



BIOCYT 3(11): 181-196, 2010



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA  
© 2010 BIOCYT

<http://www.iztacala.unam.mx/biocyt>

## ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y CARIOLÓGICO DE *Agave karwinskii* ZUCC. Y *Agave macroacantha* ZUCC. EN EL MUNICIPIO DE ZAPOTITLÁN SALINAS, PUEBLA

### MORPHOLOGIC AND KARYOLOGICAL ANALYSES IN *Agave karwinskii* ZUCC. AND *Agave macroacantha* ZUCC. FROM THE ZAPOTITLAN SALINAS MUNICIPALITY, PUEBLA

Flores-Maya Saúl<sup>1</sup>, Juan Carlos Moreno-Ramírez<sup>1</sup>, Silvia Romero-Rangel<sup>2</sup> y Carlos Rojas-Zenteno<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos, Laboratorio de Recursos Naturales  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. Av. de los Barrios No 1, Los Reyes Iztacala,  
Tlalnepantla, Estado de México C. P. 54090.

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecología y Taxonomía de Árboles y Arbustos, Facultad de Estudios Superiores  
Iztacala, UNAM. Av. de los Barrios No 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México C. P.  
54090.

---

#### RESUMEN

Se realizaron análisis cariológicos en *Agave karwinskii* Zucc. y *Agave macroacantha* Zucc. en el municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla. Se confirman los siguientes aspectos citogenéticos: los conteos cromosómicos reportados en este estudio muestran que las especies son diploides ( $2n=2x = 60$ ), el número básico es  $x=30$ , se conserva el carácter bimodal (5 cromosomas grandes y 25 cromosomas pequeños en el set haploide), los cromosomas grandes tienen forma telocéntrica y subtelocéntrica y los cariotipos son asimétricos. Tales caracteres cromosómicos serían conservados en las especies estudiadas, observándose un proceso de orto-selección. Los resultados citogenéticos sobre *A. karwinskii* de este estudio, no coinciden con el reporte citogenético del trabajo de Rivera (1983) que señala el carácter diploide de *Agave karwinskii* Zucc. es  $2n= 40$  en el municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla.

**Palabras clave:** *Agave*, *Agavaceae*, número cromosómico, cariotipo asimétrico.

---

**Correspondencia al autor:** Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos, Laboratorio de Recursos Naturales, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. Av. de los Barrios No 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C. P. 54090. Correo electrónico: [saulsel@servidor.unam.mx](mailto:saulsel@servidor.unam.mx)

**Manuscrito recibido el 24 de mayo de 2010, aceptado el 30 de julio de 2010**

## ABSTRACT

Karyological analyses were done for *Agave karwinskii* Zucc. and *Agave macroacantha* Zucc. from the Zapotitlán Salinas municipality in the State of Puebla. This work confirms the following cytogenetic aspects: The chromosome counts demonstrate diploid distribution of the ploidy levels of these species ( $2n=2x = 60$ ), basic chromosome number is  $x=30$ , bimodal character is conserved (5 large chromosomes and 25 small chromosomes in the haploid set), large chromosomes are telocentric and subtelocentric; presence of asymmetric karyotypes and orthoselection conditions. The cytogenetic results of this study, do not agree with the cytogenetic report of the work of Rivera (1983) that indicates the diploide character of *Agave karwinskii* Zucc. is  $2n= 40$  from the Zapotitlán Salinas municipality in the State of Puebla.

**Key words:** *Agave*, *Agavaceae*, asymmetric karyotype, chromosome number.

## INTRODUCCIÓN

El género *Agave* (*sensu stricto*) es endémico de América, el cual alberga alrededor de 200 especies. México tiene 150 especies, siendo considerado de esta manera como su centro de diversidad (García-Mendoza, 2007). El área de mayor riqueza en México corresponde a la Provincia del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, con quince especies, porque conserva una gran riqueza de grupos taxonómicos y filogenéticos (García-Mendoza, 2007). El género *Agave* es considerado un grupo parafilético con respecto al género *Manfreda*, *Polianthes* y *Prochnyanthes* (Good-Avila et al., 2006).

Gentry (1982), describe la distribución geográfica de *Agave karwinskii* y *Agave macroacantha*, circunscribiéndolas al Valle de Tehuacán y Oaxaca, donde son parte importante de la estructura del paisaje de esta zona. Estas especies son usadas en la preparación de bebidas alcohólicas (mezcal), la extracción de fibra o ixtle, como plantas ornamentales de jardines y como material para construcción (Gentry, 1982; Arizaga y Escurra, 2002).

Desde el punto de vista de los estudios cromosómicos, en la familia Agavaceae son pocos (Castorena-Sánchez et al., 1991). Sin embargo, en la actualidad las conclusiones de estas investigaciones, que se iniciaron desde 1944 (Granick, 1944) sostienen que los datos cromosómicos característicos para la familia Agavaceae muestran que el número básico ( $x$ ) y el haploide es 30 ( $2n=60$ ) (Granick, 1944; Pinkava y Baker, 1985). Partiendo de este origen, estas plantas son consideradas paleopoliploides, esto es, que a partir de estos números cromosómicos se pueden desarrollar poliploides secundarios o neopoliploides. Esto quiere decir, que serían especies con números gaméticos que son múltiplos del número básico  $x=30$  (Pinkava y Baker, 1985; García-Mendoza, 2007). El género tiene variación en sus niveles de ploidía con  $2n$ ,  $3n$ ,  $4n$ ,  $5n$  y  $6n$  (Cave, 1964; Bhattacharyya, 1968; Vázquez, 1977; Pinkava et al., 1992; Martínez-Palacios et al., 1999). Las especies de *Agave* se caracterizan por tener cariotipos bimodales altamente asimétricos tanto en su condición diploide como poliploide (Castorena-Sánchez et al., 1991). Este rasgo bimodal está dado por un grupo de cinco pares de cromosomas grandes y veinticinco pequeños, lo cual sugiere que evolutivamente existe una tendencia a la orto-selección. Este proceso consiste en la amplificación de regiones de ADN que no codifican genes, en sitios distribuidos entre las regiones de entrecruzamiento en los cromosomas del complemento (Brandham y Doherty, 1998). Este proceso da como resultado un número básico uniforme y cariotipos que mantienen su estructura con cromosomas grandes y pequeños (Brandham y Doherty, 1998; Moreno et al., 2007).

Sin embargo, en la literatura todavía existen algunas especies del género *Agave* mexicanas con información cromosómica escasa. Este es el caso de las especies que son ubicados en el subgénero *Agave* del grupo *Rigidae*, el cual de acuerdo a Gentry (1982), agrupa 14 especies y muchas variantes. En esta sección están incluidos *A. karwinskii* y *A. macroacantha*.

Estudios cariotípicos previos reportan los siguientes números cromosómicos para las especies de la sección *Rigidae*: *A. decipiens*  $6x=180$  (Banerjee y Sharma, 1989), *A. fourcroydes*  $2x=60$  (Banerjee y Sharma, 1988) y  $5x=150$  (Castorena-Sánchez et al., 1991), *A. tequilana*  $2x=90$  (Banerjee y Sharma, 1989) y  $2x=60$  (Castorena-Sánchez et al., 1991), *A. angustifolia*  $6x=180$  (Castorena-Sánchez et al., 1991) y *A. angustifolia* var. *marginata*  $2x=60$  (Banerjee y Sharma, 1988; Castorena-Sánchez et al., 1991).

Rivera (1983), propone la existencia de dos fenotipos de *A. karwinskii*, uno de los cuales crece en Zapotitlán de las Salinas y posee un número cromosómico diploide  $2n=40$ , en tanto que el segundo se distribuye cerca de Chilac (Puebla-Tehuacán) y posee un número cromosómico diploide de  $2n=30$ .

Mediante citometría de flujo Palomino et al. (2003), determinaron el tamaño del genoma (valor C) de 8 variedades de *Agave tequilana* Weber. Encontraron una relación significativa entre el nivel de ploidía y el contenido 2C de ADN, lo que demuestra que *Agave* tiene un tamaño genómico estable. Sin embargo, Palomino et al. (2005), utilizando el mismo método de citometría de flujo y el análisis de los cariotipos en *Agave angustifolia* ( $2n=2x=60$  y  $2n=3x=90$ ), indicó que el tamaño del genoma en los diploides corresponde a un valor  $2C = 8.477$  pg, y en los triploides a un valor  $C = 12.420$  pg. De acuerdo a esos valores el 1Cx en millones de pares de bases es 4139 en los diploides y fue significativamente mayor que en los triploides con 4057 pares de bases. Los cariotipos de estas especies tenían diferencias en la proporción del tipo de cromosomas debido probablemente a los intercambios cromosómicos heterocigóticos o a re-arreglos cromosómicos. También señalaron estos autores que los triploides contienen una porción menor de secuencias de ADN en relación a los diploides.

Moreno et al. (2007), analizaron por medio de citometría de flujo el tamaño del genoma de *A. angustifolia* y *A. rhodacantha* del Estado de Sonora, México. Estas especies son diploides ( $2n=2x=60$ ) y el valor de 2C de ADN es de 8.4 pg. para ambas especies. En este estudio se determinó que la longitud total del genoma en *A. angustifolia* fue menor que el de *A. rhodacantha* y que el porcentaje de simetría fue más alto en *A. angustifolia*.

Todos estos trabajos sugieren que el proceso de especiación de *Agave* puede llevarse a cabo mediante neopoliploidía e hibridación por anfiploidia (Good-Avila et al., 2006; Moreno et al., 2007); re-arreglos cromosómicos (Castorena-Sánchez et al., 1991); la ocurrencia de las mutaciones puntuales dentro del complemento de los cromosomas pequeños (Banerjee y Sharma, 1989); la heterocigosidad para varios loci y pocos genotipos *multilocus* (Palomino et al., 2005; Parker et al., 2010) y a la reproducción vegetativa (Infante et al., 2003; Palomino et al., 2005; García-Mendoza, 2007; Robert et al., 2008).

Como se observa, a principios de este siglo los estudios de citogenética sobre *Agave* han tomado nuevos rumbos metodológicos basados en citogenética molecular, como son: el uso de citometría de flujo para medir el tamaño del genoma, el análisis de aloenzimas, los microsatelites, las secuencias teloméricas TTAGGG y TTTAGGG, los marcadores moleculares (AFLP), y la Hibridación *in situ* con fluorescencia usando ADN ribosomal 45S y 5S (FISH). Sin embargo, todos estos métodos moleculares tienen como base o antecedente el conocimiento del complejo cariotípico de las especies estudiadas, por esto destacan y son importantes los trabajos sobre conteos y análisis de cromosomas mitóticos. El objetivo de este estudio fue realizar una revisión del número cromosómico de *Agave karwinskii* reportado por Rivera (1983) y analizar el cariotipo de *A. macroacantha* en Zapotitlán Salinas, Puebla.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Área de estudio

El área de estudio está situada dentro del Valle de Zapotitlán Salinas, el cual se encuentra enclavado en la porción occidental del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en el SE del estado de Puebla y NW de Oaxaca. Tiene una superficie aproximada de 270 km<sup>2</sup> y se ubica entre los 18°12' y 18°24' de latitud N y entre los 97°24' y 97°36' de longitud W (Fig. 1), establecido en altitudes de 1,460 a 2,600 m (INEGI, 1987; Barrera, 2001; López-Galindo et al., 2003).

La comunidad vegetal dominante en la zona es el matorral xerófilo, en el que predomina *Neobuxbaumia tetetzo* (tetecho), *Prosopis laevigata* (mesquite), *Fouquieria formosa* (ocotillo), *Cercidium praecox* (palo verde) y *Beaucarnea gracilis* (sotolín) (Rzedowski, 1978; Dávila et al., 1993; Osorio-Betancourt et al., 1996).

En 2002 y 2003 se realizaron recorridos en la zona de estudio, en los cuales se georeferenciaron con un navegador personal (Garmin's GPS 12 XL) los individuos de las especies; y con mapas digitalizados de la zona (ESRI, 1995) se determinó su distribución espacial en el municipio de Zapotitlán Salinas (Fig. 1). Lo anterior permitió realizar una selección de cinco diversos puntos de muestreo, colectando dos hijuelos en cada punto. Para determinar la variabilidad morfológica de las especies en estudio se realizaron 30 registros de las medidas de los caracteres taxonómicos más importantes de adultos de las especies, como altura y diámetro de la planta, número de hojas, largo y ancho de hojas y número y tamaño de las espinas de las hojas.

Los hijuelos colectados sirvieron para el estudio citogenético, el cual se realizó en los meristemas radiculares de las variedades de acuerdo con el método propuesto por García (1990). El conteo cromosómico se realizó en 10 individuos de cada especie. Para ambos casos, las medidas de los cromosomas fueron estimadas a partir de tres placas en metafase por individuo. La elaboración de las laminillas consistió en lo siguiente: A cada una de las especies se les determinó la hora mitótica. Una vez establecida la hora mitótica, a 10 meristemas, se procedió al bloqueo de la metafase con 8-hidroxiquinoleína al 0,02 M, por un tiempo de cuatro horas. Se cortaron las raíces y se fijaron en solución Farmer 3:1 (alcohol etílico-ácido acético glacial) durante 24 horas, luego fueron tratadas con ácido clorhídrico 1N durante 5 minutos para su hidrolización a una temperatura de 55 °C. La tinción de los cromosomas fue efectuada con aceto-orceína al 1%. Para determinar el número cromosómico de las especies mencionadas, se analizaron las diez mejores células por especie que mostraron claramente la morfología de los cromosomas.

Los cromosomas fueron fotografiados y medidos con la ayuda del analizador de imagen Motic Plus 2.0. Se calculó la media o medida promedio a cada uno de los brazos y la longitud total de los pares cromosómicos, la longitud relativa, y el índice centromérico. Con el índice centromérico se realizó la clasificación de los cromosomas de acuerdo a lo establecido por Levan et al., (1964). También se definió el grado de asimetría del cariotipo de estas especies basado en las categorías establecidas por Romero-Zarco (1986). Para el coeficiente de asimetría intracromosomal, de acuerdo a Romero-Zarco (1986), se aplicó la fórmula  $A_1 = 1 - \sum(b_i/B_i)/n$ ; donde:  $b_i$  es el promedio del tamaño para los brazos cortos en cada cromosoma homólogo y  $B_i$  es el promedio de tamaño para los brazos largos en cada par cromosómico homólogo.

Para la variación de asimetría inter cromosomal se usó la fórmula del coeficiente de dispersión de Pearson  $n$ , que es la proporción entre la desviación estándar y la media de la longitud de los cromosomas para cada muestra:  $A_2 = s / x$ .

Para la elaboración de los cariogramas e ideogramas se escogieron las mejores células que permitían observar claramente el número y la forma de cada uno de los cromosomas en las especies estudiadas. Para ello en las fotografías los cromosomas se recortaron y ordenaron de acuerdo a su fórmula cariotípica por parejas de homólogos.

## RESULTADOS

### Distribución espacial

Para el estudio citogenético se colectaron 10 hijuelos de *A. karwinskii* en un área aproximada de 343 ha y un perímetro de 13,928 m., mientras que para *A. macroacantha* la colecta del mismo número de hijuelos fue en un área aproximada de 139 ha y un perímetro de 8,574 m (Fig. 1).

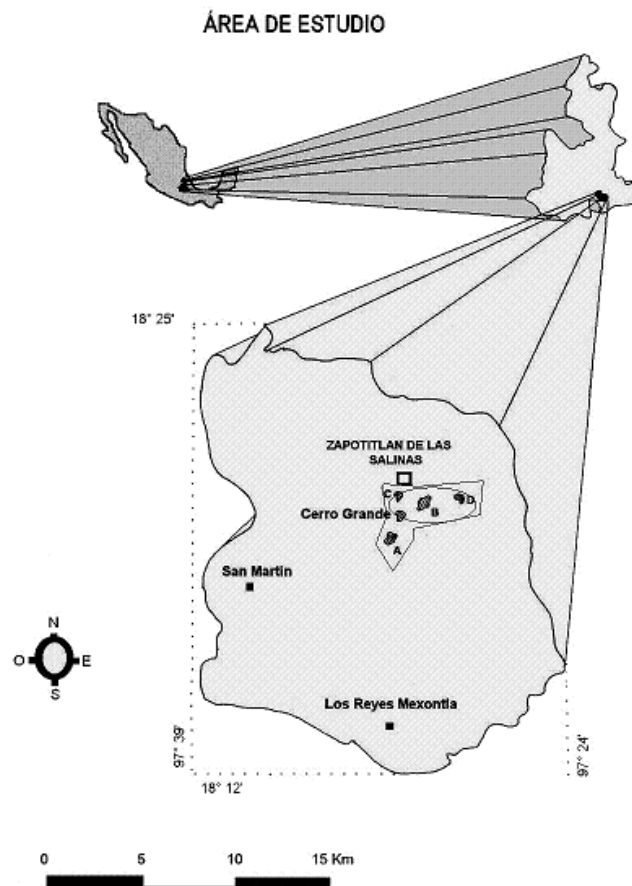


Fig.1. Zona de Zapotitlán Salinas, Puebla indicando la zona de estudio y la distribución espacial de las especies. La línea continua representa el área de *A. karwinskii* Zucc y la línea punteada el área de *A. macroacantha* Zucc. (Tomado de López-Galindo et al., 2003)

La posición geográfica de las especies en el municipio de Zapotitlán se localiza en la latitud N 18° 18' 08'' y 18° 19' 12'' y longitud W 97° 27' 05'' y 97° 29' 10''; en altitudes de 1454 a 1555 m (Tabla 1 y Fig. 1).

Tabla 1. Caracteres citogenéticos de las especies de *Agave* estudiadas. número cromosómico (2n); número fundamental (n.f.); fórmula cariotípica; longitud total del cariotipo (LTC); longitud de los brazos cortos (LBc); longitud de los brazos largos (LBL); longitud total del set haploide (LTSh) y el tipo de asimetría (A1 y A2) en Zapotitlán Salinas, Puebla

Taxa	Origen (Altitud msnm)	2n	NF	Fórmula Cariotípica	Rango (µm)				Asimetría	
					LTC	LBc	LBL	LTSh	A1	A2
<i>Agave karwinskii</i>	18°N; 97° W hasta 18°N; 97°W (1454-1555)	60	106	3t+ 2st+ 4m+ 5sm+ 2st+14M	2-0.3	0.35-0.1	1.8-0.15	19.5	0.34	0.74
<i>Agave macroacantha</i>	18°N; 97°W hasta 18°N; W 97° (1479-1517)	60	106	2t+ 2st+ 1m +8m+ 7sm+3st+7M	2.7-0.2	0.6-0.1	2.5-0.1	28.3	0.42	0.72

### Variación morfológica de las especies

Al comparar los datos morfométricos obtenidos en el campo y con la información contenida en la literatura taxonómica de las especies Gentry, (1982) y Rivera (1983), se observó que la morfología de los individuos colectados en las diferentes zonas concuerda con las descripciones morfológicas hechas por estos autores (Tabla 2).

Tabla 2. Valores morfométricos de *Agave karwinskii* y *A. macroacantha* obtenidos de treinta organismos en Zapotitlán Salinas, Puebla. \*Valores promedio,  $(\bar{X}) \pm$  Desviación estándar

Altura* (cm)	Diámetro* (cm)	Número de Hojas*	Longitud de la hoja* (cm)	Ancho de la hoja* (cm)	Espina terminal* (cm)	Espina lateral* (cm)
<i>A.karwinskii</i> 74.3 ± 9.23	66.6 ± 8.7	62.4 ± 14.88	37 ± 5.03	3.6 ± 0.72	2.6 ± 0.4	0.42 ± 0.041
<i>A. macroacantha</i> 35.1 ± 3.32	46.3 ± 8.3	73.3 ± 6.69	21 ± 2.19	3.5 ± 0.2	3.2 ± 0.3	0.49 ± 0.031

*Agave karwinskii* presentó alturas de 55-104 cm, diámetros de 52-82 cm y un número de hojas de 43-118, en tanto que *A. macroacantha* tuvo alturas de 28-42 cm, diámetros de 26-65 cm y un número de hojas de 61-96. Las características morfológicas con mayor variación fueron en *A. karwinskii* el largo de la espina terminal y el número de hojas, y en *A. macroacantha* el largo y el ancho de la hoja.

### Conteos Cromosómicos

En el presente estudio los conteos cromosómicos obtenidos de células radiculares de *A. karwinskii* (2n=2x=60) (Tabla 1), no concuerdan con el número cromosómico obtenido por Rivera (1983) para la zona de Zapotitlán de las Salinas el cual documentó 2n=40.

Por primera vez, se reporta el número cromosómico y la determinación cariotípica de *A. macroacantha* (2n=2x=60) del Grupo *Rigidae* del subgénero *Agave* (Tabla 1).

Los caracteres citogenéticos de las especies de *Agave* estudiadas se presentan en la Tabla 1, siendo el número cromosómico somático para las dos especies de 2n=2x=60 (Tablas 3 y 4 y Figs. 2, 3 y 4).

Tabla 3. Determinación de los valores d, r, i para la nomenclatura de cromosomas propuesta por Levan et al., (1964). Cariotipo de *Agave karwinskii* Zucc.\* Valores promedio (X) ± Desviación estándar. (C) Longitud total del cromosoma; (s) Longitud del brazo corto; (L) Longitud del brazo largo; d Diferencias de brazos cromosómicos; (r) Proporción de brazos cromosómicos; i Índice Centromérico y LR Longitud Relativa

Par cromosómico	C $\frac{\mu m}{x} \pm SD$	S $\frac{\mu m}{x} \pm SD$	L $\frac{\mu m}{x} \pm SD$	d	r	i	Nomenclatura	LR
1	2.0±0.5	0.2±0.05	1.8±0.13	8	9	10	t	10.25
2	1.8±0.1	0.2±0.04	1.6±0.05	7.7	8	11.1	t	9.23
3	1.6±0.04	0.3±0.08	1.3±0.07	6.25	4.3	18.86	st	8.20
4	1.6±0.17	0.2±0.04	1.4±0.09	7.5	7	12.5	t	8.20
5	1.1±0.06	0.2±0.04	0.9±0.05	6.3	4.5	22.22	st	5.64
6	0.9±0.04	0.35±1.02	0.55±0.02	2.2	1.57	38.91	m	4.61
7	0.7±0.07	0.1±0.05	0.6±0.08	7.1	6	14.28	st	3.59
8	0.7±0.07	0.3±0.09	0.4±0.08	1.4	1.33	42.91	m	3.59
9	0.7±0.07	0.35±0.04	0.35±0.06	0	1	50	M	3.59
10	0.6±0.09	0.15±0.04	0.45±0.02	5	3	25	sm	3.07
11	0.6±0.06	0.3±0.09	0.3±0.05	0	1	50	M	3.07
12	0.6±0.06	0.1±0.05	0.5±0.04	6.6	5	20	st	3.07
13	0.6±0.11	0.25±0.02	0.35±0.04	1.6	1.4	41.66	m	3.07
14	0.5±0.04	0.2±0.05	0.3±0.1	2	1.5	40	m	2.56
15	0.5±0.07	0.1±0.06	0.3±0.05	4	3	25	sm	2.56
16	0.4±0.09	0.2±0.04	0.2±0.07	0	1	50	M	2.05
17	0.4±0.04	0.1±0.05	0.3±0.04	5	3	25	sm	2.05
18 y 19	0.4±0.08	0.2±0.05	0.2±0.12	0	1	50	M	2.05
20	0.4±0.07	0.1±0.04	0.3±0.12	5	3	25	sm	2.05
21 al 23	0.3±0.10	0.15±0.05	0.15±0.06	0	1	50	M	1.53
24	0.3±0.05	0.1±0.04	0.2±0.09	3.3	2	33.3	sm	1.53
25 al 30	0.3±0.07	0.15±0.02	0.15±0.06	0	1	50	M	1.53
	<b>0.65±0.48*</b>	<b>0.19±0.07*</b>	<b>0.46±0.46*</b>			<b>36.86±14.82*</b>		

Tabla 4. Determinación de los valores d, r, i para la nomenclatura de cromosomas propuesta por Levan et al., (1964). Cariotipo de *A. macroacantha* Zucc. Valores promedio ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Desviación estándar. (C) Longitud total del cromosoma; (s) Longitud del brazo corto; (L) Longitud del brazo largo; d Diferencias de brazos cromosómicos; (r) Proporción de brazos cromosómicos; i Índice centromérico y LR Longitud Relativa

Par cromosómico	C $\bar{x} \pm SD$ um	s $\bar{x} \pm SD$ um	L $\bar{x} \pm SD$ um	d	r	i	Nomenclatura	LR
1	2.7±0.06	0.2±0.04	2.5±0.2	8.5	12.5	7.4	t	9.54
2	2.6±0.1	0.3±0.05	2.3±0.3	7.7	7.6	11.6	t	9.1
3	2.4±0.07	0.5±0.05	1.9±0.05	5.8	3.8	20.8	st	8.48
4	2.3±0.05	0.3±0.06	2.0±0.4	7.4	6.6	13.1	st	8.12
5	1.5±0.05	0.6±0.04	0.9±0.05	2	1.5	40	m	5.30
6	1.2±0.08	0.5±0.06	0.7±0.05	1.6	1.4	41.6	m	4.24
7 y 8	1.0±0.04	0.4±0.06	0.6±0.04	2	1.5	40	m	3.53
9	1.0±0.07	0.25±0.02	0.75±0.02	5	3	25	sm	3.53
10	0.8±0.05	0.4±0.08	0.4±0.04	0	1	50	M	2.82
11	0.8±0.07	0.2±0.06	0.6±0.1	5	3	25	sm	2.82
12 y 13	0.8±0.07	0.1±0.08	0.7±0.06	7.5	7	14.3	st	2.82
14	0.8±0.06	0.2±0.04	0.6±0.07	5	3	25	sm	2.82
15	0.7±0.03	0.3±0.06	0.4±0.07	1.4	1.33	43	m	2.47
16 y 17	0.7±0.04	0.2±0.06	0.5±0.08	4.3	2.5	28.6	sm	2.47
18 y 19	0.6±0.05	0.3±0.06	0.3±0.07	0	1	50	M	2.12
20 y 21	0.6±0.04	0.25±0.02	0.35±0.04	1.6	1.4	41.6	m	2.12
22	0.6±0.09	0.2±0.06	0.4±0.06	3.3	2	33.3	sm	2.12
23	0.6±0.04	0.1±0.06	0.5±0.1	6.6	5	16.7	st	2.12
24	0.5±0.04	0.25±0.02	0.25±0.02	0	1	50	M	1.76
25	0.5±0.05	0.15±0.02	0.35±0.02	4	2.33	30	sm	1.76
26	0.5±0.08	0.25±0.04	0.25±0.02	0	1	50	M	1.76
27	0.5±0.04	0.2±0.04	0.3±0.08	2	1.5	40	m	1.76
28	0.4±0.04	0.15±0.02	0.25±0.02	2.5	1.4	41.6	m	1.41
29	0.3±0.04	0.15±0.02	0.15±1.37	0	1	50	M	1.06
30	0.2±0.06	0.1±0.01	0.1±0.05	0	1	50	M	0.70
	<b>0.94±0.675*</b>	<b>0.26±0.126*</b>	<b>0.67±0.63*</b>			<b>33.77±13.72*</b>		



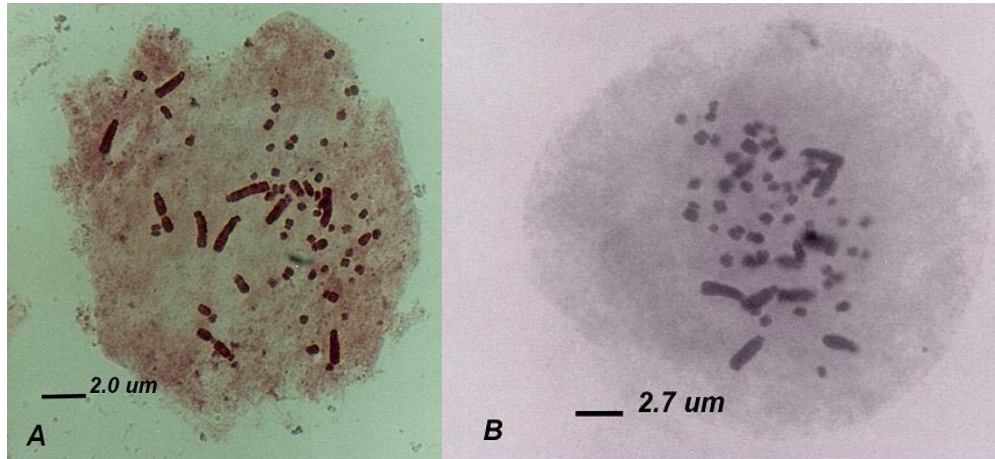


Fig. 2. Células mitóticas. (A). *A. karwinskii* Zucc. (B). *A. macroacantha* Zucc. con número cromosómico  $2n = 2x = 60$ . Zona de Zapotitlán Salinas, Puebla. (1000 x). El cariotipo bimodal que es característico del género *Agave* (cinco cromosomas largos y 25 cromosomas pequeños en el complemento haploide) está representado en la serie diploide de las especies estudiadas (Para definir las tendencias o los patrones de evolución con respecto al número total de brazos mayores que forman cada cariotipo (García, 1990), se calculó el número fundamental, el cual fue de 106 para ambas especies. Para establecer las diferencias en tamaño y relación de brazos entre cromosomas no homólogos (Romero-Zarco, 1986) de los dos genomas aquí analizados se obtuvo el índice de asimetría intracromosomal, el cual fue de 0.34 para *A. karwinskii* y de 0.42 para *A. macroacantha*. El índice intercromosomal de *A. karwinskii* fue de 0.74 y para *A. macroacantha* de 0.72 (ver Tabla 1))

### Posición del centrómero

En *A. karwinskii* se observó que en los 30 pares cromosómicos ( $2n$ ) la posición del centrómero es como sigue: tres pares telocéntricos, cuatro pares subtelocéntricos, cuatro pares metacéntricos, cinco pares submetacéntricos y 14 pares metacéntricos (en el sentido estricto M); y en *A. macroacantha*: dos pares telocéntricos, cinco pares subtelocéntricos, nueve pares metacéntricos, siete pares submetacéntricos y siete pares metacéntricos (M) (Figs. 3 y 4).

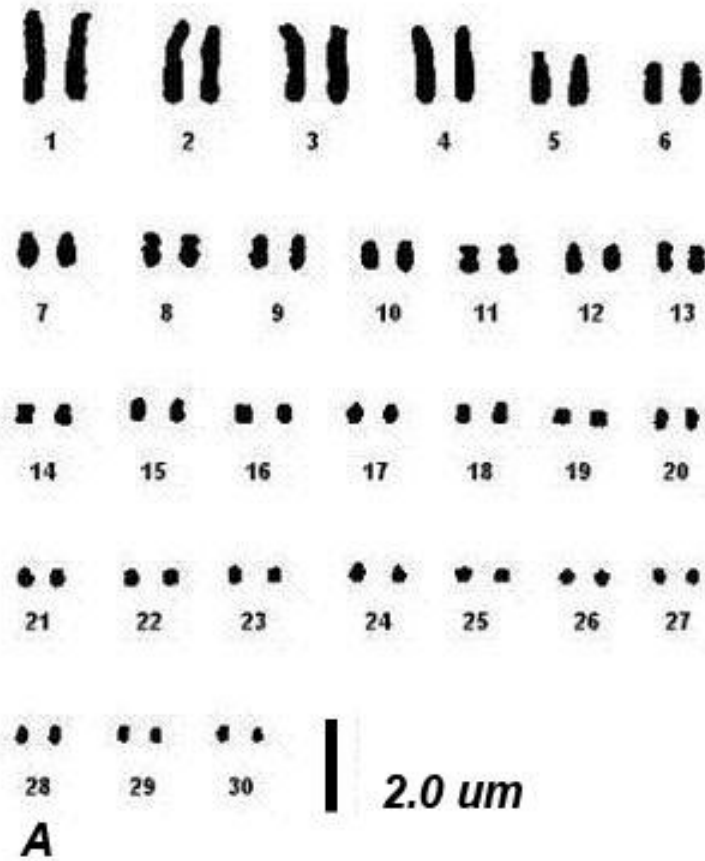


Fig.3. Cariograma e ideograma de: (A) *Agave karwinskii* Zucc.  $2n=2x=60$

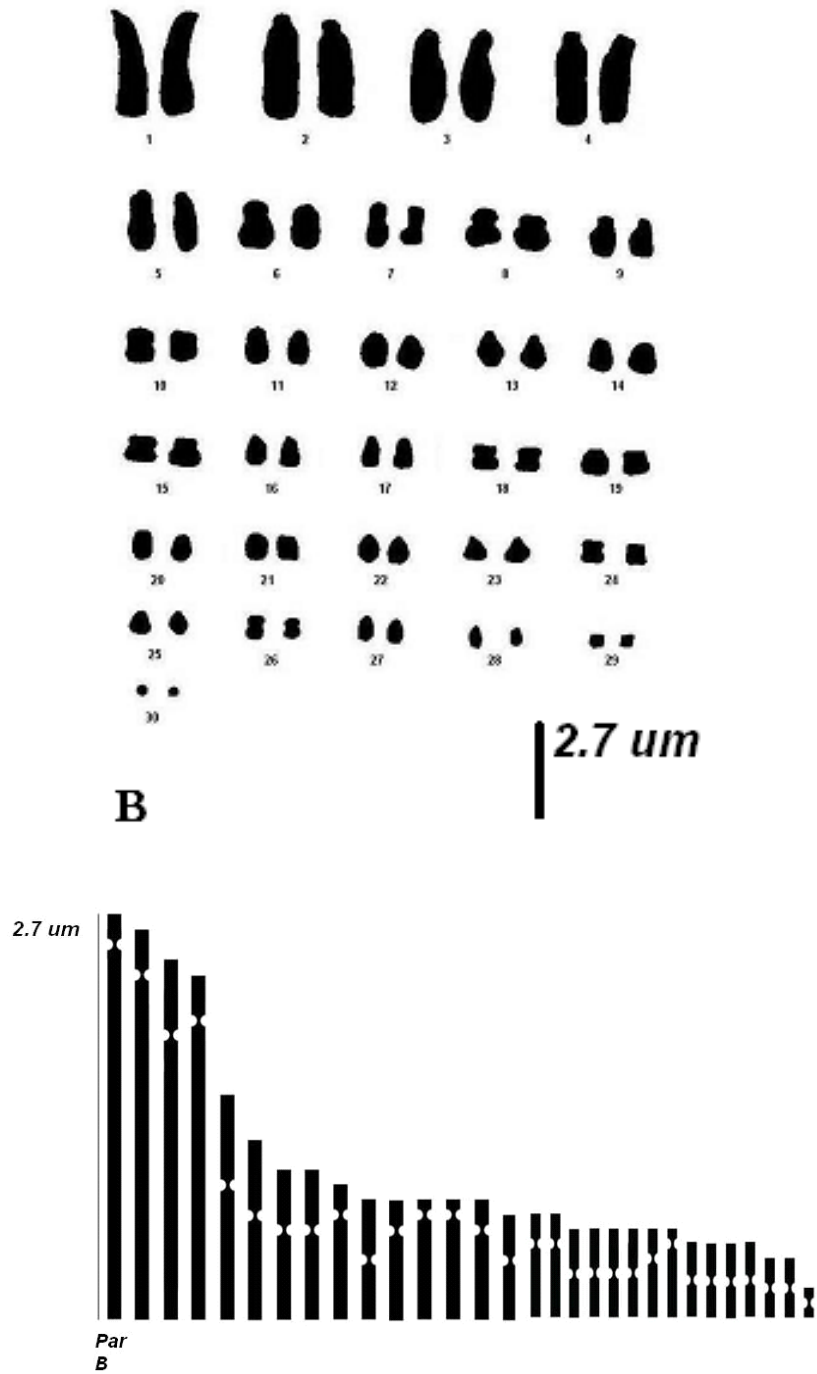


Fig.4. Cariograma e ideograma de (B) *A. macroacantha* Zucc.  $2n = 2x = 60$

La morfología cromosómica varió entre las clases metacéntricas (M y m) y telocéntricas (t y st). Los cromosomas metacéntricos (M y m) para *A. karwinskii* y *A. macroacantha* están presentes en un 59 y 53%, respectivamente; mientras que la clase submetacéntrica es de un 23% para *A. macroacantha* y de 17% para *A. karwinskii* y las clases telocéntricas y subtlocéntricas es de un 24% para ambas especies.

Los pares cromosómicos, de las dos especies, con la misma posición centromérica fueron: 1, 2, 3, 6, 8, 12, 17, 18, 19, 26, 29 y 30; es decir, un 40 % de su morfología es similar.

La longitud de los cromosomas grandes en el nivel ínter específico está en un rango de 2.7 $\mu$ m a 1.1 $\mu$ m, mientras que los cromosomas cortos tienen un rango de 1.2  $\mu$ m a 0.2  $\mu$ m.

El índice centromérico promedio (i) fue de 36 y 33 para *A. karwinskii* y *A. macroacantha*, respectivamente. Los tamaños cromosómicos promedio del genomio fueron para *A. karwinskii* de 0.65  $\mu$ m, variando entre 2.0 y 0.3  $\mu$ m y para *A. macroacantha* de 0.94  $\mu$ m, variando entre 2.7 y 0.2  $\mu$ m (Tabla 1).

Las longitudes totales del set haploide para *Agave karwinskii* fue de 19.5 $\mu$ m y de 28.3  $\mu$ m para *A. macroacantha* (Tabla 1). En estas especies no se observaron satélites en los brazos cromosómicos.

## DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación confirman las características citogenéticas y taxonómicas de la familia Agavaceae (Granick, 1944; Cave, 1964; Castorena-Sánchez et al., 1991), particularmente el número cromosómico básico  $x=30$  del género *Agave*.

El número cromosómico de estas dos especies de *Agave* es  $2n=2x=60$  y el cariotipo es bimodal (cinco cromosomas largos y 25 cromosomas pequeños en la condición haploide) dada la presencia de cromosomas grandes de tipo telocéntrico y subtlocéntrico (Figs. 3 y 4).

En el nivel de asimetría de sus cariotipos, se observó una variación mínima en el nivel intracromosómico ( $A_1$ ); para *A. karwinskii* fue de 0.34 y de 0.42 para *A. macroacantha*. Esta diferencia es debido a la presencia de 2 pares de cromosomas submetacéntricos en el genomio de *A. macroacantha* que corresponden al 23 % de su cariotipo en relación al 17 % en *A. karwinskii*; mientras que en sus genomios los cromosomas telocéntricos y subtlocéntricos representan un 24 %. Esto último se refleja en los valores promedio de sus índices centroméricos, 33 para *A. macroacantha* y 36 para *A. karwinskii*. Además, en el nivel de asimetría intercromosómica ( $A_2$ ) no hay variaciones importantes en la longitud de sus cromosomas (0.74 para *A. karwinskii* y 0.72 para *A. macroacantha*), por lo que los cariotipos de estas especies son clasificados como asimétricos de acuerdo a los criterios de Romero-Zarco (1986).

Al respecto, Levitsky (1931), menciona: que un cariotipo que presenta cromosomas mayoritariamente metacéntricos y de tamaño similar, es decir simétrico, es considerado primitivo, en contraposición a los cariotipos asimétricos en cuyo caso son derivados. Por tanto, esta condición asimétrica de los cariotipos puede ser tomado como un indicador de la dirección evolutiva de las especies aquí analizadas. Debido a la uniformidad en el número básico, al carácter bimodal de los cariotipos, la longitud total de los cromosomas y al valor similar de sus números fundamentales (Tabla 1), los cariotipos de *A. karwinskii* y *A. macroacantha* son conservados y habría operado un proceso de orto-selección cariotípica, confirmando así lo señalado por Brandham y Doherty (1998). Estos autores mencionan que la familia Agavaceae presenta cariotipos de esta clase, y sugieren que sus tendencias evolutivas se deben al incremento de DNA que se distribuye en estos complementos cromosómicos en proporción a la longitud del cromosoma. De esta manera, se conserva la uniformidad del cariotipo, y muy probablemente la cantidad de DNA ha experimentado cambios

mínimos en estas especies, como lo marca la similitud en el valor del número fundamental  $n.f = 106$ , y en la longitud de los brazos cromosómicos (Tabla 1).

Existen reportes de variación en el número cromosómico somático en plantas con reproducción vegetativa (Banerjee y Sharma 1988, 1989). En la subcuenca de Zapotitlán Salinas, estas dos especies representan en su mayoría poblaciones de origen asexual (clonal), en las cuales se registró una frecuencia baja de esta variación cromosómica, esto conduce en la biología de las plantas asexuales a tener una fuente de variación genética reducida, que podría participar significativamente en el proceso de especiación como lo señala Infante et al., (2003). Se sugiere que *A. macroacantha* tiene mayor avance evolutivo cromosómico que *A. karwinskii* debido a que la longitud total del set haploide es más grande (28.3), por sus valores más altos de DNA nuclear, por el bajo porcentaje (53%) de sus cromosomas metacéntricos (M, m, sm) y porque presenta un valor más alto de asimetría intracromosómica (0.42).

Por lo anterior, inferimos que hay una relación genética con su aspecto morfológico (Tabla 2), ya que estas dos especies viven en un ambiente de estrés de agua, la tendencia evolutiva sería disminuir su tamaño y altura, y en estas condiciones una altura mayor implica un gasto de agua para transportar nutrientes desde las raíces hasta el interior de la planta (Aguilera, 1970). Esto sería un rasgo primitivo marcado en *A. karwinskii*.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Programa de Apoyo a los Profesores de Carrera para la Formación de Grupos de Investigación (PAPCA) por el financiamiento otorgado a través del proyecto "Citogeografía y reproducción de *Agave karwinskii*, *Echinocactus platyacanthus* y *Acacia constricta* con fines de conservación en Zapotitlán Salinas, Puebla". Así mismo, agradecen al Dr. Rafael Lira Saade y al Dr. Oswaldo Téllez Valdés por sus valiosos comentarios y sugerencias al manuscrito y al Dr. Raymundo Montoya Ayala del Laboratorio de Edafología, UBIPRO-FES-Iztacala-UNAM, por la digitalización de los mapas.

## REFERENCIAS

- Aguilera, A. N., 1970. Suelos de las zonas áridas de Tehuacán, Puebla y sus relaciones con las cactáceas. Cactáceas y suculentas mexicanas. Boletín de la Sociedad Cactológica de México, 3: 51-63.
- Arizaga, S. y E. Ecurra, 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae) a tropical arid-land succulent rosette. American Journal of Botany, 89: 632-641.
- Barrera, C. C., 2001. Descripción y regionalización fisiográfica del valle de Zapotitlán, Puebla. 99 p. (Tesis profesional, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. México).
- Banerjee, S. y A. K. Sharma, 1988. Structural differences of chromosomes in diploid *Agave*. Cytologia, 53: 415-420.

- Banerjee, S. y A. K. Sharma, 1989. Structure and behaviour of chromosomes in four different species of *Agave*. *Cytologia*, 54: 667-672.
- Bhattacharyya, G. N., 1968. Chromosomes in different species of *Agave*. *Journal of Cytology and Genetics*, 3: 1-6.
- Brandham, P. E. y M. J. Doherty, 1998. Genome size variation in the Aloaceae, an angiosperm family displaying karyotypic orthoselection. *Annals of Botany*, 82 (supplement A): 67-73.
- Cave, S. M., 1964. Cytological observations on some genera of the Agavaceae. *Madroño*, 17: 163-169.
- Castorena-Sánchez, I., R. M. Escobedo y A. Quiroz, 1991. New cytotaxonomical determinants recognized in six taxa of *Agave* in the sections *Rigidae* and *Sisalanae*. *Canadian Journal of Botany*, 69: 1257-1264.
- Dávila, P. J., J. L. Villaseñor, R. Medina, A. Ramírez, A. Salinas, J. Sánchez y P. Tenorio, 1993. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Listados florísticos de México. Instituto de Biología. UNAM. México. 195 p.
- ESRI (Environmental Systems Research Institute), 1995. Geographic Information System version 3.1. Redlands, California.
- García-Mendoza, A., 2007. Los agaves de México. *Ciencias*, 87: 14-23.
- García, V. A., 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. 3era edición. Colegio de postgraduados. México. 144 p.
- Gentry, H. S., 1982. Agaves of Continental North America. The University of Arizona. Press United State of America. 670 p.
- Good-Avila, S. V., V. Souza, B. S. Gaut, y L. E. Equiarte, 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 103(24): 9124-9129.
- Granick, B. E., 1944. A Karyosystematic study of the genus *Agave*. *American Journal of Botany*, 31: 283-298.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), 1987. Síntesis geográfica, nomenclatura y anexo cartográfico del estado de Puebla, México. 56 p.
- Infante, D., G. González, L. Peraza-Echeverría y M. Keb-Llanes, 2003. Asexual genetic variability in *Agave fourcroydes*. *Plant Science*, 164: 223-230.
- Levan, A., K. Fredga y A. A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.

Levitsky, G. A., 1931. The Karyotype in systematics (On the base karyology of the subfamily Helleboreae). *Bulletin of Applied of Botany, Genetic and Plant Breeding*, 27 (1):220-240.

López-Galindo, F., D. Muñoz-Iniestra, M. Hernández-Moreno, A. Soler-Aburto, M. C. Castillo-López e I. Hernández-Arzate, 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 1: 19-41.

Martínez-Palacios, A., L. E. Eguiarte y R. G. Furnier, 1999. Genetic diversity of the endangered endemic *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in the Chihuahua desert. *American Journal of Botany*, 86: 1093-1098.

Moreno-Salazar, S. F., M. Esqueda, J. Martínez, y G. Palomino, 2007. Tamaño del genoma y cariotipo en *Agave angustifolia* y *A. rhodacantha* en Sonora, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30: 13-23.

Osorio-Betancourt, O., A. Valiente-Banuet, P. Dávila y R. Medina, 1996. Tipos de vegetación y diversidad en el valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 59: 35-58.

Palomino, G., J. Dolezel, I. Méndez, y A. Rubluo, 2003. Nuclear genome size analysis of *Agave tequilana* Weber. *Caryologia*, 56: 37-46.

Palomino, G., J. Martínez e I. Méndez, 2005. Citotipos en *Agave angustifolia* Haw. determinados por citometría de flujo y análisis de sus cariotipos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21: 49-54.

Parker, K. C., D. W. Trapnell, J. L. Hamrick, W. C. Hodgson y A. J. Parker, 2010. Inferring ancient *Agave* cultivation practices from contemporary genetic patterns. *Molecular Ecology*, 19: 1622-1637.

Pinkava, D. J. y M. A. Baker, 1985. Chromosome and hybridization studies of agaves. *Desert Plants*, 7: 93-100.

Pinkava, D. J., B. D. Parfitt, M. A. Baker y R. D. Worthington, 1992. Chromosome numbers in some cacti of western north America VI, with nomenclatural changes. *Madroño*, 39: 98-113.

Rivera, C. J., 1983. Estudio citogenético y fitogeográfico de *Agave aff. tequilana* y *A. karwinskii* en los valles de Tehuacán, Puebla y centrales de Oaxaca. 218 p. (Tesis profesional, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México, México).

Robert, L. M., K. Yoong-Lim, L. Hanson, F. Sánchez-Teyer, D. M. Bennett, R. A. Leitch y J. I. Leitch, 2008. Wild and agronomically important *Agave* species (Asparagaceae) show proportional increases in chromosome number, genome size, and genetic markers with increasing ploidy. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 158: 215-222.

Romero-Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon*, 35: 526-530.

Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México. 432 p.

Smith, C., 1965. Flora. Tehuacan Valley. Fieldiana Botany, 31:101-106.

Vázquez, R. A., 1977. Estudio citogenético y de variación en una población de *Agave atrovierens*. 55 p. (Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México).

BIOCYT (Biología, Ciencia y Tecnología), año 3, número 11, julio-septiembre 2010, publicación trimestral, editada por la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, Av. Insurgentes Sur s/n, Ciudad Universitaria, Colonia Copilco Universidad, delegación Coyoacán, México, D. F. C. P. 04360, por la FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, Av. De Los Barrios, número 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, México, C. P. 54090. Teléfono 56 23 11 73. Correo electrónico: [soportebiocyt@campus.iztacala.unam.mx](mailto:soportebiocyt@campus.iztacala.unam.mx) [hvazquez@campus.iztacala.unam.mx](mailto:hvazquez@campus.iztacala.unam.mx) Editor responsable Horacio Vázquez López, Reserva de Derechos al uso Exclusivo 04-2009-121617011000-203, ISSN en trámite número de Folio 018439. Responsable de la última actualización de este número José Ángel Lara Vázquez, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Avenida De Los Barrios, número 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, México, C. P. 54090, fecha de última modificación el día 24 de noviembre de 2010. Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente la postura del editor de la revista.

**Se autoriza la reproducción (sin fines de lucro) total o parcial de los contenidos e imágenes de la revista, citando la fuente completa y la dirección electrónica.**