

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y DE CALIDAD DE CÉSPED Y  
DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE PLOIDÍA DE ECOTIPOS DE ZACATE  
BÚFALO {*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.}**

**ROCÍO EDELMIRA HERNÁNDEZ CALDERA**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial**

**para obtener el Grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**EN FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**“ANTONIO NARRO”**



**Programa de Graduados**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila. México**

**Octubre de 2005**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y DE CALIDAD DE CÉSPED Y  
DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE PLOIDÍA DE ECOTIPOS DE ZACATE**

**BÚFALO {*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.}**

Tesis

Por

**ROCÍO EDELMIRA HERNÁNDEZ CALDERA**

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como  
requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO**

**COMITÉ PARTICULAR**

Asesor Principal

---

Ph. D. Juan Manuel Martínez Reyna

Asesor

---

Ph. D. M. Humberto Reyes Valdés

Asesor

---

Ph. D. Jorge Raúl González Domínguez

Asesor

---

Ph. D. Heriberto Díaz Solís

---

Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Octubre de 2005

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme dado la oportunidad de superarme y ser uno mas de sus profesionistas.

Al Dr. Juan Manuel Martínez Reyna por su apoyo y paciencia en el desarrollo de este trabajo, muchas gracias por sus enseñanzas y por haberme brindado su amistad y su tiempo.

Ph. D. M. Humberto Reyes Valdés por todo el apoyo y orientación en la realización de este trabajo, muchas gracias por su amabilidad, por sus enseñanzas y sugerencias.

Ph. D. Jorge Raúl González Domínguez por su gran amistad que es muy valiosa para mi, muchas gracias por sus enseñanzas, tiempo y apoyo en la realización de este trabajo.

Ph. D. Heriberto Díaz Solís, gracias por su amabilidad y su laboriosa colaboración en la revisión de este trabajo.

M.C. Francisca Ramírez, Lety Portos y Pedro, gracias por brindarme su amistad, por todas sus enseñanzas y apoyo desinteresado en este trabajo.

A Josué y David muchas gracias por su amistad, por los consejos, experiencia y conocimientos que me brindaron.

A Elizabeth y Lulú muchas gracias por sus consejos, amistad y cariño.

A mis compañeros Eduardo, Noe, Roberto, Oscar, Francisco, Flavio, Margarito, Luís, Juan, José, Daniel, Reinaldo, Marcos y Leobardo por su amistad, por todos esos momentos tan especiales que compartimos, porque cada uno ha sido parte especial para mi, muchas gracias por los consejos, experiencia y conocimientos que me brindaron.

## **DEDICATORIA**

Especialmente a Dios por brindarme la vida, por darme a mi familia, a mis amigos y la oportunidad de vivir este momento.

A mis padres Ezequiel Hernández y Ángela Caldera por su gran amor, comprensión, educación, sacrificios y confianza para salir adelante, con todo mi amor y cariño.

A mis hermanos y sobrinos por darme cariño, motivación para seguir siempre adelante.

A julio Cesar por todo su cariño y apoyo brindado.

**COMPENDIO**

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y DE CALIDAD DE CÉSPED Y  
DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE PLOIDÍA DE ECOTIPOS DE ZACATE  
BÚFALO {*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.}**

**POR**

**ROCÍO EDELMIRA HERNÁNDEZ CALDERA**

**MAESTRIA EN CIENCIAS**

**FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. OCTUBRE 2005.**

**Dr. Juan Manuel Martínez Reyna. –Asesor-**

**Palabras clave:** *Buchloe dactyloides*, Características morfológicas y de  
calidad, Análisis Componentes Principales, Nivel de  
ploidía, Análisis de Clusters.

Una colección de 69 materiales de la gramínea *Buchloe dactyloides* fue caracterizada y agrupada con base en las características morfológicas y de calidad, evaluadas en campo. En los análisis de componentes principales (ACP) no se definieron bien los grupos por lo cual se realizó un análisis de clusters, el cual permitió hacer grupos con base en las características morfológicas-calidad, morfológicas y de calidad, donde se lograron definir los mejores materiales de acuerdo a las características evaluadas, los materiales B 61 (4x) y B62 (2x) fueron los que tuvieron un mejor comportamiento por lo que se deben evaluar poblaciones más grandes con el propósito de mejorar estos materiales. Se puede decir que de manera general los materiales diploides y tetraploides presentan características morfológicas más finas, en cambio los hexaploides presentan características un poco más gruesas.

En el laboratorio se determinó el nivel de ploidía de 12 materiales, con la finalidad de evaluar la eficiencia de la citometría de flujo. El material diploide se encuentra en menor cantidad, así como el tetraploide es el material más común. En el material diploide se realizó un análisis de morfología y apareamiento cromosómico, se formaron 2 grupos uno de cromosomas pequeños y el otro de grandes; el grupo de cromosomas pequeños lo formaron 6 pares de cromosomas homólogos y el de grandes 4 pares de cromosomas homólogos. La mayoría de los cromosomas pueden ser metacéntricos o submetacéntricos y cuando menos hay un telocéntrico o subtlocéntrico. Se encontraron cromosomas asociados al nucléolo por lo que pueden presentar constricciones secundarias (NORs) las que al parecer se incrementan con el nivel de ploidía. Se observó un apareamiento bivalente en forma de anillo.

**ABSTRACT**

**MORPHOLOGICAL AND QUALITY CHARACTERIZATION OF GRASS AND  
THE PLOIDIA LEVEL DEFINITION IN BUFALO GRASS ECOTIPES {*Buchloe  
dactyloides* (Nutt.) Engelm.}**

**BY**

**ROCÍO EDELMIRA HERNÁNDEZ CALDERA**

**MASTER OF SCIENCE**

**PLANT BREEDING**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. OCTOBER 2005.**

**Dr. Juan Manuel Martínez Reyna. – Advisor -**

**Keys Words:** *Buchloe dactyloides*, Characteristics Morphological and  
Quality, Main Component Analyses, Ploidia Level,  
Cluster Analysis.



69 accessions set of *Buchloe dactyloides* was described and grouped using morphological and quality variables on field. In the main component analyses (ACP) there were not possible to define different groups, and then we carried out a cluster analysis, which allowed us to identify several groups on base the morphological – quality characteristics, morphological and of quality. On this way, the best genotypes were, B 61 (4x) and B62 (2x), because had better phenotypes and characteristics than the others. Those materials should be incorporated in an improving program. In a general way, the diploids and tetraploids showed better morphological characteristics than the hexaploids.

In laboratory, 12 genotypes ploidia level were defined trying to evaluate the flow cytometry efficiency. There were less diploid accessions than the tetraploids, witch were the most common. The diploid accessions were analyzed by morphological and chromosomal coupled, the results showed two groups, containing small and biggest chromosomes; the first one group had 6 homologous chromosomes pairs and the second one just 4. Almost every chromosome was metacentric or submetacentric and just only one was a telocentric or subtelocentric chromosme. There were associated chromosomes to nucleolo, suggesting secondary constrictions (NORs) manifestation, which seems increased with the ploidia level. A bivalent ring shape coupled was observed.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Especies de zacate más utilizadas como césped.....	4
Características del zacate Búfalo.....	4
Importancia del zacate Búfalo.....	5
Variables Morfológicas y de Calidad.....	6
Importancia de la Clasificación de Materiales.....	7
Análisis Multivariado.....	8
Análisis de Componentes Principales.....	9
Análisis de Clusters.....	12
Cariotipo.....	13
Número Cromosómico.....	14
Regiones Organizadoras Núcleolares.....	14
Nivel de Ploidía.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Localización del Experimento.....	18
Material Genético.....	18
Incremento del Material Vegetativo.....	21
Establecimiento del Experimento en Campo.....	22
Estudio Citogenético.....	22
Preparaciones Meióticas.....	22

Preparaciones Mitóticas.....	24
Evaluación Fenotípica.....	27
Variables Evaluadas.....	27
Metodología de la Evaluación.....	29
Análisis Estadísticos.....	29
Análisis de Componentes Principales.....	29
Análisis de Clusters.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
Estudio Citológico.....	32
Nivel de ploidía.....	32
Morfología y Apareamiento Cromosómico.....	34
Análisis de Varianza.....	37
Análisis de Componentes Principales.....	39
ACP de 69 Materiales.....	39
ACP de variables morfológicas-calidad.....	39
ACP de variables morfológicas.....	42
ACP de variables de calidad.....	45
ACP de 45 Materiales.....	48
ACP de variables morfológicas-calidad.....	48
ACP de variables morfológicas.....	52
ACP de variables de calidad.....	55
Agrupación de los Materiales.....	58
Variables no Analizadas.....	65
RESUMEN.....	70
CONCLUSIONES.....	73
LITERATURA CITADA.....	75

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Pág.
3.1 Sitio de colecta y nivel de ploidía de los materiales evaluados de zacate Búfalo ( <i>Buchloe dactyloides</i> ).....	19
3.2 Sitio de colecta y rango de altitud de los materiales .....	21
4.1 Nivel de ploidía obtenido en células meióticas en diacinesis de materiales evaluados de zacate Búfalo ( <i>Buchloe dactyloides</i> ).....	32
4.2 Cuadrados medios de ANVA de 11 variables morfológicas y de Calidad .....	38
4.3 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas-calidad con cada uno de los componentes .....	40
4.4 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas con cada uno de los componentes.....	43
4.5 Coeficiente de correlación de las variables de calidad con cada uno de los componentes .....	46
4.6 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas-calidad con cada uno de los componentes .....	49

4.7 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas con cada uno de los componentes .....	53
4.8 Coeficiente de correlación de las variables de calidad con cada uno de los componentes.....	56
4.9 Agrupación de materiales usando las variables morfológicas calidad .....	61
4.10 Agrupación de materiales usando las variables morfológicas .....	62
4.11 Agrupación de materiales usando las variables de calidad .....	63
4.12 Resultados de las variables que no fueron analizadas.....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Pág.
2.1 Clasificación de los métodos estadísticos multivariados en función de las relaciones entre variables.....	9
4.1 Microfotografías del material B 106 ( $2n=2x=20$ ) en metafase de mitosis mostrando los pares de cromosomas homólogos.....	35
4.2 Microfotografías de meiosis en diacinesis, cromosomas asociados al nucléolo en los diferentes niveles de ploidía (A y B) B 106 material diploide, (C, D y E) B 111, (F y G) B 96 ♀ y (H) B 61 materiales tetraploides y (I) B127A y (J) B 128A materiales hexaploides.....	36
4.3 Distribución de las variables morfológicas-calidad en los primeros dos componentes principales.....	41
4.4 Distribución de los materiales con base en las variables morfológicas-calidad en los primeros dos componentes principales.....	42
4.5 Distribución de las variables morfológicas en los dos primeros componentes.....	44
4.6 Distribución de los materiales con base en las variables morfológicas en los dos primeros componentes principales.....	45

4.7 Distribución de las variables de calidad en los dos primeros componentes principales.....	47
4.8 Distribución de los materiales con base en las variables de calidad en los primeros dos componentes principales.....	48
4.9 Distribución de las variables morfológicas-calidad en los primeros dos componentes.....	50
4.10 Distribución del nivel de ploidía de los materiales en los dos primeros componentes principales con base en las variables morfológicas-calidad.....	51
4.11 Distribución de las variables morfológicas en los primeros componentes principales.....	54
4.12 Distribución del nivel de ploidía de los materiales en los dos principales componentes con base en las variables morfológicas....	55
4.13 Distribución de las variables de calidad en base a los dos primeros componentes.....	57
4.14 Distribución y nivel de ploidía de los materiales en los dos primeros componentes con base en las variables de calidad.....	58
4.15 Grupos generados mediante el análisis de conglomerados usando variables A) morfológicas-calidad, B) morfológicas, y C) calidad.....	59
4.16 Agrupación de materiales con base en los dos primeros componentes principales y conglomerados usando las variables morfológicas	

-calidad para el grupo de los 69 (A) y 45 (B) materiales.....	64
4.17 <i>Anguina</i> hembra (derecha) y macho (izquierda).....	69
4.18 Daño provocado por <i>Anguina</i> en Búfalo ( <i>Buchloe dactyloides</i> ).....	69



## INTRODUCCIÓN

Los céspedes tienen una gran importancia ecológica, desafortunadamente han sido ignorados a pesar de los grandes beneficios que aportan al ambiente y a la humanidad. Los céspedes protegen a los suelos de la erosión provocada por el viento y el agua y resultan ser uno de los mejores amortiguadores de impurezas, ayudan a la infiltración del agua de lluvia, aumentan el almacenamiento de carbono, absorben sustancias tóxicas de la atmósfera, reducen la temperatura del medio ambiente, ayudan a la estabilización del fango, proporcionan hábitat y alimentación a la fauna, generan oxígeno, proporcionan una superficie resistente al desgaste por los deportes y otras actividades humanas, contribuyen a la salud física y mental, agregando estética y belleza ambiental a los alrededores, además de proporcionar elegancia y comodidad.

Mientras que en E.U. y Europa se ha dado importancia a la investigación de césped, en México casi no existe a pesar del gran uso en parques de diversión, en áreas deportivas (campos de golf, fútbol, etc.), manejo de fauna silvestre, en áreas de conservación de suelo y protección al medioambiente. La obtención de céspedes nativos de bajo mantenimiento es de gran importancia, particularmente para las regiones de clima semiárido del territorio nacional, ya que requieren de poca cantidad de agua y soportan climas con temperaturas extremas. Este tipo de regiones presentan problemas de baja disponibilidad de agua, suelos salinos, temperaturas extremas, suelos arcillosos, infértiles y degradados principalmente por la erosión eólica.

Una de las especies nativas es el zacate Búfalo (*Buchloe dactyloides*) que es una gramínea de ciclo perenne, resistente a la sequía, que crece en suelos arcillosos, tolera la salinidad de los suelos, tiene baja demanda de nutrientes, tolera temperaturas altas y heladas, es de porte bajo, además se puede usar como forraje ya que es de gran valor nutritivo.

Debido a los grandes beneficios que aporta se considera necesario estudiar esta especie. El objetivo general de este trabajo es obtener información que nos permita conocer mejor los diferentes materiales de zacate Búfalo colectados en los estados de Coahuila, San Luís Potosí, Zacatecas, Querétaro y Nuevo León, así como algunos materiales introducidos de EUA. Esto con la finalidad de que en un futuro se obtengan variedades mejoradas de este césped para regiones con problemas de disponibilidad de agua.

Los objetivos específicos son:

- Realizar una caracterización morfológica y de calidad de césped de materiales de zacate Búfalo.
- Realizar una agrupación de zacate Búfalo con base en la caracterización morfológica y de calidad de césped.
- Determinar la calidad de césped de materiales de zacate Búfalo.
- Determinar el nivel de ploidía de los diferentes materiales de zacate Búfalo.
- Realizar un análisis de morfología y apareamiento cromosómico.

## Hipótesis

Por la diversidad de las condiciones ambientales y geográficas donde fueron colectados:

1. Los materiales de zacate Búfalo presentan diferentes características morfológicas y de calidad de césped por lo que es posible clasificarlos en diferentes grupos.
2. Los materiales de zacate Búfalo tienen diferente nivel de ploidía.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

Se le designa como césped a la cubierta vegetal que cubre o tapiza la tierra; los céspedes están compuestos por plantas pertenecientes a especies y variedades muy diferentes según las características climáticas y del suelo en distintas regiones.

### **Especies de zacate más utilizadas como césped**

Algunas especies usadas como césped para zonas cálidas son: el zacate Bermuda (*Cynodon dactylon*), Zoysia (*Zoysia japónica*), Búfalo (*Buchloe dactyloides*), Bahía (*Paspalum notatum*), San Agustín (*Stenotaphrum secundatum*), Kikuyu (*Pennisetum clandestinum*), y para zonas templadas: Ballico o Rye-grass inglés (*Lolium perenne L.*), Bentgrass (*Agrostis spp*), Festuca Gigante (*Festuca arundinacea*), Festuca roja (*Festuca rubra*) y zacate Kentucky (*Poa pratensis*) (Brede, 2000).

### **Características del zacate Búfalo**

El zacate búfalo es la única especie nativa de importancia como césped en Norteamérica. Es una planta estolonífera de ciclo perenne, de color gris verdoso, de clima cálido, resistente a la sequía, tolera temperaturas altas y heladas, es de porte bajo; presenta alturas de 5-30 cm, sus limbos son cortos y enroscados y varían de tamaño de

2-10 cm de longitud y de 1-3 mm de ancho, su raíz es fibrosa. Es una especie dioica y en algunas ocasiones presenta plantas monoicas; la inflorescencia femenina es más corta, se encuentra formando pequeñas agrupaciones, la inflorescencia masculina presenta de 1-4 ramificaciones (Sierra *et al.*, 1981)

Existe una gran diversidad de germoplasma de zacate búfalo, su número básico de cromosomas es  $x=10$ , se ha reportado que presenta diferentes niveles de ploidía; diploides, tetraploides, pentaploides y hexaploides. El primer pentaploide fue encontrado por Johnson *et al* en 1998 al estudiar el nivel de ploidía en poblaciones de clones de zacate búfalo en EUA, en donde Johnson *et al.*, (2001), encontraron que de 273 materiales evaluados, el 73 por ciento eran hexaploides. Huff *et al.*, (1993) y Johnson *et al.*, (1998) mencionan que las diferencias en la tolerancia a las heladas entre materiales de zacate búfalo se pueden relacionar en parte con los niveles de ploidía.

### **Importancia del zacate Búfalo**

El zacate búfalo es de gran importancia como césped ya que soporta climas con temperaturas extremas, es altamente resistente a la sequía, su requerimiento en fertilizante es muy bajo, su porte bajo reduce las podas y consecuentemente los gastos para su mantenimiento disminuyen, tiene una gran adaptación a muchos tipos de suelo, desde ligeramente ácidos hasta moderadamente alcalinos, prefiere texturas arcillosas, compactadas y profundas (Brede, 2000). Johnson *et al.*, (2000) mencionan que el zacate búfalo presenta una gran habilidad para tolerar cortes bajos. Qian *et al.*, (2001) realizaron un estudio en zacate búfalo en 6 ecotipos para evaluar la resistencia a las

heladas, tomando como variables la sobrevivencia de estolones, así como el crecimiento de la raíz, y encontraron que los ecotipos 91-118 y Tatanka, toleraron hasta -22 °C. Un estudio realizado por Huff *et al.*, (1993) indicó que los materiales hexaploides de zacate búfalo toleran más las heladas que los diploides y tetraploides.

### **Variables Morfológicas y de Calidad**

Rosas, (2003) mencionó que entre las variables importantes para determinar la calidad, está la altura de césped; define el número y tipo de podas, la densidad; define la cobertura y uniformidad del césped, el ancho del limbo; define la textura del césped, la longitud del limbo; representa la capacidad fotosintética del material y la cobertura; representa la uniformidad del césped.

Johnson *et al.*, (2000) realizaron una investigación en plantas masculinas y femeninas de zacate búfalo para determinar la tolerancia a corte bajo, tomando el color y la cantidad de material que logró sobrevivir a 1.6 cm en altura de corte, encontraron que tienen mejor calidad los materiales femeninos porque su inflorescencia se oculta entre las hojas y es del mismo color. Así mismo, mencionan que la calidad y tolerancia a corte bajo en zacate búfalo es heredable, coincidiendo con otros autores (Klingenberg, 1992., Browning *et al.*, 1994).

## **Importancia de la Clasificación de Materiales**

Para poder aprovechar los recursos vegetales es importante realizar agrupaciones de ecotipos, con características similares, cuyo agrupamiento permita un mayor conocimiento y posible sistematización de los recursos genéticos disponibles. Con el agrupamiento es más sencillo y eficiente manejar y evaluar materiales. La clasificación permite hacer referencia a grupos con características semejantes y no a individuos, lo que facilita el uso de recursos genéticos y de germoplasma.

La clasificación según Guevara (1983) comprende una serie de algoritmos tendientes a formar grupos más o menos homogéneos de variables o individuos y eventualmente establecer jerarquías de cercanía.

## **Análisis Multivariado**

Los métodos multivariados son un conjunto de técnicas que en su gran mayoría tienen un carácter exploratorio y no tanto inferencial. Poseen la propiedad de poder enfrentar a diferentes variables o factores independientes, juntos con una o más variables dependientes.

Los objetivos de los métodos multivariados son:

1) La Simplificación: Los métodos multivariados son un conjunto de técnicas que permiten al investigador interpretar y visualizar conjuntos grandes de datos (tanto en individuos como en variables).

2) La Relación: Encontrar relaciones entre variables, entre individuos y entre ambos.

Los métodos multivariados se clasifican en:

1) Dirigidos o motivados por las variables (columnas): se enfocan en las relaciones entre variables. Ejemplos: matrices de correlación, análisis de componentes principales, análisis de factores, análisis de regresión y análisis de correlación canónica.

2) Dirigidos o motivados por los individuos (observaciones, renglones): se enfocan en las relaciones entre individuos. Ejemplos: análisis discriminante, análisis de clusters (cúmulos) y análisis multivariado de varianza.



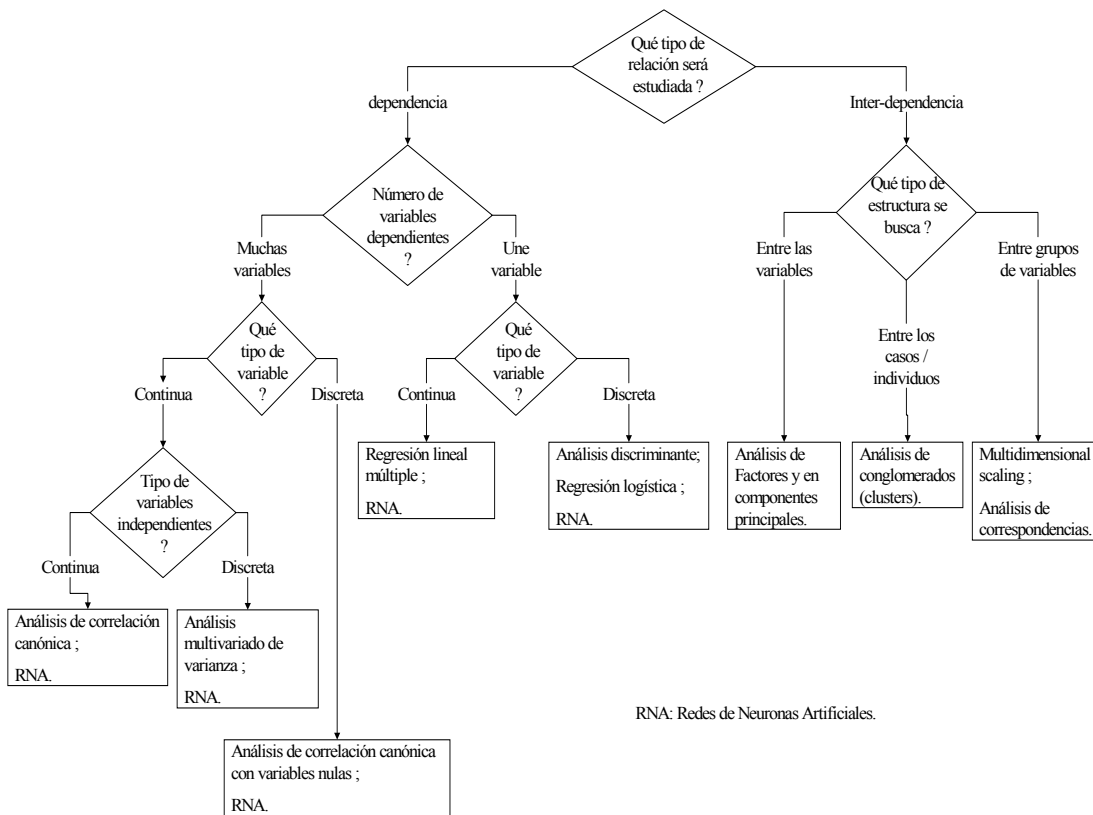


Figura 2.1 Clasificación de los métodos estadísticos multivariados en función de las relaciones entre variables.

### Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales (ACP) es una técnica estadística considerada como método básico de ordenación (Pielou, 1969).

El ACP es un procedimiento multivariado que permite transformar un conjunto de variables en otro conjunto nuevo de variables (Componentes Principales) que tienen las siguientes características (Isebrands y Crow, 1975):

1. Las nuevas variables son funciones lineales de las variables originales.
2. Son ortogonales, es decir, independientes unas de otras.
3. La variación total entre ellas es igual a la variación total de las variables originales de tal forma que las diferencias entre las variables observadas no se pierde en la transformación.
4. La varianza asociada con cada nueva variable se ordena en forma decreciente.

Vargas, (1984) menciona que las nuevas variables se construyen tomando todas las variables originales simultáneamente, por lo que cada componente principal mide ciertas dimensiones (características) comunes subyacentes o latentes. En este sentido una asunción básica del ACP es que la variación observada es causada por el efecto que los factores subyacentes tienen sobre cada una de las variables originales (Isebrands y Crow, 1975).

El ACP es una técnica exploratoria de construcción de variables artificiales que no necesariamente pueden tener un significado físico. Con relación al tipo de variables, pueden incluirse todas las variables que se consideren importantes, siempre y cuando sean caracteres cuantitativos continuos aunque también acepta variables discretas que se aproximan adecuadamente a un tipo continuo (Isebrands y Crow, 1975; Smith *et al.*, 1981; Martínez, 1991), y de tipo ordinal: vigor, amacollamiento y estimación de rendimiento, medidas en escalas numéricas (Farias *et al.*, 1983).

Una decisión que hay que tomar al realizar un ACP es el tipo de matriz que se utilizará: la de varianza y covarianza o la de correlaciones. Si las variables ordinales

están medidas en unidades distintas o con rangos dispares se deben estandarizar, lo que implica que el análisis se hará sobre la matriz de correlaciones (Isebrands y Crow, 1975). En este caso la suma de las varianzas (valores característicos) de todos los componentes principales resultantes serán igual a  $p$ , el número de variables (Kendall y Stuart, 1976). Esto se debe a que una variable estandarizada tiene varianza unitaria. Una vez realizado el ACP se tiene que definir cuantos componentes principales deben retenerse, para una mejor interpretación de los resultados; a este respecto existen varios criterios que pueden seguirse:

1. Interpretar los componentes que expliquen, en forma conjunta cerca del 75 por ciento de la varianza total (Vargas, 1984).
2. Conservar aquellos componentes cuyo valor característico (varianza) sea mayor que uno y que aporte al menos un 5 por ciento de la varianza total (Vargas, 1984).
3. Considerar los primeros componentes principales hasta que se advierta una reducción marcada (punto de inflexión), ya sea en los valores característicos o en el porcentaje de varianza explicada en forma individual (Guevara, 1983).

Ye, *et al.*, (2001) realizaron una evaluación de 90 genotipos utilizando el análisis de componentes principales y conglomerados para identificar, seleccionar y caracterizar cuantitativamente materiales de triticales de mayor producción. Mencionando que el análisis multivariado de la información ofreció ventajas sobre el análisis univariado convencional porque permitió la caracterización y agrupamiento de genotipos así como la identificación de las relaciones entre las variables.

## Análisis de Clusters

El término análisis de clusters (conglomerados) abarca un número de diferentes algoritmos y métodos para agrupar objetos de características similares en categorías respectivas. El análisis de clusters es una herramienta exploratoria de análisis de datos, clasifica diferentes objetos en grupos de una manera que el grado de la asociación entre dos objetos es máximo si pertenecen al mismo grupo y mínimo si pertenece a otro grupo. El análisis de clusters se puede utilizar para descubrir las estructuras en datos sin proporcionar una explicación/interpretación. Es decir descubre simplemente las estructuras en datos sin explicar porqué existen.

El objetivo de Análisis de Clusters es dividir a los individuos de una base de datos en grupos, llamados clusters, de tal manera que los individuos de un mismo clusters tengan características semejantes con respecto a las variables medidas.

Para hacer un análisis de clusters es necesario medir de alguna manera la similaridad o disimilaridad entre dos observaciones multivariadas. Existen varias formas de medir la similaridad o disimilaridad entre observaciones. Las distancias más comunes son tres. Sean  $x_i$  y  $x_j$  dos observaciones multivariadas.

- 1) Distancia métrica o euclidiana. Es la norma del vector de diferencias de las dos observaciones,

$$d_{ij} = \{(x_i - x_j)' (x_i - x_j)\}^{1/2} = \sqrt{(x_{i1} - x_{j1})^2 + \dots + (x_{ip} - x_{jp})^2}$$

- 2) Distancia métrica o euclidiana estandarizada. Es la norma del vector de diferencias de las dos observaciones estandarizadas,

$$d_{ij} = \left\{ (z_i - z_j)(z_i - z_j) \right\}^{1/2},$$

donde  $z_i$  y  $z_j$  son las observaciones estandarizadas. Esta distancia es la más usada.

- 3) Distancia de Mahalanobis. Es una distancia euclidiana ponderada por la matriz de varianzas y covarianzas,

$$d_{ij} = \left\{ (x_i - x_j) \sum^{-1} (x_i - x_j) \right\}^{1/2}$$

Zamora *et al.*, (2002) evaluaron el rendimiento de materia seca de 86 líneas de variedades de triticale, así como determinaron la calidad nutritiva de los genotipos más rendidores y los clasificaron. El análisis de las variables rendimiento de materia seca, etapa fenológica y de calidad nutritiva se realizó mediante la técnica de análisis de clusters y componentes principales. Ellos mencionan que el análisis multivariado permite caracterizar y agrupar genotipos.

### **Cariotipo**

Es el conjunto de características que permiten reconocer la dotación cromosómica de una célula. El cariotipo es propio de cada especie y se identifica por el número, tamaño y forma de los cromosomas. Para su reconocimiento son importantes

ciertas características como la posición del centrómero, telómeros, región organizadora nucleolar (NORs) y la presencia de satélites.

Los pares de cromosomas iguales, denominados homólogos se ordenan por tamaños decrecientes si tienen el mismo tamaño se ordenan de acuerdo a la posición del centrómero. Para que la identificación sea más ajustada se realizan técnicas de tinción diferencial que delimitan regiones específicas en cada par de cromosomas, a esta técnica se le llama técnica de bandeado cromosómico.

### **Número Cromosómico**

La mayoría de las especies presentan un número característico de cromosomas. El número de cromosomas presente en las células vegetativas de una planta es el número somático, generalmente par, y se representa como  $2n$ . En las células reproductivas su número gamético de cromosomas se representa como  $n$ .

Para poder contar el número de cromosomas de una especie se deben buscar varias células en metafase mitótica donde se pueda visualizar el número, forma y tamaño de los cromosomas.

### **Regiones Organizadoras Nucleolares**

Las Regiones Organizadoras Nucleolares (NORs) son constricciones secundarias en las que los genes codifican a los ARNr. El número de nucléolos por núcleo en una

especie puede ser de uno al número máximo de NORs presente. Cada NOR puede formar un nucleolo o diferentes NORs puede asociarse para formar un nucleolo (Gosh, 1976). En plantas, normalmente todas las células de un individuo mantienen constante el patrón de NORs activos (Lacadena, 1996). Sin embargo, en algunas especies no todos los NORs presentes en las células son activos, este fenómeno es conocido como competencia nucleolar. La manifestación citológica de dicha competencia es la antiplastia, es decir la desaparición de la constricción secundaria debido a un cambio en la configuración de la cromatina (Lacadena, 1996). Este fenómeno ocurre principalmente en poliploides que se originaron de diploides con diferente número de NORs (Lacadena *et al.*, 1984).

Bouchan y Campbell, (1994), mencionan que en el cariotipo de cromosomas somáticos de la subespecie *Medicago sativa spp coerulea*, consiste en un par de cromosomas satelitados (cromosoma 8), tres pares de cromosomas submetacéntricos (del cromosoma 1-4) y tres pares de cromosomas cortos metacéntricos (cromosomas 5-7). En el genoma de la alfalfa (*Medicago sativa ssp. falcata*) el cromosoma 8 posee NOR; en arroz (*Oryza sativa*) se encontraron 4 cromosomas con región NOR y satélite (Kato, *et al.* 2003) y en Bromegrass (*Bromus riparius* Rehm) se encontró que el par 7 contiene un NOR (Metin *et al.*, 2001).

### **Nivel de Ploidía**

El término ploidía se refiere al número de grupos o juegos de cromosomas en una célula. Los organismos y las células haploides tienen un sólo grupo de cromosomas, los

organismos diploides son aquellos que tienen 2 juegos de cromosomas y los organismos con más de dos grupos de cromosomas se denominan poliploides.

El conocimiento del nivel de ploidía de las especies vegetales permite elaborar programas de mejoramiento genético que incluye la hibridación intra e inter específica.

El nivel de ploidía se puede determinar: por medio de observación citológica o por citometría de flujo.

La observación citológica se realiza en células somáticas en metafase y en células germinales en diacinesis. Las especies con un gran número de cromosomas y de tamaño pequeño pueden tener desventajas por lo que las técnicas no serán las mismas para todos los cultivos pero estas dependerán de la especie que se este analizando.

La citometría de flujo es un método analítico por el que se mide la emisión de múltiples fluorescencias la dispersión de células o partículas microscópicas, alineadas secuencialmente, mediante una corriente líquida laminar, cuando son presentadas de una en una y a una gran velocidad (hasta miles de células/segundo). Los parámetros que se pueden analizar por citometría de flujo son: parámetros nucleares, de superficie, extracelulares y citoplásmicos.

En varias especies vegetales el contenido de ADN y el nivel de ploidía se encuentran relacionados (Bennett, 1987), por lo que para determinar la ploidía de poblaciones grandes, para las cuales resulta laborioso cuantificar el número



cromosómico, se ha propuesto el uso de citometría de flujo (Galbraith *et al.*, 1983; De Laat *et al.*, 1987; Arumuganathan y Earle, 1991).

El empleo de citometría de flujo es una alternativa rápida que permite estudios poblacionales detallados respecto a la variación existente en niveles de ploidía (Galbraith *et al.*, 1983., De Laat *et al.*, 1987).

Johnson *et al.*, (2001) agrupó materiales de zacate Búfalo de acuerdo a la cantidad de ADN y niveles de ploidía y encontró diploides, tetraploides, pentaploides y hexaploides; con rangos de contenido de DNA de 0.92 a 0.93; 1.66 a 1.82; 2.17 a 2.26 y 2.44 a 2.77 pg respectivamente.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Localización del Experimento**

Los experimentos se establecieron bajo tres condiciones: a) En el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento, b) en invernadero y c) campo; todos ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila a una latitud de 25° 22" norte, una longitud de 101° 00" oeste, y a una altitud de 1742 m con una temperatura promedio anual de 19.8 °C.

### **Material Genético**

Se evaluaron 69 materiales de zacate búfalo (Cuadro 3.1), de los cuales 10 materiales fueron colectados en E.U.A. y 59 en los estados de Coahuila (Norte y Sur), Nuevo León, San Luís Potosí, Zacatecas (Norte) y Querétaro (Norte).

Cuadro 3.1 Sitio de colecta y nivel de ploidía de los materiales evaluados de zacate Búfalo (*Buchloe dactyloides*).

MATERIALES	SITIO DE COLECTA	N.P.*
B 7	Ejido Providencia, Saltillo, Coah.	4x
B 8	Santa Teresa, Saltillo, Coah.	4x
B 9	Derramadero, Saltillo, Coah.	4x
B 12	General Cepeda Km. 55, Coah.	4x
B 12P	Selección de B12.	4x
B 13	General Cepeda Km. 65, Coah.	4x
B 14 P	General Cepeda_Parras Km. 80, Coah. Selección de B 14 Parras Coah.	6x
B 15	San José Pata Galana, Parras Coah.	4x
B 20	Las Vigas, Arteaga, Coah.	4x
B 22	El Tunal, Arteaga, Coah.	4x
B 39	Arteaga, Coah.	4x
B 44	San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coah.	4x
B 45	La Siberia, Arteaga, Coah.	4x
B 50	Cuauhtemoc, Arteaga, Coah.	4x
B 52	Km 4 sur Carneros, Saltillo, Coah.	
B 54	Entronque Gómez Farías, Saltillo, Coah.	4x
B 55	Roca Montes, Saltillo, Coah.	4x
B 56	Concepción del Oro, Zac.	4x
B 56♀	Selección de B56.	4x
B 56♂	Selección de B56.	4x
B 59	San Tiburcio, Zac.	4x
B 61	Km 63 San Tiburcio, Zac.	
B 62	Real de Catorce, S.L.P.	2x
B 63♀	El Cedral, S.L.P.	4x
B 66	Fraccionamiento Miravalle, Saltillo, Coah.	4x
B 68	Laguna de Sánchez, N.L.	4x
B 70	Potrero Prieto, N.L.	4x
B 73	Galeana, N.L.	4x
B 75	Campo Experimental UAAAN, Zaragoza, Coah.	4x
B 76	Zaragoza-Acuña Km. 45, Coah.	4x
B 79	Km 5 al Norte Cd. Acuña, Coah.	
B 84	Acuña-Piedras Negras Km. 19.4, Coah.	6x
B 85	Km 46.3 Ent. Cd Acuña, Coah.	
B 86	Nueva Rosita, Coah.	4x
B 87	El Jonuco, N.L.	6x
B 88	Rancho Santa Anita, N.L.	6x

Cuadro 3.1	Continuación...	
<b>MATERIALES</b>	<b>SITIO DE COLECTA</b>	<b>N.P.*</b>
B 93 ♀	Presa Don Martín, Juárez, Coah.	4x
B 96 ♀	Selección Km 78 límites Coah-N.L. Pblo. Nvo., Coah.	
B 97	Santa Fé, Piedras Negras, Coah.	
B 98	Guerrero, Coah.	
B 99	Piedras Negras-Laredo Km. 118, Coah.	6x
B 100	Km 44 - 45 S.L.P. Matehuala-S.L.P.	
B 101	Entronque a la Purísima S.L.P.	
B 103	Km 44 S.L.P. - Zac.	
B 104	Km 36 S.L.P. - Zac. Ent. a La Parada.	
B 105	Hda. La Parada, S.L.P.	
B 106	Km 17 Mexquitic-Charcas, S.L.P.	
B 107	Km 51 Mexquitic-Charcas, S.L.P.	
B 111	Km 108 Charcas-Matehuala, S.L.P.	
B 113 A	Matehuala-Saltillo.	
B 114	Huachichil, Saltillo-Matehuala.	
B 116	Los Ríos, Cadereyta, Qro.	
B 117	Teques- Jalpan después de San Javier.	
B 118	Teques- Jalpan después de Camargo.	
B 119	Entrada Concepción del Oro, Zac.	
B 120	Saltillo-C. del Oro Zac. A 3 Km de límites.	
B 123	Saltillo-C. del Oro 1.2 km desp. Gpe. Victoria, Coah.	
B 124	OK.	
B 125	OK.	
B 126	OK.	
B 127	TX.	
B 127A	TX.	
B 128	OK.	
B 128A	OK.	
86120	Universidad de Nebraska.	4x
TECO	Selección de Texas y Colorado.	6x
A.TEX ♂	Selección de ALL TEX.	
B 12 X B 14	Cruzamiento.	5x
A.TEXB12-3	Hibrido número 3 de ALL TEX x B 12.	

\*Nivel de ploidía (N.P.) obtenido por Citometría de flujo. De Anda (2003) tesis de licenciatura.

El Cuadro 3.2. Muestra el rango de altitud de los materiales evaluados por sitio de colecta. La altitud mínima fue de 160 m y una máxima de 2620 m.

Cuadro 3.2 Sitio de colecta y rango de altitud de los materiales.

Sitio de colecta	Rango de altitud (msnm)
Coahuila Norte	160 – 400
Coahuila Sur	1500 – 2600
Nuevo León	250 – 1800
San Luís Potosí	1715 – 2620
Zacatecas Norte	1885 – 1960
Querétaro Norte	2030 – 2153
E.U.A (NE. OK. TX.)	600 – 800
Rango	160 – 2620

### **Incremento del Material Vegetativo**

De los 69 materiales se colectaron guías de las cuales se obtuvieron siete segmentos de nudo con fracción de entrenudo, se plantaron el 23 de abril de 2004 en siete conos de plástico por cada material para asegurar al menos cuatro plantas por material. Los conos se prepararon con medio para germinación Pro-Mix, se pusieron en charolas y se identificaron con abatelenguas. Se llevaron al invernadero 8 de la Universidad, donde se mantuvieron en el proceso de enraizamiento. Se les aplicó fertilizante semanalmente en una dosis de 3 g/l con la fórmula 20-30-10 (Grofol) y se regaron cada tercer día, o dependiendo de las condiciones ambientales.

## **Establecimiento del Experimento en Campo**

Tres plantas enraizadas por cada material se transplantaron el 7 de julio de 2004 a macetas de 4 galones (25 cm de diámetro y 30 cm de altura), transplantando una planta por maceta, las macetas contenían una mezcla de sustrato Pro-Mix y suelo en una relación 1:1, se utilizaron 207 macetas, tres macetas por material, se colocaron en tres grupos de 69 macetas por cada grupo se formaron dos hileras y se colocaron entre los invernaderos 2 y 3 de la UAAAN. Las macetas se fertilizaron cada 8 días con el fertilizante antes mencionado y se regaron según las necesidades de las plantas (cada tercer día). Se utilizó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones.

## **Estudio Citogenético**

El estudio se realizó en el laboratorio de Citogenética de la UAAAN, con anteras inmaduras y ápices de raíz. Donde se buscaron células en división meiótica y mitótica.

### **Preparaciones Meióticas**

#### Obtención del Material

Los microsporocitos en desarrollo son células en las que se puede encontrar la división meiótica, en ocasiones es difícil seleccionar flores en estado apropiado de desarrollo donde pueda observarse la división meiótica. El zacate búfalo presenta una inflorescencia masculina con maduración escalonada de la parte superior a la parte

inferior lo cual facilita el proceso de selección de las espiguillas para el análisis. Las inflorescencias fueron colectadas de las 7 AM a las 12 AM. Los factores ambientales como la temperatura y la humedad tienen gran influencia en la actividad metabólica de la planta, por lo que puede variar su período de floración.

### Fijación

Al colectarse las inflorescencias, se colocaron en pequeños frascos con fijador Farmer (75 por ciento de alcohol etílico y 25 por ciento de ácido acético) con la finalidad de matar instantáneamente el tejido y fijar las fases de la división celular sin que se deterioren los tejidos. Las inflorescencias permanecieron en fijador Farmer hasta su análisis.

### Procedimiento

De las inflorescencias que se encontraban en fijador Farmer, se tomaron algunas ramificaciones espigadas y se colocaron sobre una caja Petri para enjuagarlas con agua destilada, se disectó una espiguilla para extraerle las anteras, se colocaron en un porta objetos, se agregó una gota de colorante carmín propiónico. Con una aguja de disección curva se cortaron las anteras a la mitad y se aplastaron para liberar los microsporocitos y se extrajeron los residuos de las envolturas de las anteras, se mantuvieron en reposo durante 2 minutos hasta que se colorearon.

Se colocó un cubreobjetos sobre los microsporocitos disueltos en la gota de colorante, se calentó la preparación con un mechero de alcohol y se presionó suavemente, sin movimientos laterales sobre un papel filtro.

En revisión bajo el microscopio, si el aplastado no fue suficiente se vuelve a presionar, si los microsporocitos estaban sobre coloreados se agregaba una gota de ácido propiónico por los bordes del cubreobjeto y se volvía a presionar y a dar calor.

Se observó nuevamente al microscopio hasta que se obtuvo una buena diferenciación de color entre los cromosomas y el citoplasma, se selló la preparación en forma temporal con cera y a las 24 horas se selló en forma definitiva con bálsamo de Canadá. Se eligieron las mejores células en diacinesis de las diferentes preparaciones, se observaron al microscopio, se tomaron las microfotografías y sobre estas microfotografías se realizó el conteo de cromosomas (Hernández 1984).

## **Preparaciones Mitóticas**

### Obtención de Ápices

Para observar los cromosomas en el proceso de mitosis se requieren células de cualquier tejido que se encuentren en división activa. Los meristemos del ápice de la raíz son adecuados para este fin.

Las células en metafase se obtuvieron de guías de los diferentes ecotipos que se llevaron al laboratorio donde se colocaron en charolas con vermiculita (sustrato)



identificadas con abatelenguas para que cada uno de los nudos de las guías enraizaran, permaneciendo de 4-5 días en el sustrato, después se hicieron cortes de ápices radiculares a intervalos de 20 minutos con el fin de determinar la hora de mayor actividad en la división celular. Otra forma de obtener ápices de raíz de zacate búfalo fue colocando las guías en una bolsa de plástico sellada, con un poco de agua y manteniéndolas en una germinadora a 28°C. De esta forma se obtuvieron ápices de raíz en 14-16 horas con un tamaño adecuado (1.5-2 cm). Con este procedimiento fue más fácil observar el tamaño de la raíz y realizar el corte de los ápices.

#### Pretratamiento de Ápices

Después de haber cortado los ápices, se colocaron en 8 hidroxiquinoleína al 0.04 por ciento, por tres horas en oscuridad, con la finalidad de acortar los cromosomas y aumentar el número de células en metafase.

#### Fijación

Después del pretratamiento los ápices se pasaron al fijador Farmer con el propósito de preservar la organización del tejido, permaneciendo en esta solución hasta el momento de la hidrólisis.

#### Hidrólisis

Los ápices de raíz tratados con el fijador fueron lavados 3 veces con agua destilada con intervalos de 30 minutos en agua destilada, se enjuagaron nuevamente y se pasaron a ácido clorhídrico al 0.1 N por 10 minutos, luego se lavaron dos veces con agua destilada para eliminar el ácido, dejándolos nuevamente 30 minutos en agua destilada. Después se pasaron a buffer de citratos durante 30 minutos, se cortaron los ápices, dejando sólo los meristemas que pasaron a una solución de enzimas (celulasa y pectoliasa) colocándose en baño María a 37°C durante una hora, se eliminó la enzima mediante dos procesos de lavado con agua destilada y se dejaron en agua destilada.

### Estudio Microscópico

Los meristemas tratados se extrajeron con una pipeta y se colocaron sobre un portaobjetos con una gota de fijador Farmer. Con una aguja curva de disección se presionaron suavemente para extender las células meristemáticas, se enjuagó el portaobjetos con fijador Farmer para eliminar residuos de tejido. Se observó al microscopio colocando una gota de carmín y un cubreobjetos, se eligieron las mejores células disponibles de metafases mitóticas donde los cromosomas estuvieran bien definidos y separados, se tomó una microfotografía y se agruparon por pareja. El análisis se realizó con 1000 aumentos en un microscopio compuesto Carl Zeiss.

### Microfotografía

La microfotografía es una herramienta de utilidad para facilitar el análisis. Las fotografías se tomaron a color en un microscopio Vista Visión con cámara integrada

conectada a la computadora, verificándose la intensidad de luz y el contraste. Se tomaron las fotografías con 1000 aumentos. Con el programa Viewfinder versión 2.6.1. (1997-2001).

### **Evaluación Fenotípica**

La evaluación fenotípica de los ecotipos se realizó del 15 de julio de 2004 al 28 de noviembre de 2005, utilizando escalas para las variables cualitativas y para las cuantitativas, muestreos.

#### **Variables Evaluadas**

##### Morfológicas

- Planta

Altura (cm)

Número de guías

Longitud de las guías (cm)

- Hoja

Longitud (cm)

Ancho (mm)

Pubescencia (Escala de 1-3)

1=escasa, 2=intermedia y 3=abundante

- Entrenado

Longitud (cm)

Color (Escala de 1-4)

1=verde oscuro, 2=verde claro, 3=rojizo y 4=púrpura

Grosor (mm)

#### Calidad

- Cobertura (%)
- Textura (Escala de 1-3)
  - 1=fina, 2= media y 3=gruesa
- Color del pasto (Escala de 1-3)
  - 1=verde azulado, 2=verde obscuro y 3=verde limón
- Latencia
  - 1=alta, 2=media y 3=baja
- Presencia de enfermedades foliares (Escala de 1-3)
  - 1=nula, 2=poca y 3=alta

Para la evaluación se midieron 5 guías de cada material, de las variables longitud de entrenado (LE) (se midieron los entrenados del centro de la guía), largo de la hoja (LH), longitud de las guías (LG) y altura de planta (AP) se midieron con el uso de una regla; el diámetro de entrenado (DE) y ancho de la hoja (AH) se midieron utilizando un vernier (TRUPER). La cobertura (C) fue evaluada subjetivamente por medio del

porcentaje del área de la maceta cubierta por el zacate. La textura (T), latencia (L), color de entrenudo (CE) y color de pasto (CP) también fueron evaluadas subjetivamente utilizando las escalas antes mencionadas. Para evaluar la pubescencia (P) se cortaron 5 fracciones de guías de diferente tamaño de cada material, se depositaron en bolsas de polietileno identificadas con un marcador indeleble, se observaron acercando las guías a la luz para poder ver la cantidad de pubescencia principalmente en las hojas. Se evaluó el número de guías (NG), cobertura (C) y longitud de guías (LG) en dos ocasiones. La presencia de enfermedad (PE) foliar se evaluó haciendo uso de escalas antes mencionadas. Esta enfermedad foliar es causada por un hongo identificado como *Drechslera poeae* (Huston, 2000).

## **Metodología de la Evaluación**

### **Análisis Estadísticos**

Con la finalidad de observar si existe diferencia entre las variables y definir cuales se considerarían para el Análisis de Componentes Principales (ACP) y el análisis de clusters se realizó un análisis de varianza a los datos de las variables cuantitativas, utilizando el paquete estadístico SAS (2001).

### **Análisis de Componentes Principales**

1.-Se tabularon los datos de las repeticiones para formar una matriz de variables por material.

2.-A cada variable ( $X_j$ ) se le calculó la media ( $\bar{X}_j$ ) y la desviación estándar ( $S_j$ ), mediante las siguientes fórmulas:

$$(\bar{X}_j) = \left\{ \sum_{i=1}^n X_{ij} \right\} / n \quad \text{y} \quad S_j = \left\{ \sum_{i=1}^n X_{ij} - \bar{X}_j \right\} / (n-1)$$

Donde:

$n$  = número de materiales Para  $i= 1, 2, \dots, n$

$p$  = número de variables  $j=1, 2, \dots, p$

3.-Cada observación se estandarizó mediante el empleo de la siguiente fórmula.

$$Z_{ij} = (X_{ij} - \bar{X}_j) / S_j$$

Donde:

$n$  = número de materiales Para  $i= 1, 2, \dots, n$

$p$  = número de variables  $j=1, 2, \dots, p$

$Y Z \sim N(0,1)$

Debido a las diferentes unidades de medida de las variables, el ACP se realizó a partir de la matriz de correlaciones. Para ello se empleó la rutina de componentes

principales del programa Statistics 6.0. con la rutina se obtuvieron los eigenvalores y la varianza explicada.

Para el análisis se consideraron las variables morfológicas y de calidad en conjunto y por separado. Los materiales considerados en un primer análisis fueron en su totalidad (69 materiales) y en el segundo aquellos de los que se disponía de su nivel de ploidía (45 materiales). De tal forma que se realizaron seis ACP con los tres tipos de variables para los dos grupos de materiales.

### **Análisis de Clusters**

Se realizaron tres análisis de clusters para el agrupamiento de materiales por características morfológicas-calidad, morfológicas y de calidad para los 69 materiales. Para poder observar si existía alguna relación morfológica o de calidad con el nivel de ploidía y el lugar donde fueron colectados los materiales. Para este análisis se utilizó el paquete JMP versión 3.2.1 (1989-1997).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio Citológico

#### Nivel de ploidía

Se realizó el conteo cromosómico de 12 materiales (Cuadro 4.1), cuatro de los cuales ya se había determinado su nivel de ploidía por citometría de flujo, se escogieron estos materiales con la finalidad de comprobar la eficiencia del análisis por citometría de flujo realizados por De Anda (2003).

Cuadro 4.1 Nivel de ploidía obtenido en células meióticas en diacinesis de materiales evaluados de zacate Búfalo (*Buchloe dactyloides*).

Material	Nivel de ploidía
B 106	2x
B 61	4x
B 86	4x*
B 96♀	4x
B 98	4x
B 111	4x
B 12 x B14	5x*
B 127A	6x
B 75	4x*
B 88	6x*
B 79	6x
B 128A	6x

\*Nivel de ploidía por Citometría de Flujo.



En México el zacate Búfalo ha sido colectado en una región que se extiende desde 20° 31' a 29° 20' latitud norte y 98° 35' a 104° 24' longitud oeste. Los niveles de ploidía de 41 materiales de zacate búfalo colectados en los estados de Coahuila, Nuevo León, San Luís Potosí y Zacatecas fueron determinados usando análisis citológico y por citometría de flujo. La serie entera de poliploides de esta especie fue encontrada en esta colección. El nivel de ploidía más común fue el tetraploide, representando un 80.4 por ciento de la colección. Hexaploides fueron encontrados en un 14.6 por ciento y diploides en 4.8 por ciento. Cuatro hexaploides fueron colectados cerca del límite con Texas, y dos (B 14 y B 87) en el sur de Coahuila a 25° 26' latitud norte esta es la localización más meridional reportada para un hexaploide. Los dos materiales diploides (B 62 y B 106) fueron colectados en San Luís Potosí, el B 62 colectado a 23° 41' latitud norte (Real de Catorce) que fue colectado a la máxima altitud de 2620 msnm. El B106 fue colectado en la región central de San Luís Potosí reportada como área de distribución de poliploides. Se encontró que los tetraploides son los que se adaptan más ampliamente. Se determinó el nivel de ploidía usando citometría de flujo de 273 materiales de zacate Búfalo de las Grandes Planicies de Norteamérica y se encontró que el 2 por ciento de la colección fueron diploides colectados en el noroeste de Texas y el este de Nuevo México, las colecciones tetraploides representaron el 23 por ciento y fueron encontradas exclusivamente en las regiones occidentales de los Grandes Llanos meridionales y los hexaploides fueron el nivel de ploidía más común representando el 73 por ciento de la colección, encontrándose a través de toda el área de colección a diferencia del tetraploide que fue el más común en las colecciones en México. En las colecciones, la resistencia al frío parece asociada con los niveles de ploidía más altos (Johnson *et al.*, 2001).

## Morfología y Apareamiento Cromosómico

El número cromosómico del material diploide B 106 fue 20. En la Figura 4.1 se muestran dos microfotografías del material B 106 ( $2n=2x=20$ ) en metafase de mitosis, debido al reducido tamaño de los cromosomas fue imposible medirlos y no se logró apreciar bien los centrómeros. Subjetivamente se aparearon los cromosomas homólogos y se clasificaron en dos grupos; uno de cromosomas pequeños y otro de cromosomas grandes. Los cromosomas homólogos se enumeraron en forma ascendente. Los primeros seis pares de cromosomas homólogos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 correspondieron al grupo de cromosomas pequeños y los homólogos 7, 8, 9, y 10 correspondieron al grupo de cromosomas grandes. La mayoría de los cromosomas pueden ser metacéntricos o submetacéntricos pero, cuando menos hay un telocéntrico o subtelocéntrico (par homólogo 3).

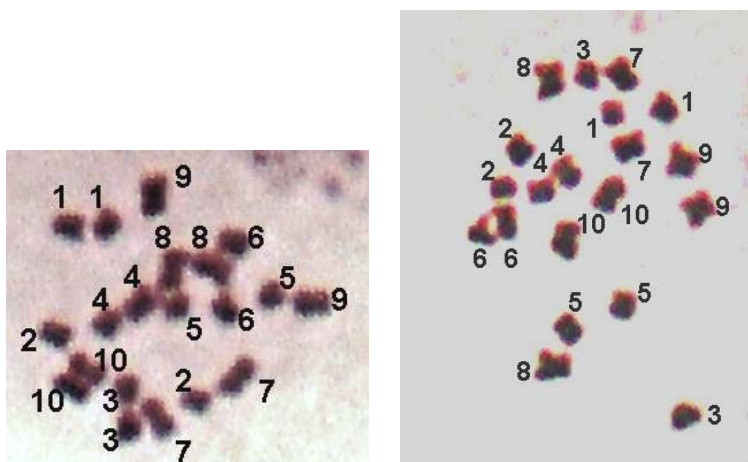


Figura 4.1 Microfotografías del material B 106 ( $2n=2x=20$ ) en metafase de mitosis mostrando los pares de cromosomas homólogos.

En el material B 106 (Figura 4.2A y 4.2B) se encontraron dos cromosomas asociados al nucléolo, en el B 111 (Figura 4.2C, 4.2D y 4.2E) y B 96 ♀ (Figura 4.2F y 4.2G), que son materiales tetraploides, se encontraron cuatro cromosomas asociados al nucléolo y en el material B 127A (Figura 4.2I) y B 128A (Figura 4.2J), que son materiales hexaploides, se encontraron seis cromosomas asociados al nucléolo. Sin embargo cabe mencionar que en un material tetraploide B 61, se observaron sólo tres cromosomas asociados al nucléolo (Figura 4.2H). Estos cromosomas deben presentar constricciones secundarias, mismas que están relacionadas con Regiones Organizadoras Nucleolares (NORs) las que al parecer en esta especie se han incrementado con el nivel de ploidía.

En todas las células meióticas (diploides, tetraploides, y hexaploides) se observó un apareamiento exclusivamente bivalente de cromosomas homólogos, con una configuración en forma de anillo. Lo que indica un proceso de diploidización en la especie.

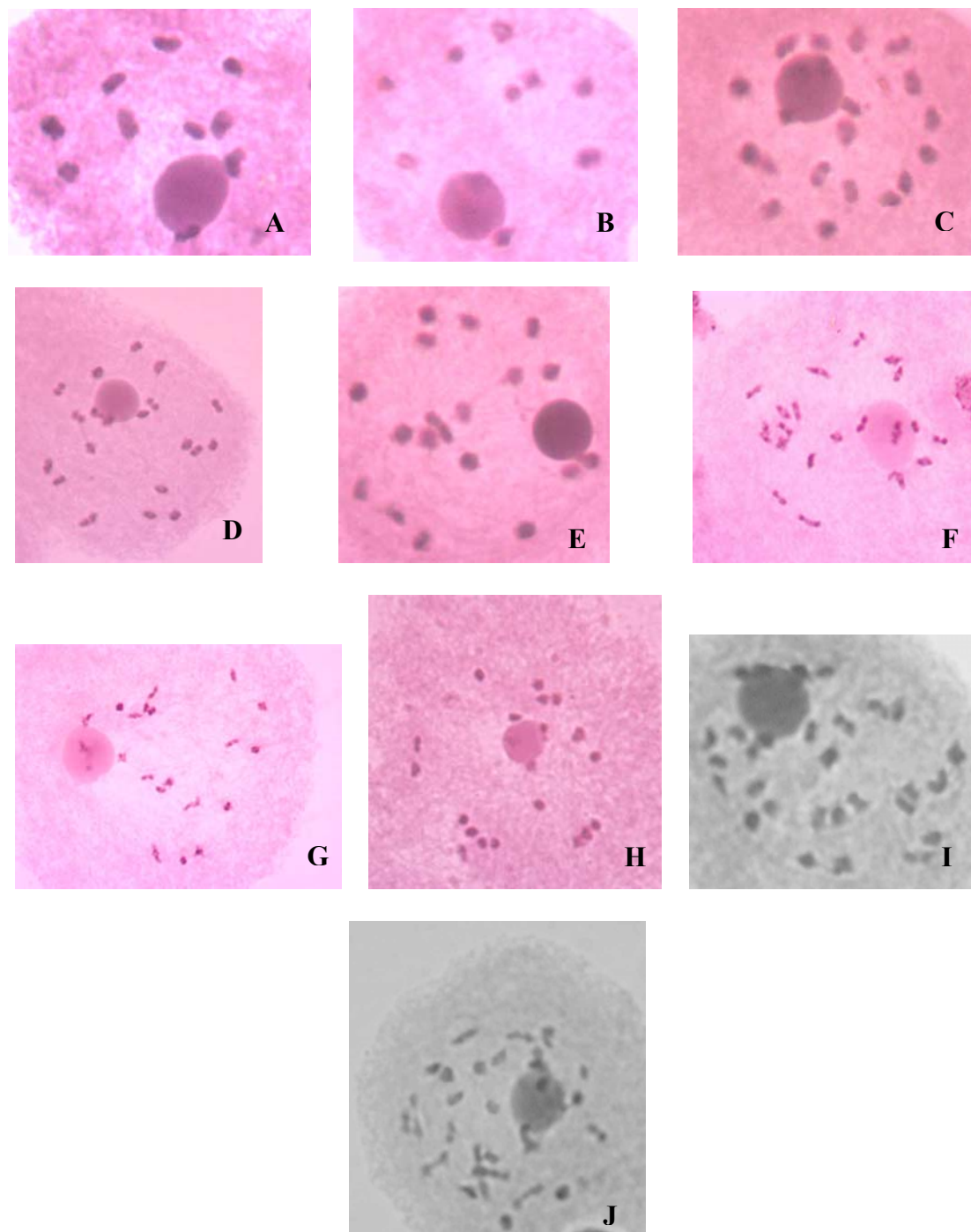


Figura 4.2 Microfotografías de meiosis en diacinesis, cromosomas asociados al nucléolo en los diferentes niveles de ploidía (A y B) B 106 material diploide, (C, D y E) B 111, (F y G) B 96 ♀ y (H) B 61 materiales tetraploides y (I) B127A y (J) B 128A materiales hexaploides.

### **Análisis de Varianza**

Todas las variables cuantitativas evaluadas mostraron diferencias estadísticas: longitud de entrenudo (LE), altura de planta (AP), diámetro de entrenudos (DE), la segunda evaluación de cobertura (C2), la primera y segunda evaluación de longitud de las guías (LG1 y LG2), mostraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ); y la primera evaluación de cobertura (C1), la primera y segunda evaluación de número de guías (NG1 y NG2), ancho de la hoja (AH) y longitud de la hoja (LH) mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Por tal motivo todas estas variables fueron incluidas en el análisis multivariado.

Cuadro 4.2 Cuadrados medios de ANVA de 11 variables morfológicas y de calidad.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>LE</b>	<b>AP (cm)</b>	<b>DE (mm)</b>	<b>C1 (%)</b>	<b>C2 (%)</b>	<b>NG1</b>	<b>NG2</b>	<b>AH (mm)</b>	<b>LH (cm)</b>	<b>LG1 (cm)</b>	<b>LG2 (cm)</b>
Rep.	2	0.533	209.450**	0.004	0.755**	0.086**	0.465*	3.176**	0.030**	31.721**	3.527*	0.284
Trat.	68	8.121**	14.816**	0.043**	0.055*	0.116**	0.183*	0.561*	0.002*	5.201*	1.958**	1.654**
Error		1.05	7.156	0.007	0.035	0.071	0.125	0.359	0.001	3.279	1.012	0.822
C.V.		18.22	24.346	10.45	16.94	30.31	22.03	25.05	31.966	29.56	31.78	20.7

Longitud de entrenudos (LE), Altura de planta (AP), Diámetro de entrenudo (DE), Primera evaluación de cobertura (C1), Segunda evaluación de cobertura (C2), Primera evaluación de número de guías (NG1), Segunda evaluación de número de guías (NG2), Ancho de la hoja (AH), Longitud de la hoja (LH), Primera evaluación de longitud de guías (LG1), Segunda evaluación de longitud de guías (LG2).

## Análisis de Componentes Principales

### ACP de 69 Materiales

#### ACP de variables morfológicas-calidad

Para el grupo de los 69 materiales en el Análisis de Componentes Principales se determinó que los primeros tres componentes principales explicaron el 49.34 por ciento de la varianza total (VT). El primer componente explicó el 21.01 por ciento de la VT, las variables que mostraron alta relación fueron el número de guías tanto en la primera como segunda evaluación (NG1 y NG2), la primera evaluación de cobertura (C1), diámetro de entrenado (DE) y textura (T) donde DE y T se encuentran positivamente relacionadas entre sí, pero mantuvieron una relación altamente negativa con NG2, NG1 y C1. Es decir que a medida que aumenta el NG, aumentará la C1 y se reducirá el DE, estos materiales presentaron textura fina.

El segundo componente explicó el 16.12 por ciento de la VT, las variables de mayor relación fueron la longitud de guías en sus dos evaluaciones (LG1 y LG2) y la longitud de entrenado (LE) que mantuvieron una correlación altamente positiva para el componente lo cual indica que en los materiales evaluados cuando aumenta LG1 aumentará LG2 y LE; los materiales que presentaron guías más largas tenían los entrenados más largos.

Por su parte el tercer componente explicó el 12.20 por ciento de la VT, donde las variables de mayor relación fueron altura de planta (AP), la segunda evaluación de cobertura (C2) y longitud de la hoja (LH) las que mostraron una correlación altamente positiva entre sí; esto nos indica que a medida que disminuye AP también LH y C2 disminuirá (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas-calidad con cada uno de los componentes.

Variabes	C 1	C 2	C 3
AP	-0.0527	0.0983	-0.5907*
AH	-0.5156	0.3656	-0.4564
DE	-0.6612*	0.2657	-0.3347
LH	-0.2229	0.0534	-0.5040*
LE	0.0124	0.8174*	-0.1738
NG1	0.6819*	0.2977	0.0134
NG2	0.8270*	0.0788	-0.3054
LG1	0.2983	0.7425*	0.2712
LG2	0.1222	0.8208*	0.0301
C1	0.6400*	-0.1240	-0.4945
C2	0.5019	-0.2956	-0.5226*
PE	0.2578	0.1574	-0.2446
P	-0.3758	0.1130	-0.3254
T	-0.6161*	0.1722	-0.2905
L	-0.0498	-0.5051	-0.3336
CE	0.2169	0.3317	0.0837
CP	0.5151	0.0384	-0.2588
Eigenvalor	3.5723	2.7413	2.0743
% Varianza total	21.0136	16.1254	12.2016
Eigenvalor acumulado	3.5723	6.3136	8.3879
% Varianza total acumulada	21.0136	37.1390	49.3405

\*Coeficientes de correlación de mayor importancia.

La Figura 4.3 muestra la distribución de las variables en los primeros dos CP, donde la variable NG2 tuvo una relación positiva con NG1 y C1 pero, presenta una fuerte asociación negativa con DE y T lo que indica que a mayor C1 mayor será NG1 y



NG2, la variable latencia (L) presentó una fuerte asociación negativa con LG2, LE y LG1.

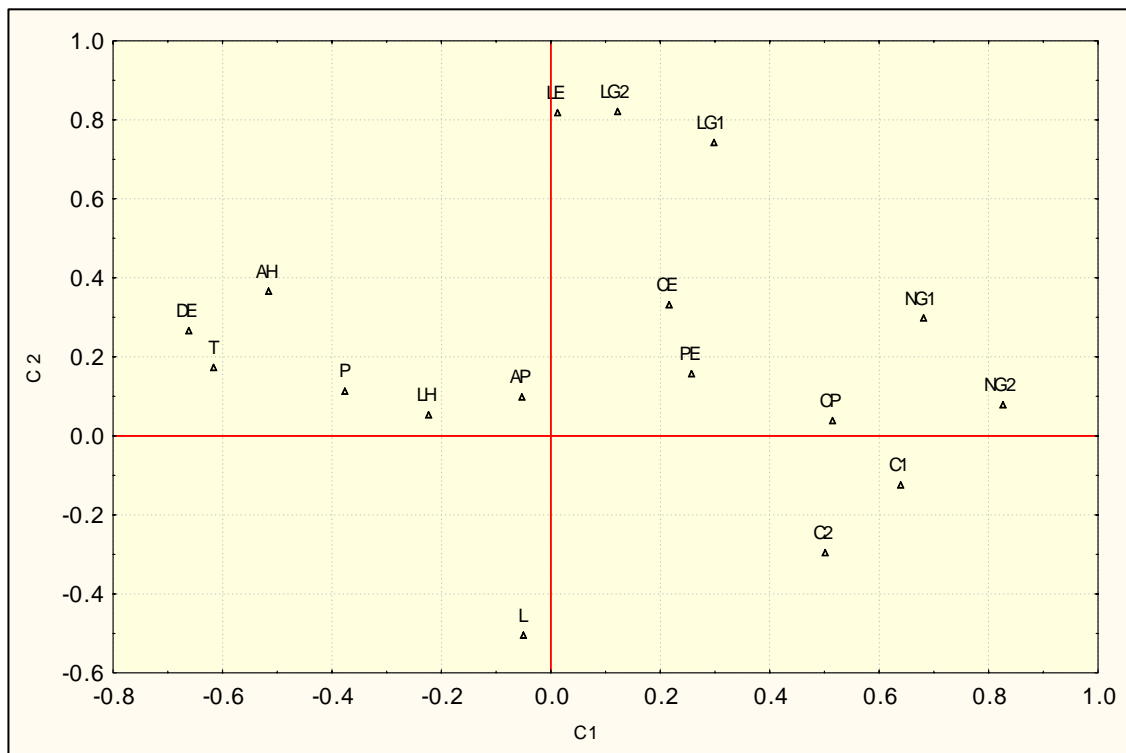


Figura 4.3 Distribución de las variables morfológicas-calidad en los primeros dos componentes principales.

En la Figura 4.4 se puede observar que los materiales B 61 y B 62 presentaron mayor NG2, NG1 y C1, los de mayor DE y T gruesa fueron el B 125, B 87, B 84, B 79, B 14 P, los materiales B 39 y B 45 entraron en L más tarde y se colectaron en Arteaga, Coah. y en La Siberia, Arteaga, Coah; y los materiales B 128, 86120, B88, B127, B128A entraron más rápido en L y se colectaron en OK, en la Universidad de Nebraska, Rancho Santa Anita, NL, TX y OK.



en el componente lo que nos indica que en los materiales evaluados a medida que aumenta LE aumentará LG2 y AH.

El tercer componente mostró un 13.51 por ciento de la VT donde las variables AP y LH mostraron una relación positivamente alta, esto indica que a medida que aumenta la AP aumentará LH.

Cuadro 4.4 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas con cada uno de los componentes.

Variables	C 1	C 2	C 3
AP	-0.1315	0.2893	0.7793*
AH	-0.4515	0.6294*	-0.1869
DE	-0.6376*	0.5144	-0.2056
LH	-0.3116	0.2728	0.6512*
LE	0.2287	0.7963*	0.1412
NG1	0.7761*	0.0942	0.0253
NG2	0.6899*	-0.0448	0.2345
LG1	0.6367*	0.5407	-0.3290
LG2	0.4028	0.7432*	-0.0447
P	-0.4347	0.3052	-0.2387
Eigenvalor	2.6119	2.4018	1.3515
% Varianza total	26.1185	24.0176	13.5149
Eigenvalor acumulado	2.6119	5.0136	6.3651
% Varianza total acumulada	26.1185	50.1361	63.6510

\* Coeficientes de correlación de mayor importancia.

La distribución de las variables de los primeros dos componentes se observan en la Figura 4.5 donde DE presenta una fuerte asociación negativa con NG2 y NG1, y a la vez las variables NG2 y NG1 se asocian con LG1. LE y LG2 tienen una relación positiva pero más pequeña con NG1, NG2 y LG1 a sí como Pubescencia (P), LH, y AP

muestran una relación negativa más pequeña que DE con NG1 y NG2, lo cual indica que a mayor NG1 mayor NG2 y menor DE.

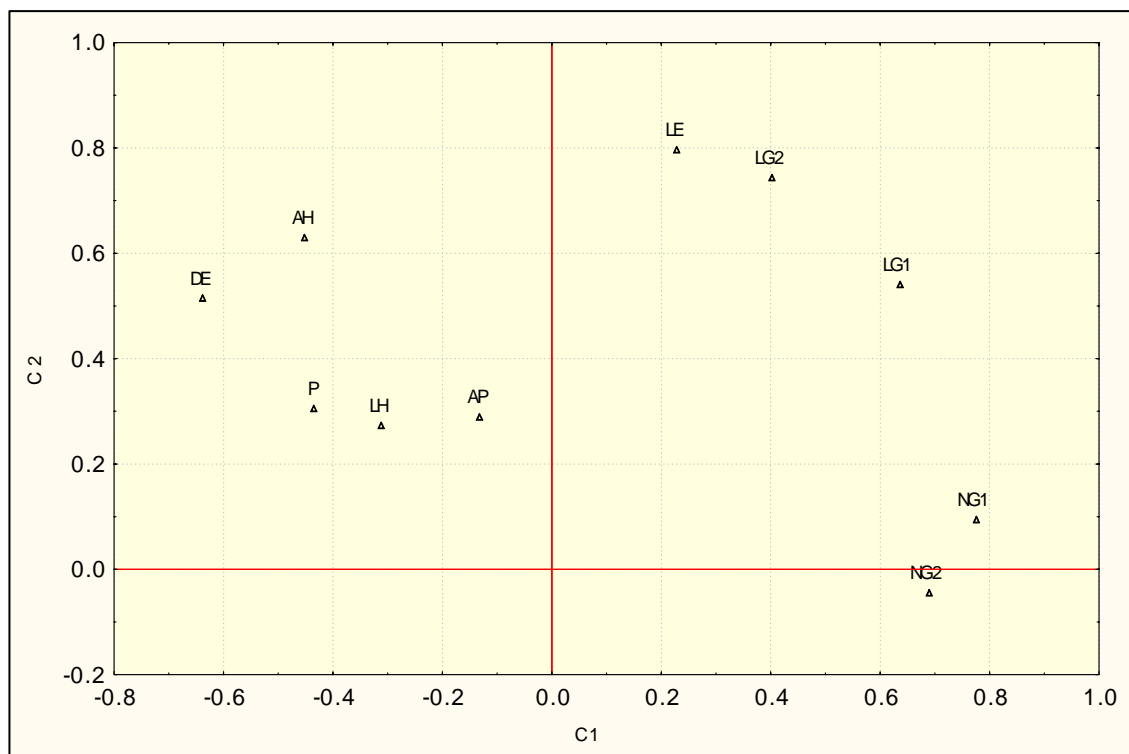


Figura 4.5 Distribución de las variables morfológicas en los dos primeros componentes.

La Figura 4.6 muestra que el material que presentó mayor NG1 y NG2 fue el B 61, los materiales B 14 P, B 87, B 125 y B 79 mostraron mayor DE y AH, los de mayor LG1 son el B 56 ♀ y B 62, los que presentaron mayor LG2 también tienen mayor LE y fueron B 105, B 88, B 128, 86120, B 98, B 96 ♀ y B 86, los materiales B 12 X B 14 y B 84 se mostraron más estables para P, LH, AP.



CE mostró una fuerte asociación negativa con L; lo que nos indica que los materiales que entran más tarde en L presentaron un CE verde claro.

Cuadro 4.5 Coeficiente de correlación entre las variables de calidad con cada uno de los componentes.

Variablen	C 1	C 2
C1	0.7635*	0.1542
C2	0.8296*	0.2198
PE	0.4877	-0.3907
T	-0.5217*	0.2476
L	0.1506	0.6648*
CE	0.0401	-0.7550*
CP	0.5533	-0.0909
Eigenvalor	2.1115	1.3063
% Varianza total	30.1641	18.6611
Eigenvalor acumulado	2.1115	3.4178
% Varianza total acumulada	30.1641	48.8252

\* Coeficientes de correlación de mayor importancia.

La Figura 4.7 muestra la distribución de las variables en los dos primeros CP, la variable T presentó una asociación negativa con presencia de enfermedad (PE) y color del pasto (CP), y con las variables C1 y C2 se observó una asociación negativa, la variable CE mantuvo una asociación fuertemente negativa con L.

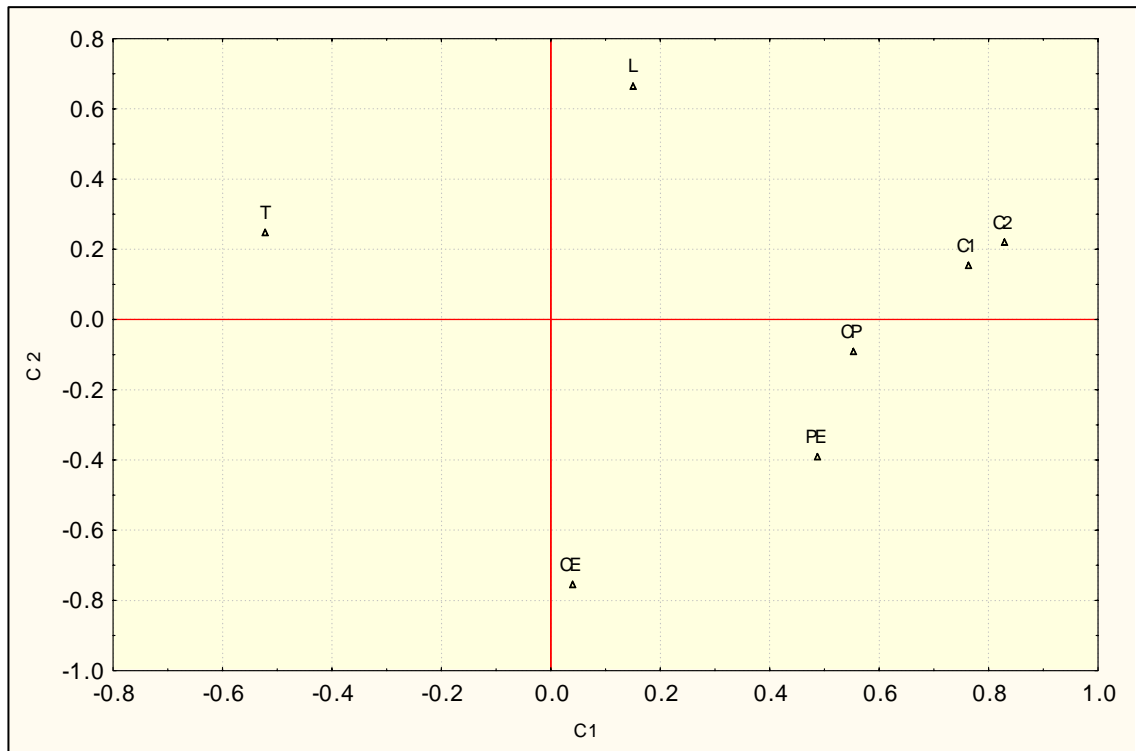


Figura 4.7 Distribución de las variables de calidad en los dos primeros componentes principales.

En la Figura 4.8 se observa como el material B 62 es el que presenta mayor C1 y C2, el material TECO y B 125 tuvieron una T más gruesa, el material B 7 y B 22 muestran un CP limón y poca PE siendo los más estables. El material B 70 y B 123 presentaron un CE verde claro mas estable, los materiales que entraron más tarde en L fueron B 45, B 12 X B 14 y B 63 ♀ que se colectaron en los estados de S.L.P y Coah. que son lugares cálidos, donde la presencia de frío no es tan importante, lo que contrastaría con los colectados en EUA.





que en los materiales evaluados cuando aumenta NG1 aumentará NG2 pero DE disminuirá, los materiales de mayor NG2 y NG1 presentaron textura fina. El segundo componente explicó un 16.39 por ciento de la VT., las variables LE y LG2 mostraron una relación positiva entre sí y con el componente, lo cual indica que a mayor LE mayor será LG2.

Por su parte el tercer componente explicó el 12.48 por ciento de la VT, las variables con alta relación fueron C1, C2 y PE mostrando una relación positiva entre sí, lo que nos indica que a medida que C1 sea menor C2 y PE también disminuirán.

Cuadro 4.6 Coeficiente de correlación de las variables morfológicas-calidad con cada uno de los componentes.

Variables	C 1	C 2	C 3
AP	-0.25449	0.15734	-0.42762
AH	-0.49612	0.55537	-0.36148
DE	-0.62729*	0.45068	-0.28714
LH	-0.36872	0.02712	-0.27021
LE	0.05662	0.77695*	-0.12053
NG1	0.71121*	0.24629	0.06961
NG2	0.82936*	0.10790	-0.34823
LG1	0.41263	0.64490	0.37430
LG2	0.24284	0.73859*	0.11809
C1	0.54510	-0.11520	-0.66816*
C2	0.38237	-0.23324	-0.69749*
PE	0.15194	0.15272	-0.56968*
P	-0.49778	0.26819	-0.18916
T	-0.67359*	0.33091	-0.07484
L	-0.31450	-0.41497	-0.21615
CE	0.33706	0.37267	0.09320
CP	0.47987	0.17344	-0.06543
Eigenvalor	3.87719	2.78798	2.12220
% Varianza total	22.80697	16.39991	12.48351
Eigenvalor acumulado	3.87719	6.66517	8.78737
% Varianza total acumulada	22.80697	39.20688	51.69039

\* Coeficientes de correlación de mayor importancia.

La Figura 4.9 presenta la distribución de las variables en los dos primeros componentes, se observó alta relación negativa en las variables T, DE con NG1 y NG2 que se encuentran altamente relacionadas en forma positiva. Otra relación altamente negativa que se muestra es L con LE y LG2 así como también podemos observar que la relación de LE y LG2 es altamente positiva, donde LG1 se puede incluir.

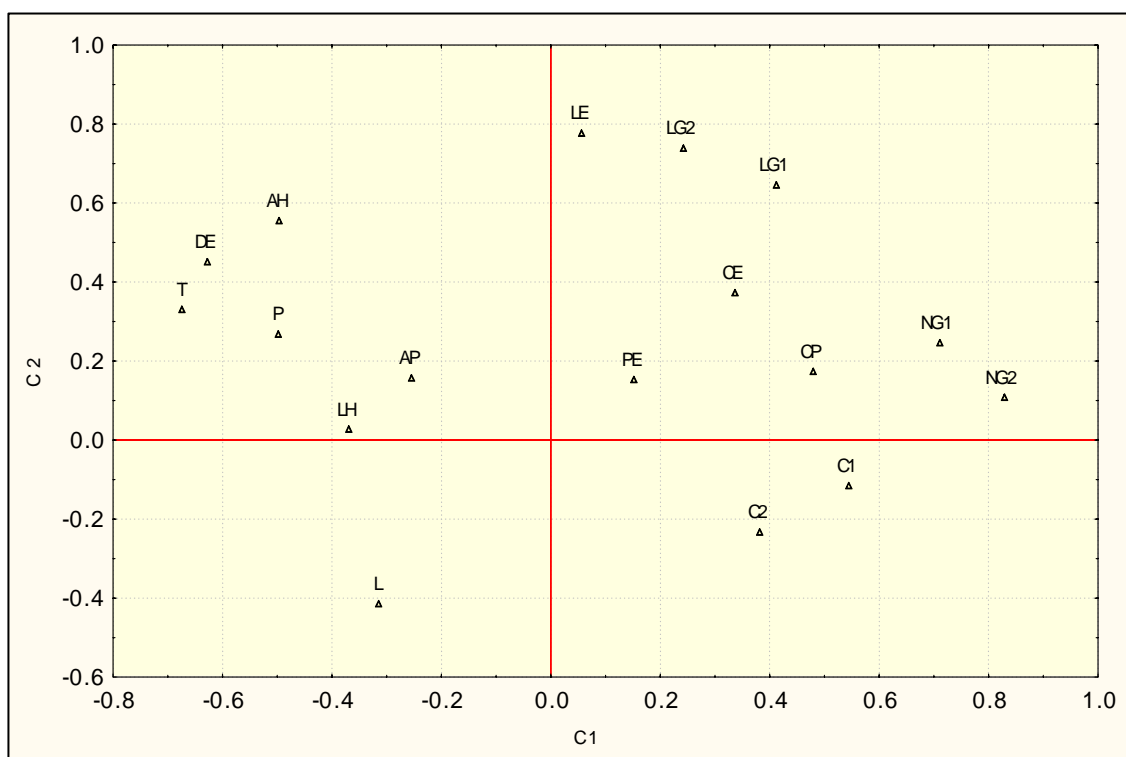


Figura 4.9 Distribución de las variables morfológicas-calidad en los primeros dos componentes.

En la Figura 4.10 se observa que el material de mayor NG2 y NG1 fue el B 62 (2x), así como los que mostraron mayor C1 fueron B 61 (4x), B 68 (4x), B 22 (4x) y los de mayor C2 fueron el B 9 (4x) y el B 66 (4x) presentando una T fina, DE delgado y AH delgada, como se observó los tetraploides son materiales con buenas características de calidad así como también tienen características morfológicas más finas que son las más deseables, aunque estas dependerán del gusto de las personas, a diferencia de los

materiales hexaploides que presentan características morfológicas más gruesas, los materiales de mayor DE, T y AH fueron B 87 (6x), B 79 (6x) y B 14 P (6x) colectados en Coahuila, los materiales B 45 (4x), B 39 (4x) tardaron más en iniciar el periodo de L y se colectaron en La Siberia Arteaga, Coah. y Arteaga, Coah., los de mayor LE y LG2 fueron 86120 (4x), B 128A (6x) que iniciaron más pronto el periodo de latencia siendo los materiales colectados en la Universidad de Nebraska y OK, el B 86 (4x) y B 56♀ (4x) mostraron mayor LG1.

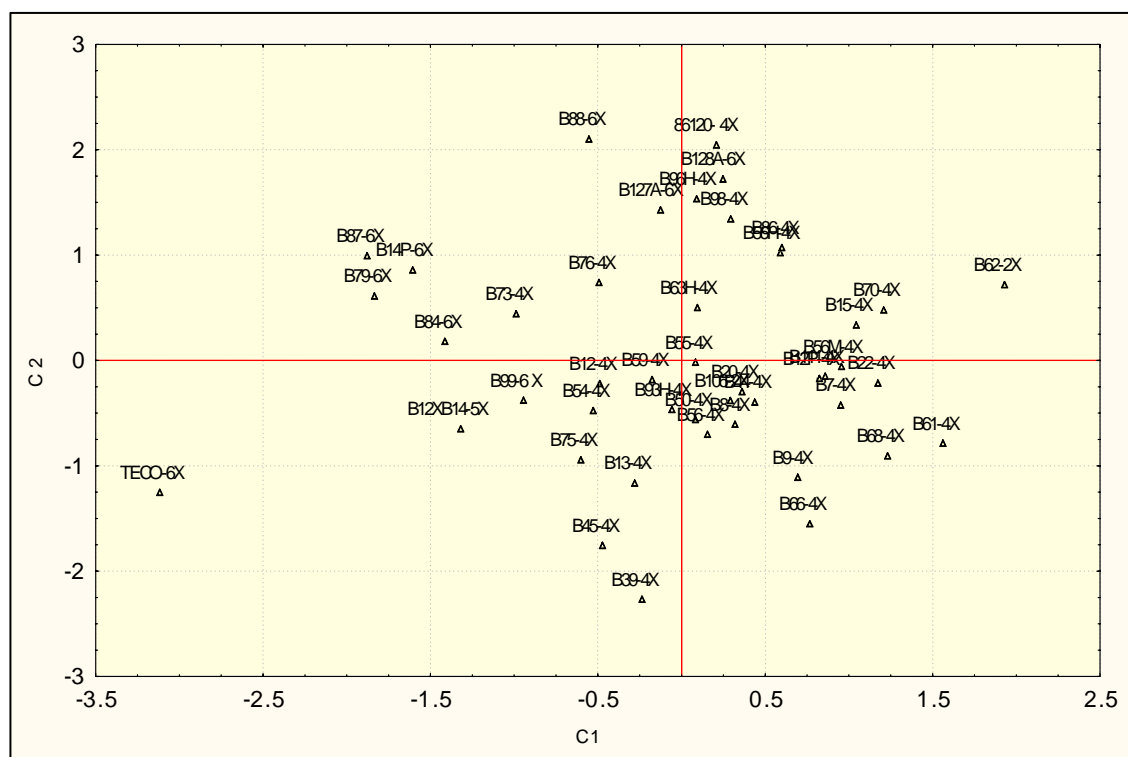


Figura 4.10 Distribución del nivel de ploidía de los materiales en los dos primeros componentes principales con base en las variables morfológicas-calidad.

ACP de variables morfológicas.

En el Cuadro 4.7 se observó que los primeros tres CP explicaron el 64.63 por ciento de la VT. El componente uno explicó el 28.66 por ciento de la VT, las variables que mostraron alta relación fueron NG1, NG2 y DE, donde DE mostró una relación altamente negativa con NG1 y NG2 lo cual indica que a mayor NG1 mayor será NG2 y DE será menor.

El segundo componente explicó un 24.11 por ciento de la VT y las variables LE, LG2, LG1 y AH fueron las de mayor relación positiva en el componente, lo que indica que en los materiales de mayor LE será mayor su LG2, LG1 y AH.

Por su parte el componente tres explicó un 11.85 por ciento de la VT donde las variables de más alta relación fueron AP y LH con alta relación positiva entre sí, lo que nos indica que cuando AP disminuya también disminuirá LH, ya que la longitud de las hojas nos dará la altura de planta así como también nos indicará la cantidad de podas que se deben de dar, la altura de poda dependerá del uso que se le dará al pasto como también del gusto de la persona.

Cuadro 4.7 Coeficiente de correlación entre las variables morfológicas con cada uno de los componentes.

Variablen	C 1	C 2	C 3
AP	-0.3536	0.2070	-0.7492*
AH	-0.5433	0.6113*	0.2325
DE	-0.7177*	0.4287	0.2996
LH	-0.4273	0.0955	-0.5368*
LE	-0.0057	0.7850*	-0.2159
NG1	0.7405*	0.3031	0.0643
NG2	0.6932*	0.1872	-0.1485
LG1	0.5422	0.6520*	0.1747
LG2	0.2722	0.7525*	-0.0979
P	-0.5927	0.2603	0.2817
Eigenvalor	2.8663	2.4116	1.1854
% Varianza total	28.6629	24.1161	11.8537
Eigenvalor acumulado	2.8663	5.2779	6.4633
% Varianza total acumulada	28.6629	52.7789	64.6326

\* Coeficientes de correlación de mayor importancia.

En la Figura 4.11 se observa la distribución de las variables en los dos primeros CP, la variable DE está relacionada negativamente con NG1 y NG2 mientras que NG1 y NG2 se encuentran relacionadas positivamente entre sí. Las variables P, AP y LH muestran relación positiva entre sí pero negativa con LE, LG2 y LG1, lo que indica que en los materiales evaluados a mayor NG1 mayor NG2 y menor DE, y a mayor AP mayor será LH y P. Cuando LE aumenta también aumentará LG1 y LG2 en cambio P, AP y LH disminuirán.

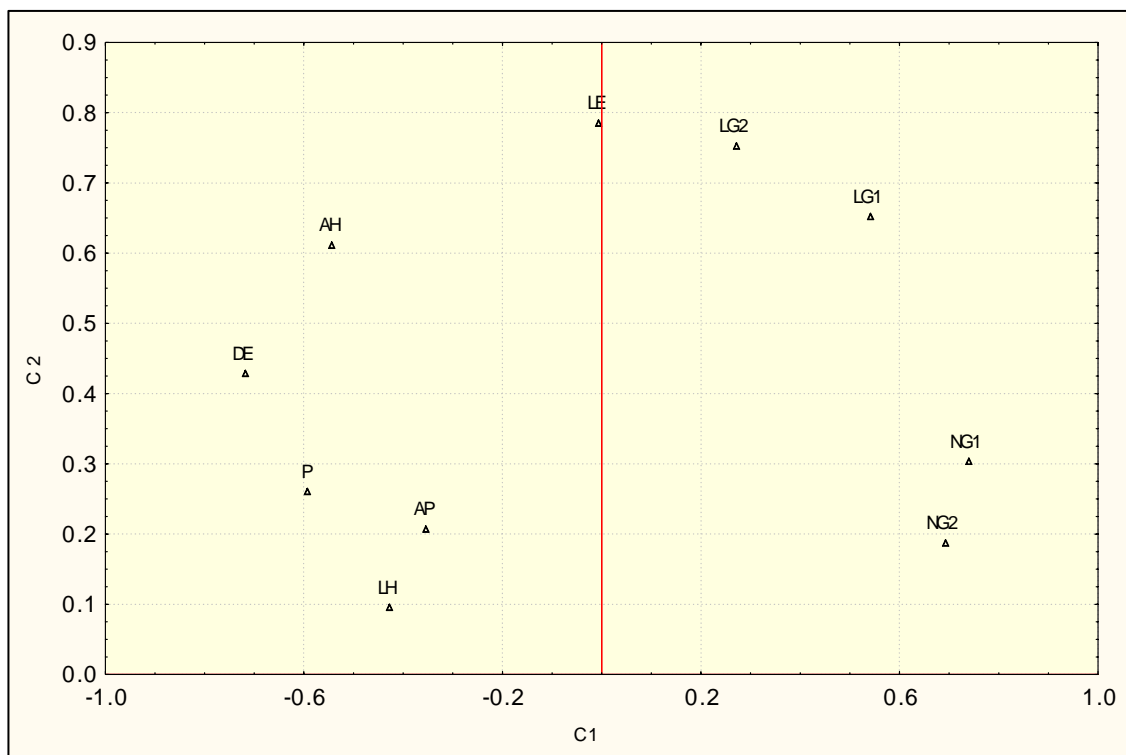


Figura 4.11 Distribución de las variables morfológicas en los primeros componentes principales.

En la Figura 4.12 se observa que los materiales B 15 (4x) y B 70 (4x) tienen mayor NG1 y NG2, mientras que el B 87 (6x) y B 14 P (6x) mostraron mayor DE y AH, y los materiales con mayor P, LH y AP que permanecieron más estables fueron B 127A (6x), B 76 (4x), B 73 (4x) y B 79(6x). Las características morfológicas P, LH y AP son características en las que no se observó ninguna relación con el nivel de ploidía por lo que materiales con mayor P, LH y AP pueden ser tetraploides o hexaploides.



relación negativa con L. Estos resultados son consistentes con los reportados con el primer agrupamiento por lo que pueden tener mucha validez.

Por su parte el tercer componente explica el 15.73 por ciento de la VT, donde las variables de mayor correlación en el componente fueron CE y CP.

Cuadro 4.8 Coeficiente de correlación entre las variables de calidad con cada uno de los componentes.

Variables	C 1	C 2	C 3
C1	0.8237*	0.1510	-0.0214
C2	0.8082*	0.3787	0.0859
PE	0.5593*	0.1793	0.4254
T	-0.5423*	0.2685	0.4581
L	-0.1671	0.8053*	-0.0872
CE	0.1997	-0.5630*	0.6474*
CP	0.3523	-0.3922	-0.5255*
Eigenvalor	2.1304	1.3898	1.1015
% Varianza total	30.4345	19.8540	15.7352
Eigenvalor acumulado	2.1304	3.5202	4.6217
% Varianza total acumulada	30.4345	50.2885	66.0237

\* Coeficientes de correlación de mayor importancia.

En la Figura 4.13 se muestra la distribución de las variables en los primeros dos componentes, se puede observar que C1 y C2 tienen una correlación positiva lo que indica que cuando aumenten lo harán de igual manera, PE también presenta una relación positiva con C2 y C1, en cambio T presentó una relación negativa con C1 y C2 por lo



que los materiales evaluados que mostraron mayor C1 y C2 mantuvieron una T fina. Otra relación negativa que se observó es la de L con CE y CP, lo que nos indica que los materiales que entran en un periodo de L más tarde presentaron un CE verde claro que fue el más estable así como un CP verde limón.

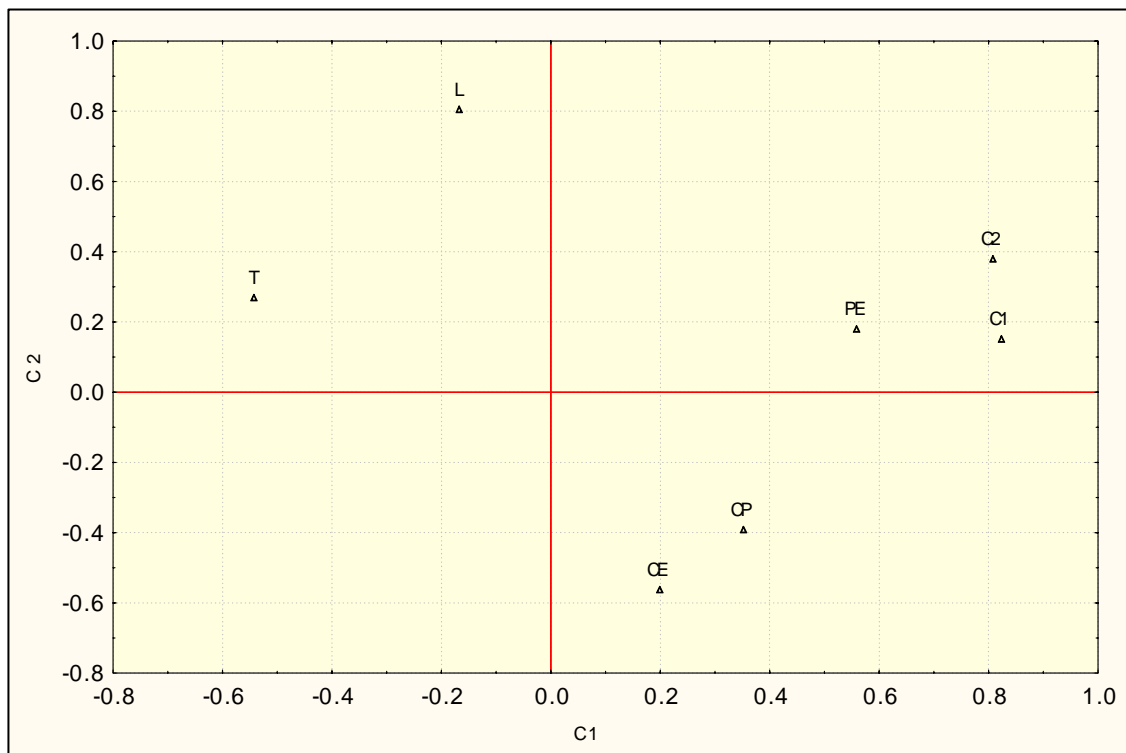


Figura 4.13 Distribución de las variables de calidad en base a los dos primeros componentes.

En la Figura 4.14 se observó que el material de mayor C1, C2 y menor PE fue el B 62 (2x), los materiales TECO (6x), B 79 (6x), B 88 (6x), B87 (6x) presentan T gruesa, los que entraron en L más tarde fueron el B 45 (4x) y B12XB14 (5x) que se colectaron en La Siberia, Arteaga, Coah., el material más estable para CP fue el B 22 (4x) que presentó un color limón, los que tienen un CE verde claro fueron el B 127A (6x) y B 70 (4x).

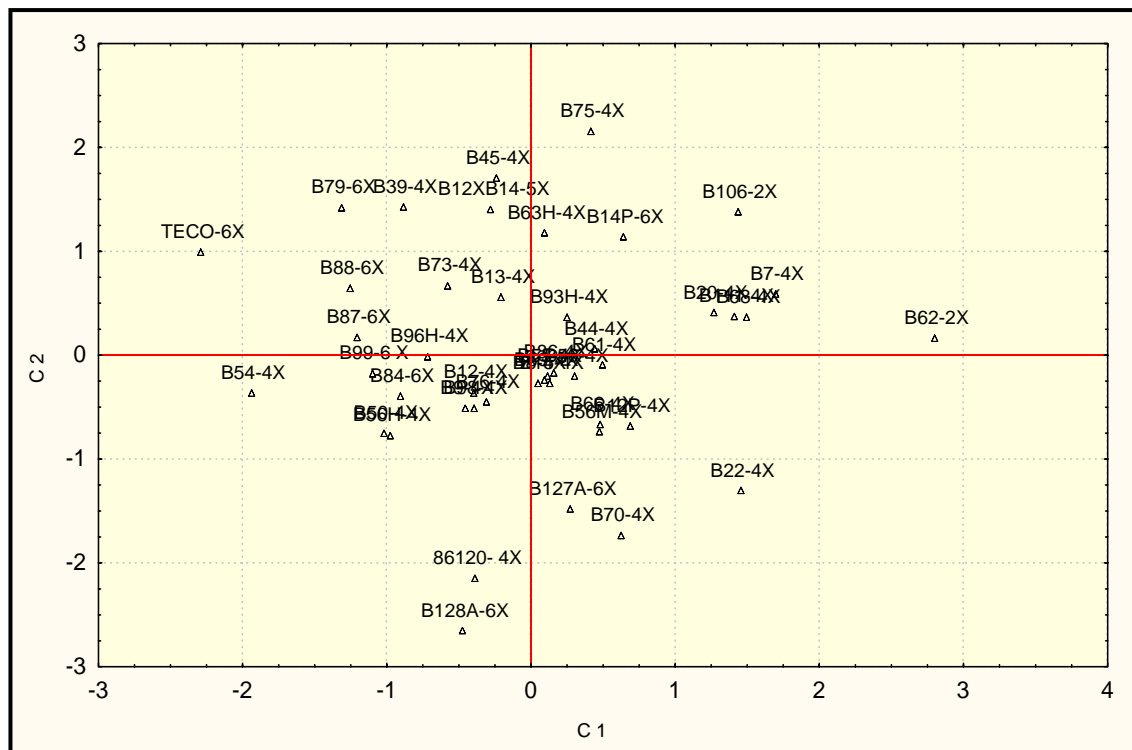


Figura 4.14 Distribución y nivel de ploidía de los materiales en los dos primeros componentes con base en las variables de calidad.

### Agrupación de los Materiales

La agrupación de los 69 materiales se realizó con base en un combinado de características morfológicas-calidad, uno de características morfológicas y otro de características de calidad. Con el análisis de conglomerados se definieron 4 grupos para las 17 variables morfológicas-calidad, cuatro grupos para las 10 variables morfológicas y cuatro grupos para las 7 variables de calidad.

En la Figura 4.15 se muestran los dendogramas obtenidos en el análisis de conglomerados, donde se puede observar y comparar la agrupación de los materiales

usando un combinado de las variables morfológicas-calidad, uno de variables morfológicas y otro de variables de calidad.

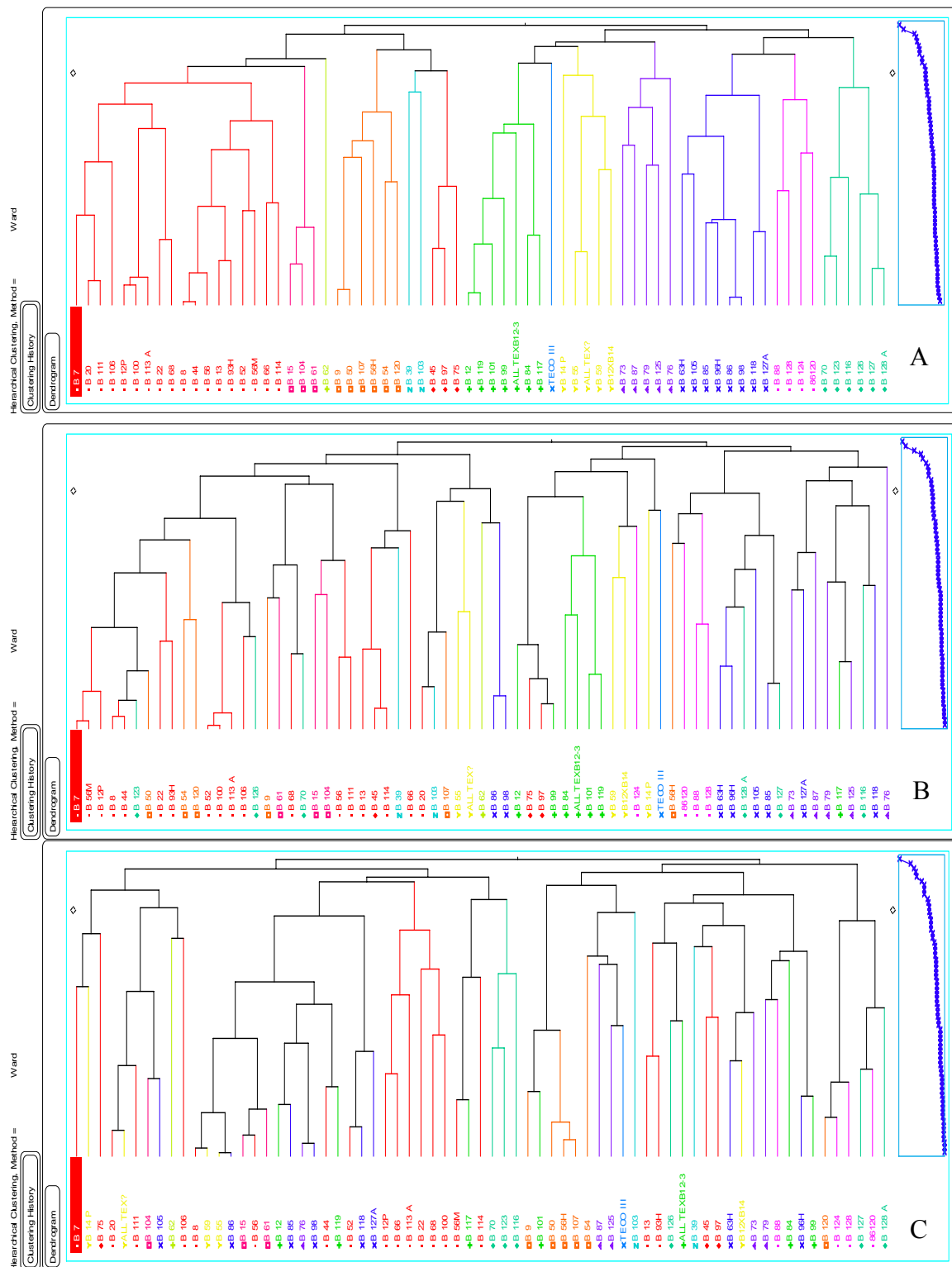


Figura 4.15 Grupos generados mediante el análisis de conglomerados usando variables A) morfológicas-calidad, B) morfológicas, y C) calidad.

En el Cuadro 4.9 se observa la agrupación de los materiales tomando en cuenta las variables morfológicas-calidad, donde se observó que en el grupo 1 hay materiales tetraploides y diploide, en el grupo 2 materiales hexaploides y pentaploides, en el grupo 3 tetraploides y hexaploides, en el grupo 4 tetraploides y hexaploides.

Los materiales del grupo uno se colectaron en Coahuila, Zacatecas, San Luís Potosí, Nuevo León y TX; los del grupo dos en Coahuila, Nuevo León, Texas y Colorado; los del grupo tres en Coahuila, Zacatecas, San Luís Potosí y Matehuala-Saltillo; y los del grupo cuatro en Coahuila, Zacatecas, San Luís Potosí, Nuevo León, Querétaro OK, TX y Nebraska. Por lo que podemos decir que usando las variables morfológicas-calidad para la agrupación no tiene ninguna relación el nivel de ploidía y el sitio de colecta por lo tanto tampoco la altitud, coincidiendo con lo reportado por Johnson *et al.*, (1998). Es decir que de forma natural se han originado y dispersado los diferentes tipos de ploidía sin importar altura, temperatura y precipitación. Por lo que los genotipos colectados para este trabajo se encuentran dentro de los ambientes óptimos para su desarrollo y el proceso evolutivo no ha requerido cambio alguno en dichos materiales para adaptarse a alguna condición muy específica. Sin embargo, en el grupo uno se observó que los materiales diploides tienden a agruparse con los materiales tetraploides así como también el material pentaploide tiende a agruparse con los materiales hexaploides en el grupo dos, cuando se usan las variables morfológicas-calidad.

Cuadro 4.9 Agrupación de materiales usando las variables morfológicas-calidad.

Grupo 1	Nivel de ploidía	Grupo 2	Nivel de ploidía	Grupo 3	Nivel de ploidía	Grupo 4	Nivel de ploidía
B 7	4x	B 14 P	6x	B 8	4x	B 52	
B 15	4x	B 79	6x	B 9	4x	B 56♀	4x
B 20	4x	B 84	6x	B 12	4x	B 63♀	4x
B 22	4x	B 87	6x	B 12P	4x	B 73	4x
B 55	4x	B 101		B 13	4x	B 76	4x
B 61	4x	B 124		B 39	4x	B 85	4x
B 62	2x	B 125		B 44	4x	B 86	4x
B 68	4x	TECO	6x	B 45	4x	B 88	6x
B 70	4x	B12XB14	5x	B 50	4x	B 96♀	4x
		A. T.					
B 100		B12-3		B 54	4x	B 98	4x
B 104				B 56	4x	B 105	
B 106	2x			B 56♂	4x	B 116	
B 111	4x			B 59	4x	B 117	
A. T. ♂				B 66	4x	B 118	
				B 75	4x	B 126	
				B 93♀	4x	B 127	
				B 97		B 127A	6x
				B 99	6x	B 128	
				B 103		B 128A	6x
				B 107		86120	
				B 113 A			
				B 114			
				B 119			
				B 120			
				B 123			

En el Cuadro 4.10 se observó que los materiales usando las variables morfológicas para la agrupación no tiene ninguna relación con el nivel de ploidía y el sitio de colecta ya que se encontraron materiales diploides y tetraploides en el grupo uno, diploides, tetraploides y hexaploides en el grupo dos, tetraploides, pentaploides y hexaploides en el grupo tres, tetraploides y hexaploides en el grupo cuatro. También los sitios de colecta fueron diferentes para cada grupo.

Cuadro 4.10 Agrupación de materiales usando las variables morfológicas.

Grupo 1	Nivel de ploidía	Grupo 2	Nivel de ploidía	Grupo 3	Nivel de ploidía	Grupo 4	Nivel de ploidía
B 7	4x	B 73	4x	B 12	4x	B 56♀	4x
B 8	4x	B 75	4x	B 14 P	6x	B 63♀	4x
B 9	4x	B 76	4x	B 84	6x	B 85	
B 12P	4x	B 79	6x	B 87	6x	B 86	4x
B 13	4x	B 97		B 101		B 88	6x
B 15	4x	B 99	6x	B 119		B 96♀	4x
B 20	4x	B 106	2x	B 124		B 98	4x
B 22	4x	B 116		TECO	6x	B 105	
B 39	4x	B 117		B12XB14	5x	B 127	
B 44	4x	B 118		A. T. B12-3		B 128	
B 45	4x	B 125				B 128A	6x
B 50	4x	B 127A	6x			86120	4x
B 52							
B 54	4x						
B 55	4x						
B 56	4x						
B 56♂	4x						
B 59	4x						
B 61	4x						
B 62	2x						
B 66	4x						
B 68	4x						
B 70	4x						
B 93♀	4x						
B 100							
B 103							
B 104							
B 107							
B 111	4x						
B 113 A							
B 114							
B 120							
B 123							
B 126							
A.T. ♂							

En el Cuadro 4.11 se observó que en los materiales usando las variables de calidad para la agrupación no tiene ninguna relación el nivel de ploidía y el sitio de colecta ya que se encontraron materiales diploides y tetraploides en el grupo uno,

tetraploides y hexaploides en el grupo dos, tetraploides y hexaploides en el grupo tres y tetraploides, hexaploides y pentaploide en el grupo cuatro.

Cuadro 4.11 Agrupación de materiales usando las variables de calidad.

Grupo 1	Nivel de ploidía	Grupo 2	Nivel de ploidía	Grupo 3	Nivel de ploidía	Grupo 4	Nivel de ploidía
B 7	4x	B 52		B 9	4x	B 8	4x
B 20	4x	B 70	4x	B 39	4x	B 12	4x
B 22	4x	B 84	6x	B 50	4x	B 12P	4x
B 62	2x	B 116		B 54	4x	B 13	4x
B 68	4x	B 118		B 56♀	4x	B 14 P	6x
B 100		B 120		B 79	6x	B 15	4x
B 104		B 123		B 87	6x	B 44	4x
B 105		B 124		B 88	6x	B 45	4x
B 106	2x	B 126		B 96♀	4x	B 55	4x
B 111	4x	B 127		B 97		B 56	4x
A.T ♂		B 127A	6x	B 99	6x	B 56♂	4x
		B 128		B 101		B 59	4x
		B 128A	6x	B 103		B 61	4x
		86120	4x	B 107		B 63♀	4x
		A.T. B12-3		B 125		B 66	4x
				TECO	6x	B 73	4x
						B 75	4x
						B 76	4x
						B 85	
						B 86	4x
						B 93♀	4x
						B 98	4x
						B 113 A	
						B 114	
						B 117	
						B 119	
						B12XB14	5x

Al ser graficados los materiales por los dos primeros componentes principales no se apreciaba la agrupación ni tampoco se observó si existía o no traslape entre los grupos. Con el apoyo del análisis de conglomerados, fue un poco más clara la definición

de los cuatro grupos mencionados, lo que permitió poder observar más claramente la agrupación de los materiales con base en un combinado usando las variables morfológicas-calidad para el grupo de los 69 y 45 materiales (Figura 4.16 A y 4.16B).

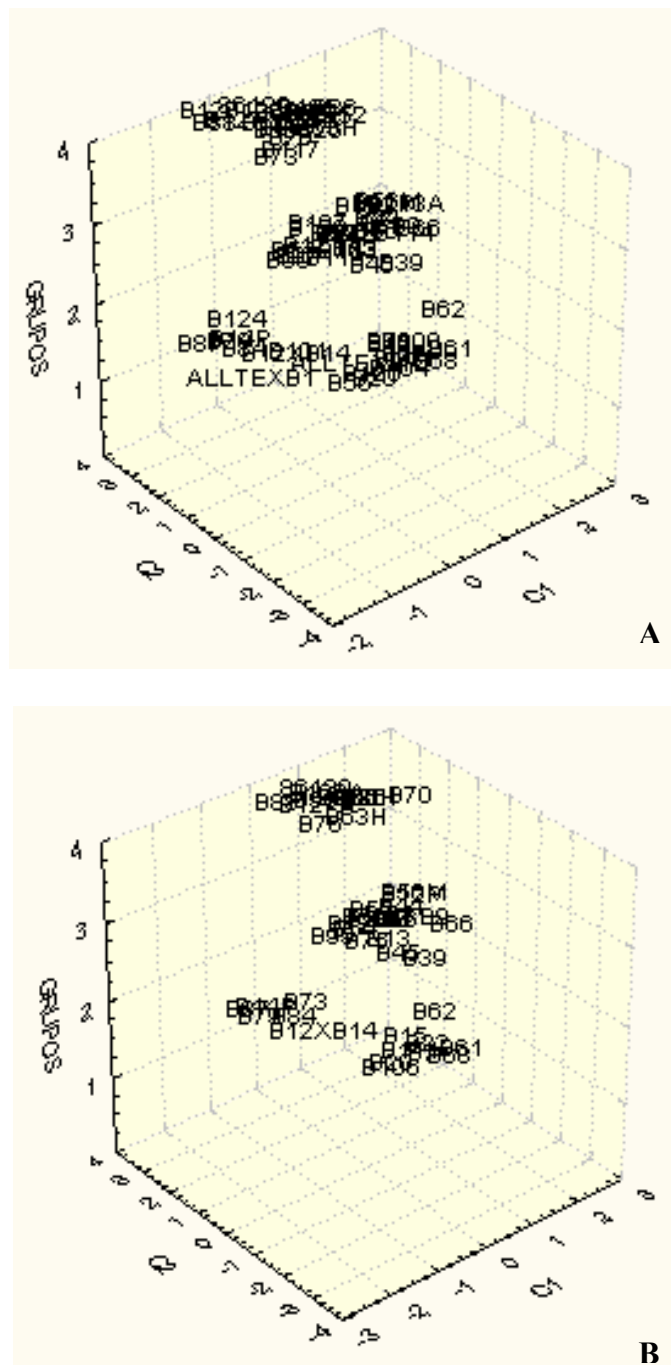


Figura 4.16 Agrupación de materiales con base en los dos primeros componentes principales y conglomerados usando las variables morfológicas-calidad para el grupo de los 69 (A) y 45 materiales (B).



### **VARIABLES NO ANALIZADAS**

Las variables altura de la inflorescencia (♂ y ♀), número de ramificaciones, número de involucros y daño por nemátodo fueron evaluadas pero no se analizaron debido a las diferentes características morfológicas de machos y hembras dentro de las cuales la presencia y ausencia de inflorescencia provocó que la toma de datos fuese dividida, razón por la cual se optó por no realizar análisis sobre las características antes mencionadas.

En el Cuadro 4.12 se muestran los resultados obtenidos de las 5 variables evaluadas donde se observó que sólo tres de los materiales tienen alto daño por nematodo (D.N.), 22 poco D.N. y 44 no mostraron D.N. El material B 14 P presentó una altura de inflorescencia (A.I.) ♂ de 17.3 cm que fue la más alta, mientras que los materiales B 7 y B 62 mostraron la A.I. ♂ más baja (3 cm). La altura de inflorescencia ♀ más alta se observó en el material B 97 con 8.5 cm y la más baja en el material B 55 (1.8 cm). El número de ramificaciones (N.R.) más alto fue del material B 127A con 6 ramificaciones y los materiales de menor número fueron el B 98 y B 99 con 2.4 ramificaciones. El material que mostró el número de involucros más alto fue el B 85 con 8 involucros y en los que se observó menor número fueron el B 66 y B 7 con 2.8 involucros.

Cuadro 4.12 Resultados de las variables que no fueron analizadas.

<b>MATERIALES</b>	<b>N.P.</b>	<b>P.N.</b>	<b>A.I. (♂)</b>	<b>A.I. (♀)</b>	<b>N.R. (♂)</b>	<b>N.I.(♀)</b>
B 7	4x	*	3	2	5	2.8
B 8	4x	*	-	5.8	-	4.5
B 9	4x	*	No inflorescencia			
B 12	4x	**	6.7	6.5	3.2	4.4
B 12P	4x	*	10	2	3.2	3.2
B 13	4x	**	-	2.6	-	3.3
B 14 P	6x	*	17.3	-	3.3	-
B 15	4x	*	-	3.9	-	3.6
B 20	4x	***	-	8.4	-	6.1
B 22	4x	**	-	4	-	6
B 39	4x	*	No inflorescencia			
B 44	4x	*	-	2.7	-	3.2
B 45	4x	*	4	-	3	-
B 50	4x	*	No inflorescencia			
B 52		*	-	3	-	5
B 54	4x	*	No inflorescencia			
B 55	4x	*	-	1.8	-	3
B 56	4x	**	15.6	6.1	5.2	5
B 56♀	4x	*	-	2.6	-	5.9
B 56♂	4x	*	7.9	-	3	-
B 59	4x	**	-	2	-	5.1
B 61	4x	**	7.3	-	3	-
B 62	2x	*	3	-	3	-
B 63♀	4x	*	-	5.3	-	3.8
B 66	4x	*	-	3.9	-	2.8
B 68	4x	*	No inflorescencia			
B 70	4x	*	No inflorescencia			
B 73	4x	*	No inflorescencia			
B 75	4x	*	6.7	2.6	3	3
B 76	4x	*	-	8.1	-	3
B 79	6x	**	5.6	-	5.4	-
B 84	6x	*	No inflorescencia			
B 85		**		5.1		8
B 86	4x	*	5.4	-	3.4	-
B 87	6x	*	-	3	-	3.5
B 88	6x	**	15.3	7.5	3	3
B 93 ♀	4x	**	-	2.5	-	4.1
B 96 ♀	4x	*	8.4	2	3.2	3

Cuadro 4.12 Continuación...

MATERIALES	N.P.	P.N.	A.I. (♂)	A.I. (♀)	N.R. (♂)	N.I.(♀)
B 97		*	5.4	8.5	3.2	4
B 98	4x	**	5.8	2	2.4	3
B 99	6x	*	9.6	4.3	2.4	3.2
B 100		*	10.2	-	2.8	-
B 101		*	No inflorescencia			
B 103		**	No inflorescencia			
B 104		*	No inflorescencia			
B 105		**	-	3.3	-	5.1
B 106	2x	*	13.3	3.8	3	3.6
B 107		**	-	3	-	6.2
B 111	4x	**	8	3	3.4	3.6
B 113 A		**	No inflorescencia			
B 114		**	-	3	-	5
B 116		*	No inflorescencia			
B 117		*	No inflorescencia			
B 118		**	10.2	-	3.8	-
B 119		**	-	2.7	-	5.8
B 120		***	-	2.6	-	7
B 123		*	No inflorescencia			
B 124		*	9.6	-	3	-
B 125		*	-	3.3	-	3.2
B 126		*	-	2	-	2.8
B 127		*	9.2	-	2.4	-
B 127A	6x	**	12	-	6	-
B 128		***	-	1.3	-	3.1
B 128A	6x	*	10	-	2.8	-
86120	4x	*	No inflorescencia			
TECO	6x	*	No inflorescencia			
A.T. ♂		**	7.4	2	3.5	5.6
B 12 X B 14	5x	*	13.8	4	3.1	5.4
A.T. B 12-3		**	-	2.3	-	3.8

N.P.= Nivel de Ploidía, P.N.=Presencia de nemátodo (\* nula, \*\*poca y \*\*\*alta), A.I. (♂)=Altura de la inflorescencia masculina, A.I. (♀)= Altura de la inflorescencia femenina, N.E.=Número de ramificaciones y N.I.=Número de involucros.

El nemátodo que provocó el daño pertenece a la:

Clase: Secernentea

Subclase: Diplogasteria

Orden: Tylenchida

Suborden: Tylenchina

Superfamilia: Tylenchoidea

Familia: Anguinidae

*Anguina* tiene los primeros tres parásitos registrados en las plantas:

- *Anguina tritici*
- *Anguina agrostis*
- *Anguina graminis*

Los cultivos atacados principalmente por este nematodo son: trigo, centeno, avena y cebada.

*Anguina* es un endoparásito sedentario, cada hembra pone hasta 2000 huevos, los adultos mueren pronto después de ovipositar, estos nemátodos son muy resistentes y se han restablecido hasta después de 28 años de estar almacenados.

En la Figura 4.17 se muestra *Anguina* hembra (derecha) y macho (izquierda), se puede observar que la hembra tiene un tamaño mayor que el macho. En la Figura 4.18 se observa el daño provocado en el pasto Búfalo, en el cual no permite que las guías se desarrollen, y produce deformaciones.



Figura 4.17 *Anguina* hembra (derecha) y macho (izquierda).



Figura 4.18 Daño provocado por *Anguina* en Búfalo (*Buchloe dactyloides*).

## RESUMEN

Los céspedes tienen una gran importancia ecológica, desafortunadamente han sido ignorados a pesar de los grandes beneficios que aportan al ambiente y a la humanidad. La obtención de céspedes nativos de bajo mantenimiento es de gran importancia, particularmente para las regiones de clima semiárido del territorio nacional, ya que requieren de poca cantidad de agua y soportan climas con temperaturas extremas. Una de las especies nativas de mayor importancia, es el zacate Búfalo (*Buchloe dactyloides*) que es una gramínea que presenta buenas características para las condiciones climatológicas del norte de México, por lo que es necesario caracterizar esta especie.

El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización morfológica y de calidad y un análisis de morfología y apareamiento cromosómico de zacate Búfalo (*Buchloe dactyloides*) colectados en los estados de Coahuila, San Luís Potosí, Zacatecas, Nuevo León y Querétaro así como algunos materiales introducidos de EUA, para lo cual se establecieron experimentos bajo condiciones de laboratorio, invernadero y campo.

En laboratorio, se realizó el conteo cromosómico de 12 materiales para determinar su nivel de ploidía. De 37 materiales ya se contaba con esta información ya que en un trabajo anterior se había determinado por citometría de flujo, la eficiencia de dicho trabajo se comprobó al determinar el mismo nivel de ploidía mediante conteo de cromosomas en cuatro materiales. Adicionalmente se realizó un análisis de morfología y apareamiento cromosómico del material diploide B-106. En campo, se llevó a cabo

una caracterización morfológica y de calidad de césped, donde se evaluaron 10 variables morfológicas y siete de calidad. Para el análisis de componentes principales (ACP) se consideraron las variables morfológicas-calidad, morfológicas y de calidad. En el primer análisis se consideraron los 69 genotipos; y en el segundo análisis 45 genotipos caracterizados por su nivel de ploidía.

En el análisis de morfología y apareamiento cromosómico del material diploide B106; el número cromosómico fue 20, el reducido tamaño de los cromosomas solo permitió en forma subjetiva agrupar los cromosomas en pequeños (6 pares de homólogos) y cromosomas grandes (4 pares de homólogos) La mayoría de los cromosomas pueden ser metacéntricos o submetacéntricos y hay cuando menos un telocéntrico o subtlocéntrico. Se encontraron cromosomas asociados al nucléolo por lo que pueden presentar constricciones secundarias (NORs) las que al parecer se incrementan con el nivel de ploidía. Se observó un apareamiento bivalente en forma de anillo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los ACP se observó que es mejor realizar una agrupación con base en las características morfológicas-calidad cuando se desea obtener grupos con características morfológicas similares, pero si se desean grupos muy bien definidos por sus características morfológicas es más conveniente utilizar sólo características morfológicas y no utilizar las características en conjunto. Para agrupar materiales con características de calidad no es conveniente utilizar las características morfológicas-calidad en conjunto, es mejor utilizar sólo características de calidad ya que de esta manera los grupos quedan mejor definidos.

En los resultados obtenidos al realizar el ACP considerando los 69 genotipos y comparándolo con el segundo ACP para los 45 genotipos no se observaron grandes diferencias, ya que las características de mayor peso fueron las mismas para los dos

análisis. En el ACP no se observó claramente que los materiales diploides se unieran con los tetraploides o los hexaploides con el pentaploide ya que existió un traslape entre materiales.

Con los resultados de los ACP no se logró definir de forma clara los grupos, razón por la cual se realizó un análisis de clusters utilizando a los resultados obtenidos de la caracterización de variables morfológicas y de calidad. Se realizaron tres clusters uno para las características morfológicas-calidad, morfológicas y de calidad. En las características morfológicas-calidad se observó que los materiales diploides tienden a agruparse con los tetraploides y de manera general fueron los que presentaron mejor calidad. El material pentaploide se agrupó con los hexaploides que fueron materiales que presentaron texturas gruesas y una mayor altura de planta.



## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y considerando los objetivos planteados las conclusiones son las siguientes:

1.- Existe variabilidad entre los materiales ya que presentaron diferentes características morfológicas y de calidad.

2.- Con las características morfológicas y de calidad de césped se formaron cuatro grupos de materiales, donde se observó de manera general que los materiales diploides tienden a agruparse con los tetraploides y el pentaploide con con los hexaploides.

3.-Las colectas que presentaron mejor calidad de césped fueron la B-61 (4x) y B-62 (2x). Los diploides y tetraploides de manera general mantuvieron mayor calidad, ya que los hexaploides fueron materiales con texturas gruesas y mayor altura.

4.-Entre los materiales evaluados se encontraron los siguientes niveles de ploidía: diploides, tetraploides, pentaploides y hexaploides.

5.- Se observó un apareamiento bivalente en configuración de anillo. No se midieron los cromosomas ni se apreció el centrómero debido al reducido tamaño de los cromosoma. La mayoría de los cromosomas pueden ser metacéntricos o submetacéntricos y cuando menos hay un telocéntrico o subtelocéntrico. Se encontraron cromosomas asociados al nucléolo por lo que pueden presentar constricciones secundarias (NORs) las que al parecer se incrementan con el nivel de ploidía.

## LITERATURA CITADA

- Arumuganathan, K., and E. D. Earle. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9(3):208-218
- Bennett, M. D. 1987. Variation in genomic form in plants and its ecological implication. *New Phytol.* 106:177-200.
- Brede, D. 2000. *Turfgrass maintenance reduction handbook: sports, lawns, and golf.* Chelsea and harbor press, Michigan, EUA. 173 p.
- Browning, S. J., T. P. Riordan, R. E. Johnson and J. Johnson-Cicalese. 1994. Heritability estimates of turf-type characteristics in buffalograss. *Hort Sci.* 29:201-205.
- Bouchan, G. R. and T. A. Campbell. 1994. Use of an image analysis system to karyotype diploid alfalfa (*Medicago sativa* L.). *J. Hered.* 85:18-22.
- De Anda, V. E. G. 2004. Determinación de los niveles de ploidía de 42 materiales de zacate Búfalo (*Buchloe dactyloides* (Nult) Engelm ) a través de Citometría de Flujo. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 40 p.
- De Laat A, M. A., W. Gohde and M.J.D.C. Vogelzang. 1987. Determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry. *Plant Breed.* 99:303-307.
- Farías F, J. M., N. Tomas y H. Quiroga. 1983. Utilización del análisis de componentes principales en la selección de líneas y variedades de Ballico anual, *Lolium multiflorum* Lam. *Agricultura Técnica en México.* 9(2):125-10. México.
- Galbraith, D. W., K. R. Harkis, J. M. Maddox, N. M. Ayres, D.P. Sharma and E. Firoozabady. 1983. Rapid flow cytometry analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science* 220:1049-1051.
- Guevara, Ch. R. 1983. Introducción al análisis de componentes principales y al análisis de correspondencias.
- Gosh, S. 1976. The nucleolar structure. *Int. Rev. Cytol.* 44:1-28.

- Hernández, S. M. 1984. Manual de laboratorio citología y citogenética. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. Pp 4-92.
- Huff, D. R., R. Peakall and P. E. Smouse. 1993. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss {*Buchloe datyloides* (Nutt.) Engelm.} Theor. Appl. Genet. 86:927-934.
- Huston, B. C. 2000. The Turfgrass Disease Handbook. Krieger Publishing. Company. Pp 88-90.
- Isebrands, J. G. and T. R. Crow. 1975. Introduction to uses and interpretation of principal component analysis in forest biology. USDA. Forest Service. General Technical Report NC-17. United States of America. 19 p.
- JMP version 3.2.1.0. Copyright © SAS Institute Inc. 1989 -1997.
- Johnson, P. G., K. E. Kenworthy, D. L. Auld, and T. P. Riordan. 2001. Distribution of Buffalograss polyploid variation in the southern Great Plains. Crop Sci. 41:909-913.
- Johnson, P. G., T. P. Riordan and J. Johnson-Cicalese. 2000. Low-mowing tolerance in buffalograss. Crop Sci. 40:1339-1343.
- Johnson, P. G., T. P. Riordan and K. Arumuganathan. 1998. Ploidy level determinations in buffalograss clones and populations. Crop Sci. 38:478-482.
- Kato, S., N. Ohmido, K. Fukui. 2003. Development of a quantitative pachytene chromosome map in *Oryza sativa* by imaging methods. Genes Genet Syst. 78 (2):155-61
- Kendall, and M. A. Stuart. 1976. The advanced, theory of statistic. Vol. 3: Design, and analysis, and time series. 3a. ed. Great Britain. pp. 292-305.
- Klingenberg, J. P. 1992. Evaluation, genetic variation and selection for improvement of a seeded, turf-type buffalograss population {*Buchloe datyloides* (Nutt.) Engelm.} Dep. of Horticulture, Univ. of Nebraska, Lincoln.
- Lacadena, J. R., Cermeño M. C., Orellana, J. & Santos, J. L. 1984. Evidence for wheat-rye nucleolar competition (amphiplasty) in triticales by silver-staining procedure. Theor. Appl. Genet. 67:207-213.
- Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. Editorial Complutense. España.

- Martínez, R. J. M. 1991. Análisis numérico de caracteres morfológicos y agronómicos, y prueba de adaptación de 14 ecotipos de *Macroptilium atropurpureum* (DC.). Tesis de Maestría. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 113 p.
- Metin, T., S. G. Kulvinder and P. Kenneth. Vogel. 2001. Kariotype and C-Banding patterns of mitotic chromosomes in diploid bromegrass (*Bromus riparius* Rehm). *Crop Sci.* 41:831-834.
- Pielou, E. C. 1969. An introduction to quantitative ecology. McGraw-Hill. United States of America. 532 p.
- Qian, Y. L., S. Ball Z, Tan. A. J. Koski and S. J. Wilhem. 2001. Freezing tolerance of six cultivars of buffalograss. *Crop Sci.* 41:1174-1178.
- Rosas, P. J. A. 2003. El zacate Búfalo (*buchloe dactyloides*): una alternativa de césped para la región semiárida de México. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 82 p.
- SAS 2001 Institute Inc., Carry, NC, USA.
- Sierra, S. J., J. Valdés Reyna y R. Vásquez Aldape. 1981. Gramíneas del rancho “Los Angeles”. Identificación por sus características vegetativas. Pp. 33, 56.
- Smith, C., M. M. Goodman and R. N. Lester. 1981. Variation within teosintle. I. Numerical analysis of morphological data. *Economy Botany* 35(2): 187-203. United States of America.
- Statistica. Statistica for Windows (Ver 6.0) Tulsa OK, USA: StatSoft, Inc.1994.
- Vargas, Ch. D., 1984. Análisis de componentes principales. INIA, Mesa de control (estadística y cálculo). Oficinas Centrales. México.
- Viewfinder Versión 2.6.1. Copyright© 1997-2001. Pixera Coporation.
- Ye, C. W. E., H. Díaz, A. J. Lozano, V. M. Zamora, M. J. Ayala. 2001. Agrupamiento de germoplasma de triticales forrajero por rendimiento, ahijamiento y gustosidad. *Tec. Péc. Méx.* 39(1):15-30.
- Zamora, V. M., A. J. Lozano, A. López, M. H. Reyes, H. Díaz, J. M. Martínez y J. M. Fuentes. 2002. Clasificación de triticales forrajeros por rendimiento de materia seca y calidad nutritiva en dos localidades de Coahuila. *Tec. Pecu. Méx.* 40(3):229-242.