. 17. Cromosomas meióticos de *C. nelsonii*.

## DISCUSIÓN

En este trabajo se reporta por primera vez los números cromosómicos diploides para *C. hintonii* y *C. epifanioi* corroborando los obtenidos para otras especies del mismo género, siendo éste número  $2n=24$ .

Esta similitud en el número cromosómico nos indica la estrecha relación que existe entre los fenotipos de las dos especies y también sugiere que el número básico para el género es  $x=12$  como lo ha mencionado Goldblatt (1981).

Sin embargo hacen falta estudios para afirmar esto, debido a que la información sobre el número cromosómico en este género es muy escasa.

De acuerdo a lo mencionado por Stebbins (1971) acerca de que la especialización es inversamente proporcional a la cantidad de cromatina tenemos que en *C. hintonii* el fenotipo más avanzado sería el correspondiente a Valerio Trujano y el menos avanzado el de Zicuitaro, mientras que en *C. epifanioi* el avanzado sería el fenotipo sin glándulas y el menos avanzado el fenotipo con glándulas.

Lewitsky (1931) por otra parte señala que los cariotipos simétricos son más primitivos con respecto a los asimétricos a los que considera como derivados.

De acuerdo a lo anterior el fenotipo Valerio Trujano sería el más primitivo ya que sus doce pares son metacéntricos y los más avanzados serían los de Zicuitaro e Infiernillo con 4 metacéntricos y 8 submetacéntricos.

En *C. epifanioi* el primitivo sería el fenotipo sin glándulas con 3 metacéntricos y 9 submetacéntricos y el más avanzado el fenotipo con glándulas con 2 metacéntricos, 8 submetacéntricos y 2 subtlocéntricos.

Con base en lo antes mencionado los dos puntos de vista resultan antagónicos en éste caso, por lo que es necesario recurrir a otras características para poder hacer una afirmación más sólida con respecto al grado evolutivo de estos fenotipos.

Sin embargo se puede sugerir que la tendencia puede ser a cariotipos asimétricos con ganancia de cromatina, lo anterior se aprecia tanto en *C. hintonii* como en *C. epifanioi*.

Con respecto a las características morfológicas y cariológicas (Tabla 11) podemos observar que los fenotipos Zicuitaro e Infiernillo tienen una relación muy estrecha ya que morfológicamente únicamente se diferencian en que el fenotipo Infiernillo presenta flores resupinadas y el de Zicuitaro no siempre, y cariológicamente en la longitud total y diferencia entre el cromosoma más grande y más pequeño, lo cual, puede deberse a que se utilizaron dos técnicas para la obtención de los cromosomas (squash para Infiernillo y splash para Zicuitaro) o a la fase en que se encontraban las células en el momento de hacer las preparaciones.

Cabe mencionar que el uso de distintas técnicas se debió a que el fenotipo Zicuitaro fue muy difícil de trabajar con la técnica de squash en la que nunca se pudieron observar cromosomas separados y aunque la técnica de splash es más útil en este aspecto los resultados no mejoraron en mucho por lo que se sugiere se siga trabajando éste fenotipo para obtener resultados más óptimos.

Continuando con las técnicas utilizadas para la obtención de los cromosomas podemos decir que aunque la técnica de splash permite una mayor separación de los cromosomas, presenta una desventaja, la cual es el número de meristemas que requiere para obtener resultados satisfactorios, que va de 20 a 30 meristemas, y esto no siempre es posible debido a que la cantidad de semillas colectadas a veces es igual o menor a tal número aunque sugerimos que cuando sea posible se utilice.

El fenotipo Valerio Trujano es distinto de Infiernillo y de Zicuitaro morfológicamente por que éste no presenta el color escarlata de la flor de los fenotipos anteriores y la forma y color de las glándulas en el ovario y la legumbre, lo cual también es evidente en los cromosomas ya que son más pequeños y simétricos que en las anteriores por lo tanto la longitud total también es menor.

Estas observaciones corresponden a los resultados obtenidos con isoenzimas (Sotuyo, 1999), aún así estos resultados son preliminares ya que se puede especular mucho al respecto ya que aunque los cambios morfológicos pueden deberse a condiciones ambientales al menos en esta especie, ya que, pertenecen a distintas poblaciones.

Con respecto a los fenotipos de *C. epifanioi* la principal diferencia es la presencia de glándulas estipitadas en las brácteas, sépalos y tubo calicino, mientras el ovario está cubierto por glándulas cupuliformes, rojas que persisten en el fruto y en el fenotipo sin glándulas obviamente éstas se encuentran ausentes esto también se refleja en los cromosomas los cuales son de distinta longitud y en el cariograma.

Todo esto permite decir que existe una gran correspondencia entre la morfología y el cariotipo lo cual basándonos en lo dicho por Jackson (1971) podría implicar cambios paralelos.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

## CONCLUSIONES

Del estudio cariológico del género *Caesalpinia* se puede concluir lo siguiente:

- El número cromosómico diploide para 2 especies del género *Caesalpinia* endémicas de la Depresión del Río Balsas y Valle de Tehuacán-Cuicatlán es  $2n=24$ .
- El número cromosómico haploide para *C. nelsonii* es  $n=12$ .
- Nuestros resultados apoyan la idea de que, el número básico para el género *Caesalpinia* en México probablemente es  $x = 12$ .
- Con base en la cantidad de cromatina el cambio del estado primitivo al derivado, sitúa a los fenotipos de *C. hintonii* en el siguiente orden: Valerio Trujano, Infiernillo, Zicuitaro. Y a los fenotipos de *C. epifanioi* como más primitivo al fenotipo con glándulas y al más avanzado al fenotipo sin glándulas.
- Con base en la simetría de los cariotipos se presenta el siguiente orden en *C. hintonii*: Zicuitaro, Infiernillo y Valerio Trujano. En *C. epifanioi* sin glándulas es el más primitivo y con glándulas el más avanzado.
- Los cambios morfológicos y los cariológicos se corresponden.
- Se propone que la tendencia es hacia un incremento en la longitud de la cromatina y la asimetría del cariotipo.

## BIBLIOGRAFIA.

- Britton, N. y Rose, J. 1930. *Caesalpinaceae*. North American Flora. 23(4):318-341.
- Cocuccii, A., Galetto, L. y Sersic, A. 1992. El síndrome de *Caesalpinia gillesii*. (Fabaceae-Caesalpinioideae). Darwiniana 31:11-135.
- Conger, A. D. y Fairchild, L. M. 1953. A quick freeze method for making smear slides permanent. Stain Tech. 28: 281-283.
- Contreras, J. L. 1991. Contribución al conocimiento del género *Caesalpinia* (Leguminosae: Caesalpinioideae). Tesis (Licenciatura en Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México. 136 pp.
- Contreras, J. L., Amor P. D., García, A. A., Pérez, A., Bratoeff, E. A. y Labastida, C. 1995. A chromatographic study of flavonoides and fatty acids of four *Caesalpinia* species. Int. J. Exp. Bot. 57:31-35.
- García, A. 1985. Sistemas Robertsonianos: Su papel en evolución cromosómica en plantas superiores. En: III Seminario Maximino Martínez. La aplicación de la citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México. Palomino, G. (Coord.). Jardín Botánico del Instituto de Biología. UNAM. México. 41-53 pp.
- García, A. 1988. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. 1ª edición. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 196pp.
- Gola, G., Negri, G., Cappelletti, C. y Fronti Q. P. 1965. Tratado de Botánica. Edit. Labor. España. 1160pp.
- Goldblatt, P. 1981a. Cytology and the phylogeny of Leguminosae. R. M. Polhill y P. M. Raven (eds). Advances in Legume Systematics Part. 2. Royal Botanic Gardens, Kew, England, 427-463pp.
- Goldblatt, P. 1981b. Index to plant chromosome number 1975-1978. Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden. 5:225

- Goldblatt, P. 1984. Index to plant chromosome number 1979-1981. Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden. 8:179
- Goldblatt, P. 1985. Index to plant chromosome number 1982-1983. Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden. 13:92
- Goldblatt, P. 1988. Index to plant chromosome number 1984-1985. Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden. 23:103
- Goldblatt, P. y Dale E. J. 1990 Index to plant chromosome number 1986-1987. Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden. 30:84
- Federov A. 1974. Chromosome numbers of Flowering plants. Otto Koeltz. Science Publishers. Koenigstein. Germany
- Jackson, R. C. 1971. The karyotype in systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 2: 327-365.
- Jenkins, J. B. 1982. Genética. Reverté. Barcelona. España. 784pp.
- Jones, K. 1978. Aspects of chromosome evolution in higher plants. En: H.W. Woolhouse (ed). *Advances Bot. Res.* Vol. 6 Academic Press. Inc. London. England. 120-194 pp.
- Judd, S. W., Campbell, C. S., Kellog, E. A., Stevens, F. P. 1999. Plant Systematics. A phylogenetic approach. Sinauer Associates. Inc: Publishers. Sunderland, Massachusetts. U.S.A. 464pp.
- Kantz, K. E. y Tucker, S. C. 1994. Developmental basis of floral characters in the Caesalpinieae. En: I.K. Ferguson y S. Tucker (eds). *Advances in Legume Systematics Part. 6. Structural Botany*. Royal Botanic Gardens, Kew, England, 33-40pp.
- Kite, G. G. y Lewis, G. P. 1994. Chemotaxonomy of seed non protein aminoacids in *Caesalpinia s.l.* En: J.J. Sprent y Mc Key, D. (eds). *Advances in Legume systematics. Part 5. The Nitrogen Factor*. Royal Botanic Gardens, Kew, England, 101-105pp.
- Levan, A., Fredga, K. y Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.

- Lewis, G. P. y Schire, B. D. 1995. A reappraisal of de *Caesalpinia* group (Caesalpinioideae:Caesalpinieae) using phylogenetic analysis. En: M. Crisp y J.J. Doyle (eds). Advances in legume systematics. Part 7. Phylogeny. Royal Botanic Gardens, Kew, England. 41-52pp.
- Lewis, G. P. 1998. Caesalpinia (A revision of the Poincianella- Erythrostemon Group). Continental Printing. Bélgica.
- Lewitsky, G. A. 1931. The karyotype in systematics (on the base karyology) of the subfamily Hellboreae. Boll. Appl. Bot. Gen Pl-Breed. 27(1): 220-240.
- Mercado Ruaro, P. y Delgado Salinas, A. 1998. Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). Amer. J. Bot. 85(1): 1-9.
- Mroginski, L. A. y Kartha K. K. 1984. Tissue culture of legumes for Crop Improvement Plant. Breeding Reviews 2:215-264
- Nageshwar, G., Radhakrishnaiah, M y Narayama, L. L. 1984. Chemotaxonomy of *Caesalpinia*. Curr. Sci. 53: 813-814.
- Palomino, H. G. 1985. Los estudios citogenéticos como apoyo al conocimiento de los recursos genéticos. En: III Seminario Maximino Martínez. La aplicación de la citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México. Palomino, G. (Coord.). Jardín Botánico del Instituto de Biología. UNAM. México. 1-10pp.
- Palomino, H. G. 1995. Estudios citogenéticos de plantas mexicanas, Plantas: Biotecnología, Agronomía, Nutrición. COFAANP. México. 11pp.
- Polhill, R. M. y Vidal, J.E. 1981. Caesalpinieae. En: R. M Polhill y P. H. Raven (eds). Advances in Legume Systematics. Part 1. Royal Botanic Gardens, Kew, England, 81-95pp.
- Polhill, R. M. 1994. Classification of the leguminosae. Phytochemical dictionary of the Leguminosae. F.A.Bisby, J. Buckingham, J.B. Harborne (eds). Vol 1. Plants and their constituents. Chapman and Hall.

- Puertas, M. J. 1999. Genética. Fundamentos y perspectivas. 2ª edición. Mc Graw- Hill- Interamericana. Madrid. España. 913pp.
- Robertis, E. D. P. y Robertis, E. M. P. 1990. Biología celular y molecular. Ateneo. Buenos Aires. Argentina. 530pp.
- Sotuyo, S. J. 1999. Estructura genética de 3 especies endémicas de *Caesalpinia* (Leguminosae: Caesalpinioideae) en la Depresión del Río Balsas y Valle de Tehuacán-Cuicatlán. México. Tesis (Licenciatura en Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Sousa, S. M. y Delgado, S. A. 1993. Mexican leguminosae: Phylogeography, endemism and origins. Ramamoorthy, A. P., Bye, R., Lot, A., Fa, J. (eds). Biological diversity in México, origin and distribution. Oxford University Press. Oxford. 458-511pp.
- Stace, C. A. 2000. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> centuries. *Taxon* 49: 451-477.
- Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold Publishers, LTD., London. England. 216pp.
- Tapia, P. F. y Mercado, R. P. 2001. A combination of the "Squash" and "Splash" Techniques to obtain the karyotype and assess meiotic behavior of *Prosopis laevigata* L. (Fabaceae: Mimosoideae). *Cytologia* 66:11-47, 2001.
- Ulibarri, A. E. 1996. Sinopsis de *Caesalpinia* y *Hoffmannseggia* (Leguminosae- Caesalpinioideae) de Sudamérica. *Darwiniana* 34(1-4). 299-348
- White, O. L. 1996. Aspectos cariológicos, morfológicos y de viabilidad de polen en varias especies de la tribu Caesalpinieae (Leguminosae). Tesis (Licenciatura en Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México. 81 pp.
- Zhao, Z. 1996. Documented chromosome number. miscellaneous USA and mexican species mostly Asteraceae. *SIDA* 17: 259-263.