

00399



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

Análisis cromosómico y determinación del tamaño del genoma por citometría de flujo en especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae* (Cactaceae)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(SISTEMÁTICA)

PRESENTA

BIÓL. CHRISTIAN HASSEL DEL ANGEL PIÑA

DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. MARÍA GUADALUPE ANTONIA PALOMINO HASBACH



MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE, 2005

COORDINACIÓN

0348801

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



Autoriza:  
UNAM e impreso el  
contenido de las bibliotecas de la  
NOMBRE: Christian Hassel  
del Ángel Piña  
FECHA: 26/SEP/2005  
FIRMA: Christian H. Del Ángel P.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de junio del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Sistemática) del(a) alumno(a) **Del Ángel Piña Christian Hassel** con número de cuenta **503005322** con la tesis titulada: **"Análisis cromosómico y determinación del tamaño del genoma por citometría de flujo en especies de Mammillaria de la serie Supertextae (Cactaceae)"**, bajo la dirección del(a) **Dra. María Guadalupe Antonia Palomino Hasbach**.

Presidente: Dr. Héctor Manuel Hernández Macías  
Vocal: Dra. Judith Isabel Guzmán Rincón  
Secretario: Dra. María Guadalupe Antonia Palomino Hasbach  
Suplente: Dr. Guillermo Laguna Hernández  
Suplente: Dr. Armando García Velázquez

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a, 23 de agosto del 2005

Dr. Juan José Morrone Lupi  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

## **AGRADECIMIENTOS:**

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el otorgamiento de la beca recibida para mis estudios de posgrado.**

**A la Dirección General de Estudios de Posgrado y al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por los apoyos recibidos para mis estudios.**

**A la Dra. María Guadalupe Antonia Palomino Hasbach, por dirigir esta tesis, brindándome toda su orientación y apoyo durante mi trabajo.**

**A los miembros del Comité Tutoral y sinodales Dr. Héctor Manuel Hernández Macías y Dr. Armando García Velázquez, por sus consejos brindados durante mi trabajo, así como a los sinodales Dra. Judith Isabel Guzmán Rincón y Dr. Guillermo Laguna Hernández, por las valiosas sugerencias en la revisión de este escrito.**

**Al M. en C. Francisco Javier Martínez Ramón, por su asesoría, apoyo técnico y obtención de las fotografías de los cromosomas empleados en este estudio, realizado en el Laboratorio de Citogenética del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM.**

**Al Dr. Ignacio Méndez Ramírez, por su apoyo en la aplicación de las pruebas estadísticas en este trabajo.**

**Al Biól. Jerónimo P. Reyes Santiago, por su ayuda en la colecta, determinación taxonómica y siembra de las especies de *Mammillaria*.**

**Al Dr. A. Salvador Arias Montes, por proporcionar ejemplares de *Mammillaria* y por su apoyo en la determinación taxonómica.**

**A la Biól. Ma. Carmen Loyola Blanco, por su apoyo para la toma de fotografías.**

**Al Biól. Jorge A. Saldivar Sandoval, por su apoyo en el área de cómputo del Jardín Botánico-IB-UNAM.**

**Al Sr. Felipe Villegas Márquez, por su ayuda en la edición de imágenes.**

**Al Dr. Robert A. Bye Boettler, por su ayuda en la revisión del resumen.**

**A la dirección del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM, por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones y brindarme todas las facilidades.**

**A todo el personal de la UNAM, que de una y otra manera, me brindaron su ayuda.**

**Dedicatoria :**

A mi madre la Sra. Eloisa Piña Lagunes, por todo su apoyo y amor...

...y a todo lector que busca el conocimiento...

**ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO DE  
CITOGENÉTICA DEL JARDÍN BOTÁNICO DEL INSTITUTO DE  
BIOLOGÍA DE LA UNAM, BAJO LA DIRECCIÓN DE LA  
DRA. MARÍA GUADALUPE ANTONIA PALOMINO HASBACH.**

# CONTENIDO

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii

## INTRODUCCIÓN

Estudios citogenéticos .....	1
Los cromosomas .....	2
Cromosomas mitóticos .....	3
Cromosomas meióticos .....	5
El cariotipo .....	5
Simetría del cariotipo .....	6
Mutaciones cromosómicas .....	7
Citogenética en cactáceas .....	9
Contenido nuclear de ADN .....	10
Estimaciones del valor C en plantas .....	12
Citometría de flujo .....	13
Poliploidía en cactáceas .....	15
Patrón de endopoliploidía .....	18
Taxonomía, descripción y distribución de las especies de la serie <i>Supertextae</i> .....	20
Taxonomía .....	20
Descripción .....	21
Distribución .....	23
<b>OBJETIVOS</b> .....	26

## MATERIALES Y MÉTODOS

Especies estudiadas .....	27
Técnica para el análisis de cromosomas mitóticos .....	30
Técnica para el análisis de cromosomas meióticos .....	31
Determinación de viabilidad de polen .....	32
Técnica para la determinación del contenido nuclear de ADN por citometría de flujo .....	32
Análisis estadísticos .....	37

## **RESULTADOS**

Cariotipos .....	38
Comportamiento de los cromosomas en meiosis .....	51
Viabilidad de polen .....	52
Contenido nuclear de ADN .....	54
Patrón de endopoliploidía .....	58
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>61</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>71</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>73</b>
Anexo 1 .....	83

## RESUMEN

Los objetivos del presente trabajo fueron analizar los cariotipos, el contenido nuclear de ADN (pg) y los niveles de ploidía por citometría de flujo en especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae* de la familia Cactaceae. En *M. dixanthocentron* se analizaron los cromosomas en meiosis.

*Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli* fueron diploides ( $2n=2x=22$ ,  $x=11$ ) y se observó  $n=11$  en *M. dixanthocentron*. Se corroboró el número básico  $x=11$  para el género y la familia Cactaceae. Se observó variación inter-específica en la longitud de los cromosomas, *M. dixanthocentron* mostró los cromosomas más pequeños de 1.54-2.53  $\mu\text{m}$ , mientras que los de mayor tamaño se observaron en *M. flavicentra* (1.90-3.73  $\mu\text{m}$ ). La longitud total del genoma haploide (LTG) menor, la mostró *M. dixanthocentron* con 22.98  $\mu\text{m}$ , y la mayor se observó en *M. flavicentra* con 30.37  $\mu\text{m}$ .

Los valores del tamaño relativo (L%) y la relación de brazos (r) de los cromosomas, también mostraron diferencias entre las especies estudiadas. Los pares cromosómicos 1, 2, 9 y 10 fueron los que más variaron en las cuatro especies para los valores de L%. *M. albilanata* y *M. huitzilopochtli* mostraron la mayor diferencia de 2.76 para el valor L% en el par uno. Los pares cromosómicos 7, 9, 10 y 11 fueron los que más variaron en las cuatro especies con respecto al valor r. *M. huitzilopochtli* y *M. albilanata* mostraron la mayor diferencia de 0.54 para el valor r en el par 9. En *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron* y *M. flavicentra*, el cariotipo se caracterizó por 11 pares de cromosomas metacéntricos, y en *M. huitzilopochtli* por 10m + 1sm. El valor menor de índice de asimetría lo presentó *M. huitzilopochtli* con TF% = 43.49 y el valor mayor *M. albilanata* con TF% = 46.50. Se observó un par de cromosomas con satélite en las cuatro especies estudiadas, *M. dixanthocentron* lo presentó en el par cromosómico número dos, mientras que las otras tres especies lo presentaron en el par uno. La variación en la posición del satélite entre *M. dixanthocentron* y su sinónima *M. flavicentra* (Hunt, 1987), es evidencia de que los cariotipos de estas especies son diferentes.

En metafase I de la meiosis, se observó en *M. dixanthocentron* la presencia de 11 bivalentes ( $n=11$ ;  $x=11$ ). Los porcentajes de polen viable observados en las especies de *Mammillaria*, fueron de 91.74% en *M. huitzilopochtli* a 97.76% en *M. flavicentra*, por lo que puede suponerse que estas especies no tienen un origen híbrido.

La variación en el contenido nuclear de ADN (pg) y su composición en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb) en *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, no fueron significativas ( $P=0.3469$ ). El valor mayor de 2C ADN = 3.20 pg (1570 Mpb) se presentó en *M. crucigera*, y el menor de 2C ADN = 3.04 pg (1490 Mpb) en *M. flavicentra*. La media del valor 2C de ADN fue de 3.13 pg para las especies analizadas. Estos resultados indican que la especiación no ha involucrado cambios significativos en el contenido nuclear de ADN en las especies de *Mammillaria*. Las siete especies estudiadas mostraron un patrón de endopoliploidía definido por núcleos con valores de 2, 4, 8 y 16 C de ADN, que fue observado en núcleos del parénquima de tallo. El porcentaje de núcleos con los diferentes múltiplos del valor C varió en las especies y se observó que a mayor edad de la planta, hay un aumento en la proporción de núcleos con valores mayores de C. Este patrón confiere a las especies de *Mammillaria* ventajas adaptativas para establecerse en ambientes áridos y semiáridos.

## ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the karyotypes, the nuclear DNA content (pg) and the ploidy levels by flow cytometry of species of *Mammillaria* in the series *Supertextae* (Cactaceae).

*Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* and *M. huitzilopochtli* were diploids ( $2n=2x=22$ ,  $x=11$ ). *M. dixanthocentron* was  $n=11$ . The basic chromosome number was  $x=11$  which agrees with previous reports for the genus and the Cactaceae family. Inter-specific variation was observed in chromosomes length, *M. dixanthocentron* had the smallest chromosomes of 1.54-2.53  $\mu\text{m}$ , whereas those of greater size were observed in *M. flavicentra* (1.90-3.73  $\mu\text{m}$ ). The smallest total haploid genome length (TGL) was found in *M. dixanthocentron* with 22.98  $\mu\text{m}$  and the greatest one was observed in *M. flavicentra* with 30.37  $\mu\text{m}$ .

The values of the relative chromosome size (L%) and the arm ratio (r) also were demonstrated differences among the studied species. The L% values of chromosomal pairs 1, 2, 9 and 10 varied more in the four species. *M. albilanata* and *M. huitzilopochtli* showed the greatest difference of 2.76 for value L% in pair one. Chromosomal pairs 7, 9, 10 and 11 were those that varied more in the four species with respect to r values. *M. huitzilopochtli* and *M. albilanata* had the greatest difference of 0.54 for value r in pair 9. In *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron* and *M. flavicentra*, karyotype was characterized by 11 pairs of metacentric chromosomes, and in *M. huitzilopochtli* by 10m + 1sm. The smallest value of asymmetry index was present in *M. huitzilopochtli* with TF% = 43.49 and greatest value *M. albilanata* with TF% = 46.50. The satellites were present on chromosome pair number two for *M. dixanthocentron* where as they were located on chromosome pair number one for the other species. This variation in satellite position between *M. dixanthocentron* and *M. flavicentra*, the latter which is a synonymous of the former (Hunt, 1987), result in different karyotypes.

In metaphase I of meiosis was observed 11 bivalents ( $n=11$ ;  $x=11$ ) in *M. dixanthocentron*. Percentage of pollen viable observed in *M. huitzilopochtli* was 91.74% and in *M. flavicentra* 97.76 % which suggests that these species are not of hybrid origin.

Variation for the nuclear DNA content (pg) and their composition in million base pairs (Mbp) in *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* and *M. supertexta*, were not significantly different ( $P = 0.3469$ ). *M. crucigera* had the largest value of 2C DNA = 3.20 pg, (1570 Mbp), and the lowest was found in *M. flavicentra* with 2C DNA = 3.04 pg (1490 Mbp). The mean of 2C DNA (pg) for all seven species of *Mammillaria* analyzed was 3.13 pg. These results indicate that speciation has not involved significant changes in the nuclear DNA content in *Mammillaria* species. The seven studied species showed a pattern of endopolyploidy defined by nuclei with values of 2, 4, 8 and 16 C DNA content, that were observed in nuclei of stem parenchyma. The percentage of nuclei with the different C values varied between the species, and it was observed that with the increase of the age of the plant, there is an increase of nuclei with higher C values. This pattern confers to *Mammillaria* species adaptive advantages in arid and semi-arid environments.

# INTRODUCCIÓN

## Estudios citogenéticos

La Citogenética surge como resultado de la conjunción de la citología y la genética, encargándose del estudio de la organización del material genético en los organismos. Los estudios citogenéticos, de manera general, se enfocan al análisis del comportamiento de los cromosomas durante la mitosis y la meiosis, así como la variación del material genético en las diferentes fases del ciclo celular.

La caracterización de los genomas en base a la determinación de sus números cromosómicos, niveles de ploidía, cariotipos, características de tinción, homología cromosómica, comportamiento de los cromosomas en meiosis y el tamaño del genoma por la cuantificación del contenido de ADN, nos permite determinar patrones de divergencia y mecanismos involucrados en la evolución de los genomas. Esto contribuye al conocimiento de los recursos biológicos mediante el estudio de la variabilidad y la determinación de su base genética, pudiéndose establecerse variaciones a nivel inter e intra-específico (Palomino, 2000; Sharma y Sen, 2002). Recientemente con la citogenética molecular, a través de técnicas de hibridación *in situ* se ha podido entender más acerca de la distribución física de los genes y de su recombinación a lo largo de los cromosomas o en segmentos de éstos, lo cual puede corroborar la evidencia de rearrreglos cromosómicos y cambios en la abundancia de secuencias durante la evolución y desarrollo de los organismos (Schwarzacher y Heslop, 2000).

Con los estudios cromosómicos se analiza la variación numérica y estructural de los cariotipos de diferentes especies y poblaciones de una misma especie (citotipos) (Palomino *et al.*, 1995; Martínez *et al.*, 2000). Por otra parte el comportamiento en la meiosis es necesario para entender las relaciones entre especies silvestres, cultivadas o híbridas en el nivel génico. Con estos análisis pueden determinarse cambios estructurales heterocigóticos que alteran la posición de los sitios de entrecruzamiento y la constitución genética de los gametos (Kenton *et al.*, 1987). Otro parámetro citogenético de utilidad en estudios biosistemáticos es la cuantificación del contenido nuclear de ácido desoxirribonucleico (ADN) por genoma. En angiospermas esta cantidad representa una amplia variación inter e intra-específica en distintos taxa, por lo tanto la comparación de este parámetro provee información útil para comprender la plasticidad de los genomas entre y dentro de las diferentes porciones de un rango ecológico (Ohri, 1998; Bennett *et al.*, 2000; Palomino, 2000). Por lo tanto los estudios citogenéticos complementados con los de taxonomía, anatomía, fisiología, bioquímica, ecología, reproducción y biogeografía son útiles para detectar las diferencias entre los taxa y para conocer sus patrones de divergencia (Greilhuber y Ehrendorfer, 1988; Price y Johnston, 1996; Belletti *et al.*, 1998; Grime, 1998; Ohri, 1998; Palomino y Sousa, 2000; Bennett *et al.*, 2000).

## Los cromosomas

Los cromosomas son estructuras de ligamiento que están constituidas por una secuencia lineal y específica de genes que determinan las características genotípicas y fenotípicas de los organismos (Rieger *et al.*, 1982; Winter *et al.*, 1998).

En la teoría cromosómica de la herencia, propuesta por Wilson en 1896 (citado en Lacadena, 1988), se recopila y sistematizan las ideas que se tenían en esa época sobre citología y embriología, poniendo de manifiesto lo que demostró la teoría cromosómica de la herencia, cuyos puntos fundamentales son:

- Los genes están situados en los cromosomas.
- El ordenamiento de los genes en los cromosomas es lineal.
- Al fenómeno genético de la recombinación le corresponde un fenómeno citológico de intercambio de segmentos cromosómicos.

La función esencial de los cromosomas es la de conservar, transmitir y expresar la información genética que contienen. La función genética de conservar se realiza durante el proceso llamado mitosis (como parte de un evento más amplio: el ciclo celular) que en sucesivas generaciones celulares mantiene la identidad genética de las células involucradas en dicho proceso (Stebbins, 1971; Lacadena, 1988). En la primera división meiótica, en la profase I ocurre la sinapsis, proceso que consiste en el apareamiento de los pares de cromosomas homólogos permitiendo el intercambio y recombinación genética entre ambos cromosomas. La meiosis permite la reducción del número de cromosomas y la transmisión de información genética, lo que contribuye a aumentar la variabilidad de una población y que su expresión es la base de la selección natural y de la adaptación del organismo al medio ambiente (Sharma y Sen, 2002).

Desde el punto de vista químico los componentes del cromosoma son ADN, histonas, ARN y proteínas no histónicas, y como componentes minoritarios se encuentran lípidos e iones de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  y en algunos casos el  $\text{Fe}^{++}$  (Swanson *et al.*, 1967; Lewin, 1974: citados en Lacadena, 1988). Para algunos autores el conjunto complejo de estos componentes de los cromosomas forman la cromatina (Rieger *et al.*, 1976). La cromatina forma unidades estructurales denominadas nucleosomas, cuya función principal es la reducción neta de la longitud de las hebras de ADN mediante su enrollamiento alrededor de las histonas y subsecuentemente su empaquetamiento debido a la disposición espacial adoptada por los nucleosomas (Lehninger, 1982), figura 1.

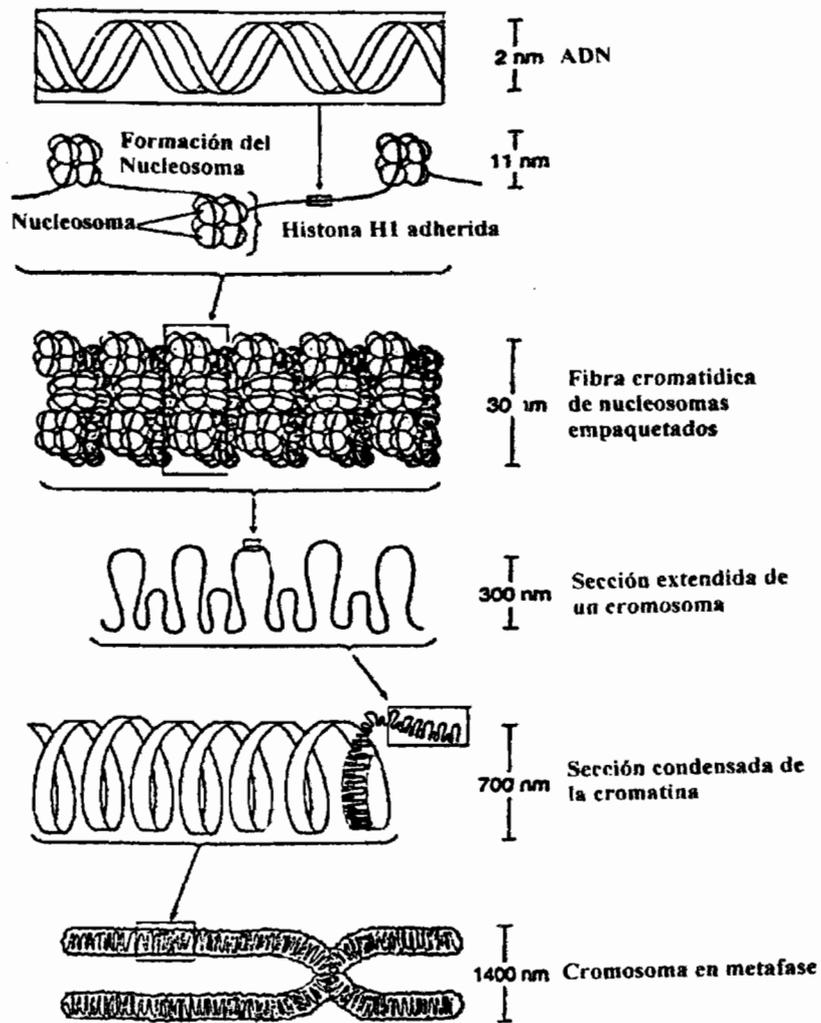


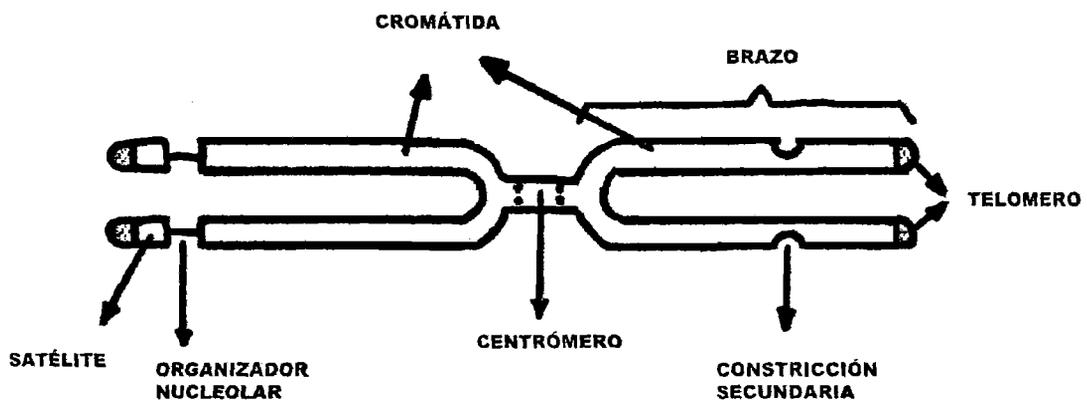
Figura 1. Organización del material genético en eucariontes, estructura del cromosoma.

### Cromosomas mitóticos

Los cromosomas mitóticos son observados en células somáticas, las cuales son sometidas a tratamiento con una solución mitostática con la finalidad de inhibir la formación del huso acromático y obtener el mayor número de células en metafase, fase en la cual los cromosomas alcanzan el nivel óptimo de contracción y nitidez en su morfología, logrando una longitud que bajo condiciones ambientales normales permanece constante de célula a célula (Sharma y Sharma, 1972; Lacadena, 1988; Cota y Wallace, 1996).

La morfología cromosómica es determinada por la posición de la constricción primaria o centrómero (Levan *et al.*, 1964; Stebbins, 1971; John, 1976) el cual separa al cromosoma en dos cromátidas, cuya función principal es la de facilitar la migración de las

cromátidas hacia los polos de la célula en la etapa de anafase. Existen las constricciones secundarias propiamente dichas, que son pequeñas estrangulaciones observables sobre las cromátidas cuya función, en algunos casos parece tener relación con el organizador nucleolar. Otra constricción es el satélite, este es un segmento de cromatina de longitud variable, que esta separado del resto del cromosoma por una constricción delgada como la del centrómero o larga como un filamento y llamada el organizador nucleolar. El organizador nucleolar contiene repetidos muchas veces los genes que codifican para la síntesis de ARN 45s precursor del ARN ribosómico y es responsable de la organización del nucléolo en cada ciclo de división celular. Por lo general los satélites se encuentran en los brazos cortos de uno o más de los primeros pares del complemento (Lacadena, 1988; García, 1990; Winter *et al.*, 1998; Sharma y Sen, 2002), figura 2.



**Figura 2.** Partes características de un cromosoma en metafase mitótica.

La heterocromatina es aquella región que se manifiesta por la heteropícnosis positiva o negativa, que se refiere a la tinción mayor o menor, respectivamente, con relación a la eucromatina (Heitz, 1928). La heterocromatina por lo general se presenta en regiones que tienen una baja recombinación, como el centrómero y el satélite, y se caracterizan por estar compuestas de familias de secuencias de nucleótidos altamente repetitivas (Lacadena 1988; Langley *et al.*, 1988).

## Cromosomas meióticos

La función genética de transmitir a la siguiente generación la información que llevan los cromosomas se da durante el fenómeno de la meiosis, que junto con la fecundación constituyen el proceso de la reproducción sexual. La meiosis proporciona la reducción del número cromosómico de los gametos a la mitad, de manera que tras la fecundación se restaura el número cromosómico en el cigoto. En el proceso de la meiosis se realiza la recombinación genética que permite aumentar la variabilidad de una población al mezclar en un individuo la información genética recibida de sus progenitores, de manera que dicho individuo transmitirá a su descendencia, a través de sus gametos, una mezcla al azar de la información genética recibida de sus padres (Lacadena, 1988). El análisis del comportamiento de los cromosomas meióticos, proporciona otro indicador a nivel del genoma y permite establecer el número y posición de las áreas de entrecruzamiento llamadas quiasmas, que se observan en metafase I y proporcionan el grado de recombinación entre los genomas individuales (García, 1990; Palomino, 2000).

En angiospermas se puede observar mejor la meiosis en las células madres de la microspora (polen) localizadas en las anteras, aunque también puede hacerse en células madre de la megaspora, pero con más dificultad. El proceso es virtualmente idéntico en ambas células (García, 1990).

En las células madre del polen (CMP) de algunas plantas, los cromosomas con la condición heterocigótica, para algunas aberraciones pueden producir gametos desbalanceados y reducción de la fertilidad de polen, como en *Gibasis pulchella*, donde las plantas heterocigóticas debido a translocaciones presentaron 50% de viabilidad, evidenciada por la presencia de micropolen y polen vacío (Kenton *et al.*, 1987). En cactáceas, un híbrido triploide (*Opuntia xkelvinensis*,  $2n=3x=33$ ), cuyos progenitores son *Opuntia spinosior* ( $2n=22$ ) y *O. fulgida* ( $2n=22$ ) presenta reducción en la viabilidad de polen en un intervalo de 22-29%, lo cual es consecuencia de una segregación desbalanceada de cromosomas en células madres de polen durante la anafase I de la meiosis (Baker y Pinkava, 1987).

## El Cariotipo

El cariotipo es el conjunto de características de número y forma del complemento cromosómico de una célula, un individuo o de un grupo de individuos relacionados y es observado normalmente en la metafase mitótica (Stebbins, 1971; Dyer, 1979; Sharma y Sen, 2002).

Para llevar a cabo un análisis cariotípico Stebbins (1971), considera que deben de ser tomados en cuenta los siguientes parámetros:

- Longitud absoluta de los cromosomas.
- Posición del centrómero.

- Longitud relativa de los cromosomas.
- Número cromosómico básico ( $x$ ).
- Número y posición de satélites.
- Grado y distribución de las regiones heterocromáticas y eucromáticas.

Las características del cariotipo son constantes para las especies y pueden utilizarse, al igual que la morfología externa, para diferenciar distintas categorías taxonómicas. El análisis comparativo de los cariotipos puede mostrar diferencias entre las especies y también puede dar indicios de cómo surgieron estas diferencias en el curso de la evolución, si es debido a cambios estructurales tales como las translocaciones, inversiones, deficiencias y duplicaciones de segmentos, fusiones y fisiones del centrómero, así como cambios numéricos como la euploidía o poliploidía y aneuploidía. El análisis del cariotipo se realiza mediante representaciones gráficas (García, 1990):

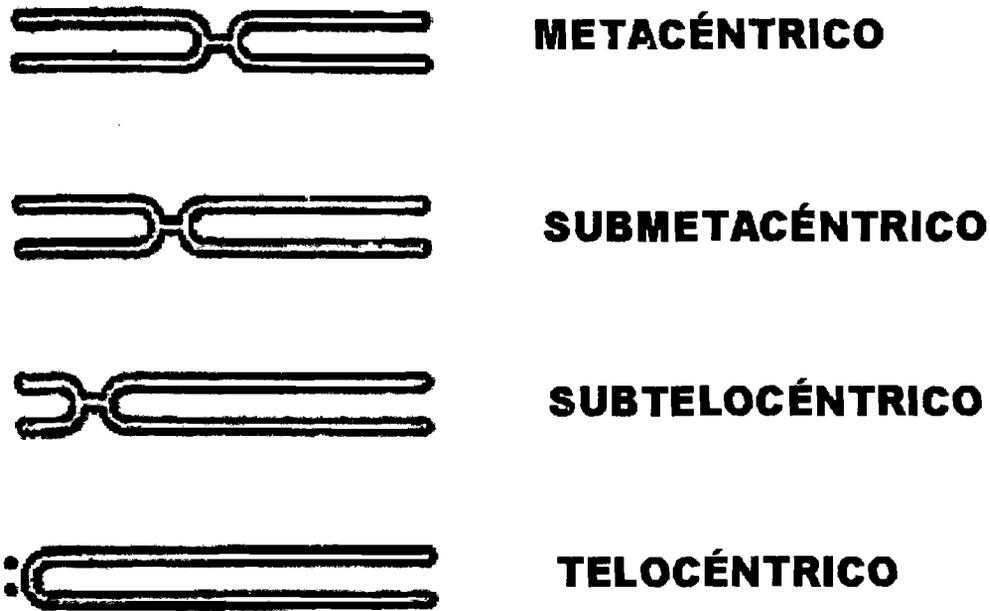
**Cariograma:** Fotografías o dibujos de cada uno de los cromosomas del complemento cromosómico. Los cromosomas se ordenan en pares de homólogos y en series de tamaño decrecientes.

**Idiograma:** Representación diagramática del cariotipo, se emplean barras o líneas para indicar la posición relativa de la constricción primaria y satélites.

### **Simetría del cariotipo**

El índice de simetría en estudios cromosómicos nos permite caracterizar el genotipo de una especie o grupo de especies y nos da la base para hacer comparaciones a nivel inter e intra-específicas, pues refleja las tendencias y el grado de los cambios efectuados en el genoma de una especie.

La simetría del cariotipo es la condición en la que los cromosomas son aproximadamente del mismo tamaño y poseen un centrómero medio (metacéntrico), o submedio (submetacéntrico). Las variaciones en la asimetría del cariotipo pueden ocurrir por cambios en la posición del centrómero, de central (metacéntrico) a subterminal (submetacéntrico) o terminal (telocéntrico), o bien mediante la acumulación de diferencias en el tamaño relativo entre cromosomas debido a cambios estructurales (Jones, 1977; Gupta y Gupta, 1978; Sinha y Roy, 1979; García, 1990) figura 3.



**Figura 3.** Clasificación de los cromosomas, de acuerdo a la posición del centrómero y relación de brazos.

### **Mutaciones cromosómicas**

El comportamiento cromosómico se puede definir por el conjunto de cambios fisiológicos, estructurales y dinámicos por los que atraviesan los cromosomas durante el ciclo celular, ya sea durante la meiosis o la mitosis.

De manera espontánea o artificial se pueden presentar cambios en los cromosomas, pudiendo ser estructurales originados por duplicaciones, deficiencias, inversiones, translocaciones, así como fusiones y fisiones centroméricas o Robertsonianas, los cuales afectan la ordenación lineal de los genes. Los cambios numéricos pueden afectar a un cromosoma o a todo el complemento en conjunto, generando poliploidías o aneuploidías. Estas alteraciones son importantes para conocer los cambios producidos en el cariotipo durante la formación y evolución de las especies (Jones, 1977; Lacadena, 1988).

Las mutaciones cromosómicas son cambios en la estructura, número y disposición de los genes en los cromosomas (Rieger *et al.*, 1982). Los cambios estructurales pueden afectar a un solo cromosoma, como ocurre en las deleciones, duplicaciones o inversiones o pueden afectar simultáneamente a dos o más cromosomas, como sucede en las translocaciones. De acuerdo a Lacadena (1988), las mutaciones cromosómicas se pueden dividir en dos:

## Estructurales

**Delección:** Consiste en la pérdida de un segmento cromosómico, cuando ésta ocurre en una parte terminal se le llama deficiencia. La ocurrencia de las delecciones varía de una especie a otra, dependiendo además del contenido genético perdido, siendo menos perjudiciales en las especies poliploides.

**Duplicación:** Produce la repetición de un segmento cromosómico de mayor o menor extensión. Las duplicaciones han tenido gran importancia en los procesos evolutivos naturales, y a diferencia de las delecciones son menos perjudiciales.

**Inversión:** Se da por el cambio de sentido de un segmento cromosómico dentro del propio cromosoma y por tanto la ordenación de *loci* en él contenidos. Las inversiones pueden ser de un solo segmento cromosómico o de varios.

**Translocación:** Es el cambio en la posición relativa de un segmento de cromosoma dentro del propio cromosoma o entre otros cromosomas del complemento.

## Numéricas

**Fusiones céntricas:** Es la reunión por translocación recíproca de dos cromosomas telocéntricos o subtelocéntricos. Los brazos largos y los dos cortos de dos cromosomas subtelocéntricos se fusionan respectivamente para originar dos cromosomas metacéntricos.

**Fisión céntrica:** Es el proceso de disociación recíproca de dos cromosomas metacéntricos, uno con brazos largos y otro con brazos cortos, originando dos cromosomas telocéntricos o subtelocéntricos.

**Aneuploidía:** Es la condición de un individuo, órgano, tejido o célula cuya constitución cromosómica no comprende un número exacto de los juegos cromosómicos básicos propios de la especie y se da la carencia o aumento en el número de cromosomas, sin afectar a todo el complemento cromosómico.

**Poliploidía:** Es la condición de presencia de más de dos juegos de la dotación del número básico de cromosomas ( $x$ ). Encontrando series tetraploides ( $4x$ ), octoploides ( $8x$ ) y así sucesivamente. La poliploidía es un fenómeno natural, pero también puede ser inducida de manera no natural mediante diversos tratamientos experimentales.

## Citogenética en cactáceas

Información acerca de la morfología de los cromosomas y/o representación cariotípica es aún escasa en la familia Cactaceae. Lo anterior probablemente refleja la dificultad para preparar cromosomas de cactáceas, ya que en sus células se presentan compuestos químicos como mucilago, cristales de oxalato de calcio y látex (Mauseth, 1983; Gibson y Nobel, 1986), que complican la rutina del aplastamiento, obstruyendo la observación de los cromosomas, y además el pequeño tamaño de los cromosomas hace el análisis más difícil (Remski, 1954; Johnson, 1980; Cota y Wallace, 1996).

La mayoría de estos estudios han servido para conocer el número cromosómico básico para la familia, que corresponde a  $x=11$ , y para determinar variaciones (formas poliploides) en el número cromosómico básico en los diferentes grupos de cactáceas. Los análisis de las figuras meióticas han sido útiles para esclarecer el estado híbrido en distintos miembros de la familia, en especial de las especies de *Opuntia* (Baker y Pinkava, 1987).

En diferentes especies de cactáceas se ha observado variabilidad inter e intra-específica, en ambos niveles de análisis la variación se manifiesta en el número cromosómico somático ( $2n$ ), la estructura cariotípica que incluye forma de los cromosomas, el número y posición de satélites, longitud total de la cromatina y cambios en el nivel de ploidía. Las variaciones cromosómicas numéricas determinan la presencia de citotipos tanto diploides como poliploides, como se ha visto en los géneros *Opuntia* y *Mammillaria* (Remski, 1954; Johnson, 1980; Das *et al.*, 1999 b; Briones, 2002). Para especies de *Mammillaria*, Remski (1954) reporta tetraploides ( $4x$ ), hexaploides ( $6x$ ) y hasta 24 ploides ( $24x$ ), sin embargo la condición diploide es la que comúnmente se ha observado en las especies de este género.

Hay 159 reportes de número cromosómico en especies de *Mammillaria*, de éstos la mayoría corresponden a especies diploides ( $2n=2x=22$ ,  $x=11$ ) (Remski, 1954; Goldblatt y Johnson, 1995; Palomino *et al.*, 1999; Briones *et al.*, 2004). De las especies de la serie *Supertextae* se han realizado estudios del cariotipo de: *M. ruestii* (especie tetraploide con  $2n=44$ , Remski, 1954), *M. vaupelli* ( $2n=22$ , Remski, 1954), *M. lanata* ( $2n=22$ , Gill y Goyal, 1984), *M. san-angelensis* ( $2n=22$ , Palomino *et al.*, 1999), *M. supertexta* ( $2n=22$ ), *M. haageana* ( $2n=22$ ), y *M. crucigera* ( $2n=22$ ) (Briones *et al.*, 2004) (Tabla 1). Con estos estudios se ha reconocido que los cariotipos de las especies de *Mammillaria* se caracterizan por presentar cromosomas de tamaño pequeño y de tipo metacéntricos y submetacéntricos, predominando los primeros. Por otra parte se ha observado variación en el número y posición del satélite, así como en el nivel de ploidía.

**Tabla 1.** Características del cariotipo de especies diploides ( $2n=2x=22$ ), de *Mammillaria*.

Especie	Longitud total del genoma haploide (n) $\mu\text{m}$	Fórmula cariotípica	Número de satélites	Índice de asimetría	Autor
<i>M. armillata</i>	31.42	11m	2 Pares	45.71	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. asteriflora</i>	29.79	9m + 2sm	1 par	42.57	"
<i>M. auricantha</i>	26.78	8m + 3sm	1 par	37.12	Das <i>et al.</i> , 1999 b
<i>M. baumii</i>	<b>51.28</b>	6m + 5sm	1 par	41.95	Das <i>et al.</i> , 1999 c
<i>M. bella</i>	47.38	7m + 4sm	2 pares	41.25	"
<i>M. bocasana</i>	32.96	9m + 2sm	1 par	43.80	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. bombycina</i>	30.51	8m + 3sm	1 par	39.77	"
<i>M. boolii</i>	31.42	10m + 1sm	3 pares	38.11	"
<i>M. bravoae</i>	34.51	7m + 4sm	3 pares	38.61	Das <i>et al.</i> , 1999 b
<i>M. brevispina</i>	33.99	11m	2 pares	42.72	"
<i>M. carmenae</i>	30.90	8m + 3sm	3 pares	35.90	"
<i>M. celeriana</i>	24.72	9m + 2sm	1 par	43.18	"
<i>M. collinsii</i>	33.48	9m + 2sm	2 pares	39.65	"
<i>M. crucigera</i>	23.81	10m + 1sm	2 pares	42.55	Briones <i>et al.</i> , 2004
<i>M. decipiens</i>	30.90	9m + 2sm	1 par	49.19	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. elegans</i>	34.51	8m + 3sm	2 pares	43.82	Das <i>et al.</i> , 1999 c
<i>M. elongata</i>	45.84	7m + 4 sm	3 pares	42.16	"
<i>M. geminispina</i>	<b>20.86</b>	9m + 2 sm	1 par	42.55	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. grandiflora</i>	32.45	9m + 2sm	1 par	39.41	"
<i>M. haageana</i>	23.06	9m + 2sm	1 par	42.71	Briones <i>et al.</i> , 2004
<i>M. hahniana</i>	30.24	10m + 1sm	2 pares	38.33	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. herrerae</i>	29.87	8m + 3sm	1 par	37.57	Das <i>et al.</i> , 1999 b
<i>M. humboldtii</i>	28.33	10m + 1sm	1 par	39.84	"
<i>M. klissingiana</i>	32.70	9m + 2sm	2 pares	42.57	Das <i>et al.</i> , 1999 c
<i>M. leucantha</i>	26.83	10m + 1sm	2 pares	41.81	Das <i>et al.</i> , 1999 b
<i>M. matudae</i>	30.39	9m + 2sm	2 pares	36.53	"
<i>M. mystax</i>	32.96	9m + 2sm	1 par	37.63	Das <i>et al.</i> , 1999 c
<i>M. occidentalis</i>	43.26	10m + 1sm	1 par	42.20	"
<i>M. pectinifera</i>	27.81	10m + 1sm	2 pares	38.63	Das <i>et al.</i> , 1999 b
<i>M. plumosa</i>	30.90	8m + 3sm	1 par	37.42	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. pseudoperbella</i>	29.36	8m + 3sm	2 pares	38.39	Das <i>et al.</i> , 1999 b
<i>M. san-angelensis</i>	36.26	11m	2 pares	46.21	Palomino <i>et al.</i> , 1999
<i>M. sempervivi</i>	30.39	9m + 2sm	3 pares	35.50	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. spinosissima</i>	29.87	5m + 6sm	2 pares	36.99	Das <i>et al.</i> , 1999 c
<i>M. supertexta</i>	26.84	10m + 1sm	1 par	43.44	Briones <i>et al.</i> , 2004
<i>M. winterae</i>	47.89	6m + 5sm	2 pares	43.03	Das <i>et al.</i> , 1999 c
<i>M. woodsii</i>	27.81	10m + 1sm	2 pares	39.84	Das <i>et al.</i> , 1998 a
<i>M. zeilmanniana</i>	32.42	8m + 3sm	1 par	41.38	Das <i>et al.</i> , 1999 b

### Contenido nuclear de ADN

La estimación del tamaño del genoma está dada por la cuantificación del contenido nuclear de ácido desoxirribonucleico (ADN), expresado en picogramos,  $1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$ , (Cavalier-Smith, 1985) y equivalente a 980 millones de pares de bases de nucleótidos (Bennett *et al.*, 2000). El contenido nuclear de ADN en el genoma haploide (valor 1Cx, Greilhuber *et al.*, 2005) de eucariontes varía 80 000 veces, de 0.009 pg en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* a aproximadamente 700 pg en *Amoeba dubia* (Cavalier-Smith, 1985). Sin embargo, a pesar de esta enorme variación hay poca correlación entre el tamaño de genoma (valor C) y la complejidad del organismo, esta inconsistencia ha sido llamada "la paradoja del valor C" (Thomas, 1971).

En eucariontes, la variación en el contenido de ADN es originada principalmente por secuencias de ADN repetitivas que no codifican funciones. Los principales tipos de ADN altamente repetitivo incluyen a elementos genéticos móviles o transposones, satélites y simples secuencias de nucleótidos (Petrov, 2001; Kidwell, 2002). Se ha cuestionado sobre el importante papel que desempeñan los transposones en la conformación del ADN repetitivo que contribuye a la amplia variación del tamaño del genoma en los eucariontes. Los transposones tienen el potencial de producir amplios cambios y rearrreglos en los genomas de sus huéspedes (Kidwell y Lisch, 2000 y 2001), las mutaciones inducida por estos elementos genéticos móviles modifican el tamaño y la secuencia de bases en los genomas por sustituciones, deleciones e inserciones de simples nucleótidos, o también por rearrreglos cromosómicos como deleciones, duplicaciones, inversiones y translocaciones (Lim y Simmons, 1994; Cáceres *et al.*, 1999). Particularmente, en plantas se afirma que los transposones integran el principal tipo de ADN que no codifica a funciones y que es altamente repetitivo en el genoma, y están presentes en las regiones de heterocromatina. También se ha observado que en algunas plantas la variación en el tamaño del genoma está correlacionada con el número de familias y número total de copias de transposones en el genoma (Kumar y Bennetzen, 1999; Bennetzen, 2000).

Por otra parte, se plantea que la variación en el contenido de ADN entre plantas de una misma especie con el mismo nivel de ploidía se deben a duplicaciones de parte de sus genomas y al “efecto nucleotípico” que es definido como el efecto de la variación del contenido de ADN en el fenotipo (Bennett, 1972) y tiene influencia en varios parámetros celulares. En este contexto el tamaño del genoma se considera como un carácter de significado adaptativo, ya que se ha observado que mantiene fuertes correlaciones con varias características fenotípicas de aparente significado selectivo, como son el volumen nuclear y celular (Gregory y Herbert, 1999), duración de la mitosis y la meiosis (Bennett, 1987), tiempo mínimo de generación (Bennett, 1972; Wakamiya, 1993), tamaño de la semilla (Wakamiya, 1993; Chung *et al.*, 1998) y respuesta de las plantas al CO<sub>2</sub> (Jasienski y Bazzaz, 1995). Tales correlaciones sugieren que la selección natural ha jugado un papel importante en la evolución del tamaño del genoma (Cavalier-Smith, 1985; Ohri y Khoshoo, 1987; Petrov, 2001). Al tamaño del genoma se le asocia con la adaptación a distintas condiciones ambientales y a las distintas etapas del desarrollo en las plantas, afectando así la variación inter e intra-específica de diferentes poblaciones o plantas individuales (Bennett, 1972; Bennett y Smith, 1976; Price *et al.*, 1981; Price, 1988; Grime y Mowforth, 1982; Jasienski y Bazzaz, 1995; Bharathan, 1996; Ohri, 1998).

En las angiospermas, las cuales representan a un grupo monofilético de aproximadamente 250 000 especies (Chase *et al.*, 1993), los rangos del valor C varían unas 1000 veces de  $2C = 0.2$  pg (en *Fragaria viridis* Duchensne (Rosaceae) a 250 pg en *Fritillaria assyriaca* Bake (Liliaceae) (Bennett *et al.*, 2000).

La variación del contenido de ADN ha sido útil para delimitar categorías intra genéricas, por ejemplo en *Helianthus*, 18 especies diploides muestran diferencias de cuatro veces entre el más alto (*H. agreste* Pollard,  $2C=25.91$  pg) y el más bajo (*H. neglectus* Heiser,  $2C=6.41$  pg), estas diferencias muestran una cercana asociación con diferentes

grupos fenéticos de especies anuales (Schilling y Heiser, 1981). En el género americano *Bulnesia* se presentan diferencias entre especies diploides de hasta seis veces, lo cual es corroborado y concordante con estudios taxonómicos (Poggio y Hunziker, 1986). Una diferencia de dos veces el contenido nuclear de ADN ha sido observada en 12 especies diploides del género *Coffea*, el rango de valores va de 2C ADN= 0.95 pg en *C. racemosa* a 1.78 pg en *C. humilis*, y se concluye que la cantidad de ADN ha incrementado durante la evolución en el subgénero *Coffea* ya que *C. pseudozanguebariae*, *C. sessiliflora* y *C. racemosa* con el más bajo contenido de ADN son endémicas al este de África, el cual es el centro de origen del género (Cros *et al.*, 1995). La variación intra-específica ha sido reportada en *Microseris*, observándose una variación de hasta un 14% entre la media 2C de ADN entre distintas poblaciones, en las poblaciones restringidas a ambientes templados se presentaron los valores más altos del contenido de ADN y en las poblaciones restringidas a ambientes áridos se presentaron valores más bajos del contenido de ADN (Price *et al.*, 1981). En variedades y cultivares de *Helianthus annuus* se ha reportado variación del 58% (Cavallini *et al.*, 1986), y 32% (Michaelson *et al.*, 1991), además se presenta variación de 27-43% entre hojas de diferentes nodos de plantas de dos variedades.

Evidentemente el conocimiento del tamaño del genoma provee un carácter importante de biodiversidad utilizado en diversos estudios comparativos en disciplinas como taxonomía y sistemática, evolución, ecología, fitogeografía, biología molecular, fisiología, desarrollo y paleontología (Greilhuber y Ehrendorfer, 1988; Masterson, 1994; Bennett y Leitch, 1995; Price y Johnston, 1996; Ohri, 1998; Bennett *et al.*, 2000). Más recientemente varios estudios han concluido que el tamaño del genoma es un carácter importante para predecir la respuesta de diferentes especies de plantas a los efectos del cambio climático y otros factores ambientales tal como la radiación ionizante (Sparrow y Miksche, 1961), el calentamiento global (MacGillivray y Grime, 1995; Grime, 1996) y los efectos de la contaminación del suelo (Vidic *et al.*, en Bennett y Leitch, 2003).

### **Estimaciones del valor C en plantas**

Para el año 2004 se ha medido el contenido de ADN de más de 4121 especies de angiospermas lo que escasamente representa el 1.4% del total de la flora mundial de las plantas con flores (Bennett y Leitch, 2004), a diferencia de las gimnospermas que están mejor representadas con un 16 % de las especies (Murray, 1998). Actualmente la información acerca del contenido de ADN en plantas se encuentra concentrada en una base de datos electrónica ubicada en la dirección: [www.rbkew.org.uk/cval/introduction.html](http://www.rbkew.org.uk/cval/introduction.html).

Recientemente dos factores han hecho posible una investigación sobre la distribución del valor C en el contexto filogenético de las angiospermas (Leitch *et al.*, 1998). El primer factor ha sido la existencia de una base de datos representativa del valor C en angiospermas y el segundo que existe un acuerdo sobre las relaciones filogenéticas entre las angiospermas. Esta filogenia, se basa en secuencias de ADN del gen *rbcL* (Chase *et al.*, 1993), en datos del gen nuclear ribosomal 18S (Soltis *et al.*, 1997), en datos del gen *atpB*

(Savolainen *et al.*, 1996) y en 252 caracteres morfológicos y anatómicos (Nandi *et al.*, 1998). Esta aproximación revela que el valor C se ha obtenido para 152 de 500 familias reconocidas actualmente, definiendo a especies con grandes tamaños del genoma, aquellas que presenten valores de 14 a 35 pg, las especies con valores de 1.4 a 3.5 (los cuales son dos y cinco veces el valor modal de  $C=0.7$  pg, para 2802 especies) son consideradas como especies con genomas pequeños. En caryophyllales la mayoría de las especies posee valores de C cercanos al tamaño modal de todas las especies de angiospermas ( $1C=0.7$  pg). Por ejemplo una sola especie de este orden tiene un genoma grande, *Drosophyllum lusitanicum* (Droseraceae;  $1C=15$  pg), y la siguiente especie con el genoma más grande es *Weberbauerocereus winterianus* (Cactaceae;  $1C=7.1$  pg) (Leitch *et al.*, 1998).

En cactáceas, están reportadas 58 estimaciones del contenido de ADN. De éstas, el valor más bajo corresponde a  $2C$  ADN= 2.05 ( $2n=22$ ) en *Pereskia grandifolia* (De Rocher *et al.*, 1990), y el más alto es el reportado para una especie octoploide ( $2n=8x=88$ ) *Weberbauerocereus winterianus*  $2C$  ADN= 14.2 pg (Barlow, citado en Bennett y Smith, 1976). En el género *Mammillaria* se han reportado 40 estimaciones del contenido  $2C$  y  $4C$  de ADN nuclear, la mayoría de los análisis fueron hechos por la técnica de densitometría de feulgen. De la serie *Supertextae*, sólo se ha determinado el contenido nuclear de ADN por densitometría de feulgen para *M. albilanata* ( $4C=20.32$  pg) (Mohanty *et al.*, 1996) y por citometría de flujo para *M. san-angelensis* ( $2C=3.20$  pg) (Palomino *et al.*, 1999) (Tabla 2).

Uno de los objetivos a cubrir en el contexto de la determinación del valor C en plantas es realizar más estudios de floras regionales (Bennett *et al.*, 2000) y de grupos poco estudiados en diferentes niveles taxonómicos. Esto con el fin de tener mejor representados los taxa, por ejemplo, de las especies de árboles tropicales del género *Lonchocarpus* (Leguminosae), se han reportado valores C para 42 especies, que representan el 31% del total del género (Palomino y Sousa, 2000).

### Citometría de flujo

Las primeras estimaciones del contenido de ADN en plantas fueron hechas desde 1950 usando métodos de extracción química. El subsecuente desarrollo de otras técnicas como la densitometría de feulgen, y más recientemente la citometría de flujo, permite la estimación del contenido nuclear de ADN de manera más rápida y precisa (Price y Johnston, 1996; Dolezel y Bartos, 2005).

El principio de la citometría de flujo involucra el análisis de la intensidad de fluorescencia de partículas o núcleos teñidos con fluorocromos, que son forzadas hidrodinámicamente a pasar a través de una cámara que recibe un haz de luz intensa. Esto genera la excitación del fluorocromo adherido a la partícula individual, diseminando un haz de luz fluorescente, que a través de un sistema detector óptico separado por filtros convierte al haz en pulsos eléctricos, los cuales son amplificados y digitalizados por un sistema computarizado que muestra los resultados de la medición de la longitud de onda emitida por las partículas teñidas a través de un histograma (Dolezel, 1991). La calidad del

histograma se define por el valor del coeficiente de variación (CV), que es igual a la desviación estándar entre la media del histograma, los valores de CV considerados como confiables para el análisis del contenido de nuclear de ADN en plantas son aquellos que no excedan cinco (Dolezel, 1991; Dolezel *et al.*, 1998). Con el objetivo de alinear correctamente la lámpara, el lente objetivo y el lente ocular, el citómetro de flujo debe ser calibrado, logrando obtener coeficientes de variación entre 0.98-1.96 (Palomino *et al.*, 1999).

Durante el encuentro de discusión y taller sobre el tamaño del genoma en angiospermas, celebrado en el Royal Botanic Gardens, en Kew, en 1997 (Bennett y Leitch, 2004) como parte de una de las 10 recomendaciones para el estudio del tamaño del genoma, se acordó que para determinar el contenido nuclear de ADN por citometría de flujo se use un fluorocromo intercalar en la doble hélice de ADN como Yoduro de propidio (PI) y/o Bromuro de etidio (EB), y no fluorocromos selectivos de bases como el DAPI y Hoechst 33258, que sólo marcan las bases adenina y timina y por lo tanto no se recomiendan para la cuantificación del contenido nuclear de ADN, ya que de ser así el contenido es subestimado.

Para la determinación del contenido nuclear de ADN en picogramos o su composición en millones de pares de bases (1 pg = 980 Mpb; Bennett *et al.*, 2000) por citometría de flujo, se requiere preparar una suspensión de núcleos intactos obtenidos a través de buffers hipotónicos, y posteriormente teñidos con un fluorocromo intercalar del ADN. Así mismo, se requiere de una planta de referencia con valor C y ploidía conocida, que simultáneamente se analiza con la planta de interés. En la mayoría de las plantas el análisis del contenido de ADN de núcleos aislados de parénquima de hojas jóvenes produce un histograma que corresponde a núcleos en la fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, con un contenido 2C de ADN, y otro que corresponde a la fase G<sub>2</sub> del ciclo celular, con 4C de ADN. Dolezel, (1991) plantea la siguiente fórmula para la determinación del contenido nuclear de ADN:

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

El citómetro de flujo también es útil para el análisis de los niveles de ploidía, detección de aneuploides, estabilidad del genoma en cultivos *in vitro*, análisis del cariotipo y mapeo de genes, determinación del sexo en plantas en estadios tempranos de su crecimiento, duración del ciclo celular, en predicción de caracteres agronómicos, control del desarrollo y vigor en semillas, en el monitoreo de efectos de radiación y mutágenos químicos y en análisis de genotoxicidad (Dolezel, 1997; Dolezel y Bartos, 2005).

**Tabla 2.** Contenido nuclear de ADN (pg) en especies de *Mammillaria*, determinado por densitometría de feulgen y por citometría de flujo.

Especie	Nivel de ploidía	2C ADN (pg)	4C ADN (pg)	Referencia original
<i>M. albilanata</i>	2x		20.32	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. armillata</i>	2x		21.69	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 b
<i>M. asteriflora</i>	2x		22.06	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. auricantha</i>	2x		18.66	Das <i>et al.</i> , 1999 a
<i>M. baumii</i>	2x		17.00	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. bella</i>	2x		20.78	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. blossfeldiana</i>	4x		32.78	Das <i>et al.</i> , 1999 a
<i>M. bocasana</i> *	2x	4.10		Barlow, en Bennett y Smith, 1976
<i>M. bocasana</i> *	2x		19.46	Das <i>et al.</i> , 1997
<i>M. bombycina</i>	2x		18.83	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 b
<i>M. boolii</i> *	2x		18.42	Das <i>et al.</i> , 1997
<i>M. bravoae</i>	2x		22.40	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. brevispina</i>	2x		24.12	"
<i>M. carmenae</i>	2x		36.00	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. celsiana</i>	2x		33.65	"
<i>M. collinsii</i>	2x		23.12	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. compressa</i>	4x		30.44	Das <i>et al.</i> , 1999 a
<i>M. confusa</i>	2x		23.89	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 b
<i>M. decipiens</i>	2x		40.72	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. elegans</i>	2x		36.46	"
<i>M. elongata</i>	2x		20.52	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. geminispina</i>	2x		22.41	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 b
<i>M. grandiflora</i> *	2x		20.40	Das <i>et al.</i> , 1997
<i>M. hahniana</i> *	2x		19.56	"
<i>M. herrerae</i>	2x		37.78	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. klissingiana</i>	2x		18.26	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. leucantha</i>	2x		17.53	Das <i>et al.</i> , 1999 a
<i>M. matudae</i>	2x		23.08	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 a
<i>M. multiceps</i>	4x		53.09	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. occidentalis</i> *	2x		24.42	Das <i>et al.</i> , 1997
<i>M. pectinifera</i>	2x		19.21	Das <i>et al.</i> , 1999 a
<i>M. plumosa</i> *	2x		26.46	Das <i>et al.</i> , 1997
<i>M. prolifera</i>	4x		54.66	Mohanty <i>et al.</i> , 1996
<i>M. pseudoperbella</i>	2x		15.61	Das <i>et al.</i> , 1999 a
<i>M. rhodantha</i> *	2x		27.78	Das <i>et al.</i> , 1997
<i>M. san-angelensis</i> *	2x	3.20 **		Palomino <i>et al.</i> , 1999
<i>M. sempervivi</i>	2x		23.97	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 b
<i>M. winterae</i>	2x		24.94	"
<i>M. woodsii</i> *	2x	3.10		Barlow, en Bennett y Smith, 1976
<i>M. woodsii</i> *	2x		19.99	Mohanty <i>et al.</i> , 1997 b
<i>M. zeilmanniana</i> *	2x		23.09	Das <i>et al.</i> , 1997

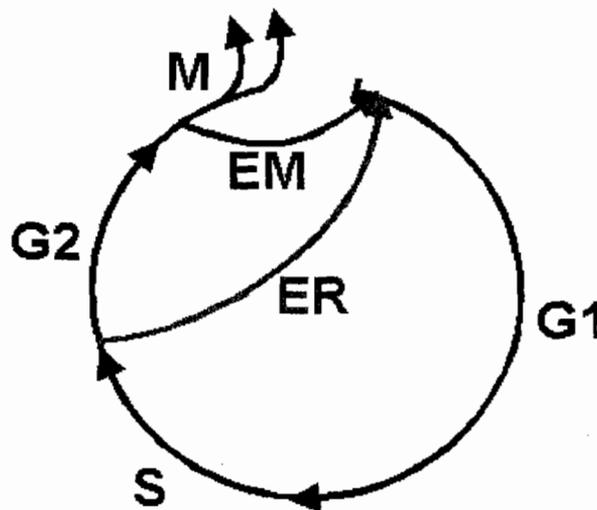
\* Valores en la base de datos del valor C de ADN (Bennett y Leitch, 2004).

\*\* CF: Citometría de flujo con PI: Yoduro de propidio.

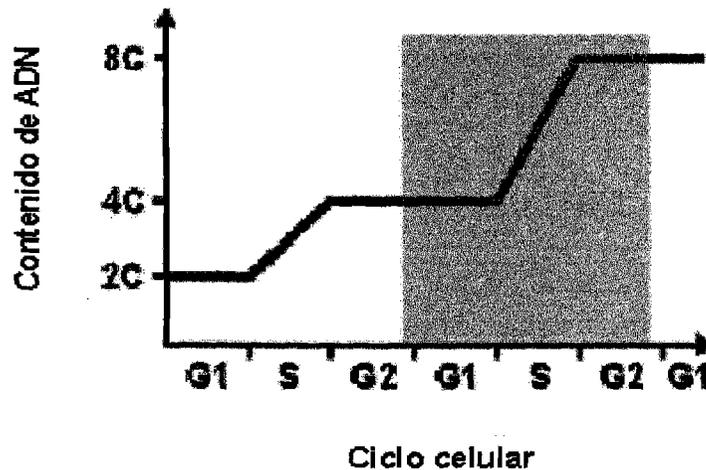
## Poliploidía en cactáceas

Las variaciones cromosómicas numéricas que afectan a los cromosomas como conjunto, aumentando el número de juegos presentes del genoma de una planta se conocen como poliploidía. El proceso de poliploidización es resultado de la capacidad de las células para modificar su ciclo celular, en el cual la síntesis de ADN ocurre independientemente de la mitosis. Los ciclos de endomitosis y de endoreduplicación, son los principales procesos

que permiten que el genoma se vaya acumulando en repetidas ocasiones, otros procesos como aborto en mitosis, formación de gametos no reducidos, fusión de núcleos o apareamiento de células multinucleadas, pueden derivar en poliploidización, pero se presentan de forma limitada (D' Amato, 1984). La endomitosis fue descrita por Geitler (1939), ocurre dentro de una membrana nuclear intacta y conduce a una duplicación del número de cromosomas durante cada ciclo mitótico. Durante la endomitosis los cromosomas se duplican y se condensan, y las cromatidas hermanas se separan y retornan al estado de interfase como en un ciclo mitótico. Escencialmente, la endomitosis difiere de la mitosis por la ausencia del uso mitótico, y es común en varios grupos de animales, pero rara en angiospermas (D'Amato, 1984). La endoreduplicación fue descrita por Levan (1939), se presenta cuando después de un periodo de síntesis S el núcleo no entra en mitosis sino que vuelve a experimentar otro periodo de síntesis. Este proceso ocurre en ausencia de una condensación y descondensación de la cromatina, originando cromosomas con 2<sup>n</sup> cromatidas, sin cambio en el número de cromosomas (Lorz, 1947; Levan y Hauschka, 1953). La endoreduplicación es el proceso más común de poliploidización en plantas y se estima que ocurre en alrededor del 90% de las angiospermas (D'Amato, 1984). La endomitosis es rara en plantas, y se asocia principalmente a la formación de gametos, por ejemplo, Carputo *et al.*, (1999) proponen que la endomitosis es el proceso por el cual se originan gametofitos femeninos 2n en papa (Fig. 4 y 5).



**Figura 4.** Ciclo celular, señalando los procesos de endomitosis (EM) y de endoreduplicación (ER). Periodos del ciclo celular: G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, S y M.



**Figura 5.** Cambios en el contenido nuclear de ADN durante un ciclo de endorreducción. El área sombreada representa el incremento del contenido de ADN durante un ciclo celular.

La incidencia de la poliploidía puede variar ampliamente entre los grupos superiores de plantas. Es muy común en pteridofitas y en angiospermas, siendo rara en gimnospermas donde menos del 5% de las especies son poliploides (Masterson, 1994). Lewis, (1980) y Goldblatt (1980), estiman que no menos del 58% de las monocotiledóneas y 43% de dicotiledóneas son poliploides. En angiospermas el nivel de ploidía más alto es el reportado en *Sedum suaveolens* ( $2n = 80x = 640$ ) (Uhl, 1978). Esto muestra que la poliploidía ha jugado un papel muy importante en la evolución de las plantas superiores, y una característica particular en la evolución y especiación de éstas es la alopoliploidía, que es resultado de la combinación de dos genomas diferentes de dos o más especies o géneros ancestrales. Recientemente técnicas moleculares como la hibridación genómica *in situ* ha permitido la identificación indiscutible de alopoliploides y de sus genomas ancestrales que pueden corresponder a dos o más genomas diploides (Leitch y Bennett, 1997, 2004).

La comparación entre distintos grupos de angiospermas muestra que los poliploides pueden presentar valores de C iguales o menor que los diploides (Bennett, 1972, 1987). En un amplio rango de especies analizadas se han observado tres patrones en la relación del valor C de ADN y el nivel de ploidía: (I) la mayoría de los poliploides muestran ADN aditivo relativo a los diploides, (II) muchos poliploides muestran una reducción en la cantidad de ADN con respecto a los diploides y (III) pocos poliploides muestran un incremento en la cantidad de ADN con respecto a los diploides (Leitch y Bennett, 2004). Por ejemplo, en poliploides de origen reciente el contenido de ADN es directamente proporcional al de los diploides que le dieron origen. Esta relación ha sido observada en algunas series de poliploides naturales en *Hordeum* (Bennett y Smith, 1976), *Leucaena* (Palomino *et al.*, 1995), en otros casos, se ha observado que no se cumple la mencionada proporcionalidad. En poliploides de origen antiguo como *Bulnesia* (Poggio y

Hunkizer, 1986) el octoploide ( $8x$ ) *B. bonariensis* posee el menor contenido de ADN por genoma básico y su ADN total es la mitad del que posee el diploide ( $2x$ ) *B. retama*. Liu *et al.*, (1998) reportó que la formación de alopoliploides en trigo sintético está acompañado por una rápida eliminación no al azar de un bajo número de secuencias no codificables de ADN en el genoma, poniendo en evidencia que la pérdida de ADN ocurre en los poliploides, como resultado de pérdidas espontáneas de ADN no esencial. En variedades de *Agave tequilana* la media del valor  $1Cx$  (genoma monohaploide  $x$ ) es ligeramente menor en poliploides ( $4x$  y  $5x$ ) que en la variedades diploides ( $2x$ ), lo que se relaciona con la pérdida de secuencia de ADN durante el proceso de poliploidización (Palomino *et al.*, 2003). El incremento en la cantidad de ADN de especies poliploides con respecto a sus diploides progenitores ha sido observado en el género *Linum* (Cullis, 1979) y *Nicotiana* (Dhillon *et al.*, 1983).

Hagerup (1932) y Tischler (1934) demostraron que en las angiospermas la frecuencia de poliploides en la flora se incrementa con la latitud, esto fue confirmado por Löve y Löve (1949), quienes demostraron que la frecuencia de la poliploidía también se encuentra relacionada con la altitud. Este hecho lo interpretaron como el resultado de la gran resistencia de los poliploides ante condiciones ecológicas extremas (Stebbins, 1971; Levin, 2002). La poliploidía es a menudo asociada con la selección y adaptación para un rápido desarrollo celular, el cual a su vez se ha relacionado con un bajo contenido de ADN (Bennett y Leitch, 1997; Bennett *et al.*, 2000).

En las cactáceas la poliploidía ha desempeñado un papel muy importante en la evolución de algunos grupos de la familia. Autopoliploides y alopoliploides se han reportado en diez géneros, triploides, tetraploides y hexaploides en *Opuntia* (Pinkava *et al.*, 1973), tetraploides en *Echinocereus* (Pinkava *et al.*, 1977; Cota y Philbrick, 1994), tetraploides, hexaploides y hasta 24 ploides ( $24x$ ) en *Mammillaria* (Remski, 1954). En la subfamilia Opuntoideae la poliploidía es más frecuente que en los miembros de la subfamilia Cactoideae, lo que parece indicar que la poliploidía no ha influenciado sustancialmente la especiación en ésta subfamilia (Gibson y Nobel, 1986). En el género *Mammillaria*, la mayoría de los reportes corresponden a especies diploides que en su mayoría se localizan en la República Mexicana, considerada como el centro de origen y diversidad del género (Remski, 1954; Johnson, 1978, 1980).

### **Patrón de endopoliploidía**

Se define a la endopoliploidía como la condición que presentan las plantas para tener en sus tejidos células con diferentes niveles de ploidía, generando que en el genoma nuclear de diferentes células se presenten múltiplos del valor  $C$ , encontrando plantas con patrón endopoliploide definidas por núcleos con valores  $2C$ ,  $4C$ ,  $8C$ ,  $16C$ ,  $32C$ , hasta  $n$  veces (Nagl, 1979; De Rocher *et al.*, 1990; Joubes y Chevalier, 2000). Se ha aceptado que la endopoliploidía es resultado de ciclos de endoreduplicación, que es el evento más comúnmente observado en plantas (Levan y Hauschka, 1953; Nagl, 1978; D'Amato, 1964, 1984).

En animales, la endopoliploidía es un fenómeno frecuente en artrópodos, se presenta en los túbulos de malpigi y glándulas salivales de varios dípteros. En mamíferos la endopoliploidía es rara, y sólo se presenta en el trocoblato y células del miocardio (Conlon y Raff, 1999). En contraste la endopoliploidía, está ampliamente distribuida en las plantas, particularmente en angiospermas (Geitler, 1953; D'Amato, 1964; Tschermak-Woess, 1971; Nagl, 1978). En plantas el nivel de endopoliploidía más alto ha sido encontrado en tejidos involucrados con la alimentación del embrión, como en el suspensor de *Phaseolus coccineus* con un valor 8192 C y *Phaseolus vulgaris* con 4096 C (Nagl, 1974, 1976) y en el endospermo de *Arum maculatum* con 24756 C (Erbrich, 1965). También se ha reportado endopoliploidía en *Mesembryanthemum crystallinum* (De Rocher *et al.*, 1990), *Arabidopsis thaliana* (Galbraith *et al.*, 1991), en pepino (Gilissen *et al.*, 1993) y en tomate (Smulders *et al.*, 1994).

En cactáceas, se ha reportado patrón de endopoliploidía en *Pereskia grandiflora* con la presencia de núcleos con 2, 4 y 8C (De Rocher *et al.*, 1990) y en tejido del parénquima de tallo de *Mammillaria san-angelensis* se reportó la presencia de núcleos con hasta con 32 C ADN (Palomino *et al.*, 1999).

En plantas la distribución de células con diferentes niveles de ploidía en un tejido específico es una característica de la etapa de desarrollo (De Rocher *et al.*, 1990; Galbraith *et al.*, 1991; Smulders *et al.*, 1994). Por ejemplo, en flores de *Brassica oleraceae*, Kudo y Kimura (2001), reportan la presencia de patrón de endopoliploidía con valores máximos de 64 C en diferentes tejidos de flores maduras, observando que en botones florales sólo se presentan células hasta con 4 C. En tejido parequimático de *Mammillaria san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999) también pudieron observar que a mayor edad de la planta, mayor es la frecuencia de núcleos con valores más altos de los múltiplos del valor C. La constancia de un patrón de endopoliploidía en tejidos específicos de diferentes órganos, sugiere que los ciclos de endoreduplicación en plantas constituyen una parte esencial de la información genética programada para el desarrollo y que es necesaria para la diferenciación y para funciones especializadas (Cebolla *et al.*, 1999). Se ha asociado a la endopoliploidía con un aumento del volumen celular, ocasionado por el aumento de contenido nuclear por cada ciclo de endoreduplicación, lo cual sugiere que el endoreduplicación está involucrada en el desarrollo y diferenciación celular (Cebolla *et al.*, 1999; Kondorosi *et al.*, 2000; Larkins *et al.*, 2001). Por ejemplo, en maíz, durante el desarrollo del endospermo las células pasan de un ciclo de mitosis a uno de endoreduplicación, conduciendo a una masiva síntesis de proteínas y almidón (Lur y Setter, 1993), que se relaciona con la producción de granos de maíz (Cavallini *et al.*, 1995).

## Taxonomía, descripción y distribución de las especies de la serie *Supertextae*

### Taxonomía

Dentro de la familia Cactaceae, se localizan 110 géneros y 2000 especies, de este total, 52 géneros y 850 especies se encuentran en México. Aproximadamente 18 géneros (35%) y 715 especies (84%) son endémicas de nuestro país (Arias, 1993). Existen géneros muy diversos como *Opuntia* y *Mammillaria*, que presentan varias decenas de especies con gran parecido morfológico entre ellas (Guzmán *et al.*, 2003). La mayor parte de las especies del género *Mammillaria* son estrictamente endémicas para México, ya que de un total de 166 especies, 160 se encuentran en México y de ellas 150 son especies endémicas (Hunt, 1992, con modificaciones de Hernández y Godínez, 1994).

Dentro del género *Mammillaria* se ubica a la serie *Supertextae*, que corresponde a la *Elegans* de Schumann, y que fue tipificada con *M. elegans* de Candolle, lo cual demostró Hunt, es dudosa, ya que no se identificó por falta de tipo ni ilustración auténtica. Es muy probable que la planta original proviniera del estado de Hidalgo, donde no existe ningún miembro de esta serie, razones por las que se considera *nomen dubium*. Hunt, ha designado como especie tipo de esta serie a *M. supertexta* Martius ex Pfeiffer, dándole a la serie el nombre de *Supertextae* (Hunt, 1987).

La clasificación de la serie *Supertextae*, representa una importante complejidad taxonómica y nomenclatural. Existen discrepancias suscitadas por la posición taxonómica de plantas consideradas por algunas autoridades como especies independientes o como formas de alguna especie. Sin embargo, se carece de argumentos claros que sustenten una u otra posición. Para la serie *Supertextae*, Hunt (1987), reconoce siete especies, mientras que Bravo y Sánchez-Mejorada (1991), consideran 20 especies y Lüthy (1995), reconoce ocho especies (Tabla 3).

**Tabla 3.** Propuestas de clasificación taxonómica para la serie *Supertextae*. Especie con sus respectivas sinonimias (-).

Hunt, (1987).	Bravo y Sánchez-M., (1991).	Lüthy, (1995).
1. <i>M. haageana</i> - <i>M. san - angelensis</i> - <i>M. collina</i> - <i>M. conspicua</i> - <i>M. vaupelli</i>	1. <i>M. haageana</i> 2. <i>M. san - angelensis</i> 3. <i>M. collina</i> 4. <i>M. conspicua</i> 5. <i>M. vaupelli</i> 6. <i>M. supertexta</i> - <i>M. elegans</i> - <i>M. buchenau</i>	Grupo 1. ( <i>M. supertexta</i> )  1. <i>M. albilanata</i> - <i>M. halbingeri</i> - <i>M. noureddineana</i> , - <i>M. reppenhagenii</i> - <i>M. tegelbergiana</i>
2. <i>M. supertexta</i> - <i>M. lanata</i> - <i>M. martinezii</i>	7. <i>M. lanata</i> 8. <i>M. martinezii</i> 9. <i>M. crucigera</i>	2. <i>M. columbiana</i> 3. <i>M. eriacantha</i> 4. <i>M. haageana</i> - <i>M. collina</i> - <i>M. conspicua</i> - <i>M. meissneri</i>
3. <i>M. crucigera</i>	10. <i>M. huitzilopochtli</i> 11. <i>M. dixanthocentron</i>	5. <i>M. supertexta</i>
4. <i>M. huitzilopochtli</i>	12. <i>M. flavicentra</i> 13. <i>M. albilanata</i> 14. <i>M. fuauuxiana</i>	Grupo 2. ( <i>M. crucigera</i> )
5. <i>M. dixanthocentron</i> - <i>M. flavicentra</i>	15. <i>M. reppenhagenii</i> 16. <i>M. tegelbergiana</i> 17. <i>M. halbingeri</i> 18. <i>M. donatii</i> 19. <i>M. ruestii</i> 20. <i>M. yucatanensis</i>	6. <i>M. crucigera</i> - <i>M. tlalocii</i> 7. <i>M. dixanthocentron</i> - <i>M. flavicentra</i> 8. <i>M. huitzilopochtli</i>
6. <i>M. albilanata</i> - <i>M. fuauuxiana</i> - <i>M. reppenhagenii</i> - <i>M. tegelbergiana</i> - <i>M. halbingeri</i>		
7. <i>M. columbiana</i> - <i>M. ruestii</i> - <i>M. yucatanensis</i>		

### Descripción

Los miembros de la serie *Supertextae* son plantas simples o cespitosas, con ramificaciones desde la base del tallo, rara vez por dicotomía. Los tallos son globosos hasta cilíndricos con jugo generalmente lechoso en la médula y ligeramente semilechoso en los tubérculos. Las axilas son lanosas en mayor o menor grado, principalmente las jóvenes y las que están en época de floración; la lana es generalmente blanca o de color amarillo pálido. La espinación es densa cubriendo por completo el tallo e impartándole su colorido. Las espinas están bien diferenciadas en centrales y radiales, las primeras rectas o encorvadas, nunca uncinadas. Las flores son pequeñas, promediando 10 a 12 mm de longitud, de color púrpura, rosado o amarillo. Semillas de color castaño, con testa foveolada con densidad aproximada de 142 foveolas por mm<sup>2</sup> (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991). Estos son los caracteres diagnósticos más importantes de los miembros de la serie, los autores de esta descripción reconocen 20 especies. La descripción taxonómica de las

siete especies de *Mammillaria* involucradas en este trabajo, se baso en la propuesta de Bravo y Sánchez-Mejorada, (1991):

*M. albilanata* Backeberg

Tallo simple ocasionalmente ramoso, globoso hasta cortamente cilíndrico, ápice hundido. Tubérculos en 13 y 21 series espiraladas, cónico-cilíndrico. Axilas con lana larga, pilosa, gruesa, rizada. Aréolas desde circulares hasta ovales, las muy jóvenes con corta lana blanca. Espinas radiales 15 a 20, aciculares de color blanco yesoso. Espinas centrales 2 a veces cuatro, subuladas, rectas, blancas o color crema. Flores con los segmentos interiores del perianto de color rojo carmín. Fruto rosado hasta rojo conservando adheridos los restos secos del perianto. Semillas encorvado-piriformes, con testa finamente rugosa, de color castaño claro.

*M. crucigera* Martius

Tallo simple o cespitoso ramificado pro dicotomía, globosos hasta cilíndricos con el ápice hundido. Tubérculos dispuestos en 8 y 13 o 13 y 21 series espiraladas. Axilas de los tubérculos jóvenes con abundante lana blanca, después desnudas. Aréolas circulares con escasa lana blanca sólo en las más jóvenes. Espinas radiales 24 a 30 desde finamente aciculares hasta setosas. Espinas centrales generalmente 4, a veces sólo 2 o 3 y a veces 5 o 6, fuertemente subuladas rectas, de color amarillento y con la punta oscura. Flores infundibuliformes, segmentos interiores del perianto lanceolados con el margen aserrado, con 4 a 5 lóbulos del estigma de color rojo carmín hasta violeta. Fruto claviforme, rojo, conservando los restos secos del perianto. Semillas encorvado-piriformes.

*M. dixanthocentron* Backeberg

Tallo simple, cilíndrico. Tubérculos dispuestos en 13 y 21 series espiraladas, cónicos, de sección redondeada o ligeramente ovalada. Axilas con abundante lana blanca hasta la altura de los tubérculos. Aréolas circulares, las jóvenes con lana blanca. Espinas radiales 14 a 16, de 3 a 6 mm de longitud, siendo las laterales las más largas, aciculares, rectas y lisas, de color amarillo intenso hacia abajo y blancas hacia arriba. Espinas centrales 2 o 4, dirigidas hacia arriba y hacia abajo o dispuestas en forma de cruz, la espina inferior encorvada hacia abajo, de color amarillo y más tarde castaño. Flores brotando en corona, infundibuliformes, estilo dos veces más largo que los estambres, con cuatro lóbulos del estigma de color amarillo verdoso. Fruto delgadamente encorvado-claviforme de color anaranjado. Semilla piriforme, testa foveolada.

*M. flavicentra* Backeberg

Tallo al principio globoso con el tiempo se vuelve cilíndrico. Tubérculos dispuestos en 21 y 34 series espiraladas, piramidales. Axilas con lana crespada sin cerdas. Aréolas desnudas. Espinas radiales alrededor de 22 a 24, aciculares. Espinas centrales 4 a 6

delgadamente subuladas, de color amarillo. Flores rojas de 3 a 4 mm de diámetro. Fruto claviforme de color rosa arriba. Semilla de color castaño oscuro.

*M. haageana* Pfeiffer

Tallo simple a veces cespitoso, globoso o cilíndrico, ápice redondeado con el centro hundido. Tubérculos dispuestos en 13 y 21 series espiraladas, cónico-piramidales, cuadrilaterales. Axilas con lana blanca flocosa, con el tiempo desnudas. Aréolas ovales al principio con lana blanca, después desnudas. Espinas radiales 18 a 20 aciculares ligeramente arqueado-ascendentes. Espinas centrales 2 siendo la inferior la más larga, ligeramente encorvadas, divergentes hacia arriba y hacia abajo. Flores infundibuliformes con segmentos exteriores del perianto lineares, con tres lóbulos de estigma de color verde oliva pálido. Fruto cilíndrico-claviforme rojo arriba y rozado abajo, conservando adheridos los restos secos del perianto. Semillas encorvado-piriformes de color castaño-oliváceo.

*M. huitzilopochtli* D.R Hunt

Tallo globoso hasta claviforme-cilindroide. Tubérculos dispuestos en 13 y 21 series espiraladas, obtusamente cónico-cilíndricos. Axilas desnudas salvo en época de floración. Aréolas elípticas, al principio con lana y después desnudas. Espinas radiales 15 a 30 de color blanco vítreo. Espinas centrales en plantas jóvenes 0 a 1, rara vez dos, los ejemplares adultos desarrollan una espina central adicional, subulada de color castaño muy oscuro hasta negro. Flores tubular-infundibuliformes de color rojo-carmesí. Fruto cilíndrico-claviforme, conservando adheridos restos secos del perianto. Semillas piriformes.

*M. supertexta* Martius ex Pfeiffer

Tallo subgloboso, a veces oblongo. Tubérculos, cónicos, comprimidos. Axilas abundantemente lanosas, principalmente las del ápice. Aréolas subnudas, con tomento escaso amarillento. Espinas radiales 16 a 18, blancas radiadas dispuestas en dos series. Espinas centrales 2 siempre con la punta negruzca. Flores con los segmentos interiores del perianto de color rosa-rojizos, con la franja media más oscura, con 5 lóbulos del estigma de color amarillo. Semillas piriformes y de color castaño.

### Distribución

El área de distribución de las especies del género *Mammillaria*, casi en su totalidad se restringe a la República Mexicana, teniendo como límites, al norte, los estados del sureste de los Estados Unidos y sus límites al sur hasta Venezuela y Colombia, así como en la Antillas (Bravo, 1978) (Fig. 6-A).

Los integrantes de la serie *Supertextae* están distribuidos al sur del Eje Volcánico, desde el sur de Puebla y suroeste de Veracruz hasta Yucatán, y desde Morelos y Guerrero hasta Oaxaca y Chiapas, también se encuentra una especie en el Valle de México *M. san-*

*angelensis* y *M. reppenhagenii* en el estado de Colima (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991), y con la excepción de *M. columbiana*, que se encuentra ampliamente distribuida desde Yucatán, en las Antillas y hasta Venezuela y Colombia (Hunt, 1987) (Fig. 6-B). Estas especies representan alto grado de endemismo, la mayoría de ellas se encuentran localizadas dentro de la República Mexicana. Las siete especies de *Mammillaria* que se estudian en éste trabajo se encuentran localizadas dentro del área de la provincia florística de Tehuacán – Cuicatlán, caracterizada por la presencia de distintos tipos de vegetación (Rzedowski, 1988) y considerada como una de las áreas prioritarias en México para la conservación de la biodiversidad (Arriaga *et al.*, 2000).

Estas especies, al igual que otras cactáceas, tienen un importante potencial hortícola-ornamental, por lo que han sido afectadas por el saqueo. Tomando en consideración que estas plantas presentan una baja tasa de crecimiento, largos ciclos de vida y baja tasa de reclutamiento, son vulnerables a la colecta ilegal y degradación del hábitat. Además algunas especies endémicas están solamente en localidades muy restringidas y extremadamente discontinuas, lo que las pone en mayor riesgo de amenaza (Hernández y Gómez-H, 2002).

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, *Mammillaria crucigera*, *M. dixanthocentron* y *Mammillaria huitzilopochtli* son consideradas como especies endémicas y sujetas a protección especial (SEMARNAT, 2002). Las especies de la serie *Supertextae*, como parte de la familia Cactaceae, aparecen en el apéndice II de la Convención Internacional del Comercio de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES) (Hunt, 1999), donde se incluyen especies que no se encuentran necesariamente en peligro de extinción, pero cuyo comercio debe controlarse a fin de evitar una utilización incompatible con su supervivencia.



A



B

Figura 6. A) Área de distribución de las especies del género *Mammillaria* y B) área de distribución de las especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae* (Tomado de: Pilbeam, 1999).

## OBJETIVOS

**General:** Obtener y analizar los cariotipos, el comportamiento de los cromosomas meióticos, así como determinar el tamaño y composición del genoma por citometría de flujo de *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, y de *M. crucigera*, *M. haageana* y *M. supertexta* obtener el tamaño y la composición de su genoma.

### Particulares:

- Obtener el número cromosómico somático ( $2n$ ), básico ( $x$ ), el nivel de ploidía, y elaborar los cariotipos de *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, determinando la variación inter - específica.
- Conocer el comportamiento meiótico, determinando la presencia de bivalentes o multivalentes, frecuencia de quiasmas (Fq) e índice de recombinación (IR), así como el porcentaje de polen viable de las especies mencionadas.
- Determinar el tamaño del genoma, cuantificando el contenido de ADN en pg, y su composición en Mpb (millones de pares de bases de nucleótidos), niveles de ploidía y patrón de endopoloploidía por citometría de flujo para las siete especies mencionadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

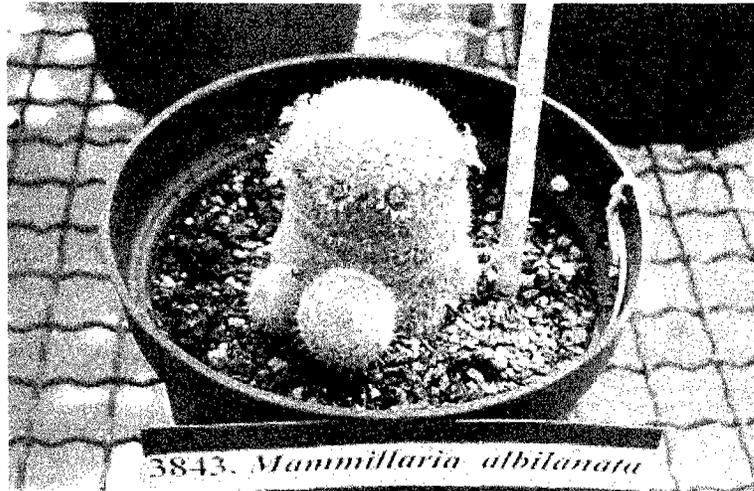
### Especies estudiadas

Los ejemplares de las especies de la serie *Supertextae* en los cuales se realizó este trabajo, se colectaron en los estados de Puebla y Oaxaca. Los ejemplares colectados se mantienen en los invernaderos del Jardín Botánico del Instituto de Biología-UNAM (Tabla 4; Fig. 7, a y b).

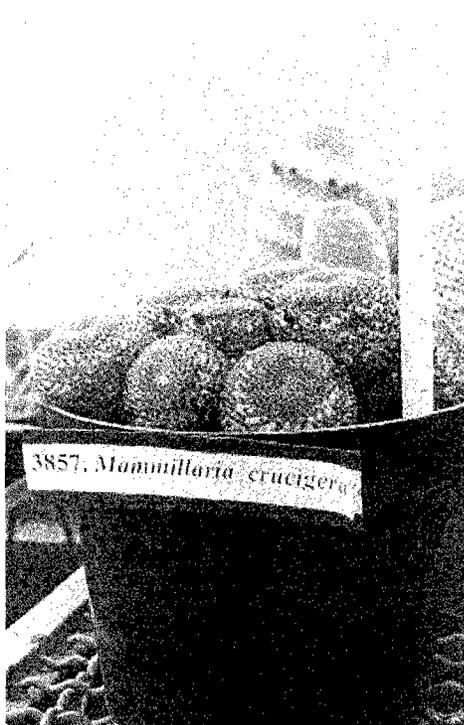
Se depositaron en el Herbario Nacional de México MEXU (UNAM) un ejemplar de cada especie colectada. Los números de colecta correspondientes se indican en la tabla 4.

**Tabla 4.** Datos de colecta de las especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

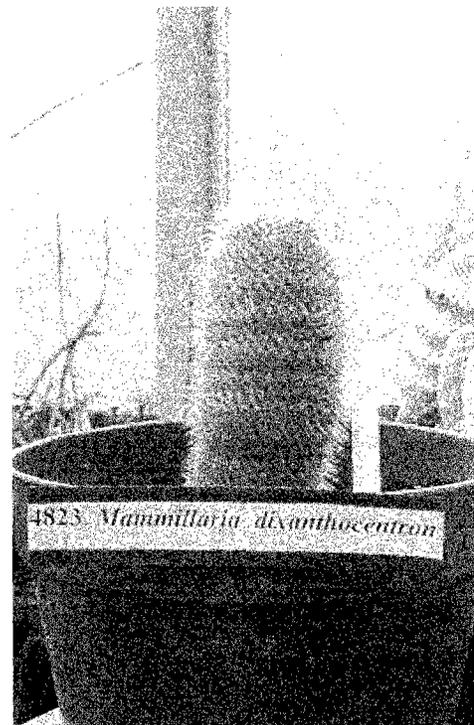
Espece	Colector	Número de colecta	Localidad
<i>M. albilanata</i>	J. Reyes y F. Briones	3843	Quiotepec, Oaxaca.
<i>M. crucigera</i>	J. Reyes y F. Briones	3857	Tilapa, Puebla.
<i>M. dixanthocentron</i>	J. Reyes y F. Briones	4823	Los Cues, Oaxaca.
<i>M. flavicentra</i>	J. Reyes	4821	Concepción Buenavista, Oaxaca.
<i>M. haageana</i>	J. Reyes y F. Briones	3834	Huajupan de León, Oaxaca.
<i>M. huitzilopochtli</i>	J. Reyes	4822	Cuicatlán, Oaxaca.
<i>M. supertexta</i>	J. Reyes y F. Briones	3851	Quiotepec, Oaxaca.



A



B



C

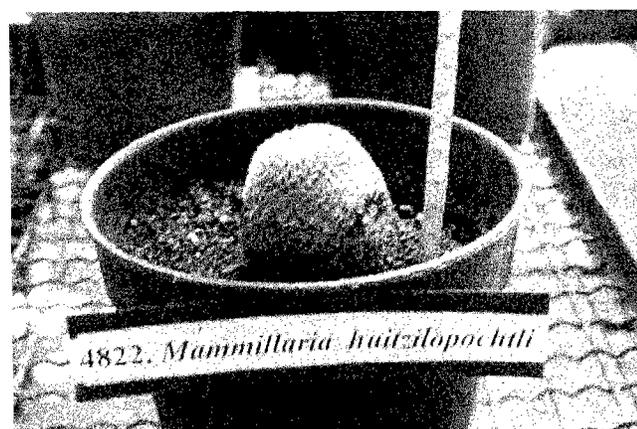
**Figura 7 a.** A) *Mammillaria albilanata*, B) *M. crucigera* y C) *M. dixanthocentron*.



D



E



F



G

Figura 7 b. D) *M. flavicentra*, E) *M. haageana*, F) *M. huitzilopochtli* y G) *M. supertexta*.

## Técnica para el análisis de cromosomas mitóticos

- **Pretratamiento.** Para el estudio de los cromosomas en la mitosis, se colectaron meristemos radiculares que se cortaron entre las 7 y 8 a.m. Posteriormente se mantuvieron en una solución mitostática de 8-hidroxiquinoleína 0.002 M por 6 hrs a 18-20° C y en oscuridad. En dicha solución se sumergió aproximadamente 1 cm de raíz donde se encuentra presente el meristemo.
- **Fijación.** Una vez concluido el tiempo en el mitostático, se procedió a hacer la fijación en una solución de alcohol etílico 96° y ácido acético glacial, en una proporción de 3:1v/v por un tiempo de 24 a 48 hrs.
- **Hidrólisis.** Después de la fijación se lavaron las raíces y se hidrolizaron en una solución de HCl 1 N a 60 ° C, durante 12 minutos.
- **Tinción.** La tinción se realizó con el colorante reactivo de Schiff (Feulgen), dejándola en dicha solución durante 15 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, para observar las regiones meristemáticas teñidas de morado.
- **Elaboración de preparaciones.** De la muestra del tejido teñido se cortó aproximadamente un milímetro y se colocó en un portaobjetos añadiéndole una gota de propio-orceína al 1.8%, se le colocó el cubreobjetos y con la punta de unas pinzas se golpeó suavemente hasta esparcir el tejido. Las laminillas se hicieron permanentes con el método del hielo seco propuesto por Conger y Fairchild (1953), deshidratadas en alcohol etílico al 96% y fueron montadas en bálsamo de Canadá.
- **Análisis de preparaciones.** Una vez obtenida la preparación se procedió a seleccionar de cada especie de una a seis células, en las que los cromosomas se encuentren bien separados y en un solo plano. Posteriormente se procedió a tomar una fotografía con un Fotomicroscopio Carl Zeiss II, con un objetivo de 100x.
- **Elaboración de cariotipos e idiogramas.** A partir de la fotografía, los cromosomas se dibujaron mediante la proyección de los negativos en un proyector de transparencias y se homologaron de acuerdo a la longitud de sus brazos y a la longitud total (Lt) de cada uno de los cromosomas. También se determinó la relación de brazos (r) dada por el cociente del brazo largo entre el brazo corto de acuerdo con Levan *et al.*, (1964), la longitud relativa porcentual (L%), que representa el cociente de la longitud total de cada cromosoma del complemento cromosómico entre la longitud total de todos los cromosomas por 100 (Sinhna y Roy, 1979; García, 1990), y el índice de asimetría TF(%) (Gupta y Gupta, 1978; Sinhna y Roy, 1979), a través de la siguiente fórmula:

$$TF\% = \frac{\Sigma \text{ Total de los brazos cortos de los cromosomas}}{\Sigma \text{ Total de la longitud de los cromosomas}} \times 100$$

La clasificación del cariotipo se realizó siguiendo los criterios de Levan *et al.*, (1964), donde la posición del centrómero es determinante para su clasificación.

A partir de las fotografías se elaboró el idiograma, ordenando los cromosomas por parejas de homólogos de acuerdo a su tamaño y posición de centrómero, quedando representados de manera decreciente con respecto a su tamaño.

### **Técnica para el análisis de cromosomas meióticos**

Para el estudio de los cromosomas en meiosis, se utilizaron las anteras de botones florales jóvenes, en los cuales se encuentran las células madres de polen (CMP).

- Fijación. En este caso a diferencia de la mitosis no es necesario realizar todos los pasos, las anteras se pueden ver en fresco o se pueden fijar en la solución de alcohol y ácido acético 3:1 v/v por tiempo indefinido.
- Elaboración de preparaciones. Para observar las muestras, se cortó transversalmente una pequeña porción de las anteras (0.5-1mm) colocándose en un portaobjetos con una gota de colorante propio-orceína al 1.8 %, se colocó un cubreobjetos y con la punta de unas pinzas se golpeó suavemente hasta esparcir el tejido para su observación al microscopio óptico. Las preparaciones se hicieron permanentes por el método de Conger y Fairchild (1953).
- Análisis de preparaciones. De las preparaciones se analiza en la metafase I de la meiosis, el tipo de asociaciones entre homólogos, y la cuantificando de bivalentes o multivalentes que se pueden encontrar en configuración de anillo (IIa) o de cadena (IIc). También se determinó el promedio de quiasmas por núcleo (Fq), y el índice de recombinación (IR) de acuerdo a Sáez y Cardoso (1978), utilizando las siguientes fórmulas:

$$Fq = \frac{\text{Número total de quiasmas por núcleo}}{\text{Número total de núcleos}}$$

$$IR = \text{Número de bivalentes (número haploide)} + \text{Promedio de quiasmas de todos los cromosomas de una célula}$$

## Determinación de viabilidad de polen

Con la finalidad de corroborar si las especies de la serie *Supertextae* tienen un posible origen híbrido y presentan un comportamiento normal en meiosis, se determinó la viabilidad de polen, para lo cual se empleó la metodología propuesta por Radford *et al.*, (1974). El polen se colectó en un portaobjetos agregándole una gota de lactofenol (azul de algodón) y colocándole un cubreobjetos durante 20 min. Se analizaron 3 individuos por especie entre las 11 y 14 hrs durante los meses de diciembre a marzo del 2003, y de cada individuo al menos se contaron 1000 granos de polen.

Se consideraron los granos de polen viables, aquellos que se tiñeron completamente de azul y conservaron su forma esférica. Los granos de polen inviables se observaron transparentes, vacíos o teñidos parcialmente.

## Técnica para la determinación del contenido nuclear de ADN por citometría de flujo

Para la cuantificación del contenido nuclear de ADN en picogramos (pg), su composición en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb), el nivel de ploidía y el patrón de endopoliploidia de *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli*, y *M. supertexta* se realizaron los siguientes pasos:

### Manejo de las plantas

Se utilizaron plantas colectadas en campo (Tabla 4), con un tamaño aproximado de 1.5-3.0 cm de altura (Fig. 8 y 9); se eligieron plantas juveniles ya que presentan menos compuestos químicos como mucilago, cristales de oxalato de calcio y látex, los cuales interfieren en la obtención de núcleos de parénquima foliar, ocasionando que se incremente el valor de los coeficientes de variación (CV), que para validar la replica el CV no debe ser mayor a 5 (Dolezel, 1991).

Además, con la finalidad de tener disponibles más plantas jóvenes para estos análisis, se obtuvieron plantas propagadas por semillas y propagadas por cultivo *in vitro* (Fig. 8 y 9). Estas últimas provinieron de la germinación *in vitro* de semillas y de explantes de las plántulas obtenidas de la germinación (Briones, 2002) (Fig. 8).

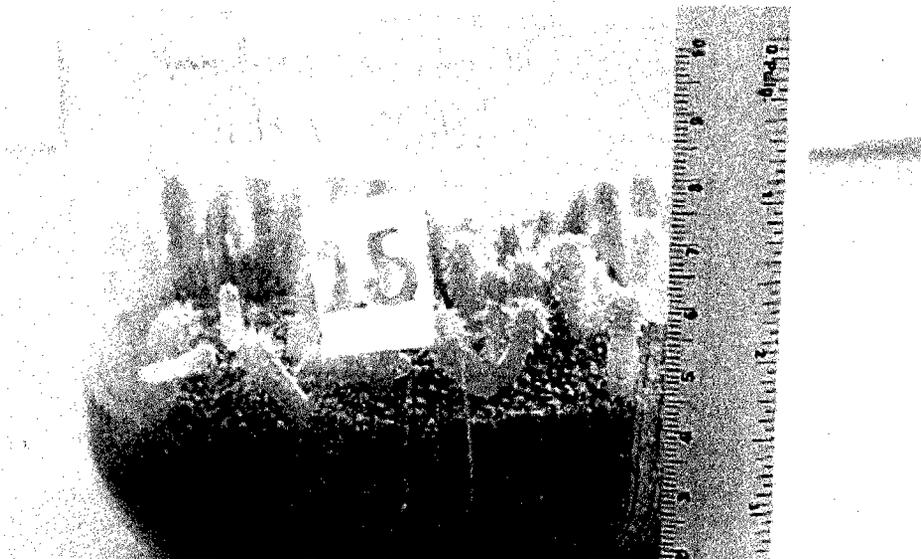
La propagación convencional de las semillas de *Mammillaria*, se realizó como lo propone Reyes, (1997):

- Se lavo un frasco de boca ancha con cloro al 10 % y luego se enjuagó con agua hervida.
- El sustrato estuvo compuesto de tierra negra y tepojal, en una proporción de 1:1. Esta mezcla se puso a calentar por 5 minutos en horno de microondas. Al enfriarse, el sustrato se colocó en el frasco y se humedeció con agua estéril a punto de saturación.
- Las semillas fueron sumergidas en agua destilada estéril a 50° C durante 5 minutos. Una vez a temperatura ambiente, las semillas se sumergieron durante cinco minutos en una solución de agua con cloro, en una proporción de 7:3. Las semillas se enjuagan con agua estéril.
- Las semillas se colocaron en una caja de petri y se les agrego una solución fungicida hasta cubrir las semillas durante cinco minutos (1 gr de Captan en 100 ml de agua destilada estéril).
- Finalmente, con un pincel las semillas fueron esparcidas dentro del frasco, y con una aguja de disección se procedió a ponerlas en pequeños surcos. El frasco se tapó.

Se utilizaron plántulas de nueve meses de edad, y otras se incorporaron a las colecciones del Jardín Botánico IB-UNAM (Fig. 9).



**Figura 8.** Plantas utilizadas para el análisis en el citómetro de flujo.



**Figura 9.** Plántulas de *Mammillaria albilanata* de nueve meses de edad que se utilizaron para la citometría de flujo.

## Preparación de reactivos para la citometría de flujo

Para la calibración del citómetro de flujo (CF) y para la elaboración y análisis de muestras de *Mammillaria* por citometría de flujo, se emplearon los siguientes reactivos: Solución 1 y 2 de OTTO (Otto, 1990) como buffer, Yoduro de propidío (1 mg/ml, Dolezel *et al.*, 1992) como colorante fluorescente y RNAsa (1 mg/ml) para eliminar el ARN que se encuentra en el núcleo de mitocondrias o cloroplastos (Dolezel *et al.*, 1992). La composición y preparación de las soluciones se describe a continuación.

### Otto 1

- Tomar 4.2 g ácido cítrico (0.1 M), 1.0 ml de Tween 20 (0.5 %), y aforar a 200 ml con agua deionizada.
- Filtrar en una malla de nylon de 0.47  $\mu\text{m}$  y se almacenó en refrigeración a 4 °C.

### Otto 2

- Tomar 28.65g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (0.4 M), calentar en agua deionizada a 50 - 60°C.
- Aforar a 200 ml con agua deionizada y filtrar en una malla de nylon de 0.47  $\mu\text{m}$ . Almacenar a temperatura ambiente y en la oscuridad.

### Yoduro de propidío (PI)

- Se disuelven 25 mg de IP en 25 ml de agua deionizada (17 Mohms), y se agita durante 60 min.
- La solución se pasa a través de un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$  y se almacena en un ultracongelador a -70°C.

### RNAsa

- Se disuelven 25 mg de RNAsa en 25 ml de agua deionizada (17 Mohms), y se inactiva la RNAsa a una temperatura de 90°C por 15 min, en baño maría donde la RNAsa debe estar a 90°C y la temperatura del agua en agitación en un rango de 95°C - 97°C.
- La solución se filtra usando un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$  y se almacena en un ultracongelador a una temperatura de -70°C.

## Calibración del citómetro de flujo

Para la calibración del citómetro de flujo, se emplearon eritrocitos de pollo, preparados de acuerdo a Palomino *et al.*, (1999).

- Tomar 500  $\mu\text{l}$  de Otto 1.
- Agitar la muestra del stock de eritrocitos de pollo.
- Agregar 10  $\mu\text{l}$  de solución stock de eritrocitos de pollo.

- Agitar con una jeringa de 1 a 3 ml. Si se observan muchos agrupamientos en la pantalla del citómetro de flujo repetir la muestra.
- Añadir 2 ml de Otto 2.
- Añadir 125 µl de solución stock de IP.
- Añadir 125 µl de solución stock de RNAsa.
- Filtrar empleando con una malla de nylon de 30 - 50 µm.

#### Preparación de las muestras para determinar el contenido nuclear de ADN

Para la preparación de las muestras y la determinación del contenido nuclear de ADN, se procedió de la siguiente manera:

- Se utilizó como planta de referencia *Lycopersicon esculentum* 2C ADN =1.96 pg (Dolezel *et al.*, 1992).
- Se obtuvieron 550 mg de tejido del parénquima del tallo de *Mammillaria* (tubérculos y el tejido interno), y 3 mg de hoja joven de *L. esculentum*, que simultáneamente fueron picados finamente con una navaja de rasurar en una caja petri conteniendo 3 ml de solución Otto 1 (ácido cítrico 0.1 M y 0.5% Tween 20).
- El material una vez picado se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente y se filtró en una malla de nylon de 30 a 50 µm.
- A la muestra filtrada se le centrifugó dos veces por 3 minutos a 1000 rpm, quitando el sobrenadante y al precipitado que contiene los núcleos, se le agregaron 500 µl de la solución Otto 1.
- A los núcleos en Otto 1 se le añadieron 2 ml de solución Otto 2 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  0.4 M) y se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Posteriormente se le agregaron 125 µl de RNAsa y 125 µl de PI (yoduro de propidio).
- Finalmente la solución se filtró y se analizó en el citómetro de flujo.

Para la determinación del patrón de endopoliploidía, solo se tomaron 300 mg de tejido del parénquima foliar de las especies de *Mammillaria*, del cual se obtuvieron los núcleos que fueron aislados y teñidos por el mismo procedimiento para determinar el contenido nuclear de ADN.

#### Análisis en el citómetro de flujo

Se utilizó un Citómetro de Flujo Partec II, calibrado con núcleos de eritrocitos de pollo, logrando tener un coeficiente de variación de entre 1.0 y 2.0. Esta rutina se repitió cada vez que se utilizó el citómetro de flujo para la lectura de muestras. En total se

analizaron cinco plantas por especie, y de cada planta se hicieron como mínimo tres replicas, en cada replica al menos se analizaron 10 000 núcleos.

Para determinar el contenido nuclear de ADN, el primer histograma, que correspondió a los núcleos en la etapa G<sub>1</sub> (2C de ADN) de *Lycopersicum esculentum*, se posicionó en el canal 50. Para poder visualizar en pantalla los histogramas del patrón de endopoliploidía en las siete especies estudiadas, el primer histograma que correspondió a los núcleos en con 2C de ADN, se posicionó en el canal 25. La posición de los histogramas, sus áreas y coeficientes de variación fueron calculados utilizando el software DPAC (Partec GmbH). El contenido del genoma nuclear se calculó de acuerdo a Dolezel, (1991) usando la siguiente fórmula:

$$2C \text{ ADN de } Mammillaria \text{ sp. (pg)} = \frac{\bar{x} \text{ del histograma } G_1/G_0 \text{ de } Mammillaria \text{ sp.}}{\bar{x} \text{ del histograma } G_1/G_0 \text{ de } L. \text{ esculentum}} \times 1.96 \text{ (pg)}$$

$$1 \text{ pg} = 980 \text{ Mpb (Bennett et al., 2000).}$$

### **Análisis estadísticos**

Para evaluar las diferencias en el promedio del tamaño del genoma en picogramos (pg) entre las siete especies de *Mammillaria*, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño factorial anidado-desbalanceado. El primer nivel de análisis correspondió a las especies, el segundo a cinco individuos por especie y el tercer nivel correspondió a tres a ocho repeticiones por individuos (7 especies. x 5 individuos. x 3-8 repeticiones). Adicionalmente, se realizó el análisis de los datos bajo el método de Máxima Verosimilitud Restringida (REML), y en ambos casos se comprobó la homogeneidad de varianzas. Para la realización de estas pruebas se utilizó el software JMP versión 5.01.

# RESULTADOS

## Cariotipos

Se observó la presencia del número cromosómico diploide  $2n = 2x = 22$  en *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli* (Tabla 9, Fig. 10 A-D y Fig. 11), en *M. dixanthocentron* se observó el  $n=11$ , corroborando el  $x=11$  informado para el género *Mammillaria* y la familia Cactaceae.

Los complementos cromosómicos de las cuatro especies se ordenaron por pares de homólogos y por su longitud, siendo el par cromosómico 1 el de mayor tamaño y el par cromosómico 11 el de menor tamaño (Fig. 11).

### *Mammillaria albilanata*

#### Longitud cromosómica

El intervalo de longitud total de los 11 pares de cromosomas corresponde a 1.56-3.37  $\mu\text{m}$ . Los pares cromosómicos 1 y 2 mostraron la mayor diferencia en su longitud, de 0.46  $\mu\text{m}$ , así como en los pares 8 y 9 con 0.26  $\mu\text{m}$  y la diferencia mínima se da entre los pares 6 y 7, con 0.9  $\mu\text{m}$  (Tabla 5).

En el complemento cromosómico de esta especie, los cromosomas mostraron el brazo corto y el brazo largo de la misma longitud, aunque en otros casos se observó variación en sus respectivas medidas, y sin embargo al clasificar los cromosomas mediante la fórmula de Levan *et al.*, (1964) resultaron corresponder a metacéntricos (Tabla 5). La longitud del brazo corto del par cromosómico de menor tamaño (No. 11) fue de 0.78  $\mu\text{m}$  y 1.48  $\mu\text{m}$  para el par de mayor tamaño (No.1).

La longitud total del genoma haploide fue de 25.78  $\mu\text{m}$  (Tabla 5).

En cuanto al tamaño relativo porcentual de los pares cromosómicos, el intervalo de valores es de 6.05-13.07  $\mu\text{m}$ , en el par 11 y 1 respectivamente.

#### Morfología cromosómica

*M. albilanata* presenta una fórmula cariotípica con 11m, esto es once pares de cromosomas metacéntricos (Fig. 11).

#### Presencia de satélites

En el brazo corto del par cromosómico 1, se observó un par de satélites de forma esférica, de 0.37  $\mu\text{m}$ .

## Índice de asimetría

El índice de asimetría (TF%) en el cariotipo de *M. albilanata* es de 46.50% (Tabla 5).

**Tabla 5.** Longitud total del brazo corto y largo, tamaño relativo (L%) y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de *Mammillaria albilanata*.

Par cromosómico	Longitud de brazos (µm)		Satélites (µm)	Total (µm)		Tamaño relativo (L%)	Relación de brazos (r)	Clasificación cromosómica *
	Corto	Largo		̄	EE			
	̄	EE		̄	EE			
1	1.48 ± 0.05	1.52 ± 0.05	0.37	3.37 ± 0.08		13.07	1.02	m
2	1.43 ± 0.05	1.48 ± 0.05		2.91 ± 0.07		11.28	1.03	m
3	1.24 ± 0.05	1.48 ± 0.05		2.72 ± 0.07		10.55	1.19	m
4	1.11 ± 0.04	1.48 ± 0.05		2.59 ± 0.07		10.04	1.33	m
5	1.11 ± 0.04	1.29 ± 0.05		2.40 ± 0.07		9.30	1.16	m
6	1.11 ± 0.04	1.29 ± 0.05		2.40 ± 0.07		9.30	1.16	m
7	1.11 ± 0.04	1.20 ± 0.04		2.31 ± 0.06		8.96	1.08	m
8	0.96 ± 0.04	1.10 ± 0.04		2.06 ± 0.06		7.99	1.14	m
9	0.83 ± 0.04	0.97 ± 0.04		1.80 ± 0.06		6.98	1.16	m
10	0.83 ± 0.04	0.83 ± 0.04		1.66 ± 0.05		6.43	1.00	m
11	0.78 ± 0.04	0.78 ± 0.04		1.56 ± 0.05		6.05	1.00	m
				25.78 ± 0.23		99.95		

Intervalo de longitud de los cromosomas: 1.56 – 3.37 µm

Longitud total del genoma: 25.78 µm

Índice de asimetría (TF%): 46.50

Fórmula cariotípica: 11 pares de metacéntricos. \* De acuerdo a Levan *et al.*, (1964).

## *Mammillaria dixathocentron*

### Longitud cromosómica

El intervalo de longitud total de los 11 pares de cromosomas fue de 1.54-2.53 µm.

Los pares cromosómicos 10 y 11 mostraron la mayor diferencia en su longitud, de 0.22 µm, así como entre los pares 2 y 3, con una diferencia de 0.19 µm, la mínima diferencia se observó entre los pares 4 y 5 (Tabla 6).

En el complemento cromosómico de esta especie, los cromosomas mostraron el brazo corto y el brazo largo de la misma longitud, aunque en otros casos se observó variación en sus medidas. La longitud del brazo corto, del par cromosómico de menor tamaño (No. 11) fue de 0.68µm y 1.19 µm para el par de mayor tamaño (No.1).

La longitud total del genoma haploide fue de 22.98 µm (Tabla 6).

En cuanto al tamaño relativo porcentual de los pares cromosómicos, el intervalo de valores es de 6.70-11.00  $\mu\text{m}$ , en el par 11 y 1 respectivamente.

### Morfología cromosómica

*M. dixanthocentron* presenta una fórmula cariotípica con 11m, esto es once pares de cromosomas metacéntricos (Fig. 11).

### Presencia de satélites

En el brazo corto del par cromosómico 2, se observó un par de satélites de forma esférica, de 0.27  $\mu\text{m}$ .

### Índice de asimetría

El índice de asimetría (TF%) en el cariotipo de *M. dixanthocentron* es de 44.38% (Tabla 6).

**Tabla 6.** Longitud total del brazo corto y largo, tamaño relativo (L%), y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de *Mammillaria dixanthocentron*.

Par cromosómico	Longitud de brazos ( $\mu\text{m}$ )		Satélites ( $\mu\text{m}$ )	Total ( $\mu\text{m}$ )		Tamaño relativo (L%)	Relación de brazos (r)	Clasificación cromosómica *
	Corto $\bar{x}$ EE	Largo $\bar{x}$ EE		$\bar{x}$	EE			
1	1.19 $\pm$ 0.04	1.34 $\pm$ 0.05		2.53 $\pm$ 0.07		11.00	1.12	m
2	0.99 $\pm$ 0.04	1.25 $\pm$ 0.05	0.27	2.51 $\pm$ 0.07		10.92	1.26	m
3	1.03 $\pm$ 0.04	1.29 $\pm$ 0.05		2.32 $\pm$ 0.06		10.09	1.25	m
4	0.99 $\pm$ 0.04	1.22 $\pm$ 0.05		2.21 $\pm$ 0.06		9.61	1.23	m
5	1.00 $\pm$ 0.04	1.18 $\pm$ 0.04		2.18 $\pm$ 0.06		9.48	1.18	m
6	0.94 $\pm$ 0.04	1.16 $\pm$ 0.04		2.10 $\pm$ 0.06		9.13	1.23	m
7	0.92 $\pm$ 0.04	1.11 $\pm$ 0.04		2.03 $\pm$ 0.06		8.83	1.20	m
8	0.83 $\pm$ 0.04	1.10 $\pm$ 0.04		1.93 $\pm$ 0.06		8.39	1.32	m
9	0.85 $\pm$ 0.04	1.02 $\pm$ 0.04		1.87 $\pm$ 0.06		8.13	1.20	m
10	0.78 $\pm$ 0.04	0.98 $\pm$ 0.04		1.76 $\pm$ 0.06		7.65	1.25	m
11	0.68 $\pm$ 0.03	0.86 $\pm$ 0.04		1.54 $\pm$ 0.05		6.70	1.26	m
				22.98 $\pm$ 0.21		99.93		

Intervalo de longitud de los cromosomas: 1.54 – 2.53  $\mu\text{m}$

Longitud total del genoma: 22.98  $\mu\text{m}$

Índice de asimetría (TF%): 44.38

Fórmula cariotípica: 11 pares de metacéntricos. \* De acuerdo a Levan *et al.*, (1964).

## ***Mammillaria flavicentra***

### Longitud cromosómica

El intervalo de longitud total de los 11 pares de cromosomas corresponde a 1.90-3.73  $\mu\text{m}$ . Los pares cromosómicos 9 y 10 mostraron una diferencia en su longitud, de 0.39  $\mu\text{m}$ , así como entre los pares 2 y 3, con una diferencia de 0.31  $\mu\text{m}$ , la mínima diferencia se observa entre los pares 6 y 7 (Tabla 7).

En el complemento cromosómico de esta especie, los cromosomas mostraron el brazo corto y el brazo largo de la misma longitud, aunque también se observó variación en sus medidas. La longitud del brazo corto, del par cromosómico de menor tamaño (No. 11) fue de 0.76  $\mu\text{m}$  y 1.46  $\mu\text{m}$  para el par de mayor tamaño (No. 1).

La longitud total del genoma haploide fue de 30.37  $\mu\text{m}$  (Tabla 7).

En cuanto al tamaño relativo porcentual de los pares cromosómicos, el intervalo de valores correspondió a 6.25-12.28  $\mu\text{m}$ , en el par 11 y 1 respectivamente.

### Morfología cromosómica

*M. flavicentra* presenta una fórmula cariotípica con 11m, esto es once pares de cromosomas metacéntricos (Fig. 11).

### Presencia de satélites

En el brazo corto del par cromosómico 1, se observó un par de satélites de forma esférica, de 0.60  $\mu\text{m}$ .

### Índice de asimetría

El índice de asimetría (TF%) en el cariotipo de *M. flavicentra* fue de 45.97% (Tabla 7).

**Tabla 7.** Longitud total del brazo corto y largo, tamaño relativo (L%), y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de *Mammillaria flavicentra*.

Par cromosómico	Longitud de brazos (µm)		Satélites (µm)	Total (µm)		Tamaño relativo (L%)	Relación de brazos (r)	Clasificación cromosómica *
	Corto X̄ EE	Largo X̄ EE		X̄	EE			
1	1.46 ± 0.05	1.67 ± 0.05	0.60	3.73 ± 0.08		12.28	1.14	m
2	1.65 ± 0.05	1.85 ± 0.06		3.50 ± 0.08		11.52	1.12	m
3	1.44 ± 0.05	1.75 ± 0.06		3.19 ± 0.08		10.50	1.21	m
4	1.27 ± 0.05	1.65 ± 0.05		2.92 ± 0.07		9.51	1.29	m
5	1.42 ± 0.05	1.58 ± 0.05		2.82 ± 0.07		9.28	1.27	m
6	1.16 ± 0.04	1.49 ± 0.05		2.65 ± 0.07		8.72	1.28	m
7	1.13 ± 0.04	1.49 ± 0.05		2.62 ± 0.07		8.62	1.31	m
8	1.15 ± 0.04	1.36 ± 0.05		2.51 ± 0.07		8.26	1.18	m
9	1.10 ± 0.04	1.36 ± 0.05		2.46 ± 0.07		8.10	1.23	m
10	0.85 ± 0.04	1.22 ± 0.05		2.07 ± 0.06		6.81	1.43	m
11	0.76 ± 0.03	1.14 ± 0.04		1.90 ± 0.06		6.25	1.50	m
				30.37 ± 0.25		99.95		

Intervalo de longitud de los cromosomas: 1.9 – 3.73 µm

Longitud total del genoma: 30.37 µm

Índice de asimetría (TF%): 45.97

Fórmula cariotípica: 11 pares de metacéntricos. \* De acuerdo a Levan *et al.*, (1964).

### *Mammillaria huitzilopochtli*

#### Longitud cromosómica

El intervalo de longitud total de los 11 pares de cromosomas corresponde a 1.75-2.59 µm. Los pares cromosómicos 5 y 6 mostraron una diferencia en su longitud, de 0.18 µm, así como entre los pares 8 y 9, con una diferencia de 0.18 µm, la mínima diferencia se dan entre los pares 7 y 8 (Tabla 8).

En el complemento cromosómico de esta especie, los cromosomas mostraron el brazo corto y el brazo largo de la misma longitud, aunque también se observó variación en sus respectivas medidas. La longitud del brazo corto, del par cromosómico de menor tamaño (No. 11) fue de 0.83µm y 1.11 µm para el par de mayor tamaño (No.1).

La longitud total del genoma haploide fue de 25.10 µm (Tabla 8).

En cuanto al tamaño relativo porcentual de los pares cromosómicos, el intervalo de valores es de 6.97-10.31 µm, en el par 11 y 1 respectivamente.

## Morfología cromosómica

*M. huitzilopochtli* presenta una fórmula cariotípica con 10m + 1sm, esto es diez pares de cromosomas metacéntricos y un par (No. 9) de submetacéntricos (Fig. 11).

### Presencia de satélites

En el brazo corto del par cromosómico 1, se observó un par de satélites de forma esférica, de 0.37  $\mu\text{m}$ .

### Índice de asimetría

El índice de asimetría (TF%) en el cariotipo de *M. huitzilopochtli* es de 43.49% (Tabla 8).

**Tabla 8.** Longitud total del brazo corto y largo, tamaño relativo (L%), y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de *Mammillaria huitzilopochtli*.

Par Cromosómico	Longitud de brazos ( $\mu\text{m}$ )				Satélites ( $\mu\text{m}$ )	Total ( $\mu\text{m}$ )	Tamaño relativo (L%)	Relación de brazos (r)	Clasificación cromosómica *	
	Corto		Largo							
	$\bar{x}$	EE	$\bar{x}$	EE		$\bar{x}$	EE			
1	1.11	$\pm 0.04$	1.11	$\pm 0.04$	0.37	2.59	$\pm 0.07$	10.31	1.00	m
2	1.11	$\pm 0.04$	1.48	$\pm 0.05$		2.59	$\pm 0.07$	10.31	1.33	m
3	1.29	$\pm 0.05$	1.29	$\pm 0.05$		2.58	$\pm 0.07$	10.27	1.00	m
4	1.20	$\pm 0.04$	1.29	$\pm 0.05$		2.49	$\pm 0.07$	9.92	1.07	m
5	1.11	$\pm 0.04$	1.29	$\pm 0.05$		2.40	$\pm 0.07$	9.56	1.16	m
6	1.11	$\pm 0.04$	1.11	$\pm 0.04$		2.22	$\pm 0.06$	8.84	1.00	m
7	1.11	$\pm 0.04$	1.11	$\pm 0.04$		2.22	$\pm 0.06$	8.84	1.00	m
8	1.01	$\pm 0.04$	1.20	$\pm 0.04$		2.21	$\pm 0.06$	8.80	1.18	m
9	0.74	$\pm 0.03$	1.29	$\pm 0.05$		2.03	$\pm 0.06$	8.08	1.70	sm
10	0.92	$\pm 0.04$	1.10	$\pm 0.04$		2.02	$\pm 0.06$	8.04	1.19	m
11	0.83	$\pm 0.04$	0.92	$\pm 0.04$		1.75	$\pm 0.06$	6.97	1.10	m
						25.10	$\pm 0.22$	99.94		

Intervalo de longitud de los cromosomas: 1.75 – 2.59  $\mu\text{m}$

Longitud total del genoma: 25.10  $\mu\text{m}$

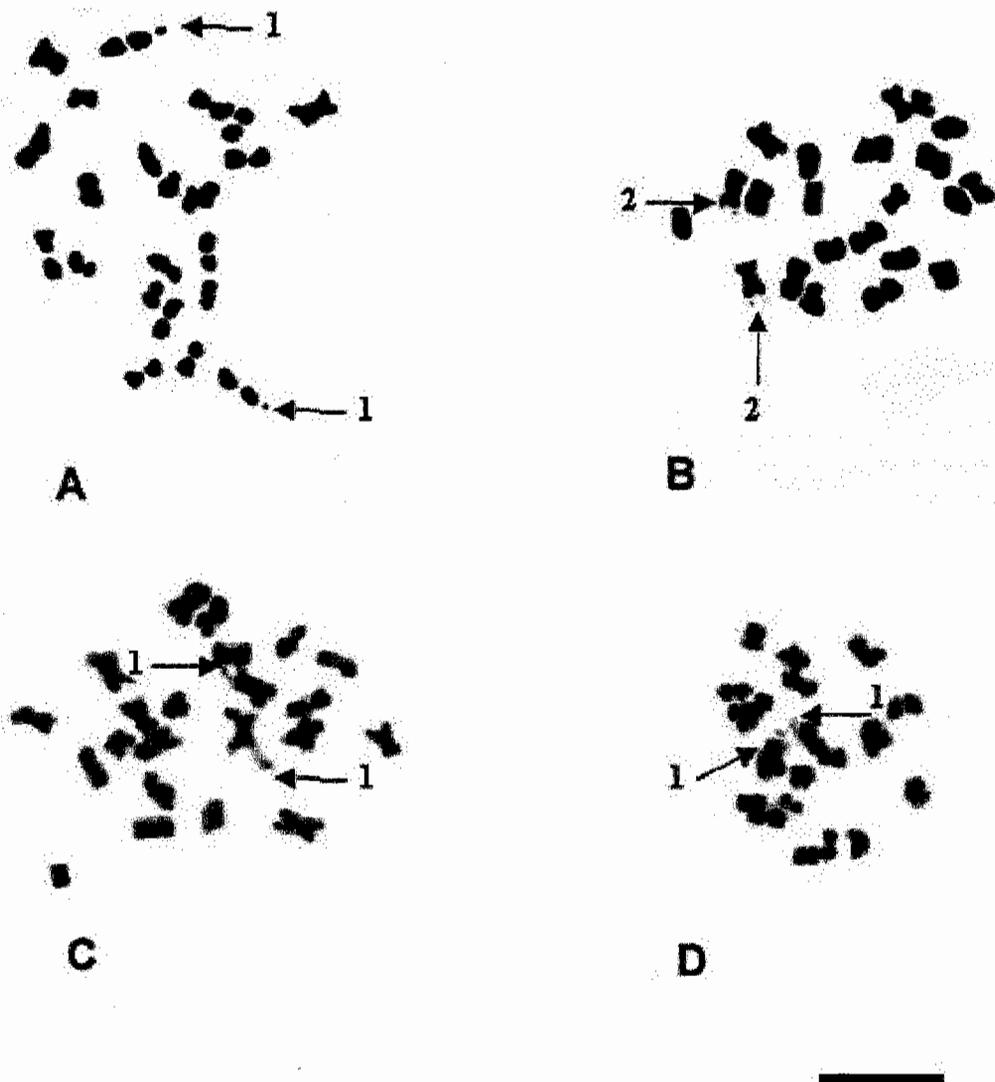
Índice de asimetría (TF%): 43.49

Fórmula cariotípica: 10 pares de metacéntricos y 1 par de submetacéntricos. \* De acuerdo a Levan et al., (1964).

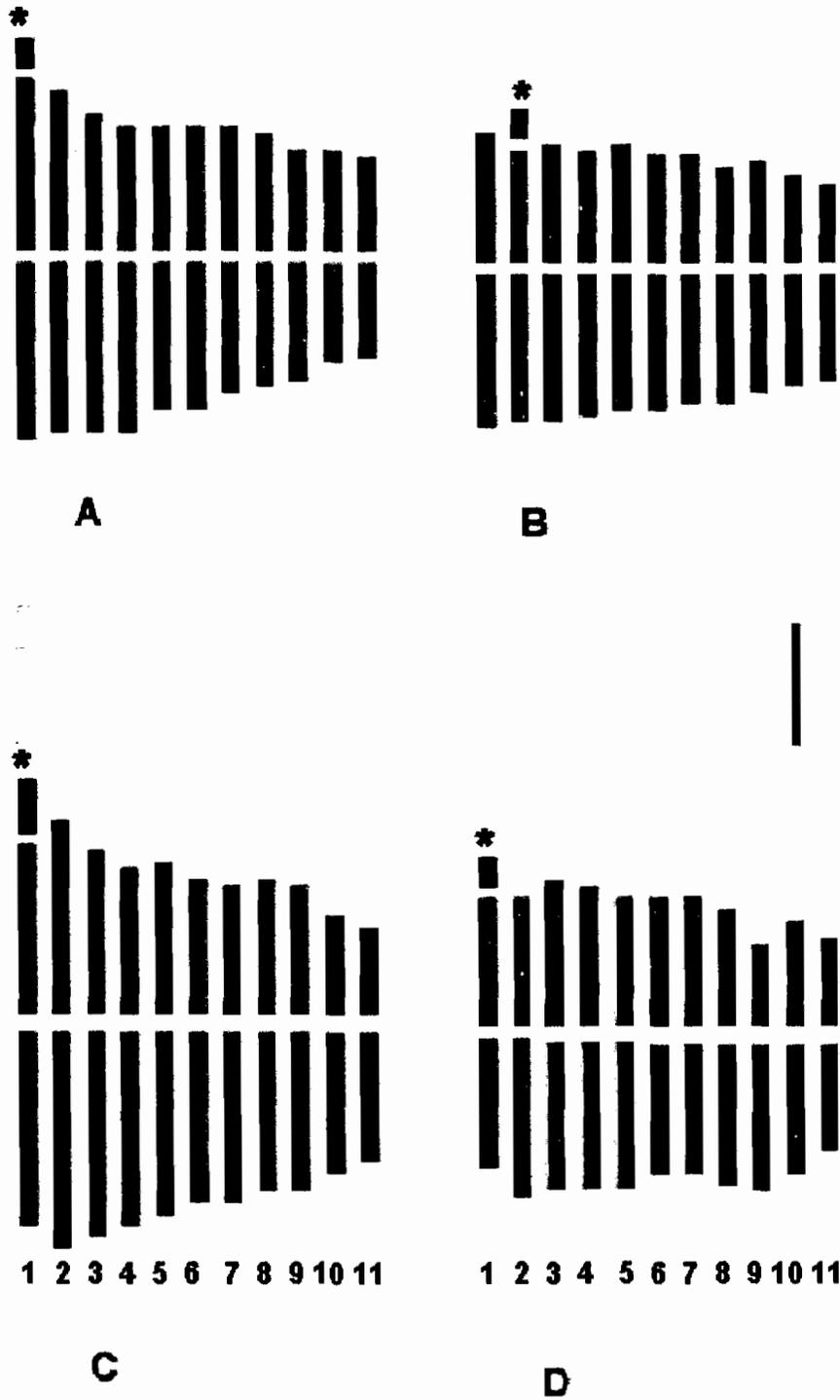
Entre las cuatro especies estudiadas la longitud total del genoma haploide presenta valores de 22.98 en *M. dixanthocentron* a 30.37  $\mu\text{m}$  en *M. flavicentra* (Tabla 9).

**Tabla 9.** Análisis del cariotipo de *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*.

Especie	2n	Intervalo de longitud de los cromosomas ( $\mu\text{m}$ )	Longitud del genoma haploide ( $\mu\text{m}$ )	Fórmula cariotípica	Satélites	Índice de asimetría (TF%)
<i>M. flavicentra</i>	22	1.90 -3.73	<b>30.37</b>	11 m	1	45.97
<i>M. albilanata</i>	22	1.56 -3.37	25.78	11 m	1	46.50
<i>M. huitzilopochtli</i>	22	1.75 -2.59	25.10	10m + 1sm	1	43.49
<i>M. dixanthocentron</i>	22	1.54 -2.53	<b>22.98</b>	11 m	1	44.38



**Figura 10.** Cromosomas en metafase mitótica de células de meristemos radiculares de: A) *Mammillaria albilanata*,  $2n=22$ ; B) *M. dixanthocentron*,  $2n=22$ ; C) *M. flavicentra*,  $2n=22$  y D) *M. huitzilopochtli*,  $2n=22$ . Los números indican los pares cromosómicos con satélite. Escala = 10  $\mu\text{m}$ .



**Figura 11.** Idiogramas de: A) *Mammillaria albilanata*,  $2n=22$ , 11m; B) *M. dixanthocentron*,  $2n=22$ , 11m; C) *M. flavicentra*  $2n=22$ , 11m y D) *M. huitzilopochtli*,  $2n=22$ , 10m + 1sm. Los números indican el par de cromosomas homólogos en el complemento, los asteriscos indican el par de cromosomas con satélite. Escala = 1  $\mu$ m.

En la tabla 10, se muestran los valores promedio del tamaño relativo porcentual (L%) y la relación de brazos (r), del complemento cromosómico de *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, y en la figura 12 se muestra la gráfica comparativa de la distribución de los valores de L% y r.

**Tabla 10.** Tamaño relativo (L%) y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*.

Par cromosómico	<i>M. albilanata</i>		<i>M. dixanthocentron</i>		<i>M. flavicentra</i>		<i>M. huitzilopochtli</i>	
	L%	r	L%	r	L%	r	L%	r
1	13.07	1.02	11.00	1.12	12.28	1.14	10.31	1.00
2	11.28	1.03	10.92	1.26	11.52	1.12	10.31	1.33
3	10.55	1.19	10.09	1.25	10.50	1.21	10.27	1.00
4	10.04	1.33	9.61	1.23	9.51	1.29	9.92	1.07
5	9.30	1.16	9.48	1.18	9.28	1.27	9.56	1.16
6	9.30	1.16	9.13	1.23	8.72	1.28	8.84	1.00
7	8.96	1.08	8.83	1.20	8.62	1.31	8.84	1.00
8	7.99	1.14	8.39	1.32	8.26	1.18	8.80	1.18
9	6.98	1.16	8.13	1.20	8.10	1.23	8.08	1.70
10	6.43	1.00	7.65	1.25	6.81	1.43	8.04	1.19
11	6.05	1.00	6.70	1.26	6.25	1.50	6.97	1.10

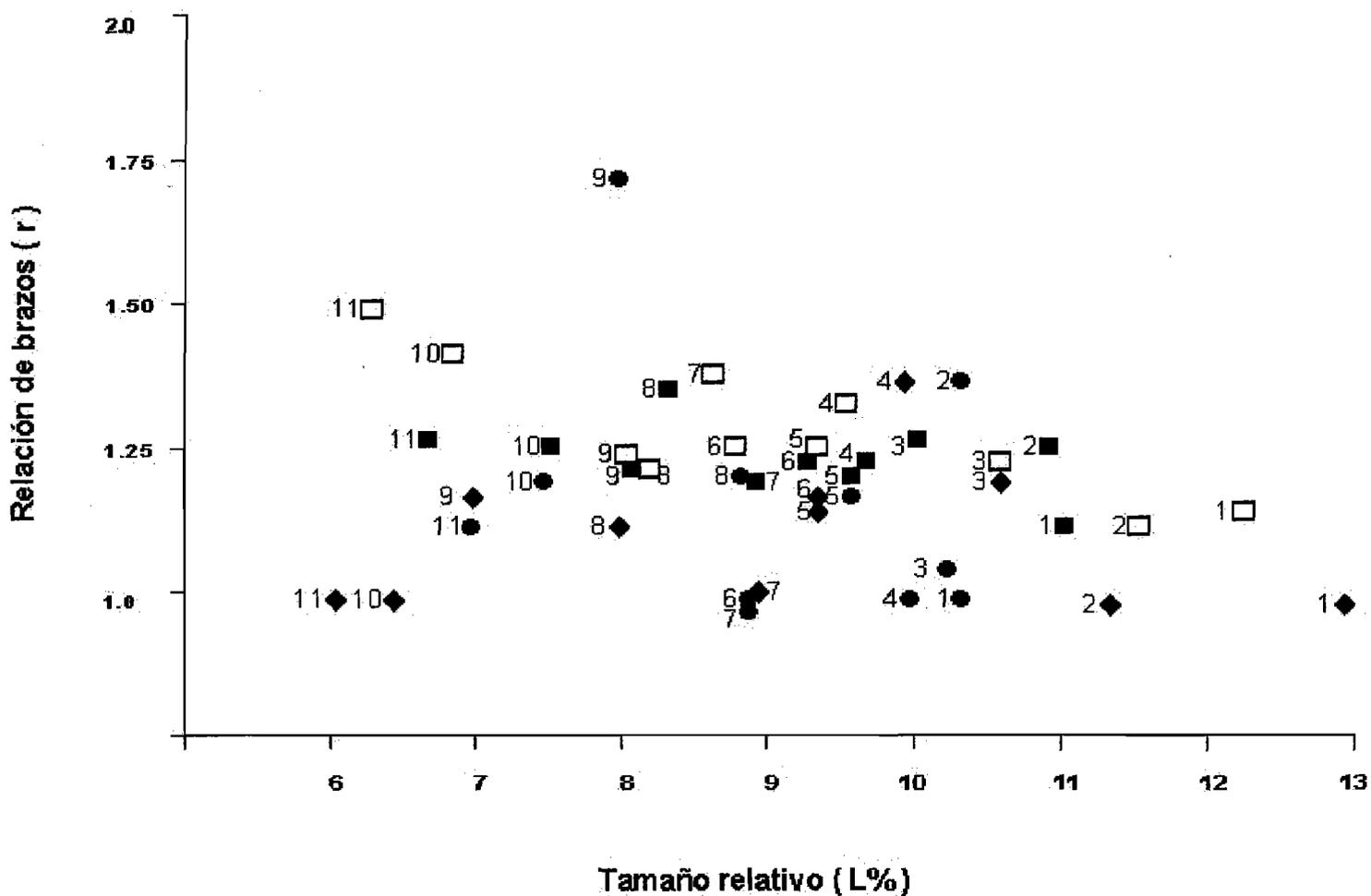


Figura 12. Tamaño relativo (L%) y relación de brazos (r) del complemento cromosómico de *Mammillaria albilanata* (◆), *M. dixanthocentron* (■), *M. flavicentra* (□) y *M. huitzilopochtli* (●).

## Análisis de los pares cromosómicos con respecto a sus valores de L% y r.

### Cromosoma 1

El L% en este par de cromosomas en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 13.07, 11.00, 12.28 y 10.31, respectivamente. Observándose que es en el par uno, es donde se presentan la mayor diferencia de L% con respecto a los demás pares del complemento, los valores de r fueron 1.02, 1.12, 1.14 y 1.00, respectivamente, observando que en este par se presentan menos diferencias en los valores de r, que las observadas en el par cinco, que es el que menos varía entre las 4 especies (ver par cromosómico 5).

### Cromosoma 2

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 11.28, 10.92, 11.52 y 10.31, respectivamente. Los valores de la longitud relativa porcentual (L%), entre las cuatro especies presenta menos diferencia que la observada para el par 1 y 10 (ver pares 1 y 10), que son los más variables en términos de la longitud. Los valores de r corresponden a 1.03, 1.26, 1.12 y 1.33, respectivamente, en comparación con los pares en donde se observó la mayor y menor diferencia en los valores de r, en este par se presentan valores intermedios.

### Cromosoma 3

Los valores de L% en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, 10.55, 10.09, 10.50 y 10.27, respectivamente, presentan menos diferencias que las observadas en los pares 5 y 7, que son los que menos diferencias presentan en términos de la longitud, en cuanto a los valores de r, 1.19, 1.25, 1.21 y 1.00, para la cuatro especies respectivamente, este par es más diferente que los pares 5, 1 y 8, que son los que menos varían con respecto a la relación de brazos.

### Cromosoma 4

En este par cromosómico se presentan valores de L% en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, de 10.04, 9.61, 9.51 y 9.92, respectivamente, y valores de r de 1.33, 1.23, 1.29, 1.07, respectivamente. Este par, junto con el tres y el cinco, es uno de los que presenta menor variación entre las especies.

### Cromosoma 5

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 9.30, 9.48, 9.28 y 9.56, respectivamente, y con valores de r de 1.16, 1.18, 1.27 y 1.16, respectivamente. Dentro de los pares del complemento cromosómico, en este par se presentan las menores diferencias en los valores de L% y r, entre las cuatro especies, es decir este par es el que menos varió entre las especies.

## Cromosoma 6

Los valores de L% en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, 9.30, 9.13, 8.72 y 8.84, y de relación de brazos, 1.16, 1.23, 1.28 y 1.00, respectivamente, con respecto a los pares en donde se observó la mayor y menor diferencia en los valores de L% y r, en este par se presentan valores intermedios en relación al resto de los pares del complemento cromosómico.

## Cromosoma 7

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 8.96, 8.83, 8.62 y 8.84, y los valores de la relación de brazos fueron 1.08, 1.20, 1.31 y 1.00, respectivamente. Después del par cromosómico número cinco, el par siete presenta la menor diferencia del valor de L% entre las cuatro especies, la diferencia entre los valores de r es menor que la observada en los pares 9,10 y 11, que son los que más varían con respecto a r.

## Cromosoma 8

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 7.99, 8.39, 8.26 y 8.80, y los valores de la relación de brazos fueron 1.14, 1.32, 1.18 y 1.18, respectivamente. En relación a los pares en donde se observó la mayor y menor diferencia en los valores de L%, en este par se presentan valores intermedios, la diferencia entre los valores de r observadas en este par, solo son mayores que las observadas en el par 1 y 5, que son los que menos varían con respecto a r.

## Cromosoma 9

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 6.98, 8.13, 8.10 y 8.08, y los valores de la relación de brazos fueron 1.16, 1.20, 1.23 y 1.70, respectivamente. En relación a los pares en donde se observó la mayor y menor diferencia en los valores de L%, el 1 y el 5 respectivamente, en el par 9 se presentan valores intermedios. La diferencia entre los valores de r para las cuatro especies es la mayor de todos los pares del complemento, explicada por la presencia del par de submetacéntricos en *M. huitzilopochtli*.

## Cromosoma 10

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 6.43, 7.65, 6.81 y 8.04, y los valores de la relación de brazos fueron 1.00, 1.25, 1.43 y 1.19, respectivamente. Después del par número uno, es en este par donde se observa la mayor diferencia entre las cuatro especies por sus valores de L%. En cuanto a los valores de r, también es uno de los pares que más difiere, después de los pares 9 y 11, los que presentan mayor diferencia en la relación de brazos. En este par, es donde se observan las mayores diferencias para los valores de L% y r.

## Cromosoma 11

El L% en este cromosoma en *M. albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, fue de 6.05, 6.70, 6.25 y 6.97, y los valores de la relación de brazos fueron 1.00, 1.26, 1.50 y 1.10, respectivamente. En términos de sus valores de L% y con respecto a los pares en donde se observó la mayor y menor diferencia, en este par se presentan valores intermedios. Después del par nueve, se presenta en este par cromosómico la mayor diferencia entre los valores de r entre las cuatro especies.

Se puede observar que los pares cromosómicos de las cuatro especies de *Mammillaria* estudiadas presentan valores diferentes para los parámetros de la longitud relativa (L%) y la relación de brazos (r), algunos pares pueden tener el mismo valor para uno de estos parámetros, pero no para ambos. Se observó que los pares que más difieren para el valor de L% son el par 1, 2, 9 y 10, siendo el par 1 en el que se presenta la mayor diferencia de 2.76 entre *M. albilanata* y *M. huitzilopochtli*, seguido por el par 10 con una diferencia de 1.61 entre *M. huitzilopochtli* y *M. albilanata*. Con respecto a r, son los pares 7, 9, 10 y 11 los que más difieren entre las cuatro especies, siendo el par 9 en el que se presenta la mayor diferencia de 0.54 entre *M. huitzilopochtli* y *M. albilanata*, seguido del par 11 con una diferencia de 0.50 entre *M. flavicentra* y *M. albilanata*. También se pudo observar que *Mammillaria albilanata* difiere más en su valor de L% al compararla con *M. dixanthocentron* en el par 9, con una diferencia de 1.15, y para el valor de r difiere más con *M. flavicentra* en el par 7, con una diferencia de 0.23. Entre *M. dixanthocentron* y *M. flavicentra* (consideradas sinónimas por Hunt, 1987), el par 1 es en el que más difieren para el valor de L%, con una diferencia de 1.28, y el par 11 es en el que más difieren para los valores de r, con una diferencia de 0.24. La diferencia observada para r en el par 4 de las especies *M. albilanata* y *M. huitzilopochtli*, es de 0.26. El par 9 en *M. huitzilopochtli* es muy diferente con respecto a las otras especies en sus valores de r, ya que se trata de un par de tipo submetacéntrico, a diferencia del metacéntrico presente en las otras especies (Tabla 10).

### Comportamiento de los cromosomas en meiosis

El análisis de células en metafase I de la meiosis de *M. dixanthocentron* se realizó en una planta y se observó la presencia de 11 bivalentes ( $n=11$ ), en tres combinaciones: 9IIa + 2IIc, 10IIa + 1IIc y 11IIa (Tabla 11 y Fig. 13).

**Tabla 11.** Bivalentes en anillo (IIa), cadena (IIc) y total de quiasmas en *Mammillaria dixanthocentron*.

Metafase I en meiosis			
Célula	Bivalentes en anillo ( IIa )	Bivalentes en cadena ( IIc )	Total de quiasmas
1	9	2	20
2	9	2	20
3	11		22
4	10	1	21
5	10	1	21
6	10	1	21
7	10	1	21
8	11		22
9	10	1	21
10	11		22
11	11		22
12	11		22

Con los resultados de la tabla 11 se calculó el promedio de la frecuencia de quiasmas ( $Fq$ ) = 21.25 y el índice de recombinación ( $IR$ ) = 32.25.

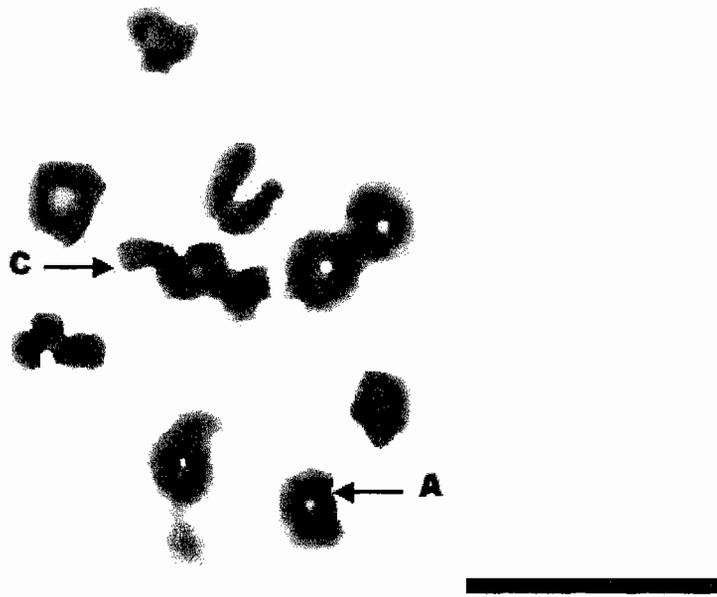
### Viabilidad de polen

El porcentaje de viabilidad de polen en los taxa de *Mammillaria* fue superior al 91% (Tabla 12). El mayor porcentaje se observó en *M. flavicentra* (97.76%) y el menor se presentó en *M. huitzilopochtli* (91.74%).

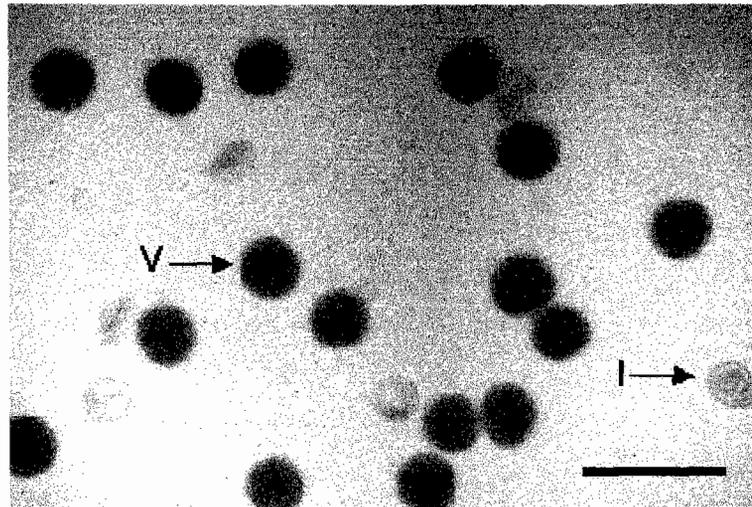
Los granos de polen viables en las cuatro especies presentaron una forma esférica y un tamaño promedio de 3.8  $\mu\text{m}$ , con un rango de variación de 3.3 - 4.2  $\mu\text{m}$ . En la figura 14 se muestran granos de polen viable e inviables de *M. huitzilopochtli*.

**Tabla 12.** Viabilidad de polen en las especies de *Mammillaria*.

Especie	Número de granos contados	% de viabilidad
<i>M. flavicentra</i>	3219	97.76
<i>M. dixanthocentron</i>	3757	95.71
<i>M. albilanata</i>	3045	95.33
<i>M. huitzilopochtli</i>	3393	91.74



**Figura 13.** Célula de *Mammillaria dixanthocentron* ( $2n=2x=22$ ) en metafase I de la meiosis, mostrando 11 bivalentes en la combinación 9 IIa + 2 IIc (A: anillo; C: cadena). Escala = 10  $\mu\text{m}$



**Figura 14.** Granos de polen de *M. huitzilopochtli*, los granos de polen teñidos y completos, representan los viables (V) y los granos de polen amorfo y sin teñir representa a los inviables (I). Escala = 10  $\mu\text{m}$ .

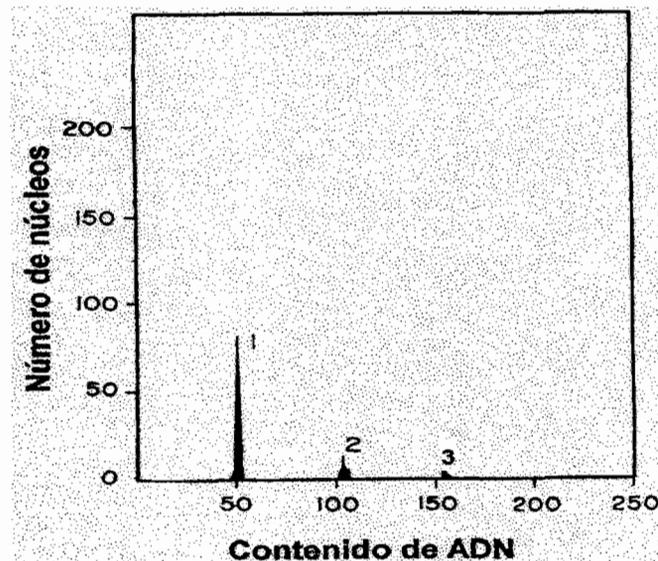
## Contenido nuclear de ADN

El citómetro de flujo se calibró con eritrocitos de pollo, obteniendo histogramas con coeficientes de variación (CV) entre 0.98 – 1.6 (Fig. 15). Se obtuvo el tamaño del genoma 2C expresado en picogramos (pg) y su composición en millones de pares de bases (Mpb), de *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* (Fig. 16, a y b). El valor menor se presentó en *M. flavicentra* con 3.040 pg y el valor mayor se observó en *M. crucigera* con 3.205 pg (Tabla 13).

**Tabla 13.** Valores promedio del contenido nuclear de ADN (pg) y su composición en Mpb en las siete especies estudiadas ( $2n=2x=22$ ).

Especie	2C ADN (pg)*		1Cx Mpb
	$\bar{x}$	EE	
<i>M. crucigera</i>	3.205	± 0.04	1570
<i>M. dixanthocentron</i>	3.184	± 0.04	1560
<i>M. albilanata</i>	3.145	± 0.05	1541
<i>M. huitzilopochtli</i>	3.121	± 0.04	1529
<i>M. haageana</i>	3.117	± 0.04	1527
<i>M. supertexta</i>	3.113	± 0.04	1535
<i>M. flavicentra</i>	3.040	± 0.05	1489

\*1 picogramo (pg) = 980 millones de pares de bases (Mpb).  
1Cx = Mpb en el grupo de cromosomas monohaploide.



**Figura 15.** El histograma 1 representa a los núcleos de eritrocitos de pollo en fase  $G_0/G_1$  del ciclo celular (2C ADN). Los histogramas 2 y 3 representan la agregación de núcleos dobles y triples.

Los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) y REML, muestran que no hay diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), en el contenido nuclear 2C de ADN (pg) entre las especies, pero si las hay entre los individuos dentro de la especie (Tabla 14 y 15; Anexo 1). Esto probablemente se debe a las diferencias de los individuos en términos de su procedencia, ya que se utilizaron plantas colectados en campo, de hijuelos de plantas adultas mantenidas por un largo periodo en invernadero, plantas obtenidas de la germinación convencional de semillas en tierra y plantas de cultivo *in vitro*.

Con la aplicación del método de máxima verosimilitud restringida (REML), se observó el mismo resultado, no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), entre las especies (Tabla 15).

**Tabla 14.** Análisis de varianza anidado del contenido nuclear de ADN en las especies de *Mammillaria* estudiadas.

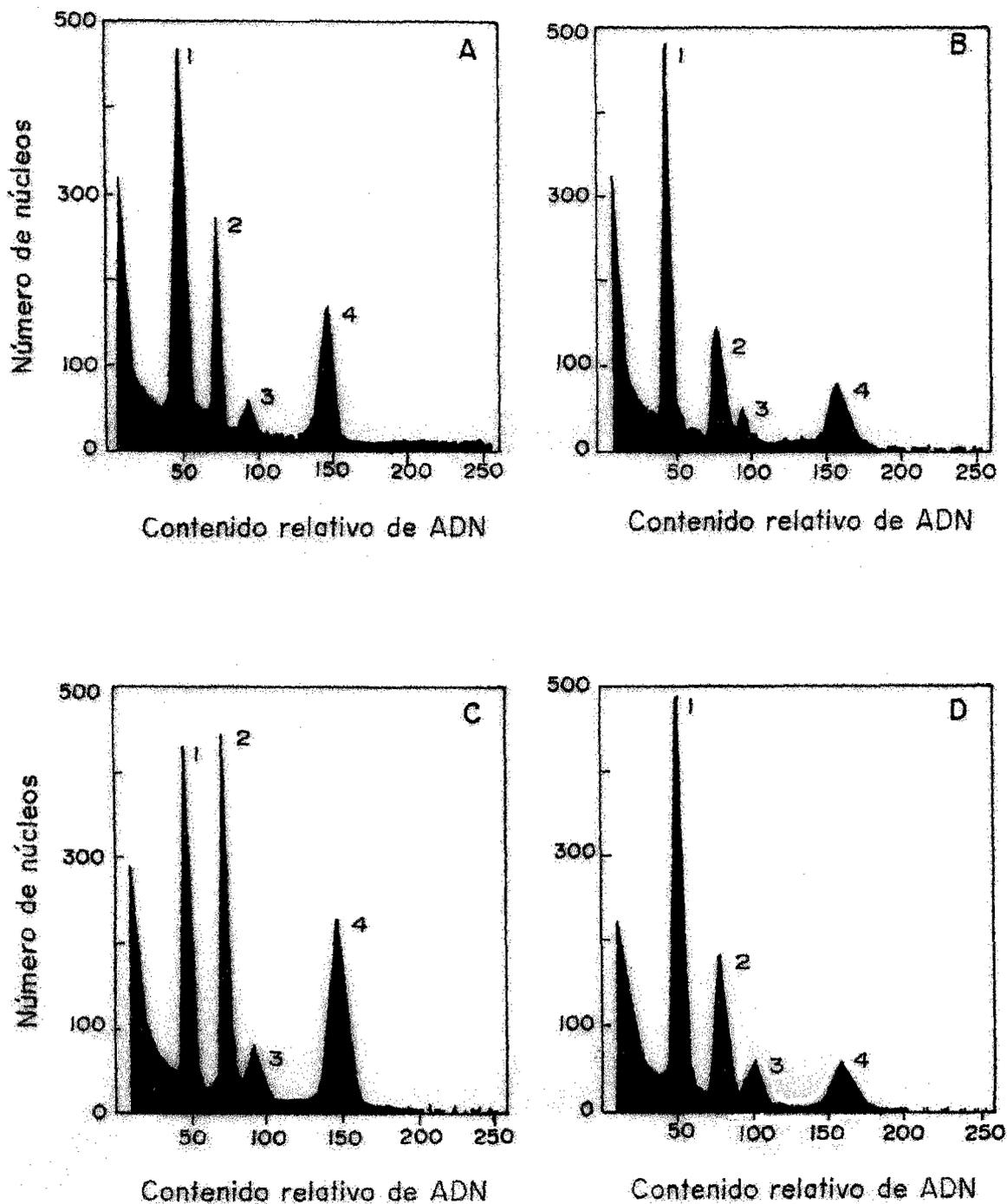
Análisis de Varianza (ANOVA)					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Valor de P
Especie	6	0.344	0.057	1.17	0.346
Individuo/especies	28	1.425	0.050	6.97	<0.0001
Replica/individuo/especie	115	0.083	0.007		
Total	149	2.670			

Diferencia significativa a un nivel de probabilidad de  $\alpha = 0.05$

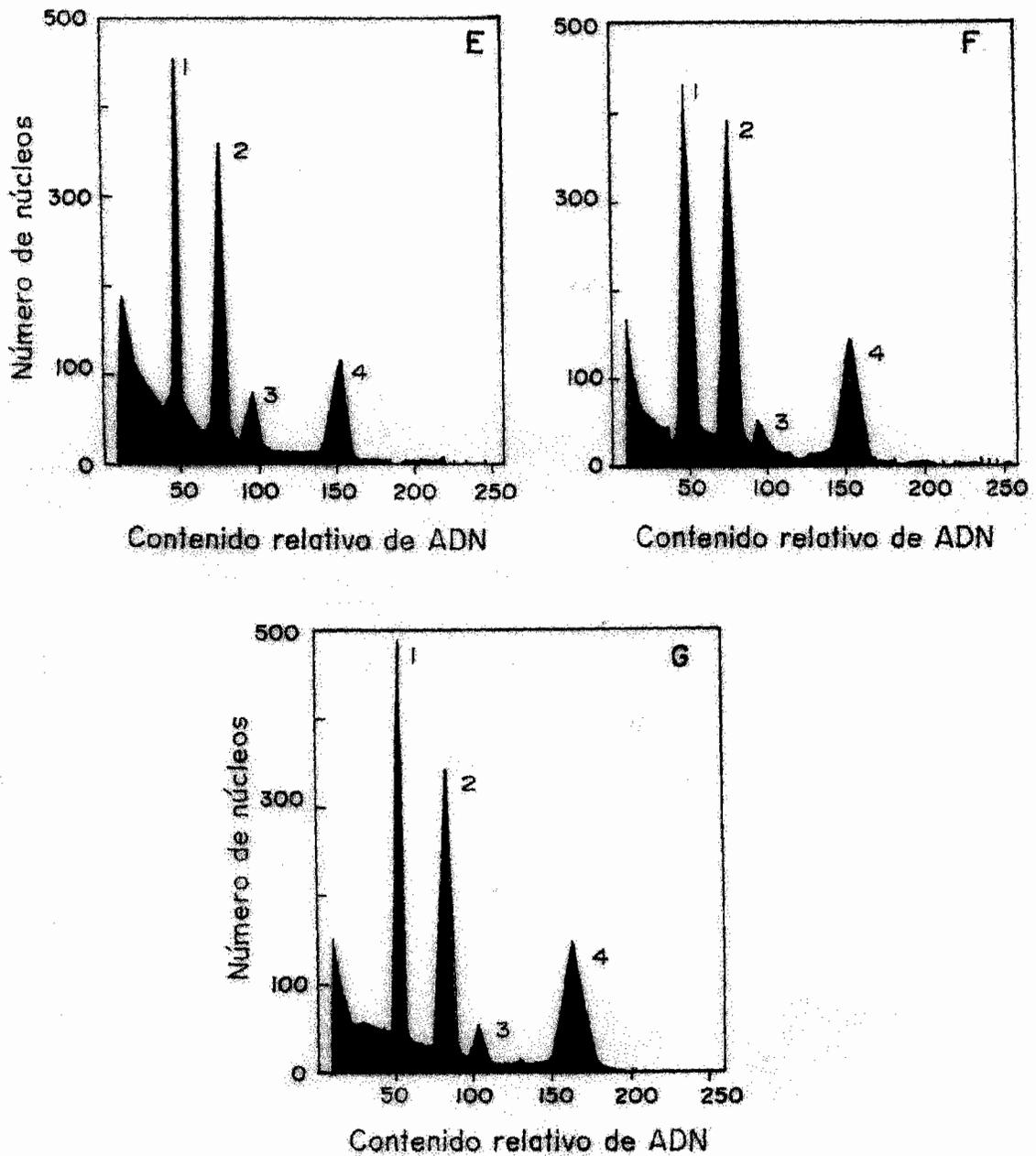
**Tabla 15.** Análisis de máxima verosimilitud restringida, en un diseño anidado para el contenido nuclear de ADN en las especies de *Mammillaria* estudiadas.

Máxima Verosimilitud Restringida (REML)				
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Valor de F	Valor de P
Especie	6	0.050	1.15	0.358
Individuo/especies	28	1.217		<0.0001
Replica/individuo/especie	115	0.842		
Total	149	2.670		

Diferencia significativa a un nivel de probabilidad de  $\alpha = 0.05$



**Figura 16 a.** Contenido 2C de ADN nuclear de: A) *M. albilanata*, B) *M. crucigera*, C) *M. dioxanthocentron* y D) *M. flavicentra*. Los histogramas 1 y 3 representan la etapa G<sub>1</sub> (2C) y G<sub>2</sub> (4C) de núcleos de *Lycopersicon esculentum* (planta de referencia), y los histogramas 2 y 4 representan núcleos G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> de *Mammillaria* con 2C y 4C ADN respectivamente.



**Figura 16 b.** Contenido 2C de ADN nuclear de: E) *M. haageana*, F) *M. huitzilopochtli* y G) *M. supertexta*. Los histogramas 1 y 3 representan la etapa G<sub>1</sub> (2C) y G<sub>2</sub> (4C) de núcleos de *Lycopersicum esculentum* (planta de referencia), y los histogramas 2 y 4 representan núcleos G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> de *Mammillaria* con 2C y 4C ADN respectivamente.

## Patrón de endopoliploidía

Las especies *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* presentaron patrón de endopoliploidía definido por la presencia de núcleos con valores de 2C hasta el 16 C de ADN (Tabla 16).

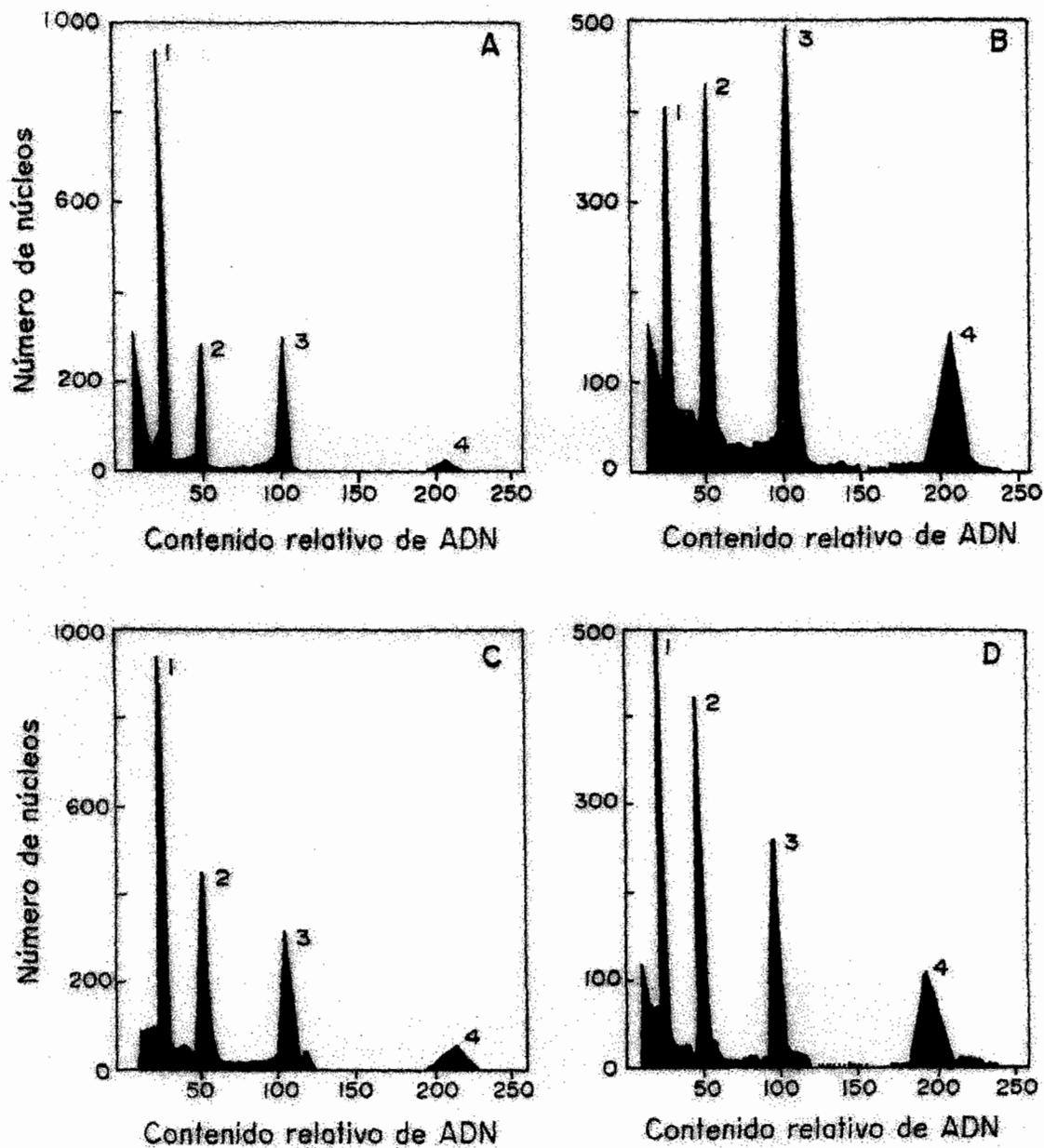
Para todas las especies el patrón está representado por cuatro histogramas, el primero representa los núcleos con 2C, el segundo representa a los núcleos con 4C, el tercero y cuarto histograma representan núcleos con 8C y 16C ADN nuclear, respectivamente (Fig. 17, a y b). El porcentaje de núcleos con los diferentes múltiplos del valor C, varió en todas las especies (Tabla 16).

**Tabla 16.** Distribución del patrón de endopoliploidía en las especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*.

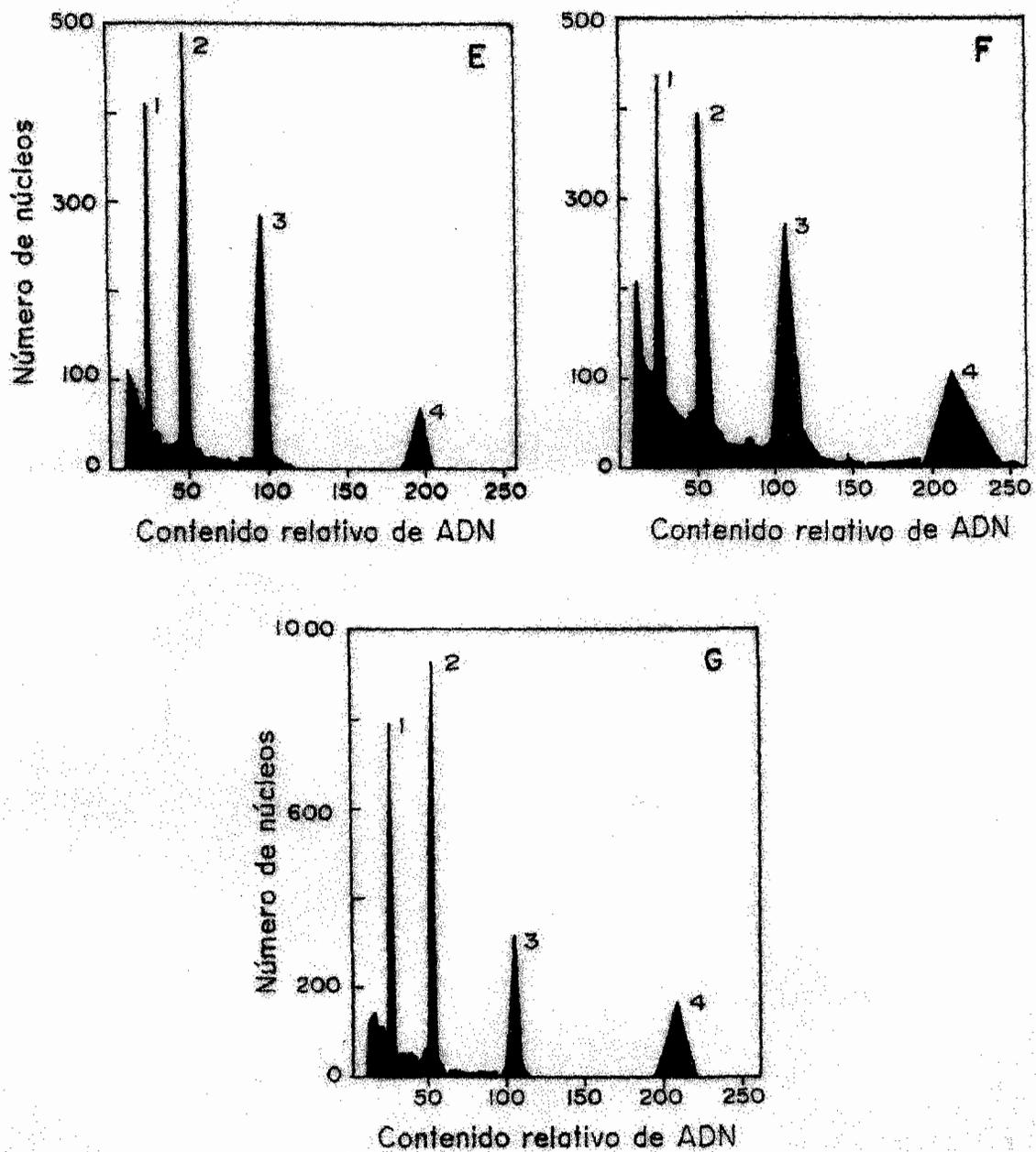
Especie	% de células			
	2C	4C	8C	16C
<i>M. albilanata</i>	31.38	16.98	24.23	3.93
<i>M. crucigera</i>	15.42	22.27	32.82	16.90
<i>M. dixanthocentron</i>	24.66	22.27	22.00	6.72
<i>M. flavicentra</i>	21.08	25.05	24.38	15.80
<i>M. haageana</i>	16.50	24.64	22.99	7.80
<i>M. huitzilopochtli</i>	18.55	23.53	26.69	16.86
<i>M. supertexta</i>	22.62	29.45	16.80	16.52

1Cx = Contenido de ADN en el grupo de cromosomas monohaploide.

2C, 4C, 8C y 16C : Múltiplos del valor 1Cx.



**Figura 17 a.** Contenido nuclear de ADN en: A) *M. albilanata*, B) *M. crucigera*, C) *M. dixanthocentron* y D) *M. flavicetra*, mostrando patrón de endopoliploidía. Los histogramas 1, 2, 3 y 4 representan núcleos con 2C, 4C, 8C y 16C de ADN nuclear, respectivamente.



**Figura 17 b.** Contenido nuclear de ADN en: E) *M. haageana*, F) *M. huitzilopochtli* y G) *M. supertexta*, mostrando patrón de endopoliploidía. Los histogramas 1, 2, 3 y 4 representan núcleos con 2C, 4C, 8C y 16C de ADN nuclear, respectivamente.

## DISCUSIÓN

Para las especies de la serie *Supertextae*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, este trabajo es el primer informe de su número cromosómico  $2n$ , del análisis de sus cariotipos y nivel de ploidía; para *Mammillaria albilanata*, ya se había reportado su número cromosómico ( $2n=22$ ) y nivel de ploidía ( $2x$ ) (Mohanty *et al.*, 1996). Las cuatro especies son diploides ( $2n=2x=22$ ,  $x=11$ ) y se observó  $n=11$  en *M. dixanthocentron*, indicando estabilidad en el número de cromosomas en estas especies. Estos reportes concuerdan con las observaciones hechas en otras especies del mismo género y de la misma serie, como *M. vaupelii* (Remski, 1954), *M. lanata* (Gill y Goyal, 1984), *M. albilanata* (Mohanty *et al.*, 1996), *M. san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999), *M. crucigera*, *M. haageana* y *M. supertexta* (Briones *et al.*, 2004). Con estos resultados se corrobora el  $x=11$ , para el género *Mammillaria* y la familia Cactaceae (Sosa y Acosta, 1966; Johnson, 1980; Palomino *et al.*, 1999).

Se puede observar que el número cromosómico básico ( $x = 11$ ) y el nivel diploide ( $2x$ ) en especies de *Mammillaria* es estable, pues al menos de los 159 reportes de números cromosómicos en *Mammillaria* (Remski, 1954; Briones *et al.*, 2004), 146 corresponden a especies diploides. Se ha visto en series poliploides, que los diferentes poliploides ocupan áreas con condiciones ecológicas y climáticas diferentes a aquéllas en las cuales los diploides se han adaptado. Por ejemplo de *M. prolifera*, variedad tetraploide ( $2n=4x=44$ ) se han reportado citotipos numéricos en Haití, una hexaploide en Cuba ( $2n=6x=66$ ) y una variedad diploide ( $2n=2x=22$ ) en México; considerado como el centro de origen y diversificación del género (Remski, 1954; Johnson, 1978, 1980). La presencia de poliploides de *M. prolifera* en áreas fuera de su centro de origen y distribución indica que la poliploidía proporciona ventajas para ampliar la distribución geográfica de una especie como lo han demostrado Stebbins, (1971) y Levin, (2002) en otras especies.

### Cariotipos

El tamaño y longitud de los cromosomas presenta variación entre las cuatro especies estudiadas, el mayor intervalo de la longitud de los cromosomas se presenta en *M. flavicentra* (1.90 – 3.73  $\mu\text{m}$ ) y el menor en *M. dixanthocentron* (1.54 – 2.53  $\mu\text{m}$ ). Los cromosomas de *M. albilanata* y *M. huitzilopochtli* mostraron una longitud intermedia 1.56 – 3.37 y 1.75 -2.59  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

La variación observada en la longitud de los cromosomas coincide con lo reportado para otras especies de *Mammillaria* y de otros géneros de cactáceas, donde se ha considerado como una variación inter-específica. En las especies de la serie *Supertextae*, *M. crucigera*, *M. haageana* y en *M. supertexta* (Briones *et al.*, 2004), se presenta variación inter-específica para el tamaño de sus cromosomas, dentro del intervalo de valores de 1.51 – 3.21  $\mu\text{m}$ , y el valor más bajo para el intervalo de la longitud de los cromosomas se

presenta en *M. san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999) mostrando 0.80 – 1.70  $\mu\text{m}$ . En otras especies de cactáceas como las del género *Nyctocereus*, también se encontró variación inter-específica dentro del intervalo de valores de 1.57 - 3.22  $\mu\text{m}$  (Palomino *et al.*, 1988). En *Myrtillocactus geometrizans*, Cid y Palomino, (1996) observaron variación intra-específica en la longitud total de los cromosomas. Las diferencias en el tamaño de los cromosomas de especies del mismo género, son consideradas como evidencia de la reestructuración de sus genomas y se atribuyen a rearrreglos cromosómicos como deleciones, duplicaciones o translocaciones que sucedieron en las primeras etapas de su evolución (Palomino *et al.*, 1988; Cota y Wallace, 1996; Cid y Palomino, 1996; Briones *et al.*, 2004).

La longitud total del genoma (LTG) haploide en las cuatro especies se correlacionó positivamente con el valor del intervalo de la longitud de sus cromosomas. *Mammillaria flavicentra*, presentó los valores mayores (LTG=30.37 y tamaño de los cromosomas de 1.90 - 3.73  $\mu\text{m}$ ), los valores más bajos se presentaron en *M. dixanthocentron* (LTG=22.98 y tamaño de los cromosomas de 1.54 - 2.53  $\mu\text{m}$ ). En las especies *M. haageana*, *M. crucigera*, y *M. supertexta*, Briones *et al.*, (2004), observan la misma correlación, presentando valores de LTG de 23.06, 23.81 y 26.84 y de longitud de los cromosomas de 1.51 – 2.69, 1.63 – 2.74 y 1.79 – 3.21  $\mu\text{m}$ , respectivamente, y en *Mammillaria san-angelensis*, se han determinado los valores más bajos (LTG=13.83 y tamaño de los cromosomas 0.80 – 1.70  $\mu\text{m}$ ) (Palomino *et al.*, 1999).

En otras 34 especies diploides de *Mammillaria* de diferentes series, reportadas en la literatura (Tabla 1), se ha observado variación en la longitud total de sus genomas, dentro del intervalo de 20.86 – 51.28  $\mu\text{m}$ , en *M. geminisipina* y *M. baumii*, respectivamente (Das *et al.*, 1998 a; Das *et al.*, 1999 b y c). En las especies diploides de *Mammillaria* reportadas y analizadas en este trabajo, se puede observar que la diferencia entre el valor más bajo de LTG= 13.80  $\mu\text{m}$  reportado para *M. san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999) y el valor más alto de LTG = 51.28  $\mu\text{m}$  reportado para *M. baumii* (Das *et al.*, 1999 c), es de casi cuatro veces, lo cual refleja un considerable rango de variación en la longitud total de los genomas en las especies de *Mammillaria*.

#### Tamaño relativo (L%) y relación de brazos ( r )

La comparación de los cariotipos basada en los valores del tamaño relativo (L%) y la relación de brazos (r), muestra diferencias entre *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*. Ningún par cromosómico de las cuatro especies tiene los mismos valores para L% y r, algunos pares tienen el mismo valor para uno de estos parámetros, pero no para ambos. Se observó que los pares que más difieren entre las cuatro especies con respecto a los valores de L% son el par 1, 2, 9 y 10, siendo el par 1 y 10 los que presentan mayor diferencia con relación al resto de los pares del complemento cromosómico (Tabla 10). Con respecto al valor r, son los pares 7, 9, 10 y 11 los que más difieren, siendo el par 9 y 11 los que presentan mayor diferencia en relación a los otros pares del complemento cromosómico entre las cuatro especies. Con excepción del par 9 en *Mammillaria huitzilopochtli* que es de tipo submetacéntrico, en las otras

especies todos sus cromosomas son del tipo metacéntrico, por lo cual con respecto al valor de  $r$ , es este par el que más difiere con los otros pares de las cuatro especies. El par cromosómico 5 es en el que se observaron mayores semejanzas entre las cuatro especies, seguido de los pares 3 y 4. Los pares 8 y 6 presentan valores de  $L\%$  y  $r$  intermedios con respecto al resto de los pares del complemento cromosómico de las cuatro especies (Figura 12).

En *M. crucigera*, *M. haageana* y *M. supertexta* (Briones *et al.*, 2004) y en *M. san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999), se reportaron diferencias en los valores de  $L\%$  y  $r$  en sus 11 pares cromosómicos, siendo los pares 1, 4, 9 - 11 los que más difieren del resto de los complementos cromosómicos. Entre *M. haageana* y *M. san-angelensis* (especies consideradas sinónimas, Hunt, 1987) se observó la mayor diferencia en los pares cromosómicos 1, 4 y 9. En *M. san-angelensis* sus 11 pares fueron metacéntricos, mientras que en *M. haageana* los pares 4 y 9 fueron submetacéntricos (Briones *et al.*, 2004). En *M. dixanthocentron* y *M. flavicentra*, también consideradas como sinónimas por Hunt (1987), se presenta la mayor diferencia de los valores de  $L\%$  en el par 1 y de  $r$  en el par 11, sin embargo todos sus cromosomas son metacéntricos. En *M. albilanata* y *M. huitzilopochtli*, se presenta la mayor diferencia para  $L\%$  y  $r$  en los pares 1 y 9, respectivamente. En *M. huitzilopochtli* el par 9 submetacéntrico, coincide con la presencia de un submetacéntrico en el par nueve de *M. haageana*, aunque esta última presenta el par 4 también submetacéntrico. Esto viene a confirmar que entre las especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, se exhiben diferencias inter-específicas en la estructura de sus cariotipos, es decir en la forma en que organizan su material genético durante la mitosis, siendo evidente en la variación de valores  $L\%$  y  $r$  de los cromosomas; parámetros que determinan, respectivamente, la proporcionalidad en longitud de un cromosoma con respecto a los restantes de su complemento cromosómico y la morfología cromosómica (Stebbins, 1971; García, 1990). Esta información, puede ser de gran utilidad para integrar estudios taxonómicos y biosistemáticos en estas especies.

#### Fórmulas cariotípicas

Los cariotipos de las especies de la serie *Supertextae*, como en la mayor parte de las cactáceas, se caracterizan principalmente por presentar cromosomas de tipo metacéntrico y submetacéntricos. Sólo se presentó un par de cromosomas submetacéntricos en el par 9 de *M. huitzilopochtli*, mientras que *M. albilanata*, *M. dixanthocentron* y *M. flavicentra* presentaron 11 pares de cromosomas metacéntricos al igual que *M. san-angelensis* (Palomino *et al.*, 1999), en tanto que *M. supertexta*, y *M. crucigera* presentan un par de submetacéntricos y *M. haageana* presenta dos pares (Briones *et al.*, 2004). El par 9 en *M. huitzilopochtli*, de tipo submetacéntrico, coincide con el submetacéntrico en el par nueve de *M. haageana*, aunque difieren en sus valores de  $L\%$  y  $r$ .

En los reportes de estudios del cariotipo en especies de *Mammillaria*, se ha observado que sólo se presentan cromosomas de tipo metacéntricos y submetacéntricos, variando la proporción de ambos tipos, siendo predominante metacéntricos. La fórmula de 11 pares de metacéntricos ha sido observada en *M. prolifera* (Remski, 1954; Johnson,

1980), *M. armillata* (Das *et al.*, 1998 a), *M. brevispina* (Das *et al.*, 1999 b) y en *M. sanangelensis* (Palomino *et al.*, 1999). En *M. spinosissima* se presenta el mayor número de submetacéntricos, 5m+6sm (Das *et al.*, 1999 c). Es posible que el origen relativamente reciente de la familia esté asociado con procesos lentos de rearreglos cromosómicos en sus complementos. La existencia de cariotipos homogéneos en distintos miembros de la familia puede ser explicada debida a fusiones o fisiones en los centrómeros de sus cromosomas, cambios estructurales originan cariotipos con cromosomas predominantemente de tipo metacéntrico y submetacéntrico (Palomino *et al.*, 1988; Cota y Wallace, 1996).

### Satélites

En las especies de la serie *Supertextae*, *Mammillaria albilanata*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli*, se observó la presencia de un solo par de satélites en los brazos cortos del par cromosómico 1, mientras que en *M. dixanthocentron*, el satélite se presenta en los brazos cortos del par cromosómico 2. Los satélites presentaron una forma esférica y su tamaño se presentó en el intervalo de a 0.27  $\mu\text{m}$  en *M. dixanthocentron* y 0.60  $\mu\text{m}$  en *M. flavicentra*. La posición y número de satélites, no fue muy variable entre las especies, pues en las cuatro sólo se observó una constricción y únicamente en *M. dixanthocentron* la posición del satélite fue diferente (Figs. 10 y 11).

Las especies *M. haageana* y *M. supertexta*, presentan un par de satélites en el par 2, y *M. crucigera* presenta dos pares en las posiciones 1 y 4 (Briones *et al.*, 2004). Se nota una clara diferencia entre especies consideradas sinónimas por Hunt, (1987), por ejemplo: *M. haageana* con un satélite en el par dos de su complemento cromosómico y en *M. sanangelensis* con dos pares de satélites en los pares 1 y 3 (Palomino *et al.*, 1999; Briones *et al.*, 2004). El mismo caso se presenta en *M. dixanthocentron* con respecto a *M. flavicentra*, también consideradas sinónimas por Hunt (1987), y las cuales presentan el satélite en la posición 2 y 1 respectivamente. Las variaciones en el número y posición del satélite son marcadores de gran utilidad en estudios citogenéticos, y corroboran que a nivel de la estructura de sus cariotipos estas especies son diferentes.

En general, la presencia y posición del satélite es constante en una especie. En las especies de *Mammillaria*, se ha reportado la presencia de uno a tres pares de satélites en los cromosomas, observándose que por lo general la posición se ubica en los primeros pares del complemento, con mayor frecuencia en el 1 y 2 (Das *et al.*, 1998 a; Das *et al.*, 1999 b y c, Tabla 1), como se observó en las cuatros especies analizadas. En otras especies de cactáceas de los géneros *Melocactus* (Das *et al.*, 1998 b) y *Ferocactus* (Das *et al.*, 1999 d) también presentan de 1 a 3 pares cromosómicos con satélite y en posiciones diferentes en las distintas especies.

### Índice de asimetría

Los valores del índice de asimetría (TF%) de los cariotipos de las especies estudiadas se presentan en el intervalo de 43.49 en *M. huitzilopochtli*, con 10m+1sm, a 46.50 en *M. albilanata*, con 11m, estos valores presentan semejanza con los obtenidos por

Briones *et al.*, (2004) para las especies *M. crucigera* (TF%= 42.55), *M. haageana* (TF%= 42.71) y *M. supertexta* (TF%= 43.44). En otras especies de *Mammillaria*, el valor más bajo de TF% se ha reportado para *M. sempervivi* (TF%= 35.50) y con una fórmula cariotípica de 9m+2sm (Das *et al.*, 1998 a) y el valor más alto es el reportado para *M. armillata* (TF%= 45.71), con una fórmula cariotípica de 11m (Das *et al.*, 1998 a).

Valores similares de TF% se han reportado en otras especies de *Mammillaria* (Das *et al.*, 1999 b y c) y en especies de los géneros *Nyctocereus* (Palomino *et al.*, 1988), *Echinocereus* (Cota y Wallace, 1996) y *Myrtillocactus* (Cid y Palomino, 1996), que se caracterizan por tener cromosomas pequeños y del tipo metacéntrico y submetacéntrico, sin presentar pares cromosómicos del tipo subtelocéntrico y telocéntrico. De manera general, en cactáceas, los cariotipos tienden a ser simétricos (Cid y Palomino, 1996; Cota y Wallace, 1996; Das *et al.*, 1999 b y c). Esta característica de la familia Cactaceae, no se relaciona con las ideas de Stebbins (1971), quien menciona que los taxa más recientes tienden a la asimetría del cariotipo. Al respecto, Jones (1977), indica que en la evolución de los cariotipos se presentan ciclos de simetría y asimetría, por lo que en ocasiones se dificulta la determinación de la secuencia evolutiva de los cariotipos entre distintos taxa.

Los resultados que se han obtenido del estudio en las especies de *Mammillaria*, sugieren que las alteraciones estructurales en la morfología de cromosomas entre especies o la duplicación de los cromosomas y la translocación ocurren en un periodo temprano en la evolución de estas especies. Evidentemente los cambios cromosómicos estructurales así como también la hibridación, la poliploidía y diferentes mecanismos de polinización y aislamiento reproductivo pueden haber jugado un papel vital en las diferencias entre especies de *Mammillaria* (Gibson y Nobel, 1986; Das y Mallick, 1989; Das *et al.*, 1999 b; Cota y Wallace, 1996).

### Comportamiento de los cromosomas meióticos

El comportamiento de los cromosomas en metafase I de la meiosis, sólo se pudo observar en *M. dixanthocentron*, con la presencia de 11 bivalentes ( $n=11$ ) con tres combinaciones: 9IIa + 2IIc, 10IIa + 1IIc y 11IIa (Tabla 11).

Los valores de la frecuencia de quiasmas (Fq) = 21.25 y de índice de recombinación (IR) = 32.25, determinados en *M. dixanthocentron*, son mayores a los reportados para *M. albilanata*, Fq = 20.25 e IR = 20.24 (Mohanty *et al.*, 1996), *M. san-angelensis*, Fq = 16.74 e IR = 27.74 (Palomino *et al.*, 1999) y *M. haageana* con Fq = 13.86 e IR = 24.86 (Briones *et al.*, 2004). Estos parámetros estiman la variación genética por lo que puede suponerse que *M. dixanthocentron* tiene más potencial de variabilidad genética que las otras especies de *Mammillaria*.

Para las especies de *Mammillaria* el valor mínimo de frecuencia de quiasmas corresponde al determinado en *M. herrerae*, Fq = 17.00 (Mohanty *et al.*, 1996), y el valor máximo reportado es para *M. plumosa*, Fq = 28.80 (Das *et al.*, 1998 a). Los valores de Fq e

IR mayores, indican un incremento de la posibilidad de nuevas combinaciones genéticas en la progenie y por tanto mayores oportunidades para la adaptación a los cambios en el medio ambiente, en comparación con las especies que presentan valores más bajos de Fq e IR.

Los porcentajes de polen viable determinados en las especies de *Mammillaria*, con un valor mínimo de 91.74% en *M. huitzilopochtli* a un máximo de 97.76% en *M. flavicentra* (Tabla 12), son menores en comparación a los reportados por Briones *et al.*, (2004), en *M. crucigera* (97.66%), *M. haageana* (98.59%) y *M. supertexta* (99.10%). Sin embargo, estos valores son muy altos al compararlos con los reportados para una especie triploide de origen híbrido, *Opuntia xkelvinensis* con 22.29 % de polen viable, predominando el micropolen. El alto porcentaje de polen inviable en el híbrido es consecuencia de una segregación desbalanceada de cromosomas en las células madres de polen durante la anafase I (Baker y Pinkava, 1987). Los altos porcentajes de polen viable en las especies de *Mammillaria* estudiadas, permiten suponer que se trata de especies de origen no híbrido. Estudios posteriores como cruzamientos inter-específicos permitirán aclarar esta condición.

### Tamaño del genoma

Los valores determinados para el tamaño del genoma (pg) y su composición en Mpb en las especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, se encuentran dentro del intervalo de valores  $2C \text{ ADN} = 3.20 \text{ pg}$ , 1570 Mpb (1Cx) en *M. crucigera* a  $2C \text{ ADN} = 3.04 \text{ pg}$ , 1490 Mpb (1Cx) en *M. flavicentra*. Se observó que la variación entre las especies estudiadas para el contenido nuclear de ADN no es estadísticamente significativa ( $P = 0.3469$ ), la media del valor  $2C$  de ADN (pg) para las siete especies analizadas es de 3.13 pg (Tabla 13). Evidentemente esto muestra que el contenido nuclear de ADN es estable entre las especies estudiadas, y parece indicar que la especiación en estos taxa no ha evolucionado de forma paralela con cambios significativos en el contenido nuclear de ADN.

En otros grupos de plantas se ha reportado que la variación del tamaño del genoma en especies cercanas no es significativa, por ejemplo en especies del género *Avenae*, el contenido nuclear de ADN no varía significativamente entre especies diploides, ni entre tetraploide y hexaploides (híbridos entre las especies diploides), esto corrobora la idea de que durante la formación de poliploides del género *Avenae* no hay una subsecuente pérdida o ganancia de ADN (Bullen y Rees, 1972). En 16 especies arbustivas del género *Cistus*, características del mediterráneo, se estimaron valores en un rango de  $2C \text{ ADN} = 3.92 \text{ pg}$  en *Cistus crispus* a  $2C \text{ ADN} = 5.88 \text{ pg}$  en *C. monspeliensis* (Ellue *et al.*, 2002), observándose que las diferencias en el contenido nuclear de ADN no fueron significativas, estos resultados fueron asociados a los estudio que reportan estabilidad en el número cromosómico y homogeneidad en los cariotipos de especies del género (Markova, 1975). En 15 especies del género *Ficus*, con el mismo nivel de ploidía ( $2n=2x=26$ ), las diferencias en el contenido nuclear de ADN entre las especies no fueron significativas, la estabilidad

reflejada en estos resultados se correlaciona a que las especies de *Ficus* ocupan un hábitat estable y de condiciones climáticas uniformes (Ohri y Khoshoo, 1987). En el caso de las siete especies de *Mammillaria* estudiadas, las diferencias no significativas en su contenido de ADN pueden indicar la estabilidad que tienen estas plantas en la manera de organizar su material genético durante el ciclo celular, presentando el mismo nivel de ploidía, cromosomas de tamaño pequeño y cariotipos simétricos, características comunes en la familia Cactaceae.

Por otro lado, una variación notable en el tamaño del genoma ha sido encontrada entre algunas especies cercanamente relacionadas, entre poblaciones y entre plantas individuales de una misma especie, por ejemplo en el género *Bulnesia* (Poggio y Hunziker, 1986), en *Microseris* (Price *et al.*, 1981), y en *Helianthus* (Cavallini *et al.*, 1986); esta variación observada se ha correlacionado con diversas características adaptativas a nivel nuclear y celular, como son el tamaño y masa celular, longitud total y/o volumen de los cromosomas así como el periodo del crecimiento celular (Ohri, 1998; Bennett *et al.*, 2000). Esto muestra que el tamaño del genoma es un carácter biológico que se encuentra bajo una fuerte presión selectiva y el hecho de encontrar diferencias significativas entre especies cercanamente relacionadas, sugiere que las mínimas diferencias que pudieran tener en el contenido de ADN, tienen consecuencias fenotípicas espaciales y temporales que afectan cómo, cuándo y dónde crecerán las plantas, y cómo determinarán sus patrones de distribución (Bennett y Leitch; 1995; Ohri, 1998; Gregory, 2005).

La variación en el contenido del ADN puede ser atribuida a un incremento o decremento en las porciones repetitivas de secuencias de ADN no codificables (Petrov, 2001; Kidwell, 2002) lo cual está relacionado con el efecto nucleotípico (Bennett, 1972; Flavell, 1988; Gregory, 2005), en ambos casos, el aumento o decremento en el contenido de ADN están ligados a procesos de especialización, adaptación y evolución. Las diferencias que afectan al tamaño del genoma, pueden ser atribuidas principalmente a elementos transponibles, ya que la actividad de éstos es relativamente rápida, amplificando de 20 -100 copias de nucleótidos (0.1 – 1 Mpb) en una generación (O'Neill *et al.*, 1998; Kalendar *et al.*, 2000), como se ha observado en el género *Hordeum* (Kalendar *et al.*, 2000). En contraste los cambios en el tamaño del genoma por duplicaciones y deleciones espontáneas son muy lentos (Petrov y Hartl, 1998). En otros casos los elementos transponibles no afectan marcadamente cambios en el contenido de ADN, no obstante, una fuerte presión de selección en los cambios del tamaño del genoma podría acelerar sustancialmente el impacto de los mecanismos de mutación asociados con la variación en la cantidad de ADN (Petrov, 2001).

El valor promedio 2C del contenido nuclear de ADN para las siete especies de *Mammillaria* analizadas en esta investigación es de 3.13 pg, muy cercano a lo reportado por Palomino *et al.*, (1999) para *M. san-angelensis*, 2C ADN= 3.20 pg, y con los reportado por Barlow, (citado en Bennett y Smith, 1976), para otras especies del género: *M. woodsii*, 2C ADN= 3.10 pg y *M. bocasana*, 2C ADN= 4.10 pg (Tabla 2). Sin embargo, en otras especies se observaron valores del tamaño del genoma de 2C ADN = 7.80 pg en *M. pseudoperbella* a 2C ADN = 20.36 pg en *M. decipiens*, también especies diploides (Das *et*

al., 1999 a; Mohanty *et al.*, 1996). Estos resultados difieren significativamente de los obtenidos en este trabajo, y fueron obtenidos por densitometría de feulgen. El valor más bajo de 2C ADN= 7.80 pg para *M. pseudoperbella* (Das *et al.*, 1999 a), representa más del doble del valor promedio 2C ADN= 3.13 pg estimado en las siete especies de *Mammillaria* analizadas en este trabajo por citometría de flujo. Para *Mammillaria albilanata* (Mohanty *et al.*, 1996), se reporta el contenido nuclear de ADN 2C= 10.1 pg, en contraste, nosotros por la técnica de citometría de flujo estimamos para *M. albilanata* 2C ADN = 3.14 pg.

A pesar de que se trate de dos metodologías distintas, se ha comprobado que no hay diferencias significativas para la determinación del tamaño del genoma por densitometría de feulgen y citometría de flujo. La mayoría de las discrepancias en los reportes del valor C para una misma especie probablemente reflejen problemas asociados con el uso de la planta de referencia (Dolezel *et al.*, 1992, 1998). La elección de la planta de referencia parece ser un factor determinante en ambas técnicas, en el caso de las especies de *Mammillaria* estudiadas por Mohanty *et al.*, (1996), Das *et al.*, (1997) y Das *et al.*, (1999 a), se siguió la técnica de densitometría de feulgen y se utilizó como estándar de referencia a *Allium cepa* 2C ADN= 33.55 pg (Van't Hof's, 1965), mientras que para las obtenidas por citometría de flujo se utilizó *Lycopersicum esculentum* 2C ADN=1.96 pg (Dolezel *et al.*, 1992). A este respecto, se ha recomendado que para la determinación del contenido nuclear de ADN, es preferible seleccionar una planta de referencia con valores 2C cercanos a las especies a estudiar, ya que las diferencias en el tamaño del genoma y en las propiedades de la cromatina influyen en la diseminación de la luz de las partículas medidas. Si la planta de referencia y la planta a evaluar tienen similar contenido de ADN, es una fuente de error que debe ser minimizada, ya que el histograma de la planta de referencia no debe traslaparse al histograma de la planta analizada (Price y Johnston, 1996; Johnston *et al.*, 1999). Estas diferencias pueden ser debidas más que a la técnica, a la planta de referencia o a una errónea determinación taxonómica del material estudiado por dichos autores.

De otras especies de cactáceas se reporta para *Pereskia grandifolia* 2C ADN= 2.05 pg, (De Rocher *et al.*, 1990). El valor de 2C ADN= 14.2 pg estimado para *Weberbauerocereus winterianus* (Barlow, citado en Bennett y Smith, 1976), se ubica fuera del rango mencionado para las otras especies de cactáceas, dado que esta especie es octoploide ( $2n=8x=88$ ).

El contenido nuclear de ADN (pg) no varió significativamente entre las 7 especies de *Mammillaria* estudiadas, lo cual se debería correlacionar positivamente con las medidas de la longitud de la cromatina. La variación observada en la longitud total del genoma ( $\mu\text{m}$ ) no coincide con la variación de los valores del tamaño del genoma (pg) obtenidos por citometría de flujo. Esto es debido a que los cromosomas de las especies medidos en este trabajo no presentaron el mismo grado de contracción, sin embargo, esto no altera los valores de longitud relativa (L%) y la relación de brazos ( $r$ ); parámetros que definen respectivamente, la proporcionalidad en longitud de un cromosoma con respecto a los restantes de su complemento y la morfología cromosómica (Stebbins, 1971; García, 1990). En este trabajo se aprecian diferencias considerables entre las especies estudiadas para sus valores de L% y  $r$ , lo cual tiene relevancia para establecer diferencias a nivel inter-

específico. Resultados similares a los obtenidos se observaron en los reportes para otras especies de *Mammillaria* (Mohanthy *et al.*, 1996; Das *et al.*, 1999 a), estos autores coinciden en que los valores de la longitud de la cromatina y el contenido nuclear de ADN no coinciden, debido al distinto grado de contracción que presentaron los cromosomas.

El valor promedio del contenido nuclear de ADN (pg) estimado en las siete especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae*, es de 3.13 pg, valor que representa un genoma de tamaño pequeño, según los rangos definidos para los valores de C de 1.4 - 3.5 pg, por Leitch *et al.*, (1998). La distribución del valor C en grupos taxonómicos en las angiospermas, nos muestra que la mayoría de las especies existentes tienen genomas pequeños. Los grandes genomas, definidos por valores de 14 - 35 pg, representan una condición derivada que se ha originado independientemente al menos dos veces durante la evolución de las angiospermas. La presencia de un genoma pequeño es un carácter único para las angiospermas y los genomas pequeños estuvieron presentes en su ancestro común y han sido mantenidos en la mayoría de los taxa vivientes (Leitch *et al.*, 1998). Las especies con grandes genomas tienen una distribución mucho más restringida, mientras que las especies con genomas pequeños presentan mayor flexibilidad evolutiva y eso les ha permitido colonizar nuevos y más diversos ambientes. Por ejemplo, en un bosque de pino, se observó una correlación negativa entre la concentración de metales contaminantes (Pb, Zn y Cd) en el suelo y la proporción de especies con grandes genomas, concluyendo que las especies con grandes genomas tienen mayores desventajas selectivas en condiciones ambientales extremas, como es la contaminación del suelo (Vidic *et al.*, en Bennett y Leitch, 2003). Considerando que las especies de *Mammillaria* estudiadas se encuentran en sitios con condiciones extremas en cuanto a la disponibilidad de agua, a la temperatura, la insolación e incluso la salinidad del suelo, un genoma de tamaño pequeño les favorece para poder vivir bajo esas condiciones.

#### Patrón de endopoliploidía

En las siete especies de *Mammillaria* estudiadas, se observó en los núcleos del tejido del parénquima de tallo la presencia de un patrón de endopoliploidía definido por la presencia de núcleos con valores de 2, 4, 8 y 16 C de ADN. El porcentaje de núcleos con los diferentes múltiplos del valor C varió entre las especies y se observó una correlación positiva entre la edad de la planta y el aumento en la proporción de núcleos con valores de C mayores (Tabla 16).

Palomino *et al.*, (1999) muestran en núcleos del tejido del parénquima de *M. san-angelensis*, que a mayor edad de las plantas, mayor el porcentaje de células con valores de C más altos en su patrón de endopoliploidía, el máximo valor encontrado es de 32 C ADN. En *Pereskia grandiflora*, se observó un patrón de endopoliploidía definido por núcleos con valores 2, 4 y 8C (De Rocher *et al.*, 1990), observando la misma correlación entre la etapa de desarrollo y el patrón de endopoliploidía.

En otros grupos de plantas se ha determinado variación en el patrón de endopoliploidía en diferentes tejidos de diferentes órganos y en distintas etapas de

desarrollo de las plantas, por ejemplo Kudo y Kimura (2001), encontraron en flores maduras de *Brassica oleracea*, múltiplos del genoma haploide (1Cx) hasta de 64 C, mientras que en botones florales solo se presentaron núcleos con 2 y 4C. El rango de los patrones observados en otros órganos de esta especie, es de tres niveles de ploidía 2C - 8C, en tejidos del carpelo y hasta seis niveles de ploidía 2C - 64C, en tejidos del filamento del estigma. La endorreduplicación se considera como el principal proceso que genera multiploidía somática o patrón de endopoliploidía, se estima que es un fenómeno que ocurre en el 90% de las angiospermas (D'Amato, 1984). Por otra parte, la endomitosis se presenta con menor frecuencia en plantas y se ha visto que ocurre durante la formación de gametos (Carputo *et al.*, 1999).

La constancia de un patrón endopoliploide en tejidos específicos en diferentes órganos, sugiere que los ciclos de endorreduplicación en plantas son codificados por la información genética programada para el desarrollo y necesaria para la diferenciación y realización de funciones especializadas (Cebolla *et al.*, 1999). La diferencia entre el número de copias de los genes en el genoma, puede cambiar la expresión genética como respuesta al estrés en algunas plantas, como se observó en *Mesembryanthemum crystallinum*, que sujeta a estrés por sequía o exceso de sales, experimenta una importante conversión fisiológica del metabolismo C<sub>3</sub> a CAM (metabolismo ácido de las crasuláceas) como una estrategia para la conservación de agua (Cushman *et al.*, 1989; Cushman, 2001). Se ha observado que la presencia de un patrón de endopoliploidia es frecuente en plantas suculentas que llevan a cabo metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) (De Rocher *et al.*, 1990), a su vez esta adaptación metabólica es típica, aunque no exclusiva, de plantas que habitan ambientes extremadamente áridos, semiáridos o hábitats con suministros de agua intermitentes (Cushman, 2001). Aunque no todas las especies de suculentas con metabolismo CAM presentan patrón de endopoliploidía, por ejemplo, dos especies de *Aloe* no exhiben patrón y se distinguen por tener grandes genomas, lo cual se relaciona con el hecho de que no hay una correlación positiva entre el tamaño del genoma y la endopoliploidización. Aunque esta no es una regla general, se puede decir que la endopoliploidía puede ser una característica emergente de suculentas que tienen genomas pequeños, y por lo tanto la endopoliploidía es un factor de desarrollo que tiene ventajas adaptativas (D' Amato, 1964; Nagl, 1978, De Rocher *et al.*, 1990).

## CONCLUSIONES

Con la información obtenida en este trabajo, resultado del análisis del cariotipo y de la cuantificación del contenido nuclear de ADN en especies de *Mammillaria*, se señalan los puntos más importantes:

- Las especies de la serie *Supertextae*: *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra* y *M. huitzilopochtli* son diploides ( $2n=2x=22$ ,  $x=11$ ). En *M. dixanthocentron*, se observó el comportamiento de los cromosomas en metafase I de la meiosis con la presencia de 11 bivalentes ( $n=11$ ), indicando estabilidad en el número de cromosomas y el nivel de ploidía entre las especies mencionadas.
- En *Mammillaria albilanata*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, el cariotipo está caracterizado por la presencia de 11 pares de cromosomas metacéntricos, y en *M. huitzilopochtli* se presentan  $10m + 1sm$ . Lo cual refleja la semejanza que presentan estas especies para organizar sus genomas.
- Se presentó un par de satélites en los brazos cortos de las cuatro especies estudiadas. La posición solamente varió para *M. dixanthocentron*, que presentó la constricción en el par cromosómico número dos, mientras que las otras tres especies presentan el satélite en el par uno. Se aprecian diferencias considerables entre las especies estudiadas para sus valores de longitud relativa (L%) y relación de brazos (r), lo cual tiene relevancia para establecer diferencias a nivel inter-específico.
- *M. flavicentra*, considerada sinónima de *M. dixanthocentron* (Hunt, 1987), mostró el par de cromosomas con satélite en posición diferente y también se observaron diferencias en sus valores de L% y r, por lo cual se consideran citogenéticamente especies distintas. Esto plantea la necesidad de realizar otros estudios que permitan dilucidar su categoría taxonómica.
- Los porcentajes de polen viable determinados en las especies de *Mammillaria*, son altos, con un valor mínimo de 91.74% en *M. huitzilopochtli* a un máximo de 97.76% en *M. flavicentra*.
- Se observó que la variación inter-específica para el contenido nuclear de ADN no es significativa ( $P= 0.3469$ ). La media del valor 2C de ADN (pg) para las siete especies analizadas es de 3.13 pg, 3067 Mpb. Lo que parece indicar que la especiación no ha involucrado cambios significativos en el contenido nuclear de ADN entre las especies estudiadas.
- *Mammillaria albilanata*, *M. crucigera*, *M. dixanthocentron*, *M. flavicentra*, *M. haageana*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, se caracterizan por tener un patrón de

endopoliploidía definido por la presencia de núcleos con valores de 2, 4, 8 y 16 C de ADN. El porcentaje de núcleos con los diferentes múltiplos del valor C varía entre las especies y se observó que a mayor edad de la planta, hay un aumento en la proporción de núcleos con valores de C mayores. El patrón confiere a estas plantas ventajas de adaptación a los ambientes áridos y semi-áridos.

## BIBLIOGRAFÍA

Arias, M.S. 1993. Cactáceas: Conservación y diversidad en México. Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural, Vol. Esp. XLIV: 109-115.

Arriaga, L., Espinoza, J.M., Aguilar, C., Martínez, E., Gómez, L. y Loa, E. (coordinadores). 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Escala de trabajo 1:1 000 000. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO). México.  
<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/Tmapa.html>

Baker, M.A. and Pinkava, D.J. 1987. A cytological and morphometric analysis of a triploid apomict, *Opuntia x kelvinensis* (subgenus *Cylindropuntia*, Cactaceae). Brittonia 39: 387-401.

Belletti, P., Marzachi, C. and Lanteri, S. 1998. Flow cytometric measurement of nuclear DNA content in *Capsicum* (Solanaceae). Plant Systematics and Evolution 209: 85-91.

Bennett, M.D. 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. Proceedings of the Royal Society of London, Series B-Biological Sciences 181: 109-135.

Bennett, M.D. and Smith, J.B. 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B 27: 227-274.

Bennett, M.D. 1987. Variation in genomic form in plants and its ecological implications. The New Phytologist 106 (Suppl.): 177-200.

Bennett, M.D. and Leitch, I.J. 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Annals of Botany 76: 113-176.

Bennett, M.D. and Leitch, I.J. 1997. Nuclear DNA amounts in angiosperms-583 new estimates. Annals of Botany 80: 169-196.

Bennett, M.D., Parmjit, B. and Leitch, I.J. 2000. Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. Annals of Botany 86: 859-909.

Bennett, M.D. and Leitch, I.J. 2003. Kew Plant Genome Size Discussion Meeting 2003. <http://www.rbgekew.org.uk/cval/cvalConferenceHome.html>.

Bennett, M.D. and Leitch, I.J. 2004. Plant DNA C-values Database (release 3.0, December 2004). <http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>.

Bennetzen, J.L. 2000. Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. Plant Molecular Biology 42: 251-269.

Bharathan, G. 1996. Reproductive development and nuclear DNA content in angiosperms. Genome 39: 379-394.

Bravo, H.H. 1978. Las Cactáceas de México. Vol. I. UNAM, México. 755 p.

Bravo, H.H. y Sánchez-Mejorada, H. 1991. Las Cactáceas de México. Vol III. UNAM, México. 643 p.

Briones, S.F. 2002. Análisis cromosómico y respuesta *in vitro* de tres especies de *Mammillaria* (Serie *Supertextae*). Tesis Maestría. UNAM, México.

- Briones, S.F., Palomino, H.G. and García, A. 2004. Chromosome analysis of *Mammillaria supertexta*, *M. crucigera* and *M. haageana* and their comparison with *M. san-angelensis* (Cactaceae). *Caryologia* 3: 211-218.
- Bullen, R. and Rees, H. 1972. Nuclear variation within *Avena*. *Chromosoma* 39: 93-100.
- Cáceres, M., Ranz, A., Barbadilla, M., Long, M. and Ruiz, A. 1999. Generation of a widespread *Drosophila* inversion by a transposable element. *Science* 285: 415-418.
- Carputo, D., Monti, L., Werner, J. and Frusciante, L. 1999. Uses and usefulness of endosperm balance number. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 478-484.
- Cavalier-Smith, T. 1985. Eukaryotic gene numbers, non-coding DNA and genome size. *In*: Cavalier-Smith T. (Ed.) *The evolution of genome size*, 69-104. John Wiley and Sons, Chichester.
- Cavallini, A., Zolfino, C., Cionini, G., Cremonini, R., Natali, L., Sassoli, O. and Cionini, P.G. 1986. Nuclear DNA changes within *Helianthus annuus* L. cytophotometric, karyological and biochemical analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 73: 20-26.
- Cavallini, A., Natali, L., Balconi, C., Rizzi, E., Motto, M., Cionini, G. and D'Amato, F. 1995. Chromosome endoreduplication in endosperms cells of the two maize genotypes and their progenies. *Protoplasma* 189: 156-162.
- Cebolla, A., Vinardell, J., Kiss, E., Oláh, B., Roudier, F., Kondorosi, A. and Kondorosi, E. 1999. The mitotic inhibitor *ccs52* is required for endoreduplication and ploidy-dependent cell enlargement in plants. *The European Molecular Biology Organization (EMBO Journal)* 18: 4476-4484.
- Chase, M.W., Soltis, D.E., Olmstead, R.G., Morgan, D., Les, D.H., Mishler, B.D., Duvall, M.R., Price, R.A., Hills, H.G., Qiu, Y.-L., Kron, K.A., Rettig, J.H., Conti, E., Palmer, J.D., Manhart, J.R., Systsma, K.J., Michaels, H.J., Kress, W.J., Karol, K.G., Clark, W.D., Hedr,n, M., Gaut, B.S., Jansen, R.K., Kim, K.J., Wimpee, C.F., Smith, J.F., Furnier, G.R., Strauss, S.H., Xiang, Q.Y., Plunkett, G.M., Soltis, P.S., Swensen, S.M., Williams, S.E., Gadek, P.A., Quinn, C.J., Eguiarte, L.E., Golenberg, E., Learn, G.H., Graham, S.W., Barrett, S.C.H., Dayanandan, S. and Albert, V.A. 1993. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide-sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80: 528-580.
- Chung, J., Lee, J., Arumuganathan, K., Graef, G. and Specht, J. 1998. Relationships between nuclear DNA content and seed and leaf size in soybean. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 1064-1068.
- Cid, R. and Palomino, H.G. 1996. Cytotypes and meiotic behavior in mexican populations of *Myrtillocactus geometrizans* var. *geometrizans* (Cactaceae). *Cytologia* 61: 343-348.
- Conger, A.D. and Fairchild, L.M. 1953. A quick-freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technology* 28: 281-283.
- Conlon, I. and Raff, M. 1999. Size control in animal development. *Cell* 96: 235-244.
- Cota, J.H. and Philbrick, C.T. 1994. Chromosome number and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81: 1054-1062.
- Cota, J.H. y Wallace, R.S. 1996. La citología y la sistemática molecular en la familia Cactaceae. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 2: 27-44.

- Cros, J., Combes, C.M., Chabrilange, N., Duperray, C., Monnot Des Angles, A. and Hamon, S. 1995. Nuclear DNA content in the subgenus *Coffea* (Rubiaceae): inter and intra-specific variation in african species. *Canadian Journal of Botany* 73: 14-20.
- Cullis, C.A. 1979. Quantitative variation of ribosomal RNA genes in flax genotrophs. *Heredity* 42: 237-246.
- Cushman, J.C., Meyer, G., Michalowski, C.B., Schmitt, J.M. and Bohnert, H.J. 1989. Salt stress leads to differential expression of two isogenes of phosphoenolpyruvate carboxylase during crassulacean acid metabolism induction in the common ice plant. *Plant Cell* 7: 715-725.
- Cushman, J.C. 2001 Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- D'Amato, F. 1964. Endopolyploidy as a factor in plant tissue development. *Caryologia* 17: 41-52.
- D'Amato, F. 1984. Role of polyploidy in reproductive organs and tissues. *In*: Johri, B.M. (Ed.). *Embryology of Angiosperms*, 519-566. Springer-Verlag, Berlin.
- Das, A.B. and Mallick, R. 1989. Variation in karyotype and nuclear DNA content in different varieties of *Foeniculum vulgare* Mill. *Cytologia* 54: 129-134.
- Das, A.B., Mohanty, S. and Das, P. 1997. Meiotic behaviour and nuclear DNA variation in some species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Cytologia* 62: 253-257.
- Das, A.B., Mohanty, S. and Das, P. 1998 a. Interspecific variation of nuclear DNA and structural changes in meiotic and mitotic chromosome in some species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Caryologia* 3-4: 289-301.
- Das, A.B., Mohanty, S. and Das, P. 1998 b. Variation in karyotype and 4C DNA content in six species of *Melocactus* of the family Cactaceae. *Cytologia* 63: 239-247.
- Das, A.B., Mohanty, S. and Das, P. 1999 a. Studies on chiasma frequency and nuclear 4C DNA amount in seven species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Cytobios* 97: 95-101.
- Das, A.B., Mohanty, S. and Das, P. 1999 b. Karyotype diversity in thirteen species of *Mammillaria* in the family Cactaceae. *Cytobios* 97: 117-125.
- Das, A.B., Mohanty, S., Marrs, R. y Das, P. 1999 c. Somatic chromosome number and karyotype diversity in fifteen species of *Mammillaria* of the family Cactaceae. *Cytobios* 97: 141-151.
- Das, A.B., Mohanty, S. and Das, P. 1999 d. 4C DNA variation and karyotype diversity in nine species of *Ferocactus*. *Cytologia* 64: 17-24.
- De Rocher, E.J., Harkins, K., Galbraith, D. and Bohnert, H. 1990. Developmentally regulated systemic endopolyploidy in succulents with small genomes. *Science* 250: 99-101.
- Dhillon, S., Wernsman, E. and Miksche, J. 1983. Evaluation of nuclear DNA content and heterochromatin changes in anther-derived dibaploids of tobacco (*Nicotiana tabacum*) cv. 'Coker 139'. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 25: 169-173.
- Dolezel, J. 1991. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. *Phytochemical Analysis* 2: 143-154.

- Dolezel, J., Sgorbati, S. and Lucreti, S. 1992. Comparison of three fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 625-631.
- Dolezel, J. 1997. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. *Journal of Applied Genetics* 38: 285-302.
- Dolezel, J., Greilhuber, J., Lucreti, S., Meister, A., Lysak, M.A., Nardi, L. and Obermayers, R. 1998. Plant genome size estimation by flow cytometry: Inter-laboratory comparison. *Annals of Botany (Suppl A)* 82: 17-26.
- Dolezel, J. and Bartos, J. 2005. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany* 95: 99-110.
- Dyer, J. 1979. *Investigating Chromosomes*. Edward Arnold. London. 215 p.
- Ellue, P., Boscaiu, M., Vicente, O., Moreno, V. and Rossello, J.A. 2002. Intra and inter-specific variation in DNA content in *Cistus* (Cistaceae). *Annals of Botany* 90: 345-351.
- Erbrich, P. 1965. Über endopolyploidie und kernstrukturen in endospermhaustorien. *Österreichische Botanische Zeitschrift* 112: 197-262.
- Flavell, R.B. 1988. Repetitive DNA and chromosome evolution in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, Series B* 312: 227-242.
- Galbraith, D.W., Harkins, K.R. and Knapp, S. 1991. Systemic endopolyploidy in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 96: 985-989.
- García, V.A. 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Colegio de Posgraduados, México. 144 p.
- Geitler, L. 1939. Die Entstehung der polyploiden somakerne der heteropteren durch chromosomenteilung ohne kernteilung. *Chromosoma* 1: 1-22.
- Geitler, L. 1953. Endomitose und endomitotische polyploidisierung. In Heilbrunn, L.V. and Weber, F. (Eds.). *Protoplasmatologia VI /C*, 1-89. Springer-Verlag, Wien.
- Gibson, C.A. and Nobel, P.S. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press, Cambridge. 286 p.
- Gilissen, L., VanStaveren, M., Cremers-Molenaar, J. and Verhoeven, H. 1993. Development of polysomaty in seedlings and plants of *Cucumis sativus* L. *Plant Science* 91: 171-179.
- Gill, B.S. and Goyal, V. 1984. Cytology of some members of Cactaceae. *Cell Chromosome Review* 7: 58-60.
- Goldblatt, P. 1980. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. In: Lewis, W.H. (Ed.). *Polyploidy – Biological Relevance*, 219-239. Plenum Press, New York.
- Goldblatt, P. and Johnson, D.E. 1995. Index to plant chromosome numbers. In: Goldblatt, P and Johnson, D.E. (Eds.). *Monographs in systematic botany from the Missouri Botanic Gardens: Vols. 30, 40, 51, 58*.
- Gregory, T.R. and Herbert, P.D. 1999. The modulation of DNA content: proximate causes and ultimate consequences. *Genome Research* 9: 317-324.
- Gregory, T.R. 2005. The C-value enigma in plants and animals: A review of parallels and an appeal for partnership. *Annals of Botany* 95: 133-146.

- Greilhuber, J. and Ehrendorfer, F. 1988. Karyological approaches to plant taxonomy. ISI, Atlas of Science 1: 289-297.
- Greilhuber, J., Dolezel, J., Lysak, M. and Bennett, M. 2005. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. *Annals of Botany* 95: 255-260.
- Grime, J.P. and Mowforth, M.A. 1982. Variation in genome size and ecological interpretation. *Nature* 229: 151-153.
- Grime, J.P. 1996. Testing predictions of the impact global change on terrestrial ecosystems. *Aspects of Applied Biology* 45: 3-13.
- Grime, J.P. 1998. Plant classification for ecological purposes: is the role for genome size?. *Annals of Botany* 82 (Suppl A): 117-120.
- Gupta, R. and Gupta, P.K. 1978. Karyotypic studies in the genus *Crotalaria* Linn. *Cytologia* 43: 357-369.
- Guzmán, U., Arias, S. y Dávila, P. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. UNAM y CONABIO, México. 315 p.
- Hagerup, O. 1932. Über Polyploidie in beziehung zu klima, ökologie und physiologie. *Hereditas* 16: 19-40.
- Heitz, E. 1928. Das heterochromatin der moose. *Jahrb Wiss Botanik* 69: 762-818.
- Hernández, M.H. y Godínez, A.H. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* 26: 33-52.
- Hernández, M.H. and Gómez-H., C. 2002. An integrated approach to the conservation of cacti in México. *In: Maunder M., Clubbe C., Hankmer and Groves M. (Eds.). Plant conservation in the tropics. Perspectives and practice, 349-367. Royal Botanic Gardens, Kew. U.K.*
- Hunt, D. 1987. A new review of *Mammillaria*. *Bradleya* 5: 45-48.
- Hunt, D. 1992. CITES. Cactaceae Checklist. Royal Botanical Garden Kew and International Organization for Succulent Plant Study (Eds.).
- Hunt, D. 1999. CITES. Cactaceae Checklist. Royal Botanical Garden Kew and International Organization for Succulent Plant Study (Eds.) 190 p.
- Jasienski, M. and Bazzaz, A.B. 1995. Genome size and  $CO_2$ . *Nature* 376: 559-560.
- John, B. 1976. Population cytogenetics. Arnold. The Camelot Press, England. 76 p.
- Johnson, M.A. 1978. Diploid cytotypes in *Mammillaria prolifera* and three other *Mammillaria* species. *Cactus and Succulents Journal, Great Britain* 40: 9-12.
- Johnson, M.A. 1980. Further cytological investigations in *Mammillaria prolifera* and other *Mammillaria* species. *Cactus and Succulents Journal, Great Britain* 42:43-47.
- Johnston, J.E., Bennett, M., Rayburn, A., Galbraith, D and Price, J. 1999. Reference standars for determination of DNA content of plant nuclei. *American Journal of Botany* 86: 609-613.

- Jones, K. 1977. The role of the robertsonian change in karyotype evolution in higher plants. *Chromosome Today* 6: 121-129.
- Joubes, J. and Chevalier, C. 2000. Endoreduplication in higher plants. *Plant Molecular Biology* 43: 735-745.
- Kalendar, R., Tanskanen, J., Immonen, S., Nevo, E. and Schulman, A.H. 2000. Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by BARE-1 retrotransposon dynamics in response to sharp microclimatic divergence. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 6603-6607.
- Kenton, A., Davies, A. and Jones, K. 1987. Identification of the Renner complex and duplication in permanent hybrids of *Gibasis pulchella* (Commelinaceae). *Chromosoma (Berl.)* 95: 424-434.
- Kidwell, M.G. and Lisch, D.R. 2000. Transposable elements and host genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 95-99.
- Kidwell, M.G. and Lisch, D.R. 2001. Perspective: transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. *Evolution* 55: 1-24.
- Kidwell, M.G. 2002. Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetica* 115: 49-63.
- Kondorosi, E., Roudier, F. and Gendreau, E. 2000. Plant cell-size control: growing by ploidy?. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 488-492.
- Kudo, N. and Kimura, Y. 2001. Flow cytometric evidence for endopolyploidization in cabbage (*Brassica oleracea* L.) flowers. *Sex Plant Reproduction* 13: 279-283.
- Kumar, A. and Bennetzen, J.L. 1999. Plant retrotransposons. *Annual Review Genetics* 33: 479-532.
- Lacadena, J. 1988. *Genética*. A.G.E.S.A., Madrid. 1303 p.
- Langley, C.H., Montgomery, E., Hudson, R., Kaplan, N. and Charlesworth, B. 1988. On the role of unequal exchange on the containment of transposable element copy number. *Genetic Research* 52: 223-235.
- Larkins, B.A., Dilkes, B., Dante, R., Coelho, C., Woo, Y. and Liu, Y. 2001. Investigating the hows and whys of DNA endoreduplication. *Journal of the Experimental Botany* 52: 183-192.
- Lehninger, A.L. 1982. *Bioquímica*. Omega, Barcelona. 1117 p.
- Leitch, I.J. and Bennett, M.D. 1997. Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2: 470-476.
- Leitch, I.J., Chase, M. and Bennett, M.D. 1998. Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. *Annals of Botany (Suppl A)* 82: 85-88.
- Leitch, I.J. and Bennett, M.D. 2004. Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of Linnean Society* 82: 651-663.
- Levan, A. 1939. Cytological phenomena connected with the root swelling caused by growth substances. *Hereditas* 25: 87-96.
- Levan, A. and Hauschka, S.T. 1953. Endomitotic reduplication mechanism in ascites tumors of the mouse. *Journal of National Cancer Institute* 14: 1-36.

- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas* 52: 201-220.
- Levin, D.A. 2002. The role of the chromosomal change in plant evolution. Oxford University Press. 230 p.
- Lewin, B. 1974. Gene expression 2. Eucaryotic chromosomes. John Wiley and Sons, London. 467 p.
- Lewis, W.H. 1980. Polyploidy. Plenum Press, New York. 583 p.
- Lim, J.K. and Simmons, M.J. 1994. Gross chromosome rearrangement mediated by transposable element in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays* 16: 269-275.
- Liu, B., Vega, J., Segal, G., Abbo, S., Rodova, M. and Feldman, M. 1998. Rapid genome changes in new synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops*. I. Changes in low-copy non coding DNA sequences. *Genome* 41: 272-277.
- Lorz, A.P. 1947. Supernumerary chromonemal reproduction: polytene chromosomes, endomitosis, multiple chromosome complexes, polysomaty. *Botical Review* 13: 597-624.
- Löve, A. and Löve, D. 1949. The geobotanical significance of polyploidy. Polyploidy and latitude. Portugal *Acta Biologica (Suppl A)*: 273-352.
- Lur, H-S. and Setter, T. 1993. Role of auxin in maize endosperm development. *Plant Physiology* 103: 273-280.
- Lüthy, J. 1995. Taxonomische untersuchung der gattung *Mammillaria* Haw. (Cactaceae). Ph.D. dissertation, Universität Bern, Bern, Switzerland.
- MacGillivray, C.W. and Grime, J.P. 1995. Genome size predicts frost-resistance in british herbaceous plants-implications for rates of vegetation response to global warming. *Funtional Ecology* 9: 320-325.
- Markova, M. 1975. Karyosystematische untersuchungen an den Cistaceae Bulgariens. *Plant Systematics and Evolution* 123: 283-315.
- Martínez, J., Méndez, I. and Palomino, G. 2000. Cytological and genical differentiation between cytotypes of *Echeandia nana* (Anthericaceae). *Caryologia* 53: 147-158.
- Masterson, J. 1994. Stomatal size of fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264: 421-424.
- Mauseth, J.D. 1983. Introduction to cactus anatomy. *Cactus and Succulent Journal* 55: 3-4.
- Michaelson, M.J., Price, H.J., Johnston, J.S. and Ellison, J.R. 1991. Variation of nuclear DNA content in *Helianthus annuus* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 78: 1238- 1243.
- Mohanty, S., Das, A.B. and Das, P. 1996. Analysis of chiasma frequency and nuclear DNA variation in some species of *Mammillaria*. *Cytobios* 88: 173-181.
- Mohanty, S., Das, A.B., and Das, P. 1997 a. Studies on nuclear DNA and meiotic chromosome in 8 species on *Mammillaria*. *Cytologia* 62: 331-336.
- Mohanty, S., Das, A.B., and Das, P. 1997 b. Estimation of 4C DNA content and determination of chiasma frequency in eighth species of *Mammillaria*. *Cytobios* 91: 15-23.

- Murray, B. 1998. Nuclear DNA amount in gymnosperms. *Annals of Botany* 82: 3-16.
- Nagl, W. 1974. The *Phaseolus* suspensor and its polytene chromosome. *Z. Pflanzenphysiol* 73: 1-44.
- Nagl, W. 1976. Early embryogenesis in *Tropaeolum majus* L.: ultrastructure of the embryo-suspensor. *Biochimie und Physiologie der Pflanzen* 170: 253-260.
- Nagl, W. 1978. Endopolyploidy and polyteny in differentiation and evolution. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Nagl, W. 1979. Differential DNA replication in plants, a critical review. *Z. Pflanzenphysiol* 95: 283-314.
- Nandi, O., Chase, M. and Endress, P. 1998. A combined cladistic analysis of angiosperms using *rbcL* and non-molecular data sets. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 137-212.
- Ohri, D., and Khoshoo, T. 1987. Nuclear DNA contents in the genus *Ficus* (Moraceae). *Plant Systematics and Evolution* 156: 1-4.
- Ohri, D. 1998. Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany* 82:75-83.
- O'Neill, R.J.W., O'Neill, M.J. and Graves, J.A.M. 1998. Undermethylation associated with retroelement activation and chromosome remodelling in an interspecific mammalian hybrid. *Nature* 393: 68-72.
- Otto, F. 1990. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. *In: Darzynkiewicz, Z. and Crissman, H.A. (Eds.). Methods in Cell Biology* Vol. 33, 110-115. Academic Press Inc., New York.
- Palomino, H.G., Zuleta, S. y Scheinvar, L. 1988. Estudios citogenéticos de dos especies y una variedad del género *Nyctocereus* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 48: 75-79.
- Palomino, H.G., Romo, G. and Zárate, S. 1995. Chromosome numbers and DNA content in some taxa of *Leucena* (Fabaceae Mimosoideae). *Cytologia* 60: 31-37.
- Palomino, H.G., Dolezel, J., Cid, R., Brunner, I., Méndez, I. and Rubluo, A. 1999. Nuclear genome stability of *Mammillaria san-angelensis* (Cactaceae) regenerants induced by auxins in long term *in vitro* culture. *Plant Science* 141:191-200.
- Palomino, H.G. 2000. Genoma analysis of mexican flora. *Genetics and Molecular Biology* 23: 921-924.
- Palomino, H.G. and Sousa, M. 2000. Variation of nuclear DNA content in biflorus species of *Lonchocarpus* (Leguminosae). *Annals of Botany* 85: 69-76.
- Palomino, G., Dolozel, J., Méndez, I. and Rubluo, A. 2003. Nuclear genome size analysis of *Agave tequilana* Weber. *Caryología* 56: 37-46.
- Petrov, D.A. and Hartl, D.L. 1998. High rate of DNA loss in the *Drosophila melanogaster* and *Drosophila virilis* species groups. *Molecular Biology and Evolution* 15: 293-302.
- Petrov, D.A. 2001. Evolution of genome size: new approaches to an old problem. *Trends of Genetics* 17: 23-28.
- Pilbeam, J. 1999. *Mammillaria*. The cactus file handbook 6. Nuffield Press, Oxford. 234 p.

- Pinkava, J.D., McLeod, M.G., McGill, L.A. and Brown, R.C. 1973. Chromosome numbers in some cacti of western North America-II. *Brittonia* 25: 2-9.
- Pinkava, J.D., McGill, L.A., Reeves, T. and McLeod, M.G. 1977. Chromosome numbers in some cacti of western North America-III. *Bulletin of Torrey Botanical Club* 104: 105-110.
- Poggio, L. and Hunziker, J.H. 1986. Nuclear DNA content variation in *Bulnesia*. *Journal of Heredity* 77: 43-48.
- Price, H.J., Chambers, K.L. and Bachmann, K. 1981. Genome size variation in diploid *Microseris bigelovii* (Asteraceae). *Botanical Gazette* 142: 156-159.
- Price, H.J. 1988. DNA content variation among higher plants. *Annals of Missouri Botanic Garden* 75: 1248-1275.
- Price, H.J. and Johnston, J. 1996. Analysis of plant DNA content by feulgen microspectrophotometry and flow cytometry. *In: Jauhar, P. and CRC Press (Eds.). Methods of genome analysis in plants*, 115-131. New York.
- Radford, A.E., Dickison, W.C., Massey, S.R. and Bell, C.R. 1974. *Vascular plant systematics*. Harper and Row Publishers, New York.
- Remski, M.F. 1954. Cytological investigations in *Mammillaria* and some associated genera. *Botanical Gazette* 116: 163-171.
- Reyes, S.J. 1997. Cultivo y propagación como plantas de ornato. *En: CONABIO, SEMARNAP, UNAM, CVS (Eds.). Suculentas Mexicanas. Cactáceas*, 54-59. México.
- Rieger, R., Michaelis, A. and Gren, M.M. 1976. *A glossary of genetics and cytogenetics. Classical and molecular*. Springer-Verlag, Berlin. 647 p.
- Rieger, R., Michaelis, A. y Green, M. 1982. *Diccionario de genética y citogenética clásica y molecular*. Alambra, España. 647 p.
- Rzedowsky, J. 1988. *Vegetación de México*. Limusa, México. 432 p.
- Sáez, F. y Cardoso, H. 1978. *Citogenética básica y biología de los cromosomas*. OEA. Whashington, D.C. 117 p.
- Savolainen, V., Morton, C.M., Hoot, S.B. and Chase, M.W. 1996. An examination of phylogenetic patterns of plastid *atpB* gene sequences among eudicots. *American Journal of Botany* 83 (Suppl): 190.
- Schilling, E. and Heiser, C. 1981. Infrageneric classification of *Helianthus* (Compositae). *Taxon* 30: 393-403.
- Schwarzacher, T. and Heslop-Harrison, P. 2000. *Practical in situ hybridization*. BIOS, Scientific Publishers, U.K. 203 p.
- SEMARNAT. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial*. México.
- Sharma, A.K. and Sharma, A. 1972. *Chromosome Techniques*. Butterworths, London. 575 p.
- Sharma, A. and Sen, S. 2002. *Chromosome botany*. Science Publishers, Inc. Enfield. 155 p.

- Sinhna, S.S.N. and Roy, H. 1979. Cytological studies in the Genus *Phaseolus* I. Mitotic analysis in fourteen species. *Cytologia* 44: 191-199.
- Smulders, M., Rus-Kortekaas, W. and Gilissen, L. 1994. Development of polysomaty during differentiation in diploid and tetraploid tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants. *Plant Science* 97: 53-60.
- Soltis, D.E., Soltis, P.S., Nickrent, D.L., Johnson, L.A., Hahn, W.J., Hoot, S.B., Sweere, J.A., Kuzoff, R.K., Kron, K.A., Chase, M.W., Swensen, S.M., Zimmer, E.A., Chaw, S.M., Gillespie, L.J., Kress, W.J. and Sytsma, K.J. 1997. Angiosperm phylogeny inferred from 18S ribosomal DNA sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84: 1-49.
- Sosa, R. y Acosta, A. 1966. Poliploidía en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 100-106.
- Sparrow, A.H. and Miksche, J.P. 1961. Correlation of the nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chromosome. *Science* 134: 282-283.
- Stebbins, G. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward-Arnold, London. 215 p.
- Swanson, C.P., Merz, T. and Young, W.J. 1967. *Cytogenetics*. Prentice-Hall, Inc, New Jersey. 194 p.
- Thomas, C.A. 1971. The genetic organization of chromosomes. *Review of Genetics* 5: 237-256.
- Tischler, G. 1934. Die bedeutung der polyploidie für die verbreitung der angiosperm erläutert an den arten schleswing-holsteins, mit ausblicken auf andere florenggebiete. *Botanische Jahrbücher für Systematik. Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 67: 1-36.
- Tschermak-Woess, E. 1971. Endomitose. In Altmann, H.W. and De Zellkern (Eds.) *Handb. Springer-Verlag, Berlin*.
- Uhl, C.H. 1978. Chromosomes of Mexican *Sedum*, II Section *Pachysedum*. *Rhodora* 80: 491-512.
- Van't Hof, J. 1965. Relationships between mitotic cycle duration, S period duration and the average rate of DNA synthesis in the root meristem cells of several plants. *Experimental Cell Research* 39: 48-58.
- Wakamiya, I. 1993. Genome size and environmental factors in the genus *Pinus*. *American Journal of Botany* 80: 1235-1241.
- Winter, P.C., Hickey, G. and Fletcher, H. 1998. *Instant notes in Genetics*. BIOS, Scientific Publishers, U.K. 342 p.

## ANEXO 1

Tabla 1. Tamaño del genoma de *M. albilanata*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1821	1-1	52	78	3.85	3.85	13148	1.50	2.940
1825	1-2	51	75	4.90	4.67	12447	1.47	2.882
1826	1-3	47	72	4.26	4.17	13688	1.53	3.002
								<b>2.941</b>
1828	2-1	51	81	3.92	2.47	15613	1.58	3.112
1829	2-2	51	81	3.92	2.47	13236	1.58	3.112
1830	2-3	51	82	2.94	2.44	11157	1.60	3.151
								<b>3.125</b>
1832	3-1	50	85	5.00	3.53	14133	1.70	3.332
1833	3-2	53	88	4.72	3.98	10009	1.66	3.254
1834	3-3	49	82	5.10	3.66	12168	1.67	3.280
								<b>3.288</b>
1842	4-1	54	82	3.70	2.44	10035	1.51	2.959
1843	4-2	50	82	4.00	3.05	11934	1.64	3.214
1844	4-3	51	81	3.92	3.70	15923	1.58	3.112
1845	4-4	51	81	3.92	3.09	12315	1.58	3.112
								<b>3.099</b>
1846	5-1	50	84	3.00	2.98	14671	1.68	3.292
1847	5-2	50	88	4.00	3.41	11728	1.76	3.449
1848	5-3	53	81	4.72	3.70	14668	1.52	2.995
1849	5-4	46	79	4.35	2.53	10017	1.717	3.366
								<b>3.275</b>
								<b>3.145 pg 3082 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*

Tabla 2. Tamaño del genoma de *M. crucigera*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1661	1-1	50	85	4.00	3.61	15272	1.70	3.332
1666	1-2	50	83	4.00	3.61	10035	1.66	3.253
1667	1-3	52	87	3.85	2.87	15409	1.67	3.279 <b>3.288</b>
1668	2-1	51	83	2.94	5.43	15391	1.62	3.189
1669	2-2	50	78	4.00	5.77	12375	1.56	3.057
1670	2-3	48	78	5.21	5.41	11888	1.62	3.185
1674	2-4	52	85	3.85	5.65	10844	1.63	3.203
1689	2-5	51	85	3.92	5.88	12610	1.66	3.266 <b>3.180</b>
1681	3-1	52	80	5.73	3.13	10531	1.53	3.015
1682	3-2	51	80	4.90	4.38	18111	1.56	3.074
1683	3-3	50	80	5.00	4.38	17198	1.60	3.136
1684	3-4	51	80	3.92	2.50	11065	1.56	3.074 <b>3.074</b>
1685	4-1	50	87	4.00	4.02	19025	1.74	3.410
1686	4-2	48	80	3.13	4.38	15284	1.66	3.266
1687	4-3	52	83	3.85	5.42	15495	1.59	3.128
1688	4-4	50	82	4.00	5.49	14240	1.64	3.214
1690	4-5	48	79	3.13	5.06	12950	1.64	3.225
1691	4-6	50	80	4.00	5.00	14218	1.6	3.136 <b>3.229</b>
1695	5-1	46	75	4.35	4.00	10170	1.63	3.195
1696	5-2	48	80	5.21	4.38	15073	1.66	3.266
1697	5-3	44	74	5.68	4.05	10854	1.68	3.296
1698	5-4	48	80	4.17	5.00	10788	1.66	3.266
1700	5-5	48	80	3.13	5.00	10501	1.66	3.266 <b>3.257</b>
								<b>3.205 pg</b> <b>3140 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*

Tabla 3. Tamaño del genoma *M. dixanthocentron*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1704	1-1	52	93	5.69	5.91	11712	1.78	3.505
1701	1-2	52	83	5.73	4.82	14386	1.59	3.128
1706	1-3	51	82	5.88	5.10	11274	1.60	3.151
1707	1-4	48	81	5.25	5.56	11153	1.68	3.307
1708	1-5	49	84	5.12	5.36	15382	1.71	3.360
								<b>3.290</b>
1716	2-1	50	83	4.00	4.22	13699	1.66	3.253
1717	2-2	54	86	4.63	4.65	13191	1.59	3.121
1719	2-3	51	83	4.90	4.22	16512	1.62	3.189
1720	2-4	50	83	4.00	4.22	11358	1.66	3.253
								<b>3.204</b>
1721	3-1	51	81	4.90	5.56	15077	1.58	3.112
1722	3-2	52	90	4.81	5.00	13123	1.73	3.392
1723	3-3	50	82	4.00	4.88	14415	1.64	3.214
1724	3-4	51	82	2.94	4.88	11022	1.60	3.151
1725	3-5	50	83	5.00	4.82	12920	1.66	3.253
								<b>3.224</b>
1731	4-1	50	82	5.00	3.66	15119	1.64	3.214
1732	4-2	51	84	4.90	4.17	14443	1.64	3.228
1733	4-3	51	81	4.90	3.09	11116	1.58	3.112
1734	4-4	51	82	4.90	3.66	12531	1.60	3.151
								<b>3.176</b>
1744	5-1	54	85	5.56	4.12	13355	1.57	3.085
1747	5-2	50	80	5.00	4.38	11028	1.60	3.136
1748	5-3	51	76	4.90	2.63	10681	1.49	2.920
1749	5-4	50	77	5.00	3.90	14587	1.54	3.018
1750	5-5	48	73	5.21	4.11	15916	1.52	2.980
								<b>3.027</b>
								<b>3.184 pg</b>
								<b>3120 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*

Tabla 4. Tamaño del genoma de *M. flavicentra*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1799	1-1	60	86	5.67	3.49	10150	1.43	2.809
1803	1-2	52	75	5.77	4.67	11613	1.44	2.826
1804	1-3	51	74	5.88	3.38	12118	1.45	2.843
1805	1-4	50	75	5.00	3.33	10323	1.50	2.940
								<b>2.854</b>
1800	2-1	50	77	4.00	4.55	10613	1.54	3.018
1801	2-2	51	80	4.90	3.75	10520	1.56	3.074
1812	2-3	51	80	3.92	4.38	17108	1.56	3.074
								<b>3.055</b>
1822	3-1	53	83	3.77	3.01	14761	1.56	3.069
1823	3-2	50	79	4.00	3.16	16040	1.58	3.096
1824	3-3	48	78	4.17	4.49	13235	1.62	3.185
								<b>3.116</b>
1835	4-1	51	78	5.88	5.13	16492	1.52	2.997
1838	4-2	50	81	5.00	5.56	10396	1.62	3.175
1839	4-3	48	76	5.25	5.92	10126	1.58	3.103
								<b>3.091</b>
1837	5-1	50	78	5.00	5.13	10338	1.56	3.057
1840	5-2	52	81	5.77	4.94	10048	1.55	3.053
1841	5-3	51	82	4.90	4.27	10007	1.60	3.151
								<b>3.087</b>
								<b>3.040</b>
								<b>2979 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*

Tabla 5. Tamaño del genoma de *M. haageana*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1532	1-1	51	82	3.92	5.49	10058	1.60	3.151
1533	1-2	52	85	3.85	2.94	22149	1.63	3.203
1534	1-3	52	87	3.85	2.87	15075	1.67	3.279
1535	1-4	51	81	4.90	4.32	12125	1.58	3.112
1537	1-5	51	81	2.94	3.70	12236	1.58	3.112
1538	1-6	54	85	3.70	3.53	20057	1.57	3.085
1539	1-7	52	81	3.85	4.32	27128	1.55	3.053
								<b>3.142</b>
1548	2-1	53	84	4.72	4.17	24174	1.58	3.106
1549	2-2	52	83	4.81	4.22	10044	1.59	3.128
1550	2-3	51	80	2.94	3.13	14085	1.56	3.074
1551	2-4	51	85	3.92	2.35	10625	1.66	3.266
1552	2-5	53	85	3.77	2.94	12456	1.60	3.143
1553	2-6	55	90	3.64	3.89	12130	1.63	3.207
1554	2-7	52	85	3.85	4.12	14324	1.63	3.203
1555	2-8	51	85	4.90	4.71	12256	1.66	3.266
								<b>3.174</b>
1563	3-1	41	66	4.88	3.79	14937	1.60	3.155
1564	3-2	40	62	3.75	4.84	13173	1.55	3.038
1565	3-3	50	77	3.00	4.55	10629	1.54	3.018
								<b>3.070</b>
1582	4-1	48	75	3.13	4.0	10082	1.56	3.062
1583	4-2	49	75	3.06	2.67	11396	1.53	3.000
1584	4-3	53	83	4.72	4.82	13216	1.56	3.069
1585	4-4	51	83	3.92	4.82	10413	1.62	3.189
1589	4-5	48	77	3.13	2.60	11379	1.60	3.144
								<b>3.092</b>
1774	5-1	50	77	5.00	3.25	12944	1.54	3.018
1776	5-2	51	77	4.90	3.25	10090	1.50	2.959
1777	5-3	50	77	5.00	4.55	12500	1.54	3.018
								<b>2.998</b>
								<b>3.117 pg</b>
								<b>3054 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*

Tabla 6. Tamaño del genoma de *M. huitzilopochtli*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1758	1-1	51	79	4.90	4.43	14978	1.54	3.036
1759	1-2	50	78	4.00	4.49	14566	1.56	3.057
1760	1-3	50	78	5.00	3.85	10956	1.56	3.057
1761	1-4	50	78	4.00	4.49	12723	1.56	3.057 <b>3.051</b>
1764	2-1	51	77	4.90	4.55	11556	1.50	2.959
1765	2-2	50	74	5.00	4.73	13988	1.48	2.900
1766	2-3	49	74	4.08	4.05	11672	1.51	2.960
1767	2-4	51	77	3.92	4.55	10235	1.50	2.959
1768	2-5	51	76	3.92	4.61	10572	1.49	2.920
1769	2-6	51	77	3.92	5.19	21348	1.50	2.959 <b>2.942</b>
1782	3-1	51	81	4.90	4.32	15265	1.58	3.112
1783	3-2	50	77	5.00	3.90	11892	1.54	3.018
1784	3-3	52	80	4.81	4.38	11338	1.53	3.015
1790	3-4	49	76	4.08	4.61	12505	1.55	3.040 <b>3.046</b>
1850	4-1	54	90	4.63	4.44	12750	1.66	3.266
11851	4-2	54	81	5.56	4.32	10878	1.50	2.940
1851	4-3	50	79	5.00	3.80	13154	1.58	3.096
1852	4-4	51	86	3.92	3.49	14249	1.68	3.305 <b>3.151</b>
1866	5-1	51	93	5.88	5.45	12347	1.82	3.574
1867	5-2	51	87	5.88	5.75	13084	1.70	3.343
1868	5-3	53	90	5.49	5.56	20756	1.69	3.328 <b>3.415</b>
								<b>3.121 pg</b> <b>3058 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*

Tabla 7. Tamaño del genoma de *M. supertexta*.

ID	Ind. y No. de repetición	Media *	Media **	CV *	CV **	Total de núcleos	Cociente de las medias	ADN (pg)
1600	1-1	53	84	2.83	4.76	11109	1.58	3.106
1601	1-2	52	81	3.85	3.70	10663	1.55	3.053
1608	1-3	52	82	4.81	4.27	11241	1.57	3.090
1609	1-4	51	83	3.92	4.82	12549	1.62	3.189 <b>3.109</b>
1612	2-1	51	84	2.94	4.17	15355	1.64	3.228
1613	2-2	51	80	2.94	3.13	13605	1.56	3.074
1614	2-3	49	80	3.06	3.13	12318	1.63	3.200
1615	2-4	52	80	2.88	4.38	18568	1.53	3.015
1616	2-5	50	82	3.00	3.05	10143	1.64	3.214
1617	2-6	50	82	3.00	3.66	10967	1.64	3.214 <b>3.157</b>
1638	3-1	53	84	3.77	3.57	20060	1.58	3.106
1639	3-2	50	80	4.00	2.50	20510	1.60	3.136
1644	3-3	52	80	3.85	4.38	15157	1.53	3.015
1645	3-4	48	76	4.17	3.29	13773	1.58	3.103
1646	3-5	49	77	4.08	3.90	13164	1.57	3.080
1647	3-6	52	82	3.85	4.27	12347	1.57	3.090 <b>3.088</b>
1702	4-1	54	87	3.70	5.32	15366	1.61	3.157
1703	4-2	54	90	4.63	5.11	10531	1.66	3.266
1705	4-3	52	91	3.85	5.04	10004	1.75	3.430 <b>3.284</b>
1785	5-1	51	81	3.92	4.32	11150	1.58	3.112
1786	5-2	52	80	4.81	3.13	14882	1.53	3.015
1787	5-3	49	74	5.10	3.38	11311	1.51	2.960
1788	5-4	50	78	4.00	3.21	11086	1.56	3.057
1789	5-5	49	75	4.08	4.00	13985	1.53	3.000 <b>3.028</b>
								<b>3.133 pg</b> <b>3070 Mpb</b>

\* *Lycopersicum esculentum*

\*\* Especie de *Mammillaria*