

50322
38



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

ESTUDIO CITOGÉNÉTICO EN AGAVÁCEAS (*Agave lechuguilla*, *A. striata* ssp. *striata*, *A. salmiana* var. *salmiana* y *Yucca filifera*) DEL MUNICIPIO DE IXMIQUILPAN, HIDALGO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
DE TEODORO PARDO | CLAUDIA VERÓNICA

DIRECTOR: BIOL. FERNANDO TAPIA PASTRANA

UNAM FES ZARAGOZA



DE NUESTRA REFLEXION

MÉXICO, D. F.

SEPTIEMBRE 2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



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.

DEDICATORIA

A mis padres por mi oportunidad de existir, por su sacrificio, comprensión y cariño que desde siempre me han brindado. Gracias, porque sin su apoyo incondicional e invaluable ayuda no hubiera sido posible la culminación de este gran sueño. Los quiero mucho.

A mi hermano Juan Carlos por su ayuda, comprensión y consejos que siempre me ha brindado. Sigue adelante y échale ganas.

A mi tía Gloria por todo su apoyo para continuar estudiando y estar al pendiente de mí.

A Gabriel por compartir a mi lado todos mis sueños y realidades, tristezas y alegrías. Por brindarme incondicionalmente su confianza, todo su apoyo, comprensión, cuidado y su amor. Gracias, por ser como eres, una gran persona.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México, en particular a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por ser la base de mi educación.

Mi mayor agradecimiento a mi asesor Biol. Fernando Tapia Pastrana por permitirme realizar mi tesis de licenciatura en su laboratorio. Gracias por la confianza, enseñanza, entusiasmo y apoyo brindado durante todo este tiempo.

Al Dr. Abisai García Mendoza del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la ayuda brindada en la determinación de las especies estudiadas.

De igual manera, le agradezco a la Dra. Raquel Galván Villanueva de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, las observaciones y comentarios realizados para enriquecer esta investigación.

Gracias a mis sinodales: M. en C. Rosalva García Sánchez, M. en C. María Socorro Orozco Almanza, M. en C. Carlos Castillejos Cruz y al Dr. Eloy Solano Camacho, por sus comentarios y valiosas sugerencias en la revisión de mi tesis.

Reitero mi agradecimiento a mis amigos Yadira Cornejo Silva y Eloir Gallegos Pacheco, por brindarme su amistad incondicional, apoyarme siempre y ayudarme en varios aspectos durante la realización de mi tesis.

También a todos los profesores que con sus enseñanzas contribuyeron en mi formación profesional y a todos mis compañeros que de alguna u otra forma me ayudaron en la realización de este sueño.

CONTENIDO

PÁG.

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	1
III. ANTECEDENTES	3
3.1. Hibridación	3
3.2. Poliploidía	4
3.3. Aneuploidía	5
3.4. Cariotipo <i>Yucca-Agave</i>	6
3.5. Familia Agavaceae	8
3.6. Descripción del género <i>Agave</i> L.	9
3.6.1. Usos de las agaváceas	10
3.6.2. Descripción de las especies en estudio	11
<i>Agave lechuguilla</i> Torrey	11
<i>Agave striata</i> Zucc. ssp. <i>striata</i>	12
<i>Agave salmiana</i> var. <i>salmiana</i> Otto ex Salm-Dyck	13
3.7. Descripción del género <i>Yucca</i> L.	14
3.7.1. Usos del género <i>Yucca</i>	15
3.7.2. Descripción de <i>Yucca filifera</i> Chabaud	17
IV. HIPÓTESIS	18
V. OBJETIVOS	19
VI. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	20
VII. MATERIAL Y MÉTODO.....	22
VIII. RESULTADOS	24
IX. DISCUSIÓN	43
X. CONCLUSIONES.....	47
XI. REFERENCIAS	49

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

D

I. RESUMEN

Se analizaron citogenéticamente células somáticas de cuatro especies de agaváceas del municipio de Ixmiquilpan, Hidalgo. Se utilizó una técnica de extendido en superficie y secado al aire con la que se confirma el número cromosómico de *Agave lechuguilla* Torrey ($2n=4x=120$), *A. striata* Zucc. ssp. *striata* ($2n=60$), *A. salmiana* var. *salmiana* Otto ex Salm-Dyck ($2n=6x=180$) y se registra por vez primera el de *Yucca filifera* Chabaud ($2n=60$). Adicionalmente se evalúa la longitud cromosómica total, nivel de ploidía, intervalo cromosómico y presencia de cromosomas portadores de satélites. En general los resultados concuerdan con muchas de las características registradas previamente, sin embargo, se obtienen nuevos datos sobre la morfología cromosómica como son: constricciones secundarias, porciones satélite y diferencias en los cromosomas pequeños de las especies estudiadas. Las evidencias sugieren que la remodelación cromosómica ha tenido un papel importante en la especiación de los géneros *Agave* y *Yucca*.

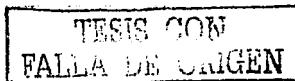
II. INTRODUCCIÓN

Los agaves y las yucas pertenecen a la familia de las agaváceas y son elementos importantes de la flora nacional. Representan a grupos de plantas suculentas típicas de las zonas semiáridas de México, con gran importancia biológica, ecológica y económica. Nuestro país concentra al 75% de las especies de *Agave* y 60% de las especies de *Yucca* y a pesar de que su amplia distribución ecológica y geográfica (desde dunas costeras hasta 3300 m), que las exhibe como taxa interesantes desde la perspectiva fitogeográfica y evolutiva, han recibido escasa atención en el aspecto citogenético, situación que se explicaría en parte por las dificultades técnicas involucradas ya que los cromosomas de los complementos *Yucca-Agave* no sólo son numerosos, incluyendo algunos muy pequeños, sino que tienden a agruparse, en tanto que el citoplasma es denso y se tiñe fuertemente haciendo la tinción diferencial muy problemática por lo que la obtención de placas en metafase somática adecuadas para el conteo cromosómico y el análisis de su morfología, presentan dificultades considerables (Granick, 1944). Además se sabe que algunos agaves son poliploides, incluyendo, especies cuyos complementos cromosómicos corresponden a hexaploides ($2n=6x=180$).

Datos recientes continúan mostrando que el interés por la información derivada del estudio cromosómico, número y forma, no se ha perdido, por el contrario, continúa ayudando a resolver las relaciones filogenéticas en distintos grupos de especies vegetales (Grant, 1987; Stace, 2000; Ran *et al.*, 2001). También queda claro la necesidad de persistir con este tipo de estudios pues el conocimiento citogenético de las floras regionales y mundiales está aún bastante lejos de ser completo y podría nunca completarse debido a la rápida extensión de la "civilización". Un caso particular lo representa la vegetación asociada a las zonas áridas y semiáridas que representan más del 50% de nuestro país (Toledo y Ordóñez, 1998, en Ramamoorthy *et al.*, 1998) ya que han sido gravemente alteradas por actividades como el sobrepastoreo, la sobreexplotación de especies vegetales y la falta de planeación en el uso de sus recursos. En particular, la zona árida hidalguense (extensión más sureña del desierto chihuahuense) representa un área muy deteriorada, en la cual los géneros *Agave* y *Yucca* tienen importancia económica y en donde además no se han encontrado registros previos de estudios citogenéticos detallados en agaváceas.

En este sentido, grupos de vegetales complejos, por su tolerancia ecológica, patrón de distribución, tipo de reproducción y potencial de hibridación, aunados a su importancia económica requieren en consecuencia estudios cromosómicos detallados que contribuyan al esclarecimiento de sus afinidades genéricas, niveles de ploidía, ocurrencia de polisomatía y variaciones intraespecíficas del tamaño del genoma. Estas descripciones contribuirán de modo importante a observar en los "cariotipos naturales" un nuevo entendimiento de la arquitectura cromosómica.

Cabe mencionar, que los estudios citogenéticos son una herramienta útil para el esclarecimiento de afinidades genéricas y específicas, centros de origen, variaciones en los niveles de ploidía y patrones evolutivos en especies vegetales y comprenden esencialmente, el análisis de los cromosomas durante la mitosis y la meiosis. Las características del cariotipo



como número, tamaños relativo y absoluto, relación de brazos, presencia de satélites, así como la distribución de eucromatina y heterocromatina, usualmente son estudiadas en cromosomas somáticos (Grant, 1987; García, 1988).

En estudios taxonómicos de plantas el recuento de cromosomas y la estructura de los mismos, proveen información en relación al número básico de grupos de ligamiento génico y cuántas veces éstos se repiten, proporcionando un indicador rápido de la similitud genética entre poblaciones o especies (Kenton, 1986). Las relaciones de los brazos y otros parámetros obtenidos del análisis cromosómico ayudan a conocer la similitud cariotípica entre poblaciones y especies relacionadas. Estas variables también son importantes para conocer el nivel de ploidía, a pesar de que no son útiles para distinguir entre autopoliploides (resultado de una duplicación cromosómica) y los alopoliploides (de origen híbrido).

Actualmente se admite que consideraciones sobre cariotipos, junto con la distribución geográfica y características estructurales, permiten interpretar la evolución y filogenia de los organismos sobre una base firme (White, 1973; García, 1984; Stace, 2000).

Otro parámetro citológico susceptible de evaluar es la cuantificación de ADN, bien sea de manera directa por citometría de flujo y citometría estática, cuyos métodos han mostrado proveer estimaciones relativamente precisas de la talla del genoma en una variedad de organismos (Raina y Rees, 1983; Salimunddin y Ramesh, 1994; Renzaglia *et al.*, 1995), o por métodos indirectos como la longitud y/o volumen cromosómico total en metafase mitótica y meiótica, cuya correspondencia ha sido por demás comprobada (Rees *et al.*, 1966; Nagl y Ehrendorfer, 1974; Bennett *et al.*, 1983; Sims y Price, 1985; Poggio *et al.*, 1986).

Lo anterior, remarca la necesidad de profundizar los estudios citogenéticos en especies que como los agaves y las yucas representan valiosos recursos genéticos, mismos que conducirán a un mejor entendimiento de las relaciones filogenéticas del grupo y a una comprensión más integral de los mecanismos evolutivos involucrados en su especiación, información que además podrá emplearse para establecer estrategias de conservación y para implementar el mejoramiento genético de las mismas.

En el presente trabajo, se emplea una metodología de extendido y secado al aire para realizar un análisis citogenético detallado en células somáticas de *Agave lechuguilla*, *A. striata* ssp. *striata*, *A. salmiana* var. *salmiana* y *Yucca filifera*, en la perspectiva de lograr un mayor entendimiento de los procesos cromosómicos involucrados en la evolución de estas especies.

III. ANTECEDENTES

3.1. Hibridación

La hibridación natural es el cruzamiento al azar espontáneo entre poblaciones que tienen una historia previa de divergencia hasta el nivel de razas disyuntas, semiespecies o especies, y que están separadas por aislamiento ecológico parcial o reproductivo, o ambos (Grant, 1989).

En el reino vegetal la hibridación natural esporádica u ocasional es normal cuando dos o más especies emparentadas llegan a ponerse en contacto. Pero esto no es universal. Llama la atención esos casos excepcionales en los que dos o más especies emparentadas habitan el mismo territorio sin hibridizar.

La primera causa importante de la no hibridación entre especies emparentadas simpátricas es la incompatibilidad, interpretada ampliamente para incluir no sólo impedimentos antes de la fertilización internos, sino también impedimentos después de la fertilización.

Varias generaciones de botánicos han considerado que la hibridación tiene una función importante en la evolución vegetal (Stebbins, 1950, 1959). Por ejemplo en la flora británica de 2500 especies 778 son híbridos (Stace, 1987, 2000).

Es bien conocido que cerca de la mitad de las especies de plantas superiores son poliploides, mientras que la poliploidía se conoce sólo en unos pocos grupos de animales. Asimismo, la mayor parte de las plantas poliploides que se originan en la naturaleza son alopoliploides (Clausen, Keck y Hiesey, 1945). Aquí se tiene una clara indicación de la importancia de la hibridación en la evolución vegetal y la falta de algún indicio comparable en el reino animal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2. Poliploidía

Un organismo es poliploide cuando la dotación autosómica normal de un individuo, está compuesta por más de dos genomios o juegos completos de cromosomas. Si los genomios componentes son iguales, el poliploide es un autopoliploide y se denomina tri-, tetra-, n-ploide según el número de juegos idénticos de cromosomas. Al parecer esto ocurre con frecuencia en células aisladas, los autopoliploides presentan grados variables de esterilidad, debido a que no hay un adecuado apareamiento durante la meiosis, produciendo a menudo disyunciones desiguales dando origen a células inviábiles (Stebbins, 1971; Gardner, 1980; Robles, 1986; Lacadena, 1988). Si los genomios que componen la dotación cromosómica del poliploide no son iguales entonces se llama alopoliploide, se producen cuando se mezclan por hibridación diferentes genomas por duplicado y su comportamiento meiótico está influenciado grandemente por la afinidad u homología existente entre los genomas (Stebbins, 1971; Lacadena, 1988).

El fenómeno de la poliploidía se descubrió durante la fase exploratoria de la citogenética vegetal y la citotaxonomía vegetal en los primeros años del siglo XX. Este tiene importancia respecto a campos tan diversos como la citogenética, fisiología, reproducción vegetal, citotaxonomía y biogeografía. También ha tenido un papel muy importante en la evolución de las plantas superiores, especialmente en las angiospermas y las pteridófitas. Se han trazado correlaciones entre la poliploidía y el clima, latitud, altitud, el tipo de hábitat, la forma de vida, el sistema reproductivo, la hibridación, el tamaño de la célula, el tamaño y la estructura de los cromosomas; el mecanismo cromosómico sexual, el genotipo y otros factores (Grant, 1989).

La poliploidía se promueve por una combinación de tres factores primarios: organismos de vida larga que usualmente poseen medios de propagación vegetativa; especiación primaria acompañada de remodelación cromosómica; y la ocurrencia común de la hibridación interespecifica natural. Entre los factores externos de importancia secundaria que a menudo favorecen la poliploidía están los hábitats alterados y los ambientes que provocan trastornos del equilibrio fisiológico (estrés) (Grant, 1989).

Los poliploides contienen varias replicas de material genético en los núcleos y por eso pueden tolerar a menudo la pérdida de uno o más pares de cromosomas. Esto lleva a series poliploides modificadas que terminan con lo que Darlington (1973) ha denominado como reducción de la poliploidía.

3.3. Aneuploidía

La aneuploidía se refiere a diferencias en el número de cromosomas individuales. La variación aneuploide abarca una serie de fenómenos muy heterogéneos. Las desviaciones a partir de un número cromosómico normal pueden ser hacia arriba (ganancia) o hacia abajo (pérdida). Estas desviaciones numéricas pueden incluir un solo cromosoma (polisomía, monosomía), un solo par de cromosomas, o más de un par. Los cromosomas adicionales pueden ser homólogos de miembros del complemento regular, o no constituir parte de éste (cromosomas B o cromosomas accesorios). La aneuploidía puede ocurrir en el nivel diploide o poliploide (Grant, 1989).

TESIS CON
FALLA DE URGEN

3.4. Cariotipo *Yucca-Agave*

Estudios citogenéticos pioneros mostraron que el cariotipo *Yucca-Agave* consistía de un patrón de 10 cromosomas largos (grandes) distribuidos en la periferia de la placa metafásica y 50 (pequeños) restantes que se agrupan en el centro. Esta arquitectura cariotípica también se encuentra en géneros relacionados tales como: *Furcraea* y *Hosta* (Granick, 1944).

Por su parte, el género *Agave* es una serie poliploide con un número cromosómico básico de $x=30$ y especies que van desde diploides hasta octaploides (McKelvey y Sax, 1933; Granick, 1944; Pinkava y Baker, 1985). Se conoce poco acerca de los ancestros primarios de las especies poliploides cultivadas y la naturaleza de su ploidía, auto o alopoliploidía. El cariotipo haploide de *Agave* se ha señalado como típicamente bimodal, con 5 cromosomas grandes acrocéntricos y 25 cromosomas pequeños metacéntricos y submetacéntricos (Stebbins, 1971; Castorena-Sánchez *et al.*, 1991), indicando un posible origen de hibridación interespecífica y poliploidía -paleopoliploidía y poliploidía secundaria (Pinkava y Baker, 1985). La reproducción en este género es principalmente vegetativa, la diversificación genética a través de autopoliploidía, aneuploidía y/o rearrreglos en el ADN pudieron haber ocurrido durante su evolución (Sharma y Battacharyya, 1962; Wienk, 1976). Por otro lado, debido a que la hibridación interespecífica es frecuentemente observada entre las especies de *Agave* (Gentry, 1982; Pinkava y Baker, 1985) se puede esperar una diversificación limitada de los complementos cromosómicos dentro del género (Castorena-Sánchez *et al.*, 1991). Con todo, sólo una cuarta parte del total de los taxa reportados de *Agave* están estudiados cromosómicamente (Pinkava y Baker, 1985). Por otra parte, los conteos cromosómicos para algunas especies de los géneros *Yucca* y *Hesperaloe* concuerdan con el número básico $x=30$ (Pinkava y Baker, 1985).

Muchos investigadores de los cromosomas de *Agave* (McKelvey y Sax, 1933; Sató, 1935, 1938, 1942; Doughty, 1936; Granick, 1944; Cave, 1964; Gómez-Pompa *et al.*, 1971) interpretaron sus conteos exactos o aproximados para representar $n=30$ o múltiplos de éste. Por otra parte, Sharma y Bhattacharyya (1962) reportaron no solamente el número "normal" $n=30$ o múltiplos del mismo, sino también una amplia variación en el número de células adicionales. Estos números variantes son difíciles de interpretar, aunque quizá representan conteos en células de tejidos quiméricos. En cualquier caso, éstos fueron considerados como representantes del nivel de ploidía inmediato superior para facilitar su interpretación (Pinkava y Baker, 1985). Cabe destacar que todos los estudios citogenéticos antes mencionados se han realizado empleando técnicas de aplastado o "squash" y los complementos cromosómicos se han mostrado únicamente mediante dibujos realizados con la ayuda de una cámara lúcida. Asimismo, se ha sugerido que en futuros estudios en *Agave* es necesario incorporar datos ecológicos, morfométricos y citogenéticos con evidencia directa de estudios acerca de los mecanismos reproductivos. A este respecto, Sharma y Battacharyya (1962) asumen que la especiación en *Agave* ha ocurrido a través de diversificación del cariotipo durante la reproducción vegetativa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En México, pocas investigaciones citogenéticas detalladas se han realizado sobre la morfología de los cromosomas individuales en especies del género *Agave*, resaltan los trabajos de Gómez-Pompa *et al.* (1971) y Castorena-Sánchez *et al.* (1991). En éstos se describió la morfología de los complementos de *Agave mapisaga* ($2n=150$; con 25 cromosomas grandes submetacéntricos y 125 pequeños metacéntricos y submetacéntricos), *A. nizamensis* ($2n=60$; con 10 cromosomas grandes submetacéntricos, con un par que exhibe constricción secundaria y 50 pequeños son metacéntricos y submetacéntricos), *A. verschaffeltii* ($2n=60$; con 10 cromosomas grandes submetacéntricos, un par con constricción secundaria y 50 pequeños metacéntricos y submetacéntricos) y *A. xalapensis* ($2n=60$; 10 cromosomas grandes submetacéntricos, un par con constricción secundaria y 50 pequeños metacéntricos y submetacéntricos). No se reportan células aneuploides (Gómez-Pompa *et al.*, 1971).

Por otro lado, Castorena-Sánchez *et al.* (1991) registraron en agaves de la sección *Rigidae* y *Sisalanae* células euploides y sugirieron procesos de especiación vía rearrreglos cromosómicos limitados y mutaciones puntuales en los cromosomas pequeños en vez de una diversificación cariotípica.

En el género *Yucca*, por otra parte, los estudios citogenéticos detallados son escasos y algunos resultados son inciertos, pues aunque en la mayoría de las especies se han registrado las características propias del cariotipo *Yucca-Agave* en otras los números diploides obtenidos varían desde $2n=42, 54, 56$ (Müller, 1909, en Watkins, 1936; Sharma y Sarkar, 1964, en Gómez-Pompa *et al.*, 1971) hasta $2n=60$ (McKelvey y Sax, 1933; Whitaker, 1934; Sató, 1935; Watkins, 1936; Gómez-Pompa y Váldez, 1962) con datos limitados sobre la morfología cromosómica. Además, se sabe poco acerca de las relaciones entre especies o de los patrones de especiación en el género *Yucca*. Una convergencia sustancial de caracteres entre taxa relacionados distantemente parece haber oscurecido la relación entre las especies (Clary y Simpson, 1995).

3.5. Familia Agavaceae

Plantas herbáceas, arbustivas, arborescentes; a menudo con rizomas cilíndricos, globosos o con raíces fibrosas bien desarrolladas; hojas dispuestas en rosetas basales a veces terminales, lineares, linear-lanceoladas, ampliamente lanceoladas a ovadas u oblanceoladas, membranosas-subcoriáceas, coriáceas a carnosas, ápice provisto o no de una espina terminal pungente, márgenes enteros, serrulados, con dientes aculeiformes, rara vez filíferos; inflorescencias terminales, en forma de racimo, espiga o de panícula simple o compuesta, laxa o densa; flores actinomorfas o algo zigomorfas, hermafroditas, segmentos del perianto dispuestos en dos series de tres elementos cada una, libres, formando un tubo de longitud variable; estambres seis, insertos en la base de los segmentos o en el tubo, filamentos filiformes, a veces engrosados, anteras peltadas, o apenas peltadas de dehiscencia longitudinal; ovario súpero o ínfero, trilobular, con numerosos óvulos anátropos, estilo filiforme o columnar, estigma capitado o trilobado; fruto en forma de cápsula loculicida, a veces carnoso e indehisciente; semillas deltoideas a semicirculares, aplanadas, delgadas, negras, con fitomelano (Galván, 2001, en Rzedowski y Calderón, 2001).

La familia Agavaceae tiene su centro de origen y diversificación en México. Al parecer, este centro se encuentra en la zona árida de Tehuacán, en donde hay más especies de *Agave* (14) que en cualquier otra parte de México; esto hace pensar en la posibilidad de que dicha región fuera el lugar de origen del género (Reichenbacher, 1985). Se distribuye desde el sur de Canadá, México, Centroamérica, norte de Sudamérica (siguiendo principalmente la cadena montañosa de los Andes hasta Bolivia y Paraguay) e islas del Caribe. Comprende ocho géneros (*Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Manfreda*, *Pollanthes*, *Prochnyanthes* y *Yucca*) y aproximadamente de 288 especies de estas el 75%, se encuentran en México (García-Mendoza y Galván, 1995).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.6. Descripción del género *Agave* L.

Son rosetas suculentas, monocárpicas o policárpicas, perennes o multianuales, con frecuencia presentan vástagos en la base y a veces bulbilos en la inflorescencia; raíces fuertes y fibrosas, desplegadas; tallo grueso, muy corto, por lo general más corto que el brote terminal, simple o ramificado; hojas numerosas, generalmente suculentas, espina puntiaguda, margen con o sin dientes; inflorescencia alta, escaposa, espigada, racemosa o paniculada; flores casi siempre grandes, por lo común protándricas; perianto tubular a ligeramente infundibuliforme, los seis segmentos del perianto erectos a variablemente curvados, similares o dimórficos, imbricados en el botón; los seis estambres incluidos; filamentos largos, insertos en el tubo o sobre la base de los tépalos; anteras versátiles; ovario ínfero, trilocular, suculento, pared gruesa con numerosos óvulos axilares en dos hileras por lóculo; pistilo alargado, filiforme, tubular; estigma trilobado, glandular-papiloso; fruto dehiscente, cápsula loculicida; semillas aplanadas y negras (Gentry, 1982).

El género *Agave* es subdividido en dos subgéneros según el tipo de inflorescencia: 1) Flores en espiga en pares o racimos o raramente racemosa en pequeños agrupamientos distintos: Subgénero *Littaea*, y 2) Flores paniculadas en grandes umbelas sobre pedúnculos laterales: Subgénero *Agave*. En éste se incluyen alrededor de 166 especies conocidas en América, de las cuales por lo menos el 75% se encuentra en México, y de éstas, un 55% de ellas son endémicas (García-Mendoza, 1995). El género *Agave*, cuyo nombre viene del griego "agavos" significa admirable, fue descrito inicialmente por Linneo en 1753. La especie tipo es *Agave americana*. Las plantas de este género son mejor conocidas con el nombre común de magueyes.

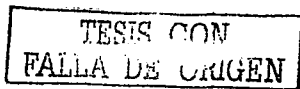
Por otra parte, la delimitación taxonómica de la mayoría de las especies no es clara y varias de las dificultades en la taxonomía del género surgen de la tendencia del grupo hacia una filogenia reticulada, la cual resulta de una aparente ausencia de aislamiento reproductivo completo entre los taxa reconocidos. Los grupos de especies incluidos en la monografía de Gentry (1982) frecuentemente parecen corresponder con el singámeon de suprespecies de Grant (1989), compuesto de semiespecies capaces de algún grado de intercambio genético (Burgess, 1985).

3.6.1. Usos de las agaváceas

Durante el florecimiento de las culturas mesoamericanas, las agaváceas jugaron un papel importante, proporcionándole al hombre alimento, calor, techo, vestido, medicina, bebida, uso religioso, ornato, muebles, implementos agrícolas, forrajes y otros usos diversos. Los nahuas utilizaron los magueyes en forma integral, desde las raíces hasta las semillas, recibiendo cada órgano de la planta un nombre especial. Cuando los españoles llegaron a México en el siglo XVI, llamó su atención el uso integral que los indígenas daban a los magueyes; no había una sola parte que no rindiera beneficios, y es por ello que los bautizaron como "árbol de las maravillas" (García-Mendoza, 1998).

En la actualidad, se señalan más de 70 formas de empleo, donde las principales son: la obtención de bebidas fermentadas (pulque), bebidas destiladas (tequila y mezcal) y la obtención de fibras largas y cortas de numerosas especies (henequén, lechuguilla y espadín). A menor escala se usan en la construcción, como alimento, ornato, medicina y para la elaboración de artículos domésticos diversos. Sin embargo, la utilización de los magueyes cultivados es cada vez menor y el uso de sus partes tiende a desaparecer debido al empleo de productos sintéticos (García-Mendoza, 1998, Castorena-Sánchez *et al.*, 1991).

Como fuente de fibra pueden mencionarse *Agave fourcroydes* Lem. ("henequén"), *A. sisalana* Perrine ("sisal") y *A. angustifolia* Haw. Entre las ornamentales destacan: *A. americana* var. *marginata* Trel., *A. applanata* Koch y *A. victoriorum-reginae* T. Moore. Para la obtención de bebidas fermentadas y destiladas se tienen: *Agave americana* L., *A. mupisuga* Trel., *A. salmiana* var. *angustifolia* Berger y sobre todo *A. salmiana* var. *salmiana* Otto ex Salm-Dyck, *A. ferox* C. Koch, *A. latissima* Jacobi, *A. mirabilis* Trel., *A. potatorum* C. Koch, *A. protuberans* Engelm. y *A. tequilana* (Gentry, 1982).



3.6.2. Descripción de las especies en estudio

Agave lechuguilla Torrey (Subgénero *Litsea*)

Agave polsegeri Salm.

Agave multilineata Baker.

Agave heteracantha Hort.

Rosetas por lo regular pequeñas, con pocas hojas, generalmente de 30-50 por 40-60 cm; hojas en su mayoría de 25-50 por 2.5-4.0 cm, linear-lanceoladas, de color verde brillante, verde amarillento y verde oscuro, se disponen en forma erecta y algunas veces en forma recurva, cóncava en la cara inferior, sólidas, rígidas, el margen recto y continuo, de color café brillante a gris, fácilmente más desprendible cuando la hoja está seca; dientes típicamente recurvos de 2 a 5 mm de longitud, de color café a gris brillante, frágiles, separados por 1.5-3.0 cm, en número de 8 a 20 por cada lado; espina fuerte, cónica a subulada, de 1.5 a 4.0 cm de longitud, color gris con tonos café, canal corto con la base abierta o cerrada; espiga de 2.5-3.5 m de altura, pedúnculo floral glauco; flores cortas pediceladas; panícula con diversas flores ascendiendo lateralmente, flores de 30-45 mm de longitud, color amarillo a frecuentemente matizado de rojo a púrpura; ovario de 15 a 22 mm de largo, fusiforme; estrechado en el cuello; tubo de 2.5 a 4.0 mm de largo, poco profundo, abierto; tépalos desiguales, lineares, de 13 a 20 mm de largo; filamentos de 25-40 mm de largo; anteras de 15-20 mm de longitud; cápsulas oblongas a piriformes de 18-25 por 11-18 mm con el ápice redondeado y picudo, de color glauco a café claro, con pedicelos muy cortos o sésiles; semillas de 4.5-6.0 por 3.5-4.5 mm, negras, con una muesca pequeña y un pliegue alado sobre la parte curva (Gentry, 1982). Este agave se conoce comúnmente como: lechuguilla, ixtle, guishe y tzuta (Martínez, 1987). Es utilizado fundamentalmente para la obtención de fibra, además tiene usos agrícolas, domésticos y medicinales. Su distribución abarca los estados de Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Hidalgo, México, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (García-Mendoza y Galván, 1995).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Agave striata Zucc. ssp. *striata* (Subgénero *Littaea*)

Agave recurva Zucc.

Plantas perennes, compactas con tallo corto, de 50 a 100 cm de altura por 50-120 cm de ancho, de color verde pálido a rojo purpúreo; hojas en su mayoría de 25-60 por 0.5-1.0 cm de ancho en la parte media, lineares, estriadas, gruesas, algo rígidas, rectas a recurvas, convexas en ambas caras, lisas a lo largo de las quillas, de color café a café oscuro en la parte superior antes de la espina, el margen cartilaginoso de 1 mm o menos, escabroso a menudamente serrulado; la espina de 1-5 cm de longitud, subulada, redondeada, muy puntiaguada, café rojizo a gris oscuro; inflorescencia una espiga de 1.5-2.5 m de altura, con flores por lo general hasta la mitad de la longitud del pedúnculo floral, brácteas de 5 a 10 cm de longitud, las brácteas florales más cortas, deciduas; flores geminadas de 30-40 mm de longitud, tubulares, amarillo verdoso o rojo a púrpura con anteras de color café oscuro; ovario de 12 a 15 mm de longitud; tubo de 14 a 20 mm de longitud por 8 a 11 mm de diámetro; tépalos de 5 a 6 mm de longitud por 4.5 a 5.0 mm de ancho, ovado-oblongos; filamentos de 30-50 mm de longitud, insertos en la parte media del tubo, usualmente sobre dos niveles, ovalados en sección transversal; anteras de 12 a 16 mm de longitud, céntricas de color café oscuro a púrpura, amarillas con la dehiscencia; cápsulas triangulares en forma transversal de 13 a 16 mm de largo por 8 a 10 mm de diámetro, apiculadas, de color café oscuro, truncadas en la base; semillas de 3.0 por 3.5 mm, negras, en forma de media luna, macizas (Gentry, 1982). Los nombres comunes para este agave son: espadín, estoquillo, peñecillo y junquillo (Martínez, 1987). Tiene usos agrícolas, forrajeros y es alimenticio (se consumen los quiotes tiernos). Este agave se distribuye en Coahuila, Durango, Hidalgo, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (García-Mendoza y Galván, 1995).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

***Agave salmiana* var. *salmiana* Otto ex Salm-Dyck (Subgénero *Agave*)**

Agave cochlearis Jacobi
Agave coarctata Jacobi
Agave lehmannii Jacobi
Agave mitriformis Jacobi
Agave tehuacanensis Karw. ex Salm
Agave jacobiana Salm
Agave atrovirens var. *sigmatophylla* Berger
Agave quotifera Trel. ex Ochoterena
Agave compluvata Trel.

Plantas medianas a grandes, con tallo corto y grueso, rosetas fuertes de 1.5-2.0 m de altura; hojas de 1-2 m de longitud por 20-35 cm de ancho, linear-lanceoladas, acuminadas, carnosas y gruesas, color verde a glauco-grisáceo, cóncavas a acanaladas en la cara interior y profundamente convexas en la base, el ápice sigmoidalmente curvado; margen repando, algunas veces mamilado; dientes muy grandes a lo largo de la parte media, de 5 a 10 mm de longitud, separados de 3-5 cm, color café grisáceo, la cúspide recta a recurva desde la base; espina larga, fuerte, subulada, de 5 a 10 cm de longitud, color café oscuro-grisáceo, acanaladas ampliamente por arriba de la mitad de su longitud, largamente decurrente, algunas veces hasta la mitad de la hoja la cual presenta un margen córneo grueso; inflorescencia una panícula fuerte de 7 a 8 m de altura, escapo floral con bráctea grandes y succulentas; flores de 80-110 mm de longitud, amarillas y con el ovario de color verde, gruesas y carnosas; ovario de 50-60 mm de longitud, grueso, cilíndrico, no estrechado del cuello; tubo infundibuliforme, de 21 a 24 mm de longitud por 15 a 20 mm de diámetro, con pared gruesa; tépalos desiguales, lanceolados, doblados hacia el interior, los externos de 21 a 25 mm de largo por 6 mm de ancho, los internos de 2 a 3 mm más cortos; filamentos de 57 a 70 mm de longitud, insertos arriba de la mitad del tubo; antera de 30 a 35 mm de longitud, amarillas, excéntricas; cápsulas de 5.5-7.0 cm de largo por 2.0-2.2 cm de diámetro, estipitadas, leñosas, color café; semillas de 8-9 por 6-7 mm, negras, lacrimiformes, con una muesca superficial cerca del ápice (Gentry, 1982). Este agave se conoce comúnmente como: akamba, magüey pinto, magüey de pulque y magüey manso (Granados, 1993). Se utiliza para hacer bebidas, también como forraje y tiene uso medicinal. En nuestro país se encuentra en los estados de Aguascalientes, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (García-Mendoza y Galván, 1995).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7. Descripción del género *Yucca* L.

Plantas perennes, acaules o con tronco leñoso, simple o ramificado, con numerosas hojas linear-lanceoladas, linear-oblancoeladas, dispuestas en el ápice del tallo o de sus ramas, planas o convexas, por lo general rígidas, en ocasiones delgadas y suaves, a menudo con una espina apical, márgenes córneos algunas veces provistos de filamentos; inflorescencia en forma de panícula erecta o colgante, pedicelos con una bracteola basal; flores hermafroditas, ampliamente campanuladas, segmentos del perianto blancos o de color crema, a veces con tintes verdosos o rosados, persistentes, oblongos-elípticos, libres apenas unidos en la base, planos a ligeramente cóncavos, los segmentos de la serie interna más anchos, algo carnosos; estambres 6, insertos en la base de los segmentos, filamentos claviformes, anteras basifijas, con dehiscencia introrsa; ovario sécil, trilobular, óvulos numerosos, estilo columnar, con 3 lóbulos estigmáticos; fruto seco o carnoso, dehiscente o indehiscente, semillas planas, de color negro (Galván, 2001, en Rzedowski y Calderón, 2001).

El género se compone de aproximadamente 45 especies distribuidas principalmente en los desiertos de México y los Estados Unidos (Clary y Simpson, 1995), también en Venezuela, las Bermudas y las Antillas. En México se encuentra aproximadamente un 60% de las especies (García-Mendoza y Galván, 1995). Las especies que prosperan en México, reciben entre otros nombres los de "izote", "palma", "palmilla", "palmita" (Galván, 2001, en Rzedowski y Calderón, 2001). En México crecen alrededor de 29 especies de *Yucca*, principalmente en aquellas zonas del norte del país que tienen un clima semidesértico. Las mayores poblaciones de plantas del género *Yucca* se encuentran localizadas en dos regiones: Península de Baja California, poblada principalmente por *Yucca valida*, que alcanza densidades de hasta 300 plantas por hectárea. La región formada por los Estados de México, Michoacán, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, Nuevo León, Zacatecas y Coahuila. En esta región, *Yucca filifera* es la especie más abundante, y existen zonas donde hay más de 300 plantas por hectárea. En algunas ocasiones esta especie se encuentra mezclada con *Yucca decipiens*, *Y. carnerosana* (palma samandoca) y *Y. torrey* (Ridaura, 1980). Asimismo, el género *Yucca* incluye a la única especie epífita conocida de la familia Agavaceae, *Yucca lacandonica*, la cual crece sobre grandes árboles en las selvas de Chiapas, Tabasco y Oaxaca (García-Mendoza, 1998).

En ocasiones *Yucca* constituye la flora representativa de determinadas regiones en las que pueden llegar a formar densas poblaciones (Ridaura, 1980). Se tiene la impresión de que en épocas pasadas se encontraba ampliamente distribuida y que con el tiempo se ha ido restringiendo paulatinamente a las regiones desérticas, en donde la competencia con otras plantas es menor (Trelease, 1902-1911, en Matuda y Piña, 1980).

Una de las características comunes a todas las especies de *Yucca* es el tiempo que tardan en crecer y alcanzar la madurez (época en la cual la planta empieza a florecer). Se han reportado velocidades de crecimiento para ciertas especies que van desde 3 a 10 cm por año, por lo que se necesitan aproximadamente 50 años para que una *Yucca* alcance una altura de alrededor de 2.5 m y empiece a florecer.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7.1. Usos del género *Yucca*

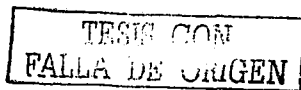
Varios autores han llegado a la conclusión de que *Yucca* desempeñó un papel muy preponderante para las tribus que poblaron las zonas semiáridas de México y los Estados Unidos, sirvió como fuente de alimento y, sobre todo, de materia prima para la construcción de techos y chozas, en la fabricación de sandalias, tejidos, entre otros. En la actualidad, el género es muy importante para los habitantes del norte de nuestro país, principalmente en lo relacionado con su uso como fuente de fibras naturales (Txlle). La planta en su totalidad ha sido utilizada para fines diversos (Ridaura, 1980).

Las yucas contribuyen a prevenir la erosión, ya que favorecen la retención del agua y aumento del contenido orgánico. Proporcionan alimento, sombra y refugio contra el viento y otras inclemencias, al hombre, ganado y fauna silvestre (Matuda y Piña, 1980).

Los troncos de la *Yucca* se utilizan en varias regiones para construir chozas, cercas y corrales. Dada la escasez de leña que existe en algunas partes de las zonas áridas del norte, los troncos de esta planta se utilizan como fuente de energía. Desgraciadamente este uso, aunque lógico y comprensible, puede agotar el recurso porque estas especies, por lo general, tardan mucho tiempo en crecer. La parte de la planta que tiene más uso es la hoja; de ella se obtienen fibras fuertes, largas y de buena calidad. Las especies que más se aprovechan con este fin son *Yucca filifera*, *Y. elata* y sobre todo, *Y. carnerosana*. La fibra de estas plantas se utiliza en la fabricación de cintos, cordeles, escobas, cepillos, sandalias, petates y sacos de costal. También se usa para hacer acojinados y rellenos en general (Ridaura, 1980).

Solamente son comestibles los frutos carnosos de *Yucca*, en forma de baya (dátil). Por lo general, contienen gran cantidad de carbohidratos y se consumen crudos, fritos o tostados, antes de su total maduración, pues en esta última etapa son amargos. Los frutos pueden utilizarse en la preparación de bebidas alcohólicas, por vías fermentativas (Ridaura, 1980). El contenido y características de la pulpa o carnaza del fruto hacen posible que se puedan obtener productos tales como: ates, mermeladas y dulces tipo camote (Sánchez, 1980).

Desde el punto de vista industrial, estas plantas se utilizan únicamente como fuente de fibras. A este respecto, la materia prima que se obtiene, aun cuando es de buena calidad, tiene las desventajas que presentan la mayoría de las fibras naturales, esto es: bajo precio, poca resistencia a la tensión, susceptibles de ser atacadas por bacterias y hongos y, sobre todo, arribo al mercado en una desfavorable competencia con las fibras sintéticas. Esto no significa que la explotación de *Yucca* como fuente de fibra no sea adecuada, sino resalta la necesidad de investigar las formas de mejorar las propiedades de la fibra, de tal manera que tenga mayor aceptación en el mercado. Con base en las materias primas (además de la fibra) que se pueden obtener de *Yucca*, existen varios usos industriales potenciales que han sido estudiados en forma preliminar por varios grupos de investigadores. Por ejemplo, en los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial (LANFI) se estudió la preparación de papel tipo Kraft a partir de los troncos de *Yucca filifera* y *Y. decipiens*, se encontró que el producto obtenido era de muy buena calidad (Ridaura, 1980).



De la semilla se obtienen básicamente dos productos: aceite y sarsasaponina. El alto contenido en ácido linoleico y su índice de yodo hacen que este aceite sea comestible. Debido al alto número de dobles enlaces, este aceite, puede ser modificado químicamente para obtener productos de interés comercial, tales como lubricantes, aceites vulcanizados, plastificantes, aditivos para alimentos y cosméticos. Además del propio aceite, es posible también obtener otros subproductos tales como jabones y detergentes (Sánchez, 1980).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7.2. Descripción de *Yucca filifera* Chabaud

Yucca canaliculata Hook. var. *filifera* (Chabaud) Fenzi.

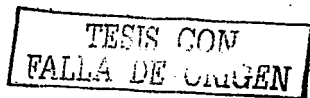
Yucca baccata Torrey var. *australis* Engelm.

Yucca australis (Engelm.) Trel.

Yucca treculeana Rose

Planta arborecente, hasta de más de 10 m de altura, muy ramificada (plantas viejas) hasta 40 ramas. Hojas hasta de 55 cm de largo por 3.6 cm de ancho; linear oblanceoladas, constreñidas cerca de la base, rígidas, generalmente ásperas en ambas superficies; con numerosos filamentos espiralados de color blanco, fácilmente quebradizos, por lo que son más notables en las hojas jóvenes. La inflorescencia sobresale del follaje; panícula más o menos cilíndrica, peduncular; hasta de 1.50 m de largo, multiflora. Flores extendidas, pediceladas; pedicelos hasta de 2.7 cm de largo; segmento del perianto de 3.8-5.2 cm de largo por 0.7-2.5 cm de ancho, los segmentos interiores algo más cortos y más anchos; filamentos de 1.0-1.5 cm de largo; pistilo de 2.3-2.5 cm de largo; ovario de 1.8-2.0 cm de largo por 0.4-0.5 cm de diámetro. Fruto colgante, oblongo, de 5.0-8.8 cm de largo por 2.7-3.3 cm de diámetro; termina en un pico de 0.2-0.7 cm de largo. Semillas de 8 por 2 mm, algo rugosas (Matuda y Piña, 1980).

Los nombres comunes para esta especie son: palma china (San Luis Potosí), palma corriente (Coahuila), izote (centro del país), mají o baji (lengua otomí, Ixmiquilpan, Hidalgo) y tambasi (lengua tarasca, Michoacán) (Matuda y Piña, 1980). *Yucca filifera* se encuentra en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (García-Mendoza y Galván, 1995). Se localiza en planicies con suelos profundos, bien drenados o con deficiente drenaje (cuencas endorreicas); con altitudes entre 500 y 2400 m. Es la especie con más amplia distribución y presenta las mayores densidades, aunque tal como sucede con otras especies, cada día son substituidas sus áreas de distribución, por terrenos de cultivo (Matuda y Piña, 1980). Esta planta tiene los siguientes usos: comestible, forraje, fabricación de bebidas alcohólicas, combustible, para la construcción, obtención de fibras y tiene principios activos útiles (se obtienen productos usados como materia prima en la industria farmacéutica para la fabricación de hormonas, donde destaca por su cantidad de sarsapogenina empleada en la elaboración de anticonceptivos).



IV. HIPÓTESIS

El papel de la remodelación cromosómica en los procesos de especiación de los géneros *Yucca* y *Agave* genera controversia. Descripciones en favor de su estabilidad cariotípica contrastan con los rearrreglos cromosómicos secundarios registrados en algunas especies. Las evidencias mencionadas provienen de análisis citogenéticos donde se empleó el tradicional aplastado (squash) de tejidos meristemáticos, cuyos resultados en ocasiones limitan el número de núcleos a analizar y restringen la distribución óptima de los cromosomas en el interior del espacio nuclear, sobre todo, cuando el complemento presenta un elevado número de cromosomas como es el caso en los miembros de la familia Agavaceae. Sin embargo, la aplicación de una metodología de extendido y secado al aire (splash) permitirá realizar un análisis cariológico detallado de las especies aquí estudiadas y ayudará a esclarecer el papel real de los procesos de diversificación cariotípica en la especiación y evolución de especies pertenecientes a ambos géneros. También se incrementará nuestro entendimiento sobre sus distribuciones ecogeográficas, sus relaciones filogenéticas así como la identificación de caracteres útiles para un mejor tratamiento taxonómico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. OBJETIVOS

Objetivo General

- Realizar un estudio citogenético detallado en células somáticas de *Agave lechuguilla*, *A. striata* ssp. *striata* (subgénero *Littaea*), *A. salmiana* var. *salmiana* (subgénero *Agave*) y *Yucca filifera* del Municipio de Ixmiquilpan, Hidalgo.

Objetivos particulares

- Realizar una búsqueda bibliográfica sobre el género *Agave* y *Yucca*, en cuanto a su distribución geográfica, usos, situación taxonómica y estudios citogenéticos previos.
- Evaluar los porcentajes de germinación de las semillas de los individuos recolectados en campo.
- Aplicar una técnica de extendido en superficie y secado al aire para obtener el complemento cromosómico de *Agave lechuguilla*, *A. striata* ssp. *striata*, *A. salmiana* var. *salmiana* y *Yucca filifera*.
- Analizar las principales características citogenéticas como son el número y forma de los cromosomas, longitud cromosómica total, marcadores citogenéticos, nivel de ploidía y frecuencia de polisomatía.
- Registrar los núcleos aneuploides.
- Analizar la variación cromosómica natural, si ésta existe, en las especies mencionadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El Valle del Mezquital está situado en la parte occidental del estado de Hidalgo, en la cuenca del río Tula más adelante llamado Moctezuma. El sustrato geológico es muy variado, incluye rocas ígneas, como andesitas, riolitas, basaltos y granitos; también calizas, margas, conglomerados y amplias zonas de aluvión (Bravo, 1978). Para algunos autores la región estaría formada por cuatro valles: Tula, Mixquiahuala, Actopan e Ixmiquilpan, aunque otros consideran toda el área como una sola región natural con características particulares en su clima, flora y fauna (Signoret, 1970).

En particular el Valle de Ixmiquilpan (Fig. 1) se localiza a 76 km al noroeste de Pachuca por la carretera federal 85 y a 158 km de la Ciudad de México, esta población es la cabecera municipal más importante de la región, en el corazón del Valle del Mezquital. Tiene una altitud promedio de 1700 m, y una extensión aproximada de 608 km². Abundan las rocas cretácicas y sus afloramientos consisten de pizarras arcillosas y calizas compactas de diversos colores que se encuentran constituyendo eminencias aisladas o formando cordones montañosos. En las depresiones del valle se encuentran arenas, aluviones y material detrítico procedentes de las rocas ya mencionadas y que han sido arrastradas por las aguas. Los suelos en las laderas pueden derivarse de calizas o rocas ígneas (Signoret, 1970). La temperatura media anual en el Valle de Ixmiquilpan es de 18.4 °C con una máxima de 21.4 °C en mayo y una mínima de 14.3 °C en enero. La precipitación media anual de 361.7 mm con un máximo de 64.3 mm en septiembre y un mínimo de 3.4 mm en febrero. El clima que presenta esta zona es del tipo semicálido BSohw(e)gw" (García, 1988). Actualmente la característica de esta zona que salta a primera vista es su aridez (Gómez, 1970).

La precipitación además de escasa es muy irregular, concentrada en julio, agosto y septiembre (Bravo, 1978), debido a que el macizo montañoso de la Sierra Madre Oriental provoca sombra de lluvia, siendo ésta la causa principal de la aridez del valle, sin embargo, una buena parte de las aguas que caen, penetran a través de las fracturas y poros de las rocas, sobre todo de las calizas, que son bastante permeables y se filtran hasta las capas profundas acentuando la condición de aridez. Cabe mencionar que en más del 70% de la región la erosión es activa (Ortiz, 1938).

Los cerros calizos presentan un matorral rosetófilo algo modificado, con *Agave lechuguilla*, *A. striata*, *A. salmiana*, *Dasyllirion* sp., *Hechtia* spp., *Fouquieria splendens* var. *brevifolia*, *Flourensia resinosa*, *Jatropha dioica*, *Mortonia greggii*, *Leucophyllum minus*, *Yucca filifera* y en algunos lugares, *Lurraea tridentata*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

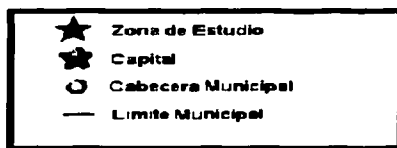


Figura 1. Localización de la zona de estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VII. MATERIAL Y MÉTODO

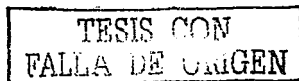
Se recolectaron semillas de 10 individuos de *Agave lechuguilla*, *A. striata* ssp. *striata*, *A. salmiana* var. *salmiana* y *Yucca filifera* en el municipio de Ixmiquilpan, Valle del Mezquital, Hidalgo (20° 26' 17.7" N, 99° 05' 53.9" W; 1893 m.).

En campo, se siguió un transecto de aproximadamente un kilómetro, a lo largo del cual se recolectaron semillas de los individuos de las especies antes señaladas, preferentemente de aquellos separados por una distancia mínima de 50 metros. Se prepararon ejemplares herborizados y se corroboró su identificación con el apoyo de personal calificado del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM).

Se prepararon lotes de 100 semillas por individuo de cada especie y fueron puestas a germinar en cajas Petri con algodón humedecido en agua destilada. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente y con ciclos de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad hasta su germinación (aproximadamente 6-8 días). En el caso de las semillas de *Yucca filifera*, antes de ponerlas a germinar, se escarificaron mecánicamente luego de lavarlas por espacio de tres o cuatro horas en agua corriente. Se registraron los porcentajes de germinación. Cuando las raicillas alcanzaron entre 1-2 cm fueron separadas y pretratadas durante 10 horas en solución 8-hidroxiquinoleína 0.002 M, a temperatura ambiente en reposo y en oscuridad. Una vez transcurrido dicho tiempo las raíces se fijaron en una mezcla de etanol-ácido acético 3:1.

Posteriormente, se cortaron los meristemos radiculares de las raíces fijadas y se procedió a macerar mecánicamente en una solución enzimática conteniendo pectinasas 20% + celulasas 4% y se incubaron en la estufa a 37 °C aproximadamente durante dos horas. Las enzimas fueron separadas mediante centrifugación a 1500 rpm durante diez minutos y el botón celular obtenido experimentó un choque hipotónico en una solución de KCl 0.075 M, durante 20 minutos a 37 °C. Posteriormente, se realizaron tres lavados utilizando la misma solución. Después de haber centrifugado el botón celular se fijó en solución Farmer (etanol-ácido acético 3:1) y se realizaron tres lavados agregando cada vez el fijador fresco. El botón celular se resuspendió con la ayuda de una pipeta Pasteur y se dejaron caer dos gotas del material sobre un portaobjeto limpio y previamente desengrasado. Las laminillas se secaron al aire y posteriormente en la estufa a 37 °C de 12 a 24 horas. La tinción se realizó con solución colorante Giemsa al 10% durante 12-16 minutos. Las laminillas se enjuagaron con agua destilada para retirar el exceso de colorante y se dejaron secar en la estufa a 37 °C por lo menos durante 24 horas (Tapia-Pastrana y Mercado-Ruaro, 2001).

Finalmente, las laminillas se montaron con resina sintética dejándolas secar en la estufa a 37 °C durante 5 días. La revisión de los complementos cromosómicos se realizó en un microscopio óptico (Zeiss 100X).



Los mejores campos de metafases típicas fueron fotografiados en un microscopio óptico Carl Zeiss Axioscop usando película Kodak Technical Pan. Con la ayuda de un calibrador digital Mitutoyo Digimatic CD-6" C y sobre fotografías con la misma magnificación se realizaron mediciones de los cromosomas individuales. Las características de los complementos cromosómicos se obtuvieron a partir de las cinco mejores fotografías por cada especie. En todas las fotografías la barra equivale a 10 μm .

La presencia de núcleos aneuploides por defecto también fueron registrados y se puso atención en el tipo y número de los cromosomas faltantes.

VIII. RESULTADOS

En general la aplicación de una metodología de extendido en superficie y secado al aire permitió observar una gran cantidad de células en metafase típica de las especies aquí estudiadas. En éstas, los cromosomas se apreciaron con una distribución adecuada en el espacio nuclear condición necesaria para realizar su conteo y el análisis del complemento cromosómico. En los mejores campos fue posible examinar algunas características finas de los cromosomas. De esta forma se pudo establecer el número cromosómico diploide, la morfología general de los mismos, frecuencia de polisomatía, longitud cromosómica total y presencia de cromosomas portadores de satélite. A continuación se registran los resultados obtenidos para cada una de las especies bajo estudio.

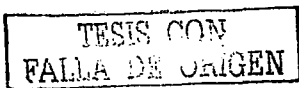
Agave lechuguilla

Porcentaje de germinación. Las semillas de *Agave lechuguilla* comenzaron su germinación después de siete días bajo las condiciones de manejo ya mencionadas. Una vez iniciado el proceso, fue rápido y homogéneo, de modo que dos días después se obtuvo un 78.15% (Tabla 1) de semillas germinadas, lo cual favoreció la realización de los ensayos de extendido y secado al aire, al proporcionar un número suficiente de meristemos radiculares.

Citogenética de *Agave lechuguilla*. Se revisaron un total de 170 núcleos en metafase típica de los cuales 168 (98.82%) fueron tetraploides ($2n=4x=120$) y 2 (1.17%) fueron diploides ($2n=60$) (Tabla 2). El complemento cromosómico de esta especie mostró diez pares de cromosomas grandes con centrómero subterminal que en promedio tuvieron una talla de 5.64 μm . Entre éstos, un par exhibió una constricción secundaria en la región media del brazo largo. Se apreció también un grupo de cromosomas de talla media con centrómero submedio y subterminal los cuales midieron, en promedio, casi la mitad de los cromosomas grandes (1.93 μm). En dos pares de este grupo se observaron pequeñas regiones satélites (Fig. 2). Un tercer grupo de cromosomas se caracterizaron no sólo por su pequeño tamaño (0.53 μm), sino por ser muy estrechos. Éstos incluían metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos. Una aproximación del cariotipo para esta especie se muestra en la Fig. 3. Asimismo se registró una longitud cromosómica total (L.C.T.), en núcleos tetraploides, de 197.93 μm con un intervalo cromosómico promedio de 5.11 μm (Tabla 3).

Por otra parte, la distribución de los cromosomas en metafase no siguió un patrón determinado, es decir, los cromosomas parecieron distribuirse al azar, hallándose interpuestos grandes, medianos y pequeños.

También cabe mencionar que durante la evaluación del número cromosómico se registraron algunas células aneuploides con 118 y 119 cromosomas, o bien, con un número menor, donde en general, los cromosomas faltantes eran pequeños.



Especies	Porcentaje de germinación (%)
<i>Agave lechuguilla</i>	78.15
<i>Agave striata</i> ssp. <i>striata</i>	86.23
<i>Agave salmiana</i> var. <i>salmiana</i>	89.12
<i>Yucca filifera</i>	89.77

Tabla 1. Porcentaje de germinación de las especies estudiadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 2. Complemento cromosómico $2n=4x=120$ de *Agave lechuguilla* (Las flechas muestran las constricciones secundarias y * indica los cromosomas que portan la porción satélite).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 3. Cariotipo de *Agave lechuguilla*.

Agave striata* ssp. *striata

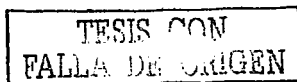
Porcentaje de germinación. Las semillas de *Agave striata* ssp. *striata* comenzaron a germinar en cinco días aproximadamente. Una vez iniciado el proceso de germinación fue rápido y homogéneo de tal modo que al cabo de ocho días el porcentaje de germinación fue de 86.23% (Tabla 1).

Citogenética de *Agave striata* ssp. *striata*. Se registraron un total de 276 células en metafase típica, de las cuales 272 (98.55%), exhibieron un $2n=60$ y sólo en 4 (1.44%) se reconoció un $2n=4x=120$ (Tabla 2). Los complementos de esta especie presentaron cinco pares de cromosomas grandes con centrómeros subterminales que en promedio tienen una talla de 6.06 μm . Al igual que en *Agave lechuguilla*, un par presenta una constricción secundaria (Fig. 4). También se observaron cromosomas medianos con centrómeros subterminales que miden casi la mitad de los cromosomas grandes (2.20 μm). Finalmente, se identificaron cromosomas de talla pequeña que presentan centrómeros subterminales y aproximadamente terminales que llegan a medir hasta 0.80 μm .

En células diploides se registró una longitud cromosómica total (L.C.T.) de 118.2 μm , con un intervalo cromosómico de 5.26 μm mientras que, en células tetraploides la longitud cromosómica total fue de 191.41 μm (Tabla 3). En esta especie no se observaron satélites aún en estadios metafásicos relativamente tempranos. En la Fig. 5 se muestra una aproximación del cariotipo para este agave, donde se observan claramente los tres tipos de cromosomas antes mencionados.

Especies	Nivel de ploidía			Núcleos totales	
	Diploides $2n=60$	$2n=60+2$ (%)	Tetraploides $2n=4x=120$ (%)		Hexaploides $2n=6x=180$ (%)
<i>Agave lechuguilla</i>	1.17	—	98.82	—	170
<i>Agave striata</i> ssp. <i>striata</i>	98.55	—	1.44	—	276
<i>Agave salmiana</i> var. <i>salmiana</i>	—	—	23.03	76.96	382
<i>Yucca filifera</i>	78	19.5	2.5	—	200

Tabla 2. Proporción de células diploides y poliploides.



Especies / Nivel de ploidía	Longitud cromosómica total (L.C.T.) (μm)	Cromosoma mayor (μm)	Cromosoma mediano (μm)	Cromosoma menor (μm)	Intervalo cromosómico (μm)
<i>Agave lechuguilla</i> 4n	197.93	5.64	1.93	0.53	5.11
<i>Agave striata</i> ssp. <i>striata</i> 2n 4n	118.2 191.41	6.06 4.03	2.20 1.75	0.80 0.73	5.26 3.3
<i>Agave salmiana</i> var. <i>salmiana</i> 6n	346.51	6.45	2.28	0.72	5.72
<i>Yucca filifera</i> 2n 4n	114.33 142.55	5.83 3.60	1.87 1.09	0.80 0.41	5.02 3.19

Tabla 3. Medidas cromosómicas promedio de las especies estudiadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

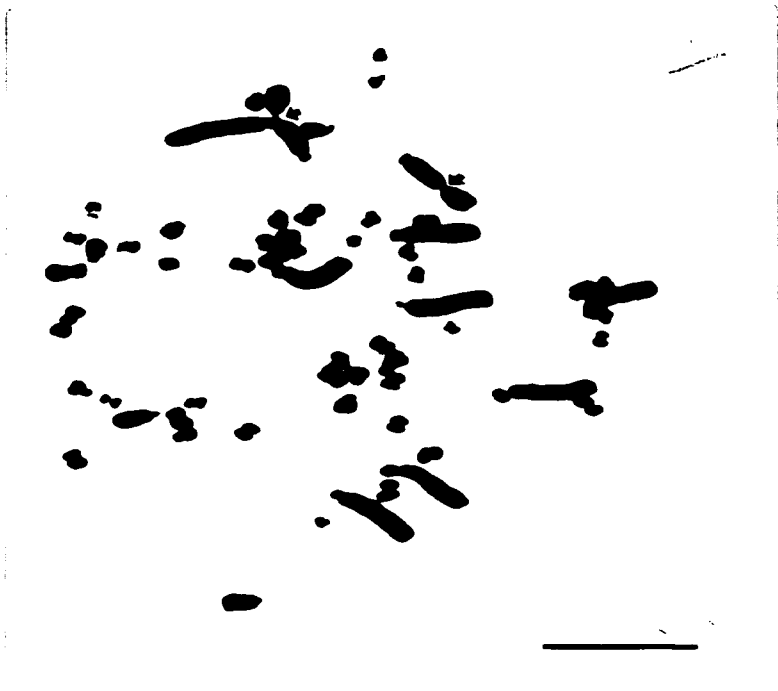


Figura 4. Metafase somática de *Agave striata* ssp. *striata* $2n=60$ (Las flechas señalan las constricciones secundarias).

TESIS CONT
FALDA DE CUBIEN

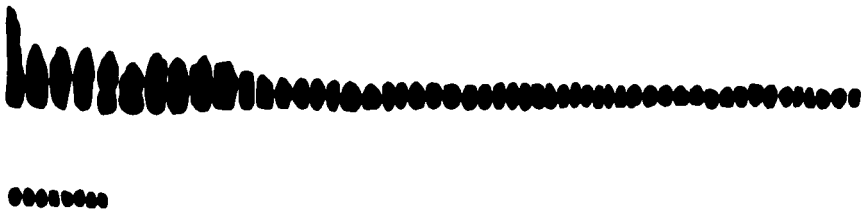


Figura 5. Cariotipo de *Agave striata* ssp. *striata*.

Agave salmiana* var. *salmiana

Porcentaje de germinación. Bajo las condiciones de manejo mencionadas anteriormente, las semillas de este agave comenzaron su germinación a los cinco días. Al igual que en los casos anteriores el proceso fue rápido y homogéneo, de tal modo que al cabo de nueve días se obtuvo un 89.12% de semillas germinadas (Tabla 1).

Citogenética de *Agave salmiana* var. *salmiana*. Se revisaron en total 382 núcleos en metafase, de los cuales 88 (23.03%) fueron tetraploides ($2n=4x=120$) y 294 (76.96%) hexaploides ($2n=6x=180$). El complemento cromosómico de esta especie muestra quince pares de cromosomas grandes con centrómero terminal y constricciones secundarias ubicadas en las porciones medias y subterminales de los brazos largos. Estos cromosomas en promedio tienen una talla de 6.45 μm . En algunos núcleos se apreció por lo menos un par de cromosomas con una constricción secundaria media (Fig. 6) no tan conspicua como la observada en *Agave lechuguilla* y *A. striata* ssp. *striata*. Asimismo, se identificaron cromosomas medianos (2.28 μm) con centrómeros submedios y subterminales. Finalmente, se observaron cromosomas de talla muy pequeña que presentan centrómeros medios y subterminales, mismos que llegan a medir en promedio 0.72 μm . En células hexaploides se registró una longitud cromosómica total de 346.51 μm con un intervalo cromosómico promedio de 5.72 μm (Tabla 3). Como el cariotipo de *Agave salmiana* var. *salmiana* (Fig. 7) muestra cromosomas grandes, medianos y pequeños, también puede referirse como trimodal.

En esta especie se observó con cierta frecuencia una tinción diferencial en los brazos largos de los cromosomas grandes, apreciándose zonas proximales, intercalares o distales más teñidas que las restantes, aún cuando el grado de compactación cromatínica era el mismo (Fig. 8).

Es importante mencionar que al realizar el conteo cromosómico en algunos núcleos de esta especie se presentaron células aneuploides donde se registraron 178 ó 179 cromosomas. En estos casos, el grupo de cromosomas grandes permaneció completo y los faltantes deberían incluir cromosomas medianos o pequeños.

Finalmente en esta especie no se encontraron indicios de satélites ni células con niveles de ploídía mayor a 6x.



Figura 6. Complemento cromosómico $2n=6x=180$ de *Agave salmiana* var. *salmiana* (Las flechas señalan las constricciones secundarias).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

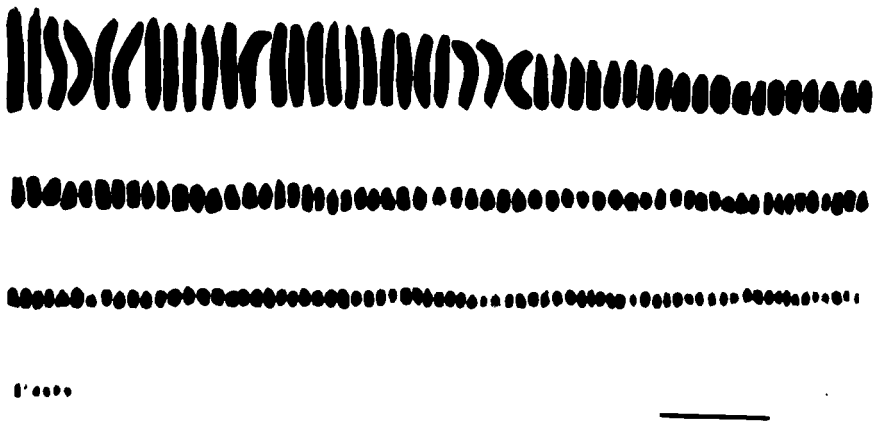


Figura 7. Cariotipo de *Agave salmiana* var. *salmiana*.



Figura 8. Metafase somática de *Agave salmiana* var. *salmiana* (tinción diferencial en los cromosomas grandes).

Yucca filifera

Porcentaje de germinación. Las semillas de *Yucca filifera* germinaron aproximadamente entre seis y ocho días. Como en los casos anteriores el proceso fue rápido y homogéneo registrándose un porcentaje de germinación de 89.77% (Tabla 1).

Citogenética de *Yucca filifera*. Se analizaron un total de 200 núcleos en metafase típica, de los cuales 156 (78%) presentaron un $2n=60$, 39 (19.5%) exhibieron claramente un $2n=60+2$ y en 5 núcleos (2.5%) se observó un $2n=4x=120$ (Tabla 2).

Las imágenes obtenidas para células diploides en esta especie muestran cinco pares de cromosomas grandes que en promedio midieron $5.83 \mu\text{m}$, con centrómeros subterminales, uno de los cuales presenta una constricción secundaria cercana a la porción distal de los brazos largos. Este par frecuentemente fue visto como heteromórfico, pues mientras en un homólogo la constricción secundaria era muy conspicua, el otro la exhibía con menos claridad (Fig. 9). También fue constante y muy marcado observar en metafases tempranas zonas de cromatina laxas en regiones proximales, terminales e intercalares que resultaban en una tinción diferencial. Asimismo, se pudo reconocer un grupo de cromosomas con centrómeros medios, submedios y subterminales de talla mediana ($1.87 \mu\text{m}$) entre los que pudieron identificarse claramente dos pares con constricciones secundarias asociadas a satélites pequeños. Cabe destacar que la longitud de tales constricciones con frecuencia superaba dos o tres veces la talla de los cromosomas que las portaban. Igualmente se observó una clara tendencia a formar asociaciones satélites involucrando en ocasiones a estos cuatro cromosomas (Fig. 10). Una característica más en este grupo fue un adelgazamiento en las cromátidas en un par de cromosomas de talla media (Fig. 11). Finalmente, se identificó un tercer grupo de cromosomas pequeños ($0.80 \mu\text{m}$), los cuales no sólo fueron los más cortos, sino también los más estrechos (Figs. 10, 11). En éstos, aunque con dificultad, se pudieron identificar algunos con centrómero medio y subterminal (Fig. 12). Una aproximación del cariotipo de esta especie de la población bajo estudio se muestra en la Fig. 13.

En los núcleos en los cuales se registró un $2n=60+2$ se pudieron identificar a los diez cromosomas grandes y a los medianos descritos arriba, quedando sólo la posibilidad de que estos cromosomas adicionales se incluyan en el grupo de cromosomas pequeños. Ocasionalmente fueron observados puentes cromosómicos en núcleos anafásicos (Fig. 14).

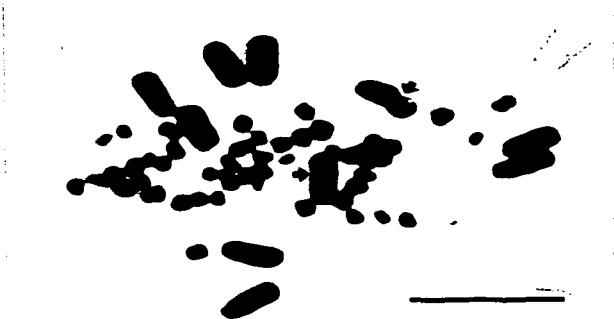


Figura 9. Complemento cromosómico de *Yucca filifera*. Las flechas indican la constricción secundaria.



Figura 10. Metafase somática de *Y. filifera*. Las flechas indican los cromosomas más pequeños. * = Cromosomas que portan la porción satélite.

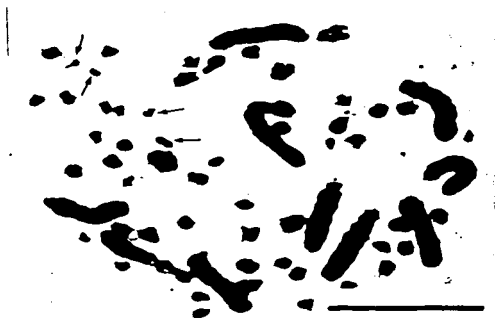


Figura 11. Metafase somática de *Y. filifera*. Las flechas delgadas muestran los cromosomas más pequeños y las gruesas indican los adelgazamientos de las cromátidas.



Figura 12. Cromosomas de *Y. filifera*. Las flechas muestran los cromosomas pequeños con centrómeros medios y subterminales.

TESIS CON
FALLA DE CROMOSOMAS

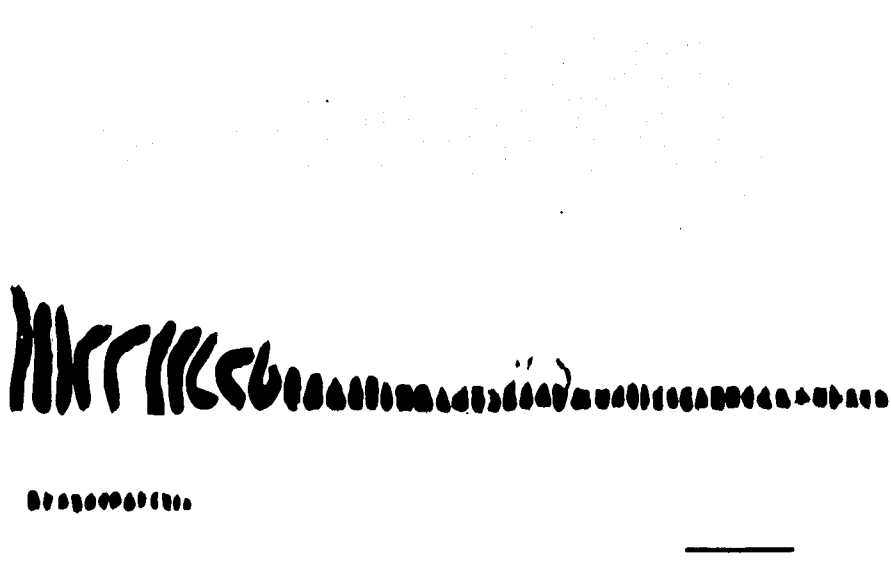


Figura 13. Cariotipo de *Yucca filifera*.



Figura 14. Puentes anafásicos en *Yucca filifera*.

La longitud cromosómica total diploide (LCTD) evaluada en esta especie a partir de las cinco mejores placas metafásicas ($2n=60$) fue de $114.33 \mu\text{m}$ con un intervalo cromosómico de $5.02 \mu\text{m}$ y para las tetraploides ($2n=4x=120$) de $142.55 \mu\text{m}$ (Tabla 3).

En cuanto a la disposición de los cromosomas en metafase en el interior de la célula, éstos exhibieron una distribución que al igual que en los casos anteriores, no seguía un patrón determinado, es decir, en algunos campos los cromosomas grandes se localizaban en la periferia de la célula y los pequeños en el centro, en tanto que en otros, los cromosomas pequeños rodeaban a los grandes (Figs. 15 a, b).



a)

b)



Figura 15 a, b. Disposición de los cromosomas de *Y. filifera*.

IX. DISCUSIÓN

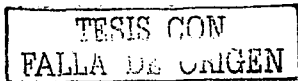
Los resultados obtenidos en esta investigación, luego de aplicar una metodología de extendido en superficie y secado al aire, en lo general concuerdan con muchas de las características registradas previamente en estudios citogenéticos detallados en otras especies de los géneros *Agave* y *Yucca*, sin embargo, dado que el análisis citológico realizado aquí se basó en la observación de un número elevado de células metafásicas se registraron nuevos datos sobre la morfología cromosómica de las especies bajo estudio. Además, se debe mencionar que estos resultados se respaldan en evidencia fotográfica directa y no en dibujos realizados con el auxilio de una cámara lucida como en la mayoría de los registros en otras investigaciones.

En el caso particular de los agaves, este estudio permite confirmar los números cromosómicos $2n=4x=120$ en *Agave lechuguilla* (Granick, 1944), $2n=60$ en *A. striata* (Granick, 1944) y $2n=6x=180$ en *A. salmiana* (Vignoli, 1936). En los tres casos anteriores se registraron complementos cromosómicos que incluían sólo cromosomas grandes y pequeños.

En la presente investigación los complementos cromosómicos observados además de presentar los típicos cromosomas grandes y pequeños (Granick, 1944), claramente exhibieron la presencia de cromosomas de tamaño mediano. Esta característica ya había sido mencionada someramente en algunos trabajos de otras especies del género *Agave* (Pinkava y Baker, 1985; Castorena-Sánchez *et al.*, 1991) quizá de aquí en adelante se deba mencionar que el complemento cromosómico de los agaves está conformado por tres grupos de cromosomas según su talla: grandes, medianos y pequeños y consecuentemente abandonar el concepto de cariotipo bimodal a favor de uno trimodal (Figs. 3, 5 y 7).

En las tres especies de *Agave* estudiadas, la literatura especializada registra sólomente un estudio cromosómico para cada especie y los resultados se dan a partir de dibujos que esencialmente denotan el número cromosómico sin mencionar el número de células analizadas o si se hallaron niveles de ploidía adicionales a los reportados (Vignoli, 1936; Granick, 1944).

Por otra parte, con relación a las tallas cromosómicas estas fueron muy similares en *Agave lechuguilla* y *A. striata* ssp. *striata* (subgénero *Littaea*) y ligeramente mayores para *A. salmiana* var. *salmiana* (subgénero *Agave*) (Tabla 3). Diferencias interespecíficas en las tallas cromosómicas dentro del género *Agave* han sido apreciadas cualitativamente (Granick, 1944) y cuantitativamente (Sharma y Battacharyya, 1962; Castorena-Sánchez *et al.*, 1991). Las tallas cromosómicas registradas aquí, en general concuerdan con aquellas halladas en los cromosomas grandes en agaves de los subgéneros *Agave* y *Littaea*, sin embargo, difieren en la talla de los cromosomas pequeños ya que los registros los señalan con intervalos de 1.0-1.8 μm (Sharma y Battacharyya, 1962). Las magnitudes obtenidas en esta investigación ajustan mejor con las realizadas en cromosomas de agaves pertenecientes a las secciones *Rigidae* y *Sisalanae* - 5.7 μm en los cromosomas grandes y 0.5 μm en los pequeños- (Castorena-Sánchez *et al.*, 1991).



En cuanto a la forma de los cromosomas, en las tres especies de agave estudiadas se pudieron observar características que claramente fueron constantes o uniformes:

a) En función del nivel de ploidía uno, dos o tres pares de cromosomas grandes con dos pares de constricciones, una primaria, terminal o subterminal y otra, secundaria ubicada en la porción media del brazo largo siendo en ocasiones tan larga y tenue que, la parte terminal de los brazos largos en algunos casos, de no tenerse cuidado, pueden confundirse con un par de cromosomas extra.

b) Cromosomas grandes con una constricción primaria terminal o subterminal.

c) Cromosomas medianos con centrómeros medios, subterminales y terminales. En dos pares de cromosomas de este grupo y con centrómero subterminal y terminal se pudo apreciar con claridad la presencia de satélites en *Agave lechuguilla*. Cabe mencionar que las fotografías así obtenidas, muestran por vez primera a estas estructuras, consideradas como marcadores citogenéticos, en una especie del género *Agave*. Este no fue el caso para *Agave striata* ssp. *striata* y *A. salmiana* var. *salmiana* pues en ningún campo se lograron apreciar tales estructuras. Cabe mencionar que en *Hosta* sp. (Funkiaceae), con un cariotipo birnodal semejante al de las agaváceas, Matsuura y Sutó (1935), en Watkins (1936), mencionaron la presencia de satélites sobre uno de los cromosomas más grandes de entre los pequeños (aquí considerados como medianos). Aunque se ha estimado que el género *Hosta* de China y Japón tiene mayor cercanía filogenética con el género *Clorophyllum* de distribución africana (Eguíarte *et al.*, 1994) el hecho de que comparta no sólo un cariotipo semejante, sino un marcador citogenético tan particular con las agaváceas señalaría quizás una mayor cercanía con estas últimas que la vislumbrada actualmente.

d) Cromosomas caracterizados por su pequeño tamaño con centrómeros medios, subterminales y terminales cuya proporción pareció variar en las diferentes especies.

En relación a la disposición de los cromosomas al interior del núcleo metafásico, no se observó evidencia que sugiriera una colocación determinada de los cromosomas como la descrita por Granick (1944), donde los cromosomas grandes se ubican en la periferia y los restantes hacia el interior del espacio nuclear. Por el contrario, en las tres especies estudiadas, los cromosomas se apreciaban con una distribución totalmente al azar, situación que no podría atribuirse a la metodología aquí empleada pues otras imágenes resultado de metodologías de aplastado exhiben una distribución cromosómica similar (Castorena-Sánchez *et al.*, 1991).

Respecto a la morfología cromosómica, en los complementos del género *Agave*, existe una viva controversia sobre el papel que la remodelación ha jugado en el proceso de especiación del género. En efecto, las opiniones van desde otorgarle una participación mínima (Granick, 1944) hasta considerar la diversificación del cariotipo como una vía importante en la segregación de especies y como criterios taxonómicos para la identificación de las mismas (Sharma y Battacharyya, 1962; Castorena-Sánchez *et al.*, 1991). Los resultados aquí obtenidos apoyan esta última posición pues se encontraron diferencias

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

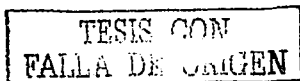
importantes con relación a las características descritas para especies tales como *Agave vivipara*, *A. americana*, *A. lurida*, *A. kerchovae*, *A. rigida* y *A. wightii* (Sharma y Battacharyya, 1962). En tales especies se observó una diversificación cariotípica mucho más amplia a la que exhiben *Agave lechuguilla*, *A. striata* ssp. *striata* y *A. salmiana* var. *salmiana* aquí estudiadas, a la registrada en *A. mapisaqa*, *A. nizandensis*, *A. xalapensis* y *A. verschaaffeltii* (Gómez-Pompa et al., 1971) y a la hallada en agaves de la sección *Rigidae* y *Sisalanae* (Castorena-Sánchez et al., 1991).

Ocasionalmente se reportaron células aneuploides en *Agave lechuguilla* y *Agave salmiana* var. *salmiana*, sin embargo, esto podría explicarse por el elevado número de cromosomas en los núcleos de las especies mencionadas, mismos que al experimentar un choque hipotónico y secado al aire son susceptibles de sufrir la pérdida de algunos cromosomas.

En el caso de *Yucca filifera*, los resultados exhiben a una especie diploide $2n=60$ (dato registrado por vez primera) con un complemento cromosómico asimétrico que comparte características citogenéticas con las especies de agaves aquí también estudiadas. Respecto a los núcleos $2n=60+2$, estos bien podrían derivarse de errores en la división celular e inclusive podría tratarse de cromosomas supernumerarios o cromosomas-B, en cualquier caso, el fenómeno deberá corroborarse en diferentes poblaciones, incluyendo estudios en la meiosis.

Como los casos anteriores, nuevamente se pudo apreciar un complemento formado por tres grupos cromosómicos según su tamaño: grandes, medianos y pequeños. Contrariamente a lo señalado por McKelvey y Sax (1933) no todos los cromosomas exhibieron centrómero terminal, tal característica sólo fue confirmada para los cromosomas grandes. La descripción del cariotipo de *Yucca filifera* concuerda en lo general con el registro de *Y. lacandonica* (Gómez-Pompa et al., 1971) y *Y. aloifolia* (Satô, 1942) particularmente en la descripción de los cromosomas pequeños donde predominaron aquellos con centrómero medio y subterminal. Es importante resaltar, que en el complemento de *Y. filifera* se registraron imágenes sobre la morfología cariotípica no observados con anterioridad en especies del género. La existencia de un par de cromosomas grandes con una constricción secundaria así como la presencia y ubicación de satélites como marcadores citogenéticos abren la posibilidad de asociar cierta variabilidad cromosómica a los procesos de especiación dentro del género. Este último hallazgo representaría en opinión de Gómez-Pompa et al. (1971) una característica de interés mayor en el entendimiento de la evolución cariotípica de *Yucca*.

En cuanto a la disposición de los cromosomas, tampoco se apreció un arreglo espacial similar al registrado por McKelvey y Sax (1933) ni al descrito por Watkins (1936) donde los cromosomas se observan apareados, particularmente los grandes. Por el contrario, la distribución cromosómica fue parecida a la hallada en los agaves incluidos en este estudio con cromosomas exhibiendo una distribución al azar.



Las tallas cromosómicas de *Yucca filifera* (0.80 μm - 5.83 μm) son un poco mayores a las registradas previamente para otras especies del sur de Estados Unidos estudiadas por Watkins (1936). La variación en la talla cromosómica en especies del género *Yucca* deberá, por tanto, considerarse como un carácter más a comparar en estudios interpoblacionales e interespecíficos, pues en otros ya se ha puesto de manifiesto una estrecha relación entre variaciones en talla cromosómica y factores ecológicos y climáticos (Levin y Funderburg, 1979; Kenton, 1984; Kenton *et al.*, 1986; Cullis, 1990; Tapia *et al.*, 1999; Gómez, 2000).

En relación a la tinción diferencial frecuentemente observada en los cromosomas grandes de *Yucca* y *Agave* ésta podría evidenciar regiones de heterocromatina en posición terminal e intercalar. Este fenómeno no se había reportado con anterioridad, pero sugiere la posibilidad de identificar con relativa facilidad a los cromosomas individuales mediante un patrón de bandas de segmentos heterocromáticos que sería especialmente útil para distinguir diferencias cariotípicas entre especies y géneros relacionados.

Finalmente, la decisión de utilizar meristemos radiculares provenientes de semillas germinadas y de los cuales se derivaron todos los resultados obtenidos aquí, se tomó con la finalidad de lograr el registro del número cromosómico y nivel de ploidía más certeros para las especies bajo estudio, dado que se tenía conocimiento de trabajos previos con otras especies de agaves y yucas, donde fueron utilizados tejidos provenientes de propágulos vegetativos, registrándose números cromosómicos variables con relación al nivel de ploidía correspondiente para aquellas especies. Debido a que la semilla representa el resultado de un proceso de selección de los genomas parentales y que contribuye a la continuidad de los linajes se sugiere que, subsecuentes trabajos cariológicos en agaváceas se realicen utilizando preferentemente tejidos derivados de las mismas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

X. CONCLUSIONES

La aplicación de la técnica de extendido en superficie y secado al aire (splash) permitió realizar un estudio cromosómico detallado de las especies de *Agave* y *Yucca* bajo estudio, observándose estructuras muy finas como son constricciones secundarias y porciones satélite que con el uso de las técnicas estándares de aplastado o squash no se habían registrado con anterioridad.

Se confirma el número cromosómico de $2n=4x=120$ para *Agave lechuguilla*, $2n=60$ para *A. striata* ssp. *striata* y $2n=6x=180$ para *A. salmiana* var. *salmiana*. Se registra por vez primera el número cromosómico $2n=60$ para *Yucca filifera*.

Se registraron complementos cromosómicos que incluyen tres grupos según su tamaño: grandes, medianos y pequeños y se sugiere que en lo sucesivo, el llamado cariotipo *Yucca-Agave*, se refiera como trimodal en lugar de bimodal.

Existen características citogenéticas en el llamado cariotipo *Yucca-Agave* que se presentan como constantes, tal es el caso de un par de cromosomas grandes con constricción secundaria. Sin embargo, también es claro que la presencia de satélites y diferencias en los tipos de cromosomas pequeños entre las diferentes especies, evidencian que no únicamente las mutaciones puntuales sino también la remodelación cromosómica han tenido un papel relevante en la especiación de los géneros *Agave* y *Yucca*.

El hallazgo y ubicación precisa de satélites en las agaváceas, ha sido un marcador citogenético que en opinión de algunos investigadores resultaría importante en el esclarecimiento de las relaciones filogenéticas de las agaváceas. En este estudio se muestra que los satélites se hallan en cromosomas medianos por lo menos en dos de las cuatro especies analizadas. Este descubrimiento abre la posibilidad del establecimiento de una mayor cercanía entre el género *Hosta* y las agaváceas.

En *Agave salmiana* var. *salmiana* y *A. striata* ssp. *striata* no se observaron satélites. Esto puede deberse a que, conforme lo observado en *A. lechuguilla* y *Yucca filifera*, éstos se ubiquen muy cercanos al centrómero, dificultándose su observación. Por otra parte, rearrreglos tales como inversiones de los segmentos que portan dichas regiones e incluso la ausencia de satélites en los complementos también podrían explicar este hecho.

El llamado cariotipo *Yucca-Agave* es más complejo de lo considerado con anterioridad, dista aún de quedar establecido. Sólo con un mayor número de estudios citogenéticos detallados en la mayoría de los géneros que conforman a la familia Agavaceae se podrá tener una visión más integral de los procesos involucrados en su evolución, esclareciendo de forma más precisa el papel de las modificaciones de la arquitectura cromosómica en la evolución del grupo.

El uso de tejido proveniente de semillas, asegura mayor constancia en el registro de las características citogenéticas en las agaváceas y se recomienda su uso para estudios cariológicos posteriores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XI. REFERENCIAS

- Bennett, M. D., J. S. Heslop-Harrison, J. B. Smith y J. P. Ward. 1983. DNA density in mitotic and meiotic metaphase chromosome of plants and animals. *Journal of Cell Science* **63**: 173-179.
- Bravo, H. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Burgess, T. L. 1985. Agave adaptation to aridity. *Desert Plants* **7**: 39-50.
- Castorena-Sánchez, I., R. Escobedo y A. Quiroz. 1991. New citotaxonomical determinants recognized in six taxa of *Agave* in the sections *Rigidae* and *Sisalanae*. *Canadian Journal of Botany* **69**: 1257-1264.
- Cave, M. S. 1964. Cytological observations on some genera of the Agavaceae. *Madroño* **17**: 163-170.
- Clary, H. K. y B. B. Simpson. 1995. Systematics and character evolution of the genus *Yucca* L. (Agavaceae): Evidence from morphology and molecular analyses. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **56**: 77-88.
- Clausen, J., D. D. Keck y W. M. Hiesey. 1945. Experimental studies on the nature of species. II. Plant evolution through amphiploidy and autopolloidy, with examples from the Madiiinae. Carnegie Institute Washington Publication 564.
- Cullis, C. A. 1990. DNA rearrangements in response to environmental stress. *Advances in Genetics* **28**: 73-97.
- Darlington, C. D. 1973. Chromosome Botany and the Origin of Cultivated Plants. 3a. ed. Hafner, Nueva York.
- Doughty, L. R. 1936. Chromosome behavior in relation to genetics in *Agave*. I. Seven species of fibre *Agave*. *Journal of Genetics* **33**: 197-205.
- Eguarte, L. E., M. R. Duvall, G. H. Learn y M. T. Clegg. 1994. The systematic status of the Agavaceae and Nolinaceae and related Asparagales in the Monocotyledons: An analysis based on the *rbcL* sequence. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **54**: 35-56.
- Galván, V. R. 2001. Agavaceae. 1242-1250. En: Rzedowski J., G. C. de, Rzedowski (eds). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed., Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán).

TESIS CON
FALLA DE SERIEN, SALE
DE LA BIBLIOTECA

- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Autónoma de México. México.
- García, V. A. 1984. Estudio cromosómico en *Zebrina pendula* Schnizl. (Commelinaceae). I. Variación en el número cromosómico a nivel tetraploide n.f. 28. *Agrociencia* 58:59-72.
- García, V. A. 1988. Técnicas y procedimientos de Citogenética vegetal. 3era ed. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- García-Mendoza, A. 1995. Riqueza y endemismos de la familia Agavaceae en México. 59-83. En: Linares E, Dávila P., Chiang F., Bye R., Elias T. (eds). Conservación de plantas en peligro de extinción: Diferentes enfoques. Instituto de Biología. UNAM. México.
- García-Mendoza, A. 1998. Con sabor a maguey. Guía de la Colección Nacional de Agaváceas y Nolináceas del Jardín Botánico del Instituto de Biología. UNAM. México.
- García-Mendoza, A. y R. Galván. 1995. Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 56: 7-24.
- Gardner, L. E. 1980. Principios de genética. Ed. Limusa. México.
- Gentry, H. S. 1982. Agaves of continental North America. The University of Arizona Press. Tucson.
- Gómez, A. S. 2000. Estudio Genecológico en *Prosopis laevigata* (Mezquite), *Acacia farnesiana* y *A. schaffneri* (Huizaches) de los municipios de Bermejillo, Durango y Santiago de Anaya, Hidalgo. Tesis de licenciatura. FES- Zaragoza UNAM. México.
- Gómez, L. F. 1970. Importancia económica de los mezquites (*Prosopis* spp.) en algunos estados de la República Mexicana. 73-144. En: "Mezquites y Huizaches, algunos aspectos de la economía, ecología y taxonomía de los géneros *Prosopis* y *Acacia* en México". Ediciones del Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. México.
- Gómez-Pompa, A. y J. Váldes. 1962. Una especie epífita de *Yucca* de la Selva Lacandónica. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 27: 43-45.
- Gómez-Pompa, A., R. Villalobos-Pietrini y A. Chimal. 1971. Studies in the Agavaceae. I. Chromosome morphology and number of seven species. *Madroño* 21: 208-221.
- Granados, S. D. 1993. Los agaves de México. Universidad Autónoma de Chapingo. México.

- Granick, E. B. 1944. A karyosystematic study of the genus *Agave*. *American Journal of Botany* **31**: 283-298.
- Grant, V. 1989. Especiación vegetal. Ed. Limusa. México.
- Grant, W. F. 1987. Genome differentiation in higher plants. 9-32. In: Urbanska, K. M. (ed). Differentiation patterns in higher plants. Academic Press, London.
- Kenton, A. Y. 1984. Chromosome evolution in the *Gibasis linearis* group (Commelinaceae). III. DNA variation, chromosome evolution, and speciation in *G. venustula* and *G. heterophylla*. *Chromosoma* **90**: 303-310.
- 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. 11-36. En: G. Palomino H. (ed). III Seminario Maximino Martínez. 1986. La aplicación de la citogenética en el conocimiento biológico de los recursos vegetales en México. Jardín Botánico, UNAM. México.
- Kenton, A. Y., P. J. Rudall y A. R. Johnson. 1986. Genome size variation in *Sisyrinchium* L. (Iridaceae) and its relationship to phenotype and habitat. *Botanical Gazette (Crawfordsville)* **147**: 342-354.
- Lacadena, J.R. 1988. Genética. A.G.E.S.A. España.
- Levin, D. A. y S. W. Funderburg. 1979. Genome size in angiosperms temperate versus tropical species. *American Naturalist* **114**: 784-795.
- Martínez, M. 1987. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México.
- Matuda, E. e I. Piña-Lujan. 1980. Las plantas mexicanas del género *Yucca*. Estado de México, México: Serie Fernando de Alva Ixtlilxochitl, Colección Miscelánea.
- McKelvey, D. S. y K. Sax. 1933. Taxonomic and citological relationships of *Yucca* and *Agave*. *Journal Arnold Arboretum* **14**: 76-81.
- Nagl, W. y F. Ehrendorfer. 1974. DNA content, heterochromatin, mitotic index, and growth in perennial and annual Anthemideae (Asteraceae). *Plant Systematic and Evolution* **123**: 35-54.
- Ortiz, M. R. 1938. Agrogeología. Memorias de la Comisión Geológica del Valle del Mezquital. D. A. P. P. 6: 162-239.
- Pinkava, D. J. y M. A. Baker. 1985. Chromosome and hybridization studies of agaves. *Desert Plants* **7**: 93-100.

- Poggio, L., A. F. Wulff y J. H. Hunziker. 1986. Chromosome size, nuclear volume and DNA content in *Bulnesia* (Zygophyllaceae). *Darwiniana* 27:25-38.
- Raina, S. N. y H. Rees. 1983. DNA variation between and within chromosome complements of *Vicia* species. *Heredity* 51: 335-346.
- Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa. 1998. Diversidad Biológica de México. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Ran, Y., Keith R.W. Hammett and Brian G. Murray. 2001. Phylogenetic analysis and karyotype in the genus *Clivia* (Amaryllidaceae). *Annals of Botany* 87: 823-830.
- Rees, H., F. M. Cameron, M. H. Hazarika y G. H. Jones. 1966. Nuclear variation between diploid angiosperms. *Nature* 211: 828-830.
- Reinchenbacher, F. W. 1985. Conservation of southwestern agaves. *Desert Plants* 7: 103-106 y 88.
- Renzaglia, K. S., E. M. Rasch y L. M. Pie. 1995. Estimates of nuclear DNA content in bryophyte sperm cells: phylogenetic considerations. *American Journal of Botany* 82: 18-25.
- Ridaura, S. V. 1980. "Yucca". Primera parte. *Desierto y Ciencia* 2: 4-9.
- Robles, S. R. 1986. Genética elemental y fitomejoramiento práctico. Ed. Limusa. México.
- Rzedowski, J. y G. C. de, Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed., Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán).
- Salimuddin y B. Ramesh. 1994. Karyotype, nuclear and chromosomal DNA variation in *Lens culinaris* Med. *Cytologia* 59: 7-15.
- Sánchez, M. J. 1980. "Yucca". Segunda parte. *Desierto y Ciencia* 25-29.
- Satô, D. 1935. Analysis of the karyotypes in *Yucca-Agave* and the related genera with special reference to the phylogenetic significance. *Japanese Journal of Genetics* 11: 272-278.
- Satô, D. 1938. Karyotype alteration and phylogeny. IV. Karyotypes in Amaryllidaceae with special reference to the SAT-chromosome. *Cytologia* 9: 203-242.
- Satô, D. 1942. Karyotype alteration and phylogeny in the Liliaceae and allied families. *Japanese Journal of Botany* 2: 57-161.

- Sharma, A. K. y C. V. Bhattacharyya. 1962. A cytological study of the factors influencing evolution in *Agave*. *Cellule* **62**: 259-280.
- Signoret, P. J. 1970. Datos sobre algunas características ecológicas del mezquite (*Prosopis laevigata*) y su aprovechamiento en el Valle del mezquital. 73-144. En "Mezquites y Huizaches, algunos aspectos de la economía, ecología y taxonomía de los géneros *Prosopis* y *Acacia* en México". Ediciones del Instituto Mexicano de Recursos Renovables. México.
- Sims, L. E. y H. J. Price. 1985. Nuclear DNA content variation in *Helianthus* (Asteraceae). *American Journal of Botany* **72**: 1213-1219.
- Stace, A. C. 1987. Hybridization and the plant species. 115-127. In: Urbanska, K. M. (ed). Differentiation patterns in higher plants. Academic Press, London.
- Stace, A. C. 2000. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. *Taxon* **49**: 451-477.
- Stebbins, G. L. 1950. Variation and evolution in plants. Columbia University Press, Nueva York.
- Stebbins, G. L. 1959. The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. Philadelphia, Pennsylvania. **103**: 231-251.
- Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold Publishers, Ltd., London.
- Tapia-Pastrana, F., P. Mercado-Ruaro y A. Monroy A. 1999. Cambios en la longitud cromosómica total en tres poblaciones de *Prosopis laevigata* (Fabaceae). Implicaciones genocológicas y evolutivas. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica* **70**: 13-28.
- Tapia-Pastrana, F. y P. Mercado-Ruaro. 2001. A combination of the "Squash" and "Splash" techniques to obtain the karyotype and asses meiotic behavior of *Prosopis laevigata* L. (Fabaceae: Mimosoideae). *Cytologia* **66**: 11-17.
- Vignoli, L. 1936. Cariología del género *Agave*. *Lavor Instituto Botánico Palermo* **7**: 176-217.
- Watkins, M. G. 1936. Chromosome numbers and species characters in *Yucca*. *American Journal of Botany* **23**: 328-333.
- Whitaker, J. W. 1934. Chromosome constitution in certain Monocotyledons. *Journal of the Arnold Arboretum* **15**: 135-143.

- **White, M. J. 1973. Animal cytology and evolution. 3rd ed. Cambridge. University Press. London.**
- **Wienk, J. F. 1976. Sisal and relatives. 1-4. In: Evolution of crop plants. Edited by N. W. Simmonds. Longmans. London.**