

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Número Cromosómico y Nivel de Ploidía de Tres Especies de
Opuntia del Sureste de Coahuila

Por:

MARÍA DE LA LUZ GONZÁLEZ RAGOYTIA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Número Cromosómico y Nivel de Ploidía de Tres Especies de

Opuntia del Sureste de Coahuila

Por:

MARÍA DE LA LUZ GONZÁLEZ RAGOYTIA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

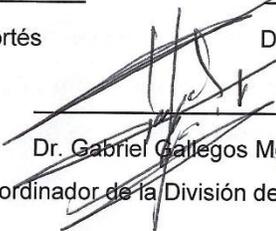
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

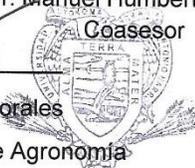
Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Francisca Ramírez Godina
Asesor Principal


M.C. Areli González Cortés
Coasesor


Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés
Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía


Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2018

DEDICATORIA

A mis padres

Pablo González González y Alejandra Ragoytia Díaz

A mi padre Pablo porque siempre estuvo presente conmigo, por darme fuerzas cuando ya no podía más por sus consejos, su tiempo que siempre me brindó, por el cariño que siempre me tuviste, por la forma en que enfrentaste los problemas te admiro muchísimo eres y seguirás siendo mi ejemplo a seguir.

A mi madre Alejandra que siempre me brindó su apoyo, por sus consejos por la oportunidad que me dio para forjarme como profesional, por estar a mi lado aún con la distancia.

Quiero agradecerles de corazón a estos seres tan maravillosos gracias por darme la vida, por los consejos por cuidar de mí, por el apoyo que siempre me brindaron, por el cariño que recibí de ambos

A mis hermanos Flor, Dalila, Francisco, Elizabeth, Emilio, Betzabeth y Gabriela por sus consejos, por alentarme a lograr esta meta en mi vida, por el apoyo que cada uno de ustedes que me brindó en este trayecto de mi formación académica, por confiar en mí.

A Dios por darme esta tan maravillosa vida.

AGRADECIMIENTOS

A la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO mi ALMA MATER, que me dio la oportunidad de formar parte de ella y por darme el honor de poder representar esta casa de estudios, porque soy orgullosamente BUITRE de la narro y orgullosamente de la carrera de ingeniero Agrónomo en Producción.

A la MC. Areli González Cortés, agradezco profundamente por su asesoría en la elaboración del trabajo, por su amistad que me brindó por sus consejos gracias.

A mi asesor: Dra. Francisca Ramírez Godina por las asesorías y el apoyo que me brindó aclarando dudas que surgieron en la elaboración del proyecto.

A mis amigos, con quienes tuve la dicha de recorrer esta hermosa etapa de nuestras vidas “Alondra, Belén, Rosy, Daniel, Citlali, Edwin, Doriang, Mauricio, Darinel, Osman” que en altas y bajas estuvimos apoyándonos unos con otros y que nuestra amistad perdure por mucho tiempo.

A todas aquellas personas que me han estimulado y han puesto su granito de arena para concluir esta etapa, por su atención y consejos que me brindaron, para ser cada día mejor como persona, gracias a todos por estar siempre presentes.

RESUMEN

Las cactáceas representan a una familia de plantas nativas del continente americano, el género *Opuntia Mill* es uno de los géneros de mayor representatividad, con una amplia distribución en México, los nopales como comúnmente se le llama son de gran importancia biológica, cultura, económica y social. Los estudios citogenéticos han sido particularmente importantes en las áreas de la taxonomía y la biosistemática y constituyen una herramienta muy útil en la identificación de especies próximas con un número de cromosomas similar. A nivel intra-específico, se han realizado diversos estudios dirigidos a investigar la estabilidad del nivel de ploidía, especialmente entre poblaciones separadas geográficamente. Así, los estudios del número cromosómico en células mitóticas de ápices radicales constituyen un procedimiento adecuado para determinar el nivel de ploidía a través del conteo cromosómico y han sido de gran apoyo, por lo tanto. El objetivo del presente trabajo fue determinar el número cromosómico y comparar el nivel de ploidía de tres especies de *Opuntia* distribuidos en el sureste de Coahuila, para contribuir con la clasificación taxonómica, conservación y utilización apropiada de estos recursos genéticos naturales. La evaluación del número cromosómico mitótico se realizó en ápices radiculares de cladodios de nopal procesados en láminas temporales por la técnica del squash y la técnica del proceso enzimático (pectoliasa y celulasa) siendo esta última la que dio los mejores resultados. De acuerdo a los conteos cromosómicos se encontró que el nivel de ploidía en las especies analizadas fluctuó desde una especie diploide *Opuntia microdasys* con un número cromosómico de $2n=2x=22$, otra especie tetraploide *Opuntia rastrera* con $2n=4x=44$, y una especie octaploide *Opuntia megacantha* se $2n=8x=88$.

Dentro una misma especie colectada de distintas localidades, no se encontraron diferencias en el nivel de ploidía, sin embargo entre especies se registraron niveles de ploidía de diploides, tetraploides hasta octoploides. Por lo tanto, los niveles encontrados son indicativos del amplio centro de origen de estas especies. Conviene realizar estudios cariotípicos, meióticos y fenotípicos para relacionarlos con el nivel de ploidía.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Clasificación.....	4
La subfamilia Opuntioideae	5
Historia.....	8
Origen	8
Descripción botánica del género <i>Opuntia</i> (morfología).....	10
Raíz	10
Tallo.....	10
Espina.....	11
Flores.....	11
<i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dick	11
Clasificación taxonómica de <i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dic.....	12
<i>Opuntia microdasys</i> (Lehm.) Pfeiff.....	12
Clasificación taxonómica de <i>Opuntia microdasys</i>	13
<i>Opuntia rastrera</i> F.A.C. Weber	14
Clasificación taxonómica de <i>Opuntia rastrera</i>	15
Producción sexual o por semilla	16
Producción asexual o vegetativa	16
Poliploidía	17
Tipos de poliploides	19

Citogenética	21
Estudios citotaxonómicos en la familia Cactaceae	22
Hibridación.....	26
Número cromosómico.....	27
Estudios mitóticos.....	28
MATERIALES Y METODOS	32
Localización del experimento.....	32
Material vegetal	32
Preparaciones Citológicas	33
Siembra	33
Corte de ápices radiculares	34
Pretratamiento	35
Fijación	36
Hidrolisis	37
Maceración (técnica de squash).....	39
Procedimiento enzimático para la obtención de células en mitosis	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
Obtención de material vegetal	43
Pretratamiento	44
Fijación	45
Hidrolisis	45
Coloración.....	45
Determinación de ploidía	46
<i>Opuntia megacantha</i>	46
<i>Opuntia rastrera</i>	49
CONCLUSIONES	52
LITERATURA CITADA.....	53

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Riqueza de especies de nopales silvestres en México.....	7
2	Especies del género opuntia, evaluados en el análisis citogenético.....	32
3	Determinación de la hora mitótica de las tres especies evaluadas.....	44
4	Determinación del número cromosómico para <i>Opuntia megacantha</i> evaluado en localidades del sureste de Coahuila.....	47
5	Determinación del número cromosómico para <i>Opuntia microdasys</i> evaluado en localidades del sureste de Coahuila.....	49
6	Determinación del número cromosómico para <i>Opuntia rastrera</i> evaluado en localidades del sureste de Coahuila.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fotografía de cladodios en campo de <i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dic.....	12
2	Fotografía de cladodios en campo de <i>Opuntia microdasys</i>	14
3	Fotografía de cladodios en campo de <i>Opuntia rastrera</i>	15
4	Ubicación geográfica de la colecta de tres especies <i>Opuntia</i>	33
5	Procesos de cicatrización de <i>Opuntia</i>	34
6	Obtención de ápices radiculares, selección y corte de ápices...	35
7	Pretratamiento de 8-hidrociquinoleína y paradiclorobenceno....	36
8	Proceso de fijación de cromosomas en solución alcohol etílico y ácido acético glacial.....	37
9	Extracción de caracolasa " <i>Helix pomata</i> " y procesos de hidrólisis.....	38
10	Maceración, técnica de squash.....	40
11	Proceso enzimático, enjuagues de los ápices, exposición a la solución Buffer de citratos, baño maría con las enzimas y corte de ápices.....	42
12	Cladodios con ápices radiculares de <i>O. megacantha</i> , <i>O. microdasys</i> y <i>O. rastrera</i>	43
13	Células mitóticas de <i>Opuntia megacantha</i> . Octaploide ($2n=8x=88$).....	47
14	Células mitóticas de <i>Opuntia microdasys</i> , diploide ($2n=2x=22$).....	49
15	Células mitóticas de <i>Opuntia rastrera</i> tetraploide ($2n=4x=44$).....	51

INTRODUCCIÓN

México es un país megadiverso cuenta con el 70% de la diversidad mundial Mandujano *et al.*, 2002 siendo el cuarto lugar mundial después de Brasil, Colombia, Indonesia y China.

Adicionalmente, Tamayo (1988) realizó un análisis corológico, con base en sesenta y cinco especies de distribución restringida a cuatro o menos unidades geográficas, en el que reveló dos patrones de distribución de *Opuntia sp.* En México: Patrón 1; sursureste de México, con tres regiones; Golfo, Sur de México y Chiapas, y el Patrón 2; Centro-Norte de México, con cinco regiones: Altiplanice, Altiplanice- Sierra Madre, Altaplanice-Noreste de México, Altaplanice Septentrional- Noroeste de México y Noroeste de México y Noroeste de México; confirmando la gran riqueza genética de nuestro país.

Las cactáceas representan a una familia de plantas nativas del continente americano, cuya distribución se presenta desde Canadá hasta la Patagonia, con un número de 2000, todavía impreciso de especies, pero estimado en alrededor de 1500 (Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995), que en la región centro-norte de México encuentra unos de los centros de diversificación, con 18 géneros (35%) y 715 especies (84%) endémicas (Becerra, 2000).

La mayor parte de las especies habitan en las regiones áridas y semiáridas del país, particularmente en la porción sureste del desierto chihuahuense, incluyendo la zona árida Querétaro-Hidalguense (Hernández y Godínez, 1994).

El género *Opuntia* Mill, contribuye uno de los grupos más diversos y complejos dentro de la familia, algunos autores estiman que hasta la fecha pueden incluirse de 191 a 215 especies (Hunt, 1999; Anderson, 2001); es al mismo tiempo uno de los géneros de mayor representatividad y más amplia distribución en México, pues habita desde dunas costeras a bosques de coníferas. En nuestro país se distribuye principalmente en regiones semiáridas bosques de encino, pastizales y bosques del trópico-seco (Starmer *et al.*, 2003) sin embargo, es en zonas áridas y semiáridas donde se observa la mayor riqueza de especies (Muñoz-Urias *et al.*, 2008), Scheinvar (2010), reconoce 93 especies silvestres de nopales (*Opuntia* subgénero *Platyopuntia*, especies de tallos aplanados) dando relevancia a los desiertos sonorenses y chihuahuenses por presentar numerosas especies endémicas y microendémicas.

Los nopales son de gran importancia biológica, cultural, económica y social (Bravo-Hollis, 1978; Hernández y Godínez, 1994; Mandujano *et al.*, 2002; Reyes Agüero *et al.*, 2005b). Forman parte de la dieta de invertebrados, reptiles, aves y mamíferos (Mellink y Riojas-Lopez. 2002). Son utilizados de manera tradicional como alimento (verduras y frutos), medicamentos (Bacardi-Gascon *et al.*, 2007), y han formado parte del folklor mexicano, representándonos ante el mundo en el escudo nacional mexicano.

Opuntia es un grupo de relativa reciente aparición evolutiva y aun se encuentra en proceso activo de especiación, sugerido por la simetría del acrotipo y la presencia de características primitivas como cromosomas pequeños y metacéntricos, la gran variación morfológica y la presencia de hibridación interespecífica (Mercado, 2014).

Para resolver los problemas en la confusa taxonomía de los nopales basada en análisis de caracteres externos, los estudios citogenéticos a través del conteo cromosómico han sido de gran apoyo (Pinkava y McLeod, 1971; Pinkava *et al.*, 1973, 1977, 2001) al ser una herramienta eficaz para distinguir estas especies y determinar las poblaciones ancestrales de los híbridos (Raven, 1975; Rebman, 1995), además que proporcionan información importante en cuanto a las relaciones filogenéticas y la distribución de los individuos estudiados (Léia Acelkrad, 2011).

Objetivo general

Determinar el número cromosómico y comparar los niveles de ploidía en tres especies del género *Opuntia* distribuidos en Coahuila.

Objetivos específicos

- ✓ Obtener el número cromosómico de tres especies de *Opuntia* distribuidos en el sureste de Coahuila.

- ✓ Determinar los niveles de ploidía en tres especies del género *Opuntia* distribuidos en el sureste de Coahuila.

Hipótesis

Las especies a evaluar tendrán diferencias entre poblaciones en cuanto a número cromosómico y nivel de ploidía.

REVISIÓN DE LITERATURA

Entre las angiospermas, la familia Cactaceae es la más distintiva y exitosa del Nuevo Mundo con 1600 especies (Barthlott y Hunt, 1993). La clasificación sistemática y el número de género y especie en las cactáceas es aún una tarea no resuelta, son varios los autores que han intentado un recuento para el grupo dentro del territorio nacional, de los más importantes; Bravo-Hollis (1978) y Bravo- Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) reportan cerca de 774 especies; Hernández y Godínez (1994) enlistan alrededor de 560 especies dentro de 48 géneros; Valiente-Banuet y Godínez-Álvarez (2002) mencionan la presencia de 51 géneros y unas 850 especies; mientras que Guzmán *et al* (2003) consideran 68 géneros y 689 especies .

Clasificación

La familia cactaceae Lindl., está incluida en el orden Caryophyllales (Cuénoud *et al.*, 2002; APGIII, 2009)., es una familia nativa del continente americano (Bravo-Hollis, 1978; Gibson y Nobel, 1990; Anderson, 2001), cuyo origen se ha estimado durante el Eoceno-Oligoceno, hace unos 35 millones de años, en ambientes compatibles con lo que hoy conocemos como trópico seco (Arakaki *et al.*, 2011).

La primera clasificación de la familia estuvo basada solamente en características morfológicas, realizadas por Britton y Rose (1919-1923) quienes propusieron la existencia de 122 géneros ordenados en tres tribus: Pereskiae. Opuntiae y cereae; Esta última clasificación es la que siguió Elia Bravo (1978) en su obra sobre las cactáceas de México, dividiendo la familia en tres subfamilias: Pereskioideae, Opuntioideae y Cereoideae; con 67 géneros. La más reciente verificación de la taxa

de cactáceas para el territorio mexicano es la realizada por Guzmán *et al.* (2003), reportando 68 géneros y 689 especies, quien se basa principalmente en la clasificación propuesta por Hunt (1999).

Los consensos sobre el número de géneros y especies más recientes para la familia, basados en las evidencias de la filogenia y sistemática molecular son aquellas realizadas por Barthlott y Hunt (1993), Anderson (2001) y Hunt (1999, 2006), dividiendo la familia en cuatro subfamilias: Pereskioideae, Maihuenoideae, Opuntioideae y Cactatoideae.

La subfamilia Opuntioideae

De acuerdo a la clasificación moderna de las cactáceas, la subfamilia Opuntioideae es la segunda más extensa. En su filogenia se presenta 5 tribus (Wallace y Dickie, 2002; Griffith y Porter, 2009): Austrocylindropuntieae, Tephrocactaeae, Opuntieae y Cylindropuntieae, estos dos últimos constituyen los *nopales* y las *choyas*, con diez y siete géneros respectivamente (Bárcenas *et al.*, 2011).

La tribu Opuntieae forma un clado bien definido dentro de la subfamilia (Wallace y Dickie, 2002), la cual está constituida por los géneros *Brasiliopuntia* (K. Schumann) A. Berg., *Consolea* Lemaire, *Miqueliopuntia* Fric ex F. Ritter, *Nopalea* Salm-Dyck, *Opuntia* Mill., *Salmiopuntia* Fric ex Guiggi, *Tacinga* Britton & Rose y *Tunilla* Hunt & Illiff. (Majure *et al.*, 2012b).

Opuntia (en lo sucesivo *Opuntia sensu stricto*) consideraba hasta 13 subgéneros (Benson, 1982) pero debido a las tendencias de las clasificaciones modernas fue reducido el número y separado en varios géneros hoy en día ya reconocidos, por

ejemplo *Austrocylindropuntia*, Backeb., *Brasiliopuntia* (K. Schum.) A. Berger, y *Cylindropuntia* (Engelm.) F.M. Kunth (Anderson, 2001).

El género *Opuntia*, llamado *Platyopuntia* por Britton y Rose (1920) por sus cladodios planos y alargados en forma de raqueta, es el género más representativo y el que presenta la mayor diversidad de especies (Anderson, 2001). Su circunscripción aún no está del todo clara y los estudios moleculares demuestran la existencia de taxa polifiléticos (Wallace y Dickie, 2002; Griffith y Porter, 2009; Bárcenas *et al.*, 2011; Hernández- Hernández *et al.*, 2011; Majure *et al.*, 2012b). *Consolea* y *Nopalea*, presenta una morfología floral distintiva (Anderson, 2001; Rebman, 2002), pero mediante ciertos marcadores moleculares se anidan dentro del cladodio *Opuntia* (Wallace y Dickie 2002; Griffith y Porter, 2009; Bárcenas *et al.*, 2011; Hernández- Hernández *et al.*, 2011; Majure *et al.* 2012b). Sin embargo, con otros marcadores moleculares (Griffith, 2003, 2004a) y cromosómicos (Negrón-Ortiz, 2007) colocan a *Consolea* en un lugar diferente con respecto a *Opuntia*.

De aquí en adelante se hará referencia al género *Opuntia* en sentido estricto, para aquellas plantas que tienen;

- Artículos aplanados en forma de raqueta, llamados también cladodios o pencas;
- Hojas cónicas prontamente caducas, solo en la etapa temprana de los cladodios
- Areolas con pelos o fieltro blanco;
- Glóquidas (ahuates) numerosas;
- Ovario ínfero con numerosos óvulos, rodeado de un pericarpelo con areolas con numerosas glóquidas y algunas espinas.

El termino *Opuntia* fue acuñado por primera vez por Joseph Pitton de Toumefort en 1700, pero la publicación válida del nombre fue realizada por Philip Miller en 1754 (Anderson, 2001). Según Britton y Rose (1920) es probable que el término haga referencia a una zona de la antigua Grecia denominada "Opus" en la región de Leócrida, Beocia, en donde crecían ciertas plantas suculentas semejantes a cactus, sin embargo otros autores remontan el nombre de Plinio (29 a 74 AC) quien llamo "*Opuncia*" a una planta que crecía cerca de Opuns, India, (Bravo-Hollis, 1978), aunque otros creen que provenga del vocablo "*opun*" de los indios Papago (Defelice, 2004).

Nuestro país es reconocido como el centro más importante de diversidad de nopales (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001), donde el recuento más actual realizado por Scheinvar (2010) reconoce 93 especies silvestres. Esta riqueza varía según los autores dedicados a descifrar la complejidad taxonómica del género (Cuadro 1.). La gran variación morfológica, la hibridación y poliploidia hacen que la delimitación de especies sea un reto para los taxónomos (Bravo-Hollis, 1978; Cota *et al.*, 1996; Rebman y Pinkava, 2001).

Cuadro 1. Riqueza de especies de nopales silvestres en México

Autores	(Britton y Rose, 1920)	(Bravo-Hollis, 1978)	(Hunt, 1999)	(Anderson, 2001)	(Guzmán <i>et al.</i> , 2003)	(Scheinvar, 2010; Léia Acelkrad, 2011)
Especies	58	66*	93	181	83**	93
*más 34 infra especies ** más 8 infra especies. Modificado de Esparza-Sandoval, 2010						

Historia

De acuerdo con Scheinvar (1995), el nombre “*Opuntia*” viene de un antiguo pueblo griego en la región de Leocrid, Beocia: *Opus*, u *Opuntia*, en donde Tournefort encontró una planta con espinas que le recordó a la *Opuntia* americana, que incluye 11 subgéneros: *Opuntia*, *Consolea*, *Austrocylindropuntia*, *Brasilopuntia*, *Corynopuntia*, *Cilindropuntia*, *Grusonia*, *Marenopuntia*, *Nopalea*, *Stenopuntia* y *Tephrocactus*.

Origen

Según Flannery (1985), entre el final del Pleistoceno (ca. 100 000 años A.C.) y el principio del quinto milenio A.C., los grupos indígenas prehistóricos de los valles semiáridos de los estados de Hidalgo, México, Guerrero, Puebla y Oaxaca, comenzaron a cultivar una serie de plantas nativas, que después se convirtieron en la alimentación básica de las antiguas civilizaciones de América central. Por siglos, estos nativos americanos vivieron como nómadas, descubriendo qué plantas recolectar y consumir, cómo tostar la *Opuntia* y el agave para hacerlos comestibles, y cómo extraer el jarabe del mezquite (*Prosopis* spp.). El cultivo de frijoles, calabazas, *huatli* (*Amaranthus* sp.), chiles, aguacates, tomates, y, como Flannery (1985) sugiere, tal vez *Opuntia*, agave, y otras frutas semi-tropicales comenzaron entre 7 500 y 5 000 años A.C.

Desde el arribo del hombre a las zonas desérticas y semi-desérticas de México, aproximadamente hace 20 000 años, la especie *Opuntia* ha sido una fuente importante de alimentación, y como bebida o medicinal. Mucho antes de conocer el manejo hortícola de *Opuntia*, los mexicanos antiguos lo consumían en su forma silvestre. Fray

Bernardino de Sahagún, en su trabajo *Historia General de las Cosas de la Nueva España* –escrito durante la primera mitad del siglo XVI- reportó que los nativos americanos vivían por muchos años y eran sanos y fuertes. Su vitalidad, según él, se debía a la dieta, la cual no era cocinada con otras cosas. Ellos comían “hojas de cactus con espinas”, tunas con espinas, raíces, vainas de mesquite, flores de yuca que llamaban *czotl*, miel, conejos, liebres, venados, serpientes y aves (Sahagún, 1997). El género *Opuntia* se extendió desde México a prácticamente todo el continente americano (desde Alberta, Canadá, hasta la Patagonia, Argentina). En 1700, Tournefort propuso el nombre de *Opuntia*, por su similitud con la planta de espinas que crecía en el pueblo de Opus, Grecia (Velázquez, 1998). En México, varias especies del género *Opuntia* de la familia de las cactáceas son llamadas *nopal*. Todas ellas son endémicas en América, y de las 377 especies reconocidas, 104 son halladas silvestres en México, y 60 son endémicas en México.

Clasificación taxonómica de *Opuntia*.

La siguiente clasificación taxonómica de *Opuntia* más comúnmente aceptada (Ríos y Quintana, 2004).

Reino	Plantae		
Subreino	Tracheobionta		
División	Magnoliophyta		Descripción botánica del género <i>Opuntia</i> (morfología)
Clase	Magnoliopsida		
Subclase	Caryophyllales		
Orden	Caryophyllidae	El género	<i>Opuntia</i>
Familia	Cactaceae	comprende	plantas
Subfamilia	Opuntioideae	perennes,	suculentas,
Tribu	Opuntiae	simples	o cespitosas,
Género	<i>Opuntia</i>		

arborescentes, arbustivas o rastreras. El tronco bien definido o con ramas desde la base, erectas, extendidas o postradas. Artículos globosos, claviformes, cilíndricos o aplanados (cladodios), muy carnosos o leñosos. Limbo con hojas pequeñas, cilíndricas, carnosas, caduco muy pronto. Aréolas axilares con espinas, pelos, glóquidas y a veces glandulares; por lo general, las de la parte superior de los artículos son las productoras de flores. El género se divide en dos géneros: *Cilindropuntia* y *Platyopuntia* (Bravo-Hollis, 1978.).

Raíz

La raíz, además de la función de fijación, obra como un poderoso órgano de absorción durante la temporada de lluvias: su forma es variable y generalmente las raíces secundarias son numerosas y ramificadas, están más desarrolladas que la principal; esta última, en ocasiones se desarrolla mucho y adquiere aspecto napiforme o globoso (Enríquez *et al.*, 2004).

Tallo

Los tallos son suculentos y articulados, botánicamente llamados cladodios y vulgarmente pencas (Sáenz, 2006). El tallo a diferencia de otras especies de

cactáceas está conformado por tronco y ramas aplanadas que posee cutícula gruesa de color verde de función fotosintética y de almacenamiento de agua en los tejidos (Angulo y Granza, 2007).

Espina

Órgano axilar o apendicular lignificado, puntiagudo y que posee tejidos vasculares o diferencia de las excrecencias, emergencias y tricomas que se presentan en otras plantas. Las espinas del género *Opuntia* son hojas modificadas con haces vasculares en las bases y que se forman desde el dermatógeno (protodermis) y perisblemo (desmógeno), al igual que las hijas (González, 1998).

Flores

Las flores de *Opuntia* son sésiles, hermafroditas y solitarias, se desarrollan normalmente en el borde superior de las pencas. Su color es variable: hay rojas, amarillas, blancas entre otros colores. En la mayor parte del mundo la planta florece una vez al año (Sáenz, 2006).

***Opuntia megacantha* Salm-Dick**

Alcanza 5 o más metros de altura; erectos y arbóreo con tronco cilíndrico que se vuelve leñoso con la edad; artículos elípticos y abovados, a menudo oblícuos de 40 a 50 cm de largo, llegando en los grandes ejemplares de este nopal hasta 60 cm, muy espinoso, flores amarillas, fruto de color amarillo claro muy jugosos y rico en azúcar. No se extrae ningún producto de la tuna pero en su consumo como fruto es de las más apreciadas (Figura 1). Se acostumbra mucho en forma seca o pasa (tuna pasa). Es una de las mejores variedades de tuna comestible (Burgos, 1983).

Clasificación taxonómica de *Opuntia megacantha* Salm-Dic

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Caryophyllales
Orden	Caryophyllidae
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Opuntioideae
Tribu	Opuntiae
Género	<i>Opuntia</i>
Especie	<i>megacantha</i> Salm-Dick



Figura 1. Fotografía de cladodios en campo de *Opuntia megacantha* Salm-Dic

***Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff.**

Es una especie que se distribuye ampliamente a lo largo del Desierto Chihuahuense, (Bravo-Hollis, 1978; Guzmán *et al.*, 2003). Es conocida comúnmente como “nopal cegador”. Es una planta baja, más o menos erecta a arbustiva, entre 60 y 80 centímetros de altura; cladodios circulares a elíptico-obovados, pubescentes, verde

brillante, entre 7 y 10 centímetros de longitud y entre 4 y 8 cm de ancho. No presenta espinas, las areolas normalmente se encuentran a menos de 1.2 cm entre sí, con muchas gloquidias café-rojizas o amarillas a blancas. Las flores presentan segmentos del perianto internos amarillo brillante de 2.5-3 cm de longitud, mientras que los tépalos externos son a veces rojizos. Los frutos son tunas, rojas (cuando maduran), globosas obovadas de 2-2.5 cm longitud. Esta especie se distribuye principalmente en los desiertos, se puede encontrar entre los 1700-2100 msnm, en los estados de Coahuila, Zacatecas, Nuevo León, Tampico, San Luís Potosí, Hidalgo (Figura 2). Se han visto algunas variantes, ya que aparentemente hibridiza con *O. rufida* cerca de Saltillo, Coahuila y en Concepción de Oro, Zacatecas (Bravo-Hollis 1978).

Clasificación taxonómica de *Opuntia microdasys*

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Caryophyllales
Orden	Caryophyllidae
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Opuntioideae
Tribu	Opuntiae
Género	<i>Opuntia</i>
Especie	<i>microdasys</i> (Lehm) Pfeiff.



Figura 2. Fotografía de cladodios en campo de *Opuntia microdasys*

***Opuntia rastrera* F.A.C. Weber**

Es una especie morfológicamente variable, crece en planicies y su distribución abarca la porción semiárida del centro y norte de México en el desierto Chihuahuense (Bravo-Hollis, 1978; Britton & Rose, 1920). Es una planta de hábito postrado a arbustivo, forma cadenas de artículos orbiculares, presenta varias espinas por aréola, son blancas y rígidas de 2-4 cm de longitud y de repartición regular. Las flores son hermafroditas, amarillas o rosadas, de 4-6 cm de diámetro y presentan un estigma verde multilobulado. Los frutos son verdes y carnosos, de color púrpura cuando están maduros. La floración es primaveral, como para otras especies del género (Bravo-Hollis, 1978; Mandujano *et al.*, 1996). En la zona de estudio la floración comienza en marzo alcanzando su pico máximo a finales de este mes y a principios de abril, y finaliza en junio (Mandujano *et al.*, 1996). Artículos circulares hasta abovados, los más grandes de unos 20cm. de diámetro, formando grandes cadenas. Espinas blancas con la base nunca obscura, varias en cada areola, la más larga de cuatro cm de longitud,

gloquidias amarillas. Flores amarillas; fruto púrpura, ácido y abovado. (Figura 3) (Bravo, 1978).

Para *Opuntia rastrera*, Bravo (1978) declara la distribución de esta especie en el estado de San Luis Potosí y zonas adyacentes de los estados limitiformes, considerando a San Luis Potosí como comunidad tipo

Clasificación taxonómica de *Opuntia rastrera*

Reino	Plantae
Subreino	Embryophyta
División	Angiospermae
Clase	Dicotiledonea
Subclase	Dialipetalas
Orden	Puntiales
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Opuntioideae
Tribu	Opuntiae
Género	<i>Opuntia</i>
Especie	<i>rastrera</i> F.A.C. Weber



Figura 3. Fotografía de cladodios en campo de *Opuntia rastrera*.

Producción sexual o por semilla

La mayoría de las plantas presentes en zonas áridas son plantas que producen flores en cierta época del año. Las flores son, en realidad, estructuras u órganos reproductores; en ellas se desarrollan las células reproductivas, como los óvulos y los granos de polen, que al unirse forman lo que se conoce como semillas (Arias *et al.*, 2000).

Las plantas obtenidas por reproducción sexual tardan más tiempo en iniciar la producción y además, resultan heterogéneas en muchas de sus características por proceder de polinización cruzada. Su importancia radica en que se puede utilizar para trabajos de mejoramiento genético (Callejas-Rivera, 1999).

Producción asexual o vegetativa

La producción asexual puede ocurrir por apomixis vegetativa o agamosperma, la apomixis consiste en la abscisión de cladodios florales o frutos que enraízan bajo condiciones ambientales adecuadas, mientras que en la agamosperma se forman semillas sin fecundación. La producción vegetativa tienen mayores probabilidades de sobrevivir que la reproducción sexual y sus tasas de crecimiento son altas que la reproducción por semilla, por lo cual se pueden establecer poblaciones rápidamente sobre toso el áreas descubiertas de vegetación observándose que en ambientes altamente estresantes el reclutamiento por esta vía es mayor que por reproducción sexual (García *et al.*, 2006).

En la reproducción asexual de *Opuntia* no hay producción de los gametos (óvulos y espermatozoides) por meiosis. Los descendientes, producto de la reproducción

asexual, se convierten en organismos multicelulares, mediante la mitosis. En la reproducción asexual es más ventajosa desde el punto de vista comercial, debido a que se conservan las características fenológicas de la planta madre. Las plantas obtenidas por este método tienen una reproducción más rápida (Angulo *et al.*, 2000)

La reproducción vegetativa consiste en la producción de pencas jóvenes de seis meses sanas, vigorosas y libres de daños por insectos o con malformaciones. El corte debe de realizarse con un machete bien filoso exactamente en la unión entre pencas, posteriormente se trasladan a una sombra donde se acomodan paralelamente entre ellas y con costado sobre la superficie del suelo. Después de 20 días han cicatrizado los cortes lo cual evita la pudrición de estas después de ser plantadas. Lo más recomendable es plantar cuando el suelo este seco (Lira, 2005).

Poliploidía

En varios estudios se ha registrado niveles de ploidía de las *Opuntias* que crecen en el norte de México y el sur de Estados Unidos; en ellos se ha reportado variación en el número cromosómico de una misma especie (Sosa y Acosta, 1966; Pinkava y Mc Leod, 1971; Pinkava *et al.*, 1973; Mc Leod. 1975; Pinkava *et al.*, 1977, 1985, 1992; Palomino y Heras, 2001). Con respecto a la hibridación, se han reportado numerosos híbridos en este género (Mc Leod, 1975; Grant y Grant, 1979; Grant y Grant, 1980; Parffit, 1980; Pinkava *et al.*, 1992; Mayer *et al.*, 2000; Griffith, 2001).

La poliploidía consiste en el incremento del tamaño del genoma causado por la presencia de tres o más juegos de cromosomas dentro de las células somáticas de un organismo (3, triploides; 4, tetraploide; 5, pentaploide; 6, hexaploide; etc.) (Winchester,

1981; Futuyma, 2005; Ranney, 2006; Thorpe *et al.*, 2007; Hegarty y Hiscock, 2008; Maxime, 2008; Madlung, 2013). La poliploidía puede surgir a través de una falla en la división (probablemente asociado con los procesos que se llevan a cabo en la profase I, como el entrecruzamiento entre cromátidas), así que el esperma u óvulo “no reducido” es diploide en lugar de haploide. La subsiguiente fertilización envuelve permutaciones de uno o los dos gametos diploides y resulta en triploidía o bien tetraploidía, respectivamente.

La poliploidía también puede surgir a través de la polispermia o de la hibridación interespecífica (entre especies) (Otto y Whitton, 2000; Futuyma, 2005; Ryan, 2006). Es bien conocido que la poliploidía es especialmente frecuente en grupos híbridos, lo anterior se debe a que los híbridos diploides tienen altas tasas de formación de gametos no reducidos (Otto, 2007).

En plantas, la poliploidía puede surgir también por la llamada “duplicación somática”. En este caso, las regiones meristemáticas de la planta, en las cuales se lleva a cabo el crecimiento (se encuentran cerca de las puntas de los tallos y de las raíces), pueden entrar en la profase con el número de cromosomas duplicados pero no llegan a tener una anafase normal. Por lo cual las células resultantes son tetraploides. Con el tiempo este grupo de células puede llegar a constituir la porción dominante en el crecimiento de una rama. La rama tetraploide puede producir frutos de mayor tamaño que los producidos en las ramas diploides y por lo tanto ser favorecidos por los animales (incluido el hombre), los cuales contribuyen a su establecimiento y dispersión (Winchester, 1981).

La contribución evolutiva de las alteraciones al genoma causadas por la poliploidía se basa en su habilidad de persistir a través del tiempo. Aunque la probabilidad de la duplicación poliploide es baja, la vida media de ese duplicado genético es muy larga (más de un millón de generaciones); por el contrario, los aneuploides a menudo tienen un pobre desempeño y en mamíferos raramente sobreviven hasta el periodo reproductivo (Otto, 2007; Thorpe *et al.*, 2007).

Tipos de poliploides

De acuerdo al origen de sus progenitores los individuos poliploides pueden clasificarse en dos tipos, autopoliploides y alopoliploides. Un autopoliploide es definido como “un organismo que contiene tres o más juegos de cromosomas homólogos derivados del mismo individuo o bien de un individuo perteneciente a la misma especie”. En este caso, los individuos poliploides son formados por la unión de gametos no reducidos de organismos genética y cromosómicamente compatibles que pueden ser catalogados como pertenecientes a la misma especie. Mientras que un alopoliploide es aquel “organismo que contiene juegos de cromosomas no-homólogos” debido a hibridación entre diferentes especies. En este caso, la poliploidía se presenta después de la hibridación entre dos especies relacionadas (Wendel, 2000; Futuyma, 2005; Ranney, 2006; Ryan, 2006; Thorpe *et al.*, 2007; Hegarty y Hiscock, 2008; Parisod *et al.* 2010; Ramsey y Ramsey, 2014).

Es importante distinguir entre auto y alopoliploide, ya que las diferencias entre ambos tipos pueden tener un efecto en la capacidad adaptativa de un organismo poliploide. Adicionalmente, distinguir entre un auto o alopoliploide durante un análisis genómico

permite establecer de manera más precisa las líneas evolutivas de las cuales proviene una especie poliploide (Shoemaker *et al.*, 2006; Hegarty y Hiscock, 2008; Madlung, 2013; Ramsey y Ramsey, 2014). Teóricamente los autoploiploides pueden ser distinguidos de los alopoliploides observando el apareamiento de sus cromosomas durante la meiosis (Futuyma, 2005). Los autoploiploides típicamente presentan patrones de herencia polisómicos (apareamiento multivalente de cromosomas durante la profase meiótica I), mientras que los alopoliploides típicamente exhiben herencia disómica (apareamiento bivalente de cromosomas durante la profase meiótica I). Sin embargo, estas clasificaciones pueden ser problemáticas, ya que el límite no es claro entre ambos tipos de poliploides y existen muchos casos intermedios entre auto y alopoliploides, llamados alopoliploides segmentales (Wendel, 2000; Futuyma, 2005; Ranney, 2006; Thorpe *et al.*, 2007; Mable, 2013). Estos se presentan principalmente en plantas cuando la autoploiploidía incluye cruces entre dos poblaciones muy divergentes de la misma especie con cromosomas genéticamente diferentes pero estructuralmente similares (autoploiploide interracial), como en el caso de un híbrido intra-específico o bien en instancias en las cuales la alopoliploidía puede ser seguida de otro evento de duplicación genómica (autoaloploiploidia, como en el caso del abrojo, *Tribulus terrestris* L.).

En este caso los autoaloploiploides presentan niveles de ploidía mucho más elevados (como por ejemplo $8n$ - octaploide-) (Hegarty y Hiscock, 2008).

Los alopoliploides son generalmente considerados mucho más comunes que los autoploiploides (Ramsey y Schemske, 1998), ya que la mayoría de los casos los descendientes de un evento de poliploidización ancestral (llamados paleopoliploides)

exhiben apareamiento bivalente de cromosomas y patrones de herencia disómica. Esta observación ha conducido tradicionalmente a la conclusión de que los autoploidos son efímeros, mientras los alopoliploides dan origen a la mayoría de los linajes que perduran (Thorpe *et al.*, 2007; Ramsey y Ramsey, 2014). Aunque el apareamiento bivalente no es preferencial en autoploidos, lo cual conduce a patrones de herencia polisómicos, la fidelidad de apareamiento cromosómico se puede incrementar con el tiempo conduciendo en última instancia a un patrón de herencia disómica (Turner, 1984; Futuyama, 2005; Thorpe *et al.*, 2007). Este incremento de fidelidad, proviene de varios procesos que incluyen el polimorfismo alélico, y rearrreglos cromosómicos como la inserción y eliminación de material cromosómico (Strickberger, 1978; Otto, 2007). Por lo anterior, no se puede asumir que un paleopoliploide es necesariamente alopoliploide únicamente debido a que exhibe herencia disómica (Thorpe *et al.*, 2007). Lo anterior, por lo tanto, indica que las estimaciones tradicionales de abundancia de autoploidos pueden estar subestimados en gran medida y con ello su contribución a la evolución y diversificación de especies (Ramsey y Schemske, 1998; Thorpe *et al.*, 2007; Mable, 2013).

Citogenética

Los estudios citogenéticos han permitido realizar valiosos aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en plantas, contribuyendo a la resolución del origen y la evolución de distintos grupos taxonómicos (Poggio y Naranjo, 2004).

En la familia Cactaceae la base cromosómica es $x=11$ (Pinkava *et al.*, 1985), diploides ($2n=2x=22$). La subfamilia Opuntioideae y en género *Opuntia* han sido objeto de estudios citogenéticos determinando el número cromosómico de varias especies y resolviendo algunos problemas taxonómicos (Pinkava y McLeord, 1971; Pinkava *et al.*, 1973, 1977, 1985; Ross, 1981; Pinkava y Parfitt, 1982; Weedon *et al.*, 1989; Palomino y Heras, 2001; Pinkava, 2002; Rebman, 2002; Segura *et al.*, 2007; Baker *et al.*, 2009; Majure *et al.*, 2012a).

Un gran reto para los taxónomos resulta ser la gran variación morfológica e hibridación inter-específica que presentan estas plantas en condición silvestre (Anderson, 2001; Pinkava *et al.*, 2001). Los análisis de cariotipo, comportamiento meiótico y poliploidías, permiten conocer la variación intra e inter-específica, así como su significado adaptativo y hacer inferencias sobre patrones de especiación (Poggio y Naranjo, 2004; Majure *et al.*, 2012a).

Es por esto que para entender las relaciones filogenéticas entre los nopales silvestre mexicanos, con énfasis en las especies microendémicas son necesarios los estudios citogenéticos, moleculares y de dinámica de poblaciones (Scheinvar, 2010).

Estudios citotaxonómicos en la familia Cactaceae

Los primeros estudios citológicos en la familia datan de mediados de los años 30`s. en estos estudios pioneros de citología en cactáceas se analizaron muestras con materiales meióticos y mitóticos. A la fecha, para la familia existen números estudios de esa naturaleza en los cuales se reportan citotipos tanto diploides como poliploides.

Entre aquellos que incluyen material meiótico se encuentran (Beard, 1937; Remski, 1954; Katagiri, 1955; Pinkava *et al.*, 1977, 1992; Ross, 1981; Mazzola *et al.*, 1988).

La mayoría de estos estudios han servido para conocer el número básico para la familia, y para determinar variaciones (formas poliploides) del número básico en los diferentes grupos de cactáceas. De la misma manera, los análisis de figuras meióticas han sido útiles para clarificar el estado híbrido de otros miembros de la familia, en especial en la familia *Opuntia* (Baker y Pinkava, 1987; Pinkava *et al.*, 1992). Con este tipo de estudios se han visto que algunos híbridos se encuentran reproductivamente aislados de sus progenitores, por lo que nuevos cambios nomenclaturales han sido propuestos, debido en parte al aislamiento reproductivo y a diferencias en características morfológicas (Pinkava y Parfitt, 1988). Igualmente, los análisis de figuras meióticas y comportamiento de cromosomas en las diferentes fases de profase 1, han relevado rearrreglos cromosómicos, tales como translocaciones en *O. Leptocaulis* (Pinkava *et al.*, 1985), e inversiones en *O. curvospina* (Pinkava *et al.*, 1973), mismos que representan los primeros reportes de cambios cromosómicos estructurales en la familia

Recientemente, Gama y Mercado-Ruaro (1993) han empleado información citológica para evaluar y correlacionar variación morfológica en diferentes poblaciones de *Pachycereus weberi*. Actualmente en Arizona State University, Donald J. Pinkava y colaboradores, entre ellos Jon Rebman continúan los estudios de citológicos en la familia Cactaceae, con especial énfasis en los procesos de poliploidia e hibridación en la subfamilia Opuntioideae.

Por otra parte, información acerca de la morfología de los cromosomas y/o representación cariotípica es aún escasa de la familia. Lo anterior probablemente refleja la dificultad para preparar cromosomas de cactáceas, lo cual, aunado al pequeño tamaño de los cromosomas hace el análisis más difícil. Además, el tejido de las cactáceas generalmente presenta mucilago, mismo que complica la rutina de squash y obstruye la observación de los cromosomas.

El cariotipo es la apariencia fenotípica de los cromosomas sin considerar su actividad y/o contenido genético (Jackson, 1971). Con la construcción de cariotipos se puede observar diferencias morfológicas en los cromosomas, y estas variables pueden ser usadas para caracterizar grupos particulares. Los cariotipos son obtenidos a través del análisis y observación de los cromosomas en el estado de metafase de mitosis, ya que esta fase es la más apropiada para la observación de cromosomas debido a que estos exhiben el máximo grado de concentración. Algunos de los caracteres cariotípicos que son útiles como marcadores taxonómicos son: número de satélites o constricciones secundarias, radio de los brazos del cromosoma, y localización de la región nuclear organizadora.

A la fecha, se tiene referencia de tres estudios cariotípicos en la familia. Johnson (1980) publicó los primeros cariotipos para la familia, basado en tres variedades de *Mammillaria prolifera* con diferente número cromosómico. Así mismo en las especies examinadas se observó un incremento en el tamaño de los cromosomas al incrementar el nivel de ploidía; sin embargo, la morfología general de los cromosomas es metacéntricos, algunos submetacéntricos y pocas constricciones secundarias. A su

vez (Palomino *et al.*, 1988) reportaron cariotipos de dos especies y una variedad de *Nyctocereus*.

Los taxa incluidos en dicho estudio resultaron ser diploides ($2n=22$), y la morfología de los cromosomas mostró patrones similares a los indicados anteriormente. Más recientemente Cota *et al* (1996) en un análisis cariotípico de 12 especies de *Echinocereus* encontraron que el género está caracterizado por cariotipos simétricos, con la mayoría de cromosomas del tipo metacéntrico, y algunos submetacéntricos, y de uno a tres satélites presentes en el brazo corto del cromosoma.

Otros estudios de la morfología de cromosomas en la subfamilia Opuntioideae (*Opuntia*) y tribu Cacteeae de la subfamilia Cactoideae (*Ferocactus* y *Rhipsalis*) confirman las observaciones anteriores para los cromosomas de las cactáceas: cromosomas pequeños (2-5mm), morfológicamente uniformes y con uno o dos pares de satélites (Cota *et al.*, 1996).

Las cactáceas en general son una familia de origen relativamente reciente (R, Thome, com. Per.) Que aparenta estar caracterizada por la presencia de cromosomas pequeños y con cariotipos homogéneos (simétricos). Es posible que el origen relativamente reciente de la familia esté asociado con procesos lentos de rearreglos cromosómicos. Asimismo, la existencia de cariotipos homogéneos en miembros de la familia distintivamente relacionados puede ser explicada debido a cambios Robertsonianos en particular fusión céntrica de cromosomas, mismas que originan cariotipos simétricos (Cota *et al.*, 1996; Palomino *et al.*, 1988).

Finalmente los estudios citológicos han sido también importantes para comprender otras tendencias evolutivas en la familia por ejemplo, (Pinkava *et al.*, 1985) han indicado que la poliploidía ha desempeñado un importante papel en la evolución de la familia. De hecho, diferentes niveles de ploidía han sido reportados: triploides, tetraploides y hexaploides en *Opuntia* (Pinkava *et al.*, 1973), tetraploides en *Echinocereus* spp, (Cota y Philbrick, 1994; Pinkava *et al.*, 1977). Asimismo, y aunque la distribución de poliploides en la familia permanece aún incompleta debido en parte a la carencia de muestreo citológico, han indicado que los poliploides en la subfamilia Opuntioideae son relativamente más comunes en el hemisferio sur. Por su parte, (Cota y Philbrick, 1994) indican que los citotipos poliploides en *Echinocereus* se encuentran distribuidos a elevaciones y latitudes mayores que los ancestros diploides.

Hibridación

La hibridación entre especies parece ser un proceso común en la evolución de las plantas superiores (Anderson y Stebbins, 1954; Stebbins, 1959; Soltis y Soltis, 2009) y en *Opuntia* parece ser uno de los principales mecanismos de especiación (Rebman y Pinkava, 2001; Pinkava, 2002), lo cual contribuye a la complejidad de su taxonomía. Le denominada "evolución reticular", resultado de hibridaciones interespecíficas, y la tendencia a la poliploidia son muy marcadas en este grupo, produciendo nuevos fenotipos e incrementando el número de morfotipos, pudiendo jugar así, en el largo plazo, un rol importante en la evolución del género (Majure *et al.*, 2012b).

La hibridación natural entre distintas especies de *Opuntia* es común y está relacionada con el nivel de ploidía, y representa una de las principales causas de diversidad. La

reproducción asexual es una respuesta de adaptación al bajo rango de germinación y depredación de semilla encontradas en este grupo. La hibridación entre poblaciones naturales en el sur de California fue reportada por Walkington 1996, citado por Gibson y Nobel, 1990), basándose en estudios químicos y morfológicos. Estos hallazgos indican que las plantas de *Opuntia occidentalis* provienen de una cruce entre dos *platiopuntias* nativas: *O. ficus-indica* y *O. megacantha*, ya que el híbrido tenía características de ambas especies. Scheinvar, (1995) reportó que en poblaciones silvestres de *Opuntia*, las plantas localizadas en la periferia de la población muestran mayor variabilidad que las que crecen en el centro, probablemente gracias a una mayor exposición al intercambio genético con otras especies y poblaciones cercanas.

A pesar de que se trata de una especie autógama, la polinización cruzada, total o parcial, se puede observar en diferentes individuos cultivados o silvestres, por lo que la mayor parte de los materiales cultivados comercialmente son probablemente el resultado de la polinización cruzada. Todos los cultivares mexicanos son informados como productos de hibridación entre *O. ficus-indica* y diferentes formas de *Opuntia* silvestres (Muñoz-Urias, 2008).

Número cromosómico

En la familia de las cactáceas, el número básico es $x=11$ y número de cromosomas somáticos es mayormente 22. Para las Opuntioideae, de acuerdo a Pinkava (1985), el 63.3% de los taxa son poliploides; sin embargo, de una observación más detallada de los recuentos se observa que solo en el grupo de especies de *Opuntia* de las series *Streptacantha* y *Ficus- Indicae*, existen octaploides. Específicamente para *O. ficus-*

indica, números recuentos cromosómicos muestran que tanto la forma inerme como la espinosa tiene $2n=88$, o sea que en ambos son octaploides. Se publicaron también dos recuentos de diploides ($2n=22$) para esta especie (Spencer, 1955; Weedon & Powell, 1978), aunque posiblemente se trate de errores de identificación. McLeod (1975) destaca la presencia de ejemplares híbridos, con $2n=77$, entre *O. ficus-indica* “*megacantha*” (octaploide, $2n=88$) y *O. phaeacantha* Engelm. *Var. major* Engelm (hexaploide: $2n=66$).

Otros recuentos son:

Pinkava *et al.* (1973) *O. ficus-indica* y *O. megacantha* $n=44$.

Pinkava *et al.* (1982) *O. atreptacantha* $n=44$.

Sosa y Acosta (1966) *O. amyclaea* y *O. megacantha* $2n=88$.

Stockwell (1935) *O. polyacantha* $2n=44, 44, 44, 66$

Estudios mitóticos

Todos los organismos poseen un conjunto definido de cromosomas al que se le denomina Genomio (Brown, 1972). Los estudios cromosómicos se realizan en cromosomas mitóticos en metafase o en anafase, y para este fin se utilizan tejidos somáticos de intensa división (Curtis, 1981).

Para estudios en mitosis, generalmente se utilizan los ápices radiculares, aun cuando cualquier tejido somático en crecimiento activo posee una actividad mitótica muy alta que hace útiles a estos órganos como fuentes de material para el estudio de la mitosis (García, 1977).

Una forma de obtener ápices de raíces cuando se tienen plantas en macetas consiste en remover las plantas con toda la masa de tierra y raíces y suspenderlas sobre recipientes con agua por medio de bolsas de manta de cielo. Las raíces cecarán a través de a manta, en el aire húmedo, cuando las raíces estén suficientemente largas se remueven los ápices y se pretratan o fijan (Curtis, 1981).

A fin de lograr un acortamiento adecuado de cromosomas, así como suficientes metafases y anafases en un ápice, se recurre a los métodos físicos tales como el agua fría, o a medios químicos como colchicina, paradiclorobenceno etc., y este tratamiento previo a la fijación se conoce como pretratamiento, y actúa afectando los cromosomas facilitando su estudio.

Los fijadores se clasifican de acuerdo a la imagen que producen en básicos y ácidos. Los fijadores básicos son muy pocos, los fijadores ácidos son los más comúnmente empleados en el estudio de cromosomas. De estos, los fijadores Carnoy son los más ampliamente utilizados, existe el Carnoy con cloroformo compuesto de:

Alcohol etílico absoluto	6 partes
Ácido acético glacial	1 parte
Cloroformo	3 partes

Por otra parte, existe la formula sin cloroformo, también conocida como Farmer, o simplemente como alcohol-acético y compuesto de:

Alcohol etílico absoluto	3 partes
--------------------------	----------

Ácido acético glacial

1 parte

La acción de ambos fijadores es de rápida penetración por lo que una hora podría ser suficiente tiempo de fijación para ápices radiculares y anteras (Baker, 1950).

Para una efectiva hidrólisis, se recomienda un método que utiliza una solución acuosa al 1% de pectinasa. Esta enzima actúa disolviendo la lámina media de la célula, ya que está compuesta básicamente de pectinas, lo que facilita la separación celular. Esta enzima es cara y difícil de conseguir en México, además se recomienda agregar unas gotas de tolueno que cubran toda la superficie con el objeto de evitar el crecimiento de hongos o bacterias que lo destruyan (Ostergren y Heneen, 1962).

El fluido estomacal de *Helix pomatia*, contiene una mezcla de enzimas, las propiedades de este fluido fueron conocidas desde hace tiempo (Yang, 1988). Karrer., *et al* señalan que el fluido del estómago del caracol *Helix pomatia* contiene una mezcla concentrada y notablemente poderosa de enzimas. Actualmente muchas de esas enzimas han sido identificadas como: Diastasa, Invertasa, Celobiasa, Lipasa, y lo que es importante para este estudio, es la determinación de que esta mezcla de enzimas denominada citasa, rompe la celulosa. Otra propiedad importante y notable es la ausencia aparente de cualquier actividad proteolítica, debido a este último echo, este fluido es usado directamente sin previa purificación (Fabergé, 1945).

La mayoría de los colorantes comúnmente empleados en citología son soluciones de colorantes orgánicos aromáticos. Se reconocen dos tipos de colorantes según los grupos iónicos que contengan: básicos y ácidos. Para que un compuesto actúe como colorante, su molécula debe de tener dos grupos: (1) grupo auxocromo, el cual es

responsable de la disociación del compuesto, y (2) grupo cromóforo, el cual produce entre sí el color. En los colorantes básicos el grupo cromóforo es básico y son radicales azo (-N=N-) e indamino (-N=), en tanto que el grupo auxocromo es un radical amino (NH₂) o un derivado de este radical. En los colorantes ácidos el grupo cromóforo puede ser un radical nitro (-NO₂) o un quinoide (O=C=C=O) y el grupo auxocromo puede ser un radical hidróxido (-OH), radical carboxilo (-COOH) o bien sulfónico (-SO₃H). (García, 1977).

MATERIALES Y METODOS

Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Citogenética del departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” de Saltillo Coahuila, México.

Material vegetal

Se utilizaron diferentes muestras de cladodios de nopal de las especies *O. megacantha*, *O. microdasys* y *O. rastrera*, que fueron colectadas en los meses de julio-agosto de 2016. Los recorridos se hicieron al sureste del estado de Coahuila en cinco municipios, entre los 25° 02.406' a 25° 50.657' de latitud Norte y 100° 00.646' a 101° 57.720' de longitud Oeste, en altitudes que van de los 930 a los 2464 msnm (Cuadro 2, Figura 4).

Cuadro 2. Especies del género *Opuntia*, evaluadas en el análisis citogenético

Especie	Grado de domesticación	Sitio de colecta
<i>O. megacantha</i>	Medianamente cultivada	Arteaga y Saltillo, Coahuila. Mex.
<i>O. microdasys</i>	Silvestre	Parras de la Fuente, General Cepeda y Saltillo, Coahuila. Mex.
<i>O. rastrera</i>	Silvestre	Parras, General Cepeda, Ramos Arizpe, Saltillo y Arteaga Coahuila, Mex.

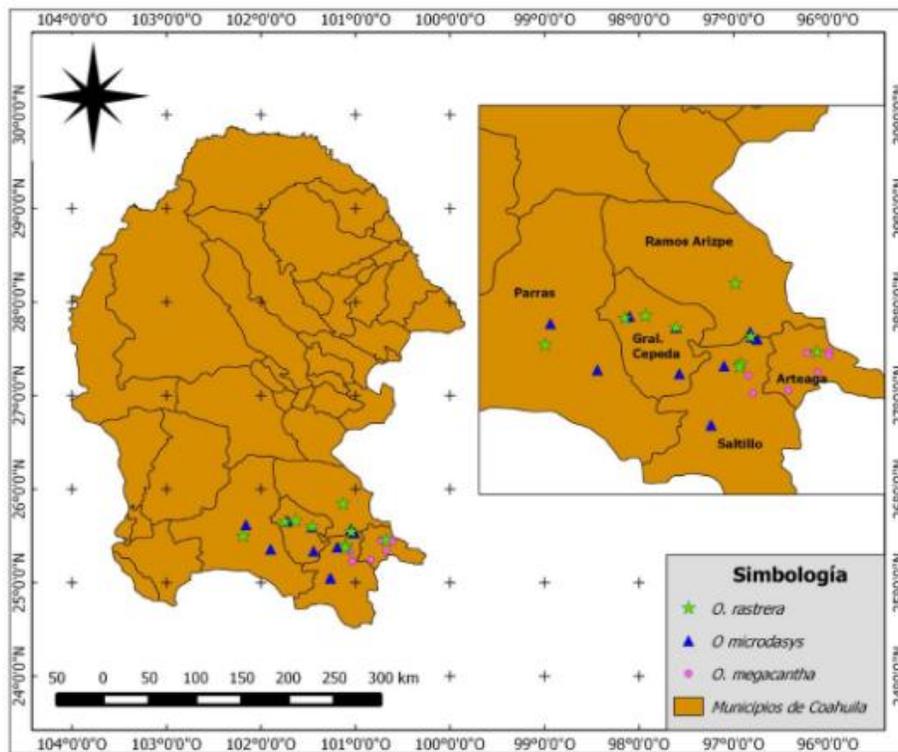


Figura 4. Ubicación geográfica de la colecta de tres especies *Opuntia*

Preparaciones Citológicas

El primer paso para la determinación del nivel de ploidía en las especies a trabajar consistió en desarrollar la metodología adecuada para la elaboración de preparaciones citológicas que permitieran la óptima observación de los cromosomas. El estudio citológico se llevó a cabo con células en división, las cuales se obtuvieron de ápices radiculares en crecimiento de los cladodios.

Siembra

El mejor material para determinar el número, la morfología y el comportamiento de los cromosomas en mitosis es todo tejido vegetativo en que las células se encuentran en

división activa. Para este fin, los meristemas de ápices de raíces en crecimiento, se consideran las fuentes más convenientes. Para esto se realizó la siguiente prueba

Se utilizaron 4 pencas por cada especie y localidad que se trabajó, estas se colocaron a la sombra durante 10 días para su cicatrización (Figura 5) y posteriormente se sembraron en charolas de vermiculita con peat moss relación 1:1, poniendo en contacto todo un lado de la penca. Después de tres días los ápices radiculares empezaron a emerger y se cortaron (cosecharon) cuando alcanzaron una longitud de 2 a 3 cm.



Figura 5. Proceso de cicatrización en *Opuntia*

Corte de ápices radiculares

Para esto, se removieron las pencas del medio de crecimiento, se lavaron con cuidado y se cortaron los ápices radiculares con un bisturí. Los cortes se hicieron a diferentes tiempos: de las 8:00 AM a las 11:00 AM, (Figura 6) en días con temperaturas entre 25-30°C.



Figura 6. Obtención de ápices radiculares, selección y corte de ápices.

Pretratamiento

Uno de los problemas importantes en los estudios mitóticos citogenéticos es la observación aislada de los cromosomas; de tal manera, que se permita determinar con la mayor exactitud posible su número, morfología y comportamiento. Este problema se agudiza más aun cuando el número de cromosomas es relativamente grande (Curtis, 1981). El pretratamiento consiste en someter a los ápices radiculares, a la acción de agentes químicos, después de haber sido cortados, con el propósito de obtener, mayor frecuencia de células en metafase, dispersión de los cromosomas en el citoplasma, acortamiento de los cromosomas para el mejor estudio de su número y morfología. Los pretratadores utilizadas fueron: Paradiclorobenceno (PDB) solución acuosa saturada, en esta permanecieron los ápices por diferentes tiempos con el fin de encontrar el tiempo óptimo. Estos fueron durante 3, 5 y 4 horas. La solución 8-hidroxiquinoleina al 0.002M, en esta permanecieron las raíces por espacios de 3 y 5 horas (Figura 7).



Figura 7. Pretratamiento de 8-hidroxiquinoleina y paradiclorobenceno.

Fijación

La fijación es el proceso de preservación de la organización morfológica del componente celular que se desea observar al microscopio. Un buen fijador para cromosomas debe cumplir con los siguientes requisitos:

- Precipitar la cromatina para hacer visibles los cromosomas y favorecer su tinción.
- Penetrar rápidamente con el objetivo a fijar las diversas fases de la división celular

Como ninguna sustancia química reúne todos los requisitos, un buen fijador tiene que combinar diversos compuestos químicos que conjuntamente satisfagan los requisitos antes señalados. Por tal motivo, se utilizó el fijador Farmer (alcohol etílico absoluto 3 partes y ácido acético glacial 1 parte) (Figura 8).

El tiempo que permanecieron en esta solución fijadora los ápices radiculares fue de 24 horas, siendo colocadas en esta solución inmediatamente después del proceso de pretratamiento.



Figura 8. Proceso de fijación de cromosomas en solución alcohol etílico y ácido acético glacial.

Hidrolisis

Para obtener una capa monocelular, el tejido somático se hidrolizó, esto con el fin de lograr una buena disociación de las células meristemáticas, una excelente y rápida coloración, al mismo tiempo, eliminar la grasa y el aceite celular.

En busca de una buena hidrólisis se probaron 2 métodos:

Proceso enzimático: en este proceso se utilizó enzimas comerciales (celulasa y pectoliasa) baño maría por un espacio de 1 hora.

El segundo método consistió en poner los ápices durante 5 horas a temperatura ambiente en un complejo de enzimas (citasa) este complejo de enzimas se obtuvo del

líquido estomacal del caracol de jardín *Helix pomata* (Figura 9). Este método de hidrolisis es el más confiable ya que nos causa daño a las partes celulares.



Figura 9. Extracción de caracolas "*Helix pomata*" y procesos de hidrolisis

Coloración

Si el material pretratado, fijado e hidrolizado se aplastara e inmediatamente se le impregnara con el medio de montaje se volvería tan transparente que su estructura no se podría observar al microscopio. Para evitar esta dificultad el material debe de colorearse para, hacer visible los componentes nucleares que nos interesa observar. Inmediatamente después de la hidrolisis con el complejo de enzimas, los ápices se enjuagaron con agua destilada y luego fueron colocadas en la solución colorante carmín, que se elaboró de la siguiente manera:

A 100 ml de ácido propiónico al 45% (45 ml de ácido propiónico + 55ml de agua destilada) se le agregó un gramo de carmín y además 1 ml de solución alcohólica de sulfato férrico amoniacal al 1%, luego se calentó hasta la ebullición dejándolo hervir por 5- 10 min, posteriormente se dejó enfriar y se filtró.

Las raíces permanecieron en este colorante por espacio de una semana y en seguida se procedió a su examen microscópico.

Maceración (técnica de squash)

Los ápices previamente coloreados se maceraron para su examen, la forma de estudiar el número, la morfología y la conducta mitótica de los cromosomas, es usando “aplastados” de ápices de raíces. Los “aplastados” deberán mostrar células bien separadas y aplanadas con los cromosomas bien teñidos, y destacando sobre un fondo más claro. Esto se logró ablandando primero el tejido mediante maceración, tiñéndolo y aplicando presión sobre el para separar y aplanar las células. Lo anterior se llevó acabo de la siguiente manera:

- A. Se tomó una sección delgada de un ápice meristemático inmediatamente después de la cofia se coloca en un porta objetos con una gota de carmín propiónico. Con un bisturí se macera el tejido hasta obtener una masilla, se le agrega una gota de ácido propiónico al 45% y se forma así una suspensión al mezclar la masa con el ácido. Se debe evitar que la cantidad de esté fuera excesiva y eliminara materiales al utilizar el cubreobjetos.
- B. Se calentó ligeramente la preparación en la flama de un mechero de alcohol, luego se cubrió con una hoja de papel filtro y se presionó con la yema de los dedos, siempre evitando movimientos laterales del cubreobjetos. Enseguida se observó al microscopio las células, si estas mostraban un intensa coloración, se le agrego una gota de ácido propiónico al 45% por los bordes del cubreobjetos, se volvió a calentar y se cubrió con

papel filtro y se presionó con la yema de los dedos (Figura 10), si al observar nuevamente la preparación se obtenía la coloración deseada, se procedía a presionar para quitar el exceso de ácido y dispersar más los cromosomas en el citoplasma. Finalmente, con una varilla de vidrio calentada en la flama de una lámpara de alcohol, se sellaron las preparaciones con una mezcla fundida de parafina y cera de abeja por los bordes del cubreobjetos, y así obtener una preparación temporal. En seguida, se llevó a cabo el examen microscópico de las preparaciones seleccionadas y se procedió a buscar las células en las cuales se pudiesen contar y observar los cromosomas, o sea aquellas que presentaron cromosomas no sobrepuestos y uniformemente extendidos. Después de localizar dichas células, se procedió a realizar la microfotografía.

El número cromosómico se determinó mediante la observación microscópica directa de los núcleos en división.



Figura 10. Maceración, técnica de squash

Procedimiento enzimático para la obtención de células en mitosis

El procedimiento enzimático tiene los objetivos y los mismos pasos que el procedimiento tradicional para la obtención de células en mitosis, pero presenta algunas variantes, los pasos son los siguientes

Hidrolisis:

Los ápices de raíz previamente tratados con el fijador pasan

- A) Agua destilada dando primero 2 enjuagues para después dejarlos en agua limpia 30 minutos
- B) Al término de este tiempo se enjuagan nuevamente y se dejan otros 30 minutos en agua destilada limpia
- C) En seguida se pasan a ácido clorhídrico 0.1 N por 10 minutos
- D) Se quita el agua y se enjuaga 2 veces con agua destilada y se deja durante 30 minutos en agua destilada limpia
- E) Posteriormente pasar los ápices a buffer de citratos durante 30 minutos
- F) Se cortan los meristemos y se pasan al tratamiento enzimático con pectoliasa y celulasa en baño maría a 37°C durante mínimo 50 minutos, en algunos casos puede ser más tiempo dependiendo del material utilizado.
- G) Se quita la enzima mediante 2 enjuagues con agua destilada donde se dejan durante 30 minutos para su posterior estudio microscópico (Figura 11).
- H) Estudio microscópico: los meristemos ya tratados se extraen con una pipeta y se colocan sobre un portaobjetos, con una gota de fijador farmer y con una aguja curva de disección se desliza suavemente para extraer las células

meristematicas sobre el portaobjetos, se enjuaga el portaobjetos con gotas de farmer para eliminar residuos de tejidos, quedando lista la preparación para la observación de células en el microscopio con contraste de fases, para observar las células en un microscopio de campo blanco se le pone una gota de colorante carmín y un cubreobjetos.



Figura 11. Proceso enzimático, enjuagues de los ápices, exposición a la solución Buffer de citratos, baño maría con las enzimas y corte de ápices

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de material vegetal

El establecimiento de 4 cladodios en charolas de vermiculita con peat moss relación 1:1, para la obtención de ápices radiculares produjo resultados efectivos, al cabo de 3-6 días después del establecimiento se encontró una alta producción de raíces (Figura 12). Ramírez (1984) recomienda en trabajos posteriores, usar una penca por clon, ya que con esta se obtienen suficientes raíces.



Figura 12. Cladodios con ápices radiculares de *O. megacantha*, *O. microdasys* y *O. rastrera*.

Determinación de la hora de corte

La mayor cantidad de células mitóticas se observaron en raíces colectadas entre las 10:00 y 11:00 am en las tres especies evaluadas. Después de esta hora, la cantidad de células en mitosis era menor por campo microscópico (Cuadro. 3). Esto puede ser explicado por el umbral de absorción de nutrientes y agua para suplir las necesidades en las diversas rutas metabólicas, por lo cual se incrementa la división celular en los ápices radiculares en ese rango de horario.

Swanson *et al.* (1981), menciona que el momento del día en el cual las células se multiplican con mayor rapidez varía de una especie a otra, pero por lo general, la hora mitótica se encuentra en las horas de la mañana hasta aproximadamente las 11:00 am, lo que concuerda con este trabajo realizado.

Cuadro 3. Determinación de la hora mitótica de las tres especies evaluadas.

Especie	<i>O. megacantha</i>	<i>O. microdasys</i>	<i>O. rastrera</i>
Hora mitótica	10:00-10:30	10:00 -11:00	10:00-10:30

Pretratamiento

En la metafase, los cromosomas alcanzan su máximo grado de condensación, se encuentran individualizados y presentan una forma característica que permite diferenciarlos y clasificarlos morfológicamente. Los inhibidores de mitosis actúan sobre el proceso de formación del huso acromático impidiendo el paso hacia anafase y causando el acortamiento y dispersión de los cromosomas.

Se determinó que el tiempo que debían durar las raíces en el pretratamiento era de 4 horas, ya que este es el tiempo óptimo para que los cromosomas alcancen su máximo acortamiento a menor tiempo, se presenta una sobreposición de estos y se limita totalmente su estudio. A menor tiempo los cromosomas se cortan impidiendo su estudio.

El pretratamiento que dio mejores resultados fue la solución acuosa saturada de paradiclobenceno ($C_6H_4C_{12}$), ya que actuó mejor en el acortamiento cromosómico e

inhibió también la formación del uso acromático. Esto dio como resultado una gran dispersión de cromosomas, lo cual facilitó su observación y conteo de cromosomas.

Fijación

Considerando que la acción del fijador fue la de penetrar y matar rápidamente las células meristemáticas y conservar lo mejor posible las características morfológicas que tuvieron durante su vida; se define que el fijador con el cual se obtuvo mejores resultados fue alcohol etílico absoluto 3 partes ya su penetración es rápida en las células y produce las menores alteraciones en la forma y estructura principalmente del núcleo. El tiempo óptimo de fijación fue de 24 horas.

Hidrolisis

Al momento de observar los cromosomas bajo el microscopio óptico, es importante que las células se encuentren dispersas formando una sola capa de células, evitando así la superposición. Para lograr este objetivo se deben destruir tanto la pared celular y la pectina de las uniones intercelulares.

La mejor hidrolisis se logró con el complejo de enzimas, al actuar este sobre los tejidos por espacios de 5 horas, ya que estas enzimas actúan sobre la lámina media celular y facilitan una mayor dispersión celular al macerar las raíces y eliminan todo el núcleo celular de las células

Coloración

En este caso, el colorante carmín propiónico dio mejores resultados en la tinción de los cromosomas al actuar sobre estos y el citoplasma, tiñéndolos de un color rojizo. El

citoplasma se logró decolorar con ácido propiónico al 45% al llevar a cabo la elaboración de las preparaciones, hasta lograr decolorarlo y obtener así un contraste de tinción entre este y los cromosomas.

Determinación de ploidía

Los resultados obtenidos en el análisis citogenético, en lo que se refiere al número cromosómico somático de las 3 especies de *Opuntia*, se evaluó en cuanto a localidades

Opuntia megacantha

De acuerdo a la determinación del nivel de ploidía, por medio del análisis de células en división mitótica, para la especie *Opuntia megacantha*, colectada en la localidad Rincón de los Pastores, Saltillo, se encontró que el número cromosómico fue de 88, donde de acuerdo al número básico de $X=11$ (Pinkava *et al.*, 1985; Majure *et al.*, 2012b) el nivel de ploidía corresponde a un octaploide ($2n=8x=88$).

Para la misma especie *Opuntia megacantha* colectada en la localidad San Martín Ramos Arizpe, se determinó que el número cromosómico es de 88, donde el nivel de ploidía corresponde también a un octaploide ($2n=8x=88$).

En *Opuntia megacantha* colectada en la localidad P. Blanca Arteaga por medio del análisis de células en división mitótica, se encontró que su número cromosómico seguía siendo 88, por lo tanto el nivel de ploidía se mantenía Octaploide. ($2n=8x=88$)

En las colectas de esta misma especie *Opuntia megacantha*, en la localidad J. Ferniza Saltillo también el análisis citogenético conservaron el número cromosómico de 88,

con un nivel de ploidía octaploide ($2n=8x=88$). De acuerdo a los resultados obtenidos se muestra que no hubo diferencias en cuanto al número cromosómico de la especie *Opuntia megacantha* entre las cuatro localidades de colecta (Sosa y Acosta, 1966; Pinkava *et al.*, 1973, 1977, 1985, 1992; Palomino y Heras, 2001) reportaron variación en el número cromosómico de una misma especie. (Figura 13, Cuadro 4).

En un estudio cromosómico realizado por Ramírez, (1984) en esta misma especie *Opuntia megacantha* encontró los mismos resultados con respecto al número cromosómico de 88 con un nivel de ploidía octaploide.

Cuadro 4. Número cromosómico para *Opuntia megacantha* evaluado en cuatro localidades del sureste de Coahuila.

Clave de Colecta	Localidad	Especie	#Cel-Met	Número cromosómico	Nivel de ploidía
22-1-16	R. Pastores Saltillo	<i>O.megacantha</i>	56	88	Octaploide
16-1-16	San Martin Ramos Arizpe	<i>O.megacantha</i>	52	88	Octaploide
03-1-16	P. Blanca Arteaga	<i>O.megacantha</i>	55	88	Octaploide
42-1-16	J. Ferniza Saltillo	<i>O.megacantha</i>	38	88	Octaploide

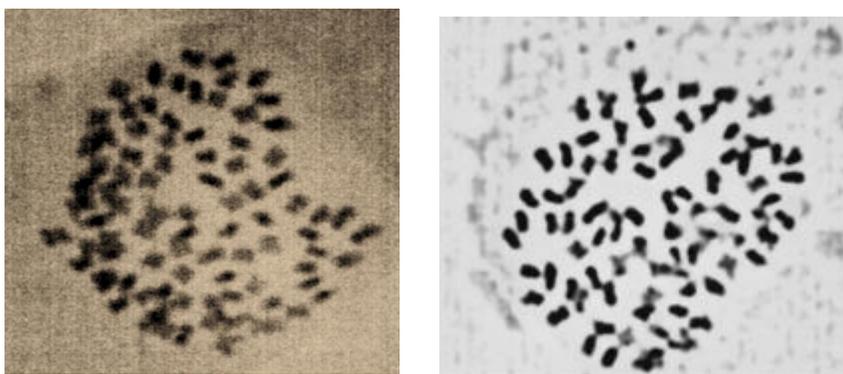


Figura 13. Células mitóticas de *Opuntia megacantha*. Octaploide ($2n=8x=88$)

Opuntia microdasys

De acuerdo a la determinación del nivel de ploidía, por medio del análisis de células en división mitótica, para la especie *Opuntia microdasys*, colectada en la localidad

C. Ancha Ramos Arizpe se encontró que el número cromosómico fue de 22, donde de acuerdo al número básico de $X=11$ (Pinkava *et al.*, 1985; Majure *et al.*, 2012b) el nivel de ploidía corresponde a un diploide ($2n=2x=22$).

Para la misma especie *Opuntia microdasys* colectadas en la localidad San Martín Ramos Arizpe, se determinó que el número cromosómico es de 22, donde el nivel de ploidía corresponde también a un diploide ($2n=2x=22$).

En *Opuntia microdasys* colectada en la localidad Ramos Arizpe, por medio del análisis de células en división mitótica, se encontró que su número cromosómico seguía siendo de 22, por lo tanto el nivel de ploidía se mantenía en diploide ($2n=2x=22$).

En las colectas de esta misma especie *Opuntia microdasys*, en la localidad Jaralito General Cepeda también el estudio citogenético conservaron el número cromosómico de 22, con un nivel de ploidía diploide ($2n=2x=22$). De acuerdo con los resultados obtenidos se muestra que no hubo diferencias en cuanto al número cromosómico de la especie *Opuntia microdasys* entre las cuatro localidades de colecta (Figura 14, Cuadro 5)

Cuadro 5. Determinación del número cromosómico para *Opuntia microdasys* evaluado en localidades del sureste de Coahuila.

NC	Localidad	Especie	#Cel-Met	Número cromosómico	Nivel de ploidía
13-1-16	C. Ancha, Ramos Arizpe	<i>O.microdasys</i>	55	22	Diploide
13-2-16	San Martin, Ramos Arizpe	<i>O.microdasys</i>	45	22	Diploide
11-2-16	Ramos Arizpe	<i>O.microdasys</i>	48	22	Diploide
23-1-16	Jaralito, General Cepeda	<i>O.microdasys</i>	52	22	Diploide

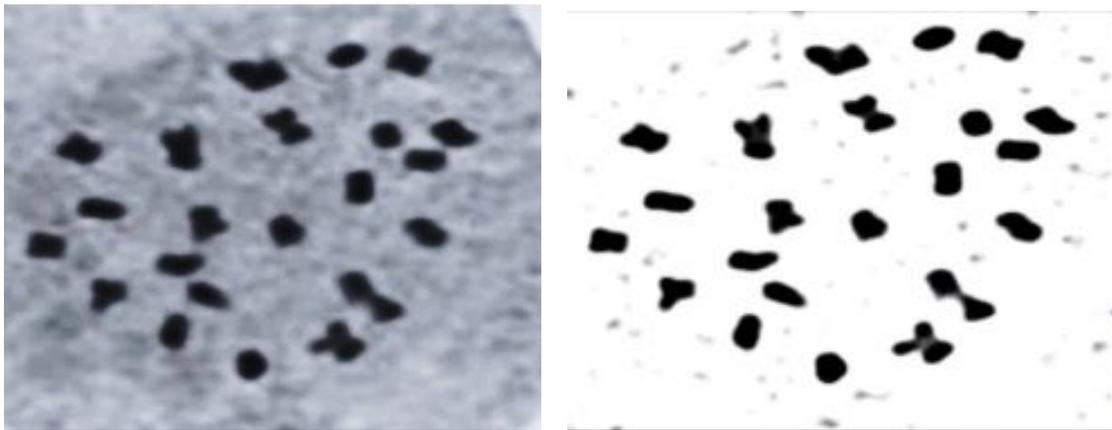


Figura 14. Células mitóticas de *Opuntia microdasys*. Diploide ($2n=2x=22$).

Opuntia rastrera

De acuerdo a la determinación del nivel de ploidía, por medio del análisis de células en división mitótica, para la especie *Opuntia rastrera*, colectada en la localidad C. Ancha, Ramos Arizpe, se encontró que el número cromosómico fue de 44, donde de

acuerdo al número básico de $X=11$ (Pinkava *et al.*, 1985; Majure *et al.*, 2012b) el nivel de ploidía corresponde a un tetraploide ($2n=2x=44$).

Para la misma especie *Opuntia rastrera* colectada en la localidad Pilar R, Parras, se determinó que el número cromosómico es de 44, donde el nivel de ploidía corresponde también a un tetraploide ($2n=4x=44$).

Para la misma especie *Opuntia rastrera* colectada en la localidad Carbonera Arteaga, se determinó que el número cromosómico es de 44, donde el nivel de ploidía corresponde también a un tetraploide ($2n=4x=44$).

En *Opuntia rastrera* colectada en la localidad Saltillo por medio del análisis de células en división mitótica, se encontró que su número cromosómico seguía siendo 44, por lo tanto el nivel de ploidía se mantenía tetraploide ($2n=4x=44$).

En las colectas de esta misma especie *Opuntia rastrera*, en la localidad General Cepeda también el análisis citogenético conservaron el número cromosómico de 44, con un nivel de ploidía tetraploide ($2n=4x=44$). De acuerdo a los resultados obtenidos se muestra que no hubo diferencias en cuanto al número cromosómico de la especie *Opuntia rastrera* entre las cuatro localidades de colecta (Figura 15 y Cuadro 6).

Cuadro 6. Determinación del número cromosómico para *Opuntia rastrera*, evaluado en localidades del sureste de Coahuila

NC	Localidad	Especie	#Cel-Met	Número cromosómico	Nivel de ploidía
	C. Ancha, Ramos Arizpe	<i>O. rastrera</i>	45	44	tetraploide
	Pilar R, Parras	<i>O. rastrera</i>	50	44	tetraploide
	Carbonera, Arteaga	<i>O. rastrera</i>	38	44	tetraploide
	Saltillo	<i>O. rastrera</i>	55	44	tetraploide
	General Cepeda	<i>O. rastrera</i>	48	44	tetraploide



Figura 15. Células mitóticas de *Opuntia rastrera*. Tetraploide ($2=4x=44$)

CONCLUSIONES

La técnica del proceso enzimático para la elaboración de las preparaciones cromosómicas en *Opuntia* resultó ser la mejor, ya que las células de los ápices radiculares se separaron con facilidad y generalmente se observaron cromosomas bien coloreados y contrastados.

En la determinación de ploidía efectuada se establece que las tres especies evaluadas tienen diferente número cromosómico.

Los conteos cromosómicos indican la presencia de una especie diploide *Opuntia microdasys* con un número cromosómico de $2n=2x=22$, otra especie tetraploide *Opuntia rastrera* con $2n=4x=44$, y una especie octaploide *Opuntia megacantha* se $2n=8x=88$.

No se encontraron diferencias entre localidad, de acuerdo a su nivel de ploidía. Los niveles encontrados son indicativos del amplio centro de origen de estas especies. Conviene realizar estudios cariotípicos y meióticos para relacionarlos con el nivel de ploidía.

LITERATURA CITADA

Anderson, E., y G.L. Stebbins. 1954. Hybridization as an Evolutionary Stimulus.

Anderson, E.F. 2001. The Cactus Family. Timber Press, 776p.

Angulo, G.O., Y Granza, G.F.2007. Extracción y Caracterización de Pectinas a partir de Nopal. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú. 6p.

disponible en

www.uncp.edu.pe/.../Extraccion%20y%20Caracterizacion%20de%20Pectinas%20a%20parti%2...

Angulo, R.A., Galindo, Galindo, U.A., y Avendaño, P.R. 2000. Guía Didáctica para la Actividad Experimental de Biodiversidad. Universidad Autónoma de Sinaloa. Sinaloa, México. 25p.

APGIII. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APGIII. Botanical Journal of the Linnean society. (161):105-121.

Arakaki, M, P.-A. Christin, R. Nyffeler, A. Lendel, U. Eggli, R.M. Ogburn, E.

Spriggs, M.J. Moore, y E.J. Edwards. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 108(20):8379-84.

Arias, T.A., Valverde, V.M. y Reyes, S.J. 2000. Las Plantas de la Región de Zapotitlán Salinas, Puebla. UNAM. México. 10 p.

- Bacardi-Gascon, M., D. Dueñas-Mena, y A. Jimenez-Cruz. 2007.** Lowering effect on postprandial glycemc response of nopales added to Mexican breakfasts. *Diabetes Care.* 30(5):1264-1265.
- Baker, J.R. 1950.** Cytological Technique. London: Methuen. 3ed end 218 pp.
- Baker, M.A., J.P. Rebman, B.D. Parfitt, D.J. Pinkava, y A.D. Zimmerman. 2009.** Chromosome numbers in some cacti of western North America-VIII. *Haseltonia* 15:117-134.
- Baker, M.A., y D. J. Pinkava. 1987.** A cytological and morphometric analysis of a triploid apomictic *Opuntia X kelvenensis* (Subgenus *Cylindropuntia*, Cactaceae). *Brittonia*39: 387-401.
- Bárcenas, R.T., C. Yesson, y J.A. Hawkins. 2011.** Cladistics molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics.* 27:470-489.
- Barthlott, W, Hunt, D.R. 1993.** Cactaceae. In: Kubitski, K., Rower, J.G., Bittrich, V. (Eds), THE FAMILIES AND GERERA OF VASCULAR PLANTS, Vol. 2 Springer, Berlin. 161-197p.
- Beard, E. C. 1937.** Some chromosome complements in the Cactaceae and study of meiosis in *Echinocereus papillosus*. *Botanical Gazette* 99:1-20.
- Becerra Vázquez, M. Y L. Franco. 2000.** Nomenclatura Etnobotánica Maya. Una interpretación taxonómica. Colección científica 36. Etnología. Instituto Nacional de Antropología e Historia. V. 1 México, 301p.

- Benson, L.D. 1982.** The cacti of the United States and Canadá. Stanford University Press, 1044p.
- Bravo, H.H. 1978.** Las Cactáceas de México. Vol. 1, 2ª Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 743p.
- Bravo-Hollis, H. y L. Scheinvar. 1995.** El interesante mundo de las cactáceas. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 233p
- Bravo-Hollis, y H.H. Sanchez-Mejorada. 1991.** Las cactáceas de Mexico, Volumen 3. Universidad Autonoma de Mexico. 643p.
- Britton, N.L. y J.N. Rose. 1920.** The Cactaceae. Carnegie Institute of Washington, Washington, D.C., USA.
- Brown, W.V. 1972.** Textbook or Cytogenetics. The C.V. Mosby Co. Saint Louis. 346 pp.
- Burgos, V.S.N. 1983.** El nopal *Opuntia spp.* Tesis (sin publicar) Monografía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Callejas-Rivera, M. 1999.** Producción, Costos, Comercialización y Rentabilidad del nopal Verdura (*Opuntia spp.*). Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila. México 7-15p.
- Cota, J.H., J.P. Rebman, y R.S. Wallace. 1996.** Chromosome numbers in Ferocactus (Cactaceae: Cactoideae). Cytologia. (61):431-437.
- Cota, J.H., y C. T. Philbrick. 1994.** Chromosome number and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). American Journal of Botany 81: 1054-1062.

- Cuénoud, P., V. Savolainen, L. W. Chatrou, M Powell, R.J. Grayer, y M.W. Chase. 2002.** Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18s r DNA and plastid rbcL, atp B and matk DNA sequences. *American Journal of Botany*. 89(1):132-144.
- Curtis, P.J. 1981.** Manual para la elaboración de preparaciones cromosómicas en plantas. Patronato Universitario, AC de la Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo México. 69 pp.
- Defelice, M.S. 2004.** Prickly pear cactus, *Opuntia* spp. A Spine-Tingling Tale. *Weed Technology*. 18(3):869.877.
- Enríquez, S. P., Jordán, R.A., López, A.D., Y Pérez, R.J. 2004.** Elaboración de un Chicloso Adicionado con Aminoácidos de Nopal. (*Opuntia ficus indica*). UNAM. México, D. F. 14 p. disponible en *Evolution*. 8(4):378-388.
www.cch.unam.mx/ssaa/naturales/pdf/Chicloso.pdf
- Fabergé, A.C. 1945.** Snail Stomach Cytase, A New Reagent For Plant Cytology. *Stain Technology*, Vol 20. No.2 1-4.
- Flannery, R.V. 1985.** Los orígenes de la agricultura en México: las teorías y las evidencias. En: T. Rojas & W. Sanders T. (coord.).
- Futuyma, D.J. 2005.** *Evolution*. Tercera Edición. USA: Sinauer Associates Inc.
- Gama, S., y P. Mercado-Ruaro. 1993.** Variación morfológica en *Pachycereus weberi* pp. 103. In: Resúmenes: XII Congreso Mexicano de Botánica. Soc. Bot. México y UNAM.

- García, F., Rojas, A., y Hernández, F. 2006.** Descripción de Marcadores Genéticos que Permiten Identificar Poblaciones y Migración de Nopal *Dactylopius sp.* (Cochinilla silvestre). Biología. Tlayacapan, Morelos, México. 15p.
- García, V.A. 1977.** Manual de Técnicas de Citogenética. 2ª Ed. Colegio de Posgraduados. Chapingo México 118pp.
- Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1990.** The Cactus Primer. Harvard University Press, 286p.
- González, M.P. 1998.** Desahuatado de Tuna en Precosecha (*Opuntia amyclae* T.). Tesis de Ingeniero Agroindustrial. UACH. México. 5p
- Grant, V. y Grant K.A. 1979.** Hybridization and variation in the *Opuntia phaeacantha* group in central Texas. Botanical Gazette 140: 208-215.
- Grant, V. y Grant K.A. 1980.** Clonal microspecies of hybrid origin of *Opuntia lindheimeri* group. Botanical Gazette 141:101-106.
- Griffith, M.P. 2003.** USING MOLECULAR EVIDENCE TO ELUCIDATE RETICULATE. Madroño. 50(3):162-169.
- Griffith, M.P. 2004.** Cactus evolution and systematics: Studies in the Opuntioideae (Cactaceae). Claremont Graduate University.
- Griffith, M.P. y J. M. Porter. 2009.** Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). International Journal of Plant Sciences. 170(1):107-116.
- Griffith, P.M 2001.** A new Chihuahuan Desert prickly pear, *Opuntia x rooneyi* (Cactaceae). Cactus and Succulent Journal (U.S.) 73:307-310.

- Guzmán, U. S. Arias, y P. Dávila. 2003.** Catálogo de Cactáceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 315p.
- Hegarty, M.J., Hiscock, S.J. 2008.** Genomic clues to the evolutionary success of review polyploid plants. *Current Biology*. Vol 18. 435-444.
- Hernández, H.M. y H.A. Godinez.1994.** Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta botánica mexicana*. 26:33-52.
- Hernández-Hernández, T., H.M. Hernandez, J.A. De- Nova, R. Puente, L.E. Eguiarte, y S. Magallon. 2011.** Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (*Caryophyllales, Eudicotyledoneae*). *American journal of botany*. 98(1):44-61.
- Hunt, D. 1999.** CITES Cactaceae Checklist. Cornell University, 315p.
- Hunt, D. 2006.** The New Cactus Lexicon: Descriptions and Illustrations of the Cactus Family. DH Books, Milborne Port, UK.
- Jackson, R.C. 1971.** The Karyotype in systematics, *Annual review of Ecology and Systematics*, 2: 327-368.
- Johnson, M, A., 1980.** Further cytological investigations in *Mammillaria prolifera* and other *Mammillaria species*. *Cactus and Succulent Journal (Great Britain)* 42: 43-47.
- Katagiri, S. 1955.** Chromosome numbers and polyploidy in certain Cactaceae. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)* 25:141-143.

- Léia Acelkrad, L. 2011.** Simposium: Diversidad de nopales silvestres, cultivados y otras Cactáceas de México. 12p.
- Lira, S. G. 2005.** Paquete Tecnológico Nopal Tunero. Distritos de desarrollo rural de Tecamachalco, Tehuacán, Cholula, Izúcar de Matamoros, Zacatlán, Teziutlán y libres condiciones de muy buena y buena productividad. Puebla. México. 4p.
- Mable, B.K. 2013.** Poliploids and híbridos in changing environments: winners or losers in the struggle for adaptation? *Heredity*. Vol. 110. 95-96.
- Madlung, A. 2013.** Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. *Heredity*. Vol. 99-104.
- Majure, L.C., R. Puente, M.P. Griffith, W.S. Judd, P.S. Soltis, y D.E. 2012b.**
Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, geographic origins, and reticulate evolution. *American journal of botany*. 99(5):847-864.
- Majure, L.C., W.S. Judd, P.S. Soltis, y D.E. Soltis. 2012a.** Cytogeography of the Humifusa clade of *Opuntia* s.s. Mill. 1754 (Cactaceae, Opuntioideae, Opuntieae): correlations with Pleistocene refugia and morphological traits in a polyploid complex. *Comparative Cytogenetics*. 6(1):53-77.
- Mandujano, M., J. Gulovob, y J. Reyes. 2002.** Lo que usted siempre quiso saber sobre las cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. CONABIO. BIODIVERSITAS.40:4-7.

- Mandujano, M.C., Montaña, C., and Eguiarte L. 1996.** Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal of Botany*, 83:63-70
- Maxime, V. 2008.** The physiology of triploid fish: Current knowledge and comparisons with diploid fish. *Fish and Fisheries*. Vol. 9:67-78.
- Mayer, M.S., Williams L.M. Y Rebman J.P. 2000.** Molecular evidence for the hybrid origin of *Opuntia prolifera* (Cactaceae). *Madroño* 47: 109-115.
- Mazzola, P., S Romano, y S. Fici.1988.** Contributo a la conoscenza del género *Opuntia* Miller. 1 Dati cariologici e distributivi delle specie apontaneizzate e coltivate in Sicilia. *Naturalista Siciliana* 12:201-220.
- McLeod, M.G.1975.** A new hybrid fleshy-fruited prickly- pear in California. *Madroño* 23(2):96-98
- Mellink, E. y M.E. Riojas-López. 2002.** Consumption of *platyopuntias* by wild vertebrates. En: Nobel P.S. (eds.) *Cacti: Biology and Uses*. University of California Press, 109-123 p.
- Mercado. M.F.2014.** Diversidad y Sistemática del genero *Opuntia* ss., en la región de los cabos, baja california sur, México. *Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales Orientación Ecológica de Zonas Áridas*. Centro de investigaciones biológicas del noroeste, s.c. La paz, Baja California Sur.

Mittermier Russel. 1992. La Importancia de la Diversidad Biológica de México.

CONABIO. V. 14: 5-11.

Muñoz-Urías, A., G. Palomino-Hasbach, T. Terrazas, A. García-Velázquez, y E.

Pimienta-Barrios. 2008. Variación anatómica y morfología en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del desierto Chihuahuense.

Boletín de la Sociedad de México. 83:1-11.

Negrón-Ortiz, V. 2007. Chromosome numbers, nuclear DNA content, and polyploidy

in *Consolea* (Cactaceae), an endemic cactus of the Caribbean Islands.

American Journal of Botany. 94(8):1360-1370.

Ostergren, G. and W. K. Heneen. 1962. A Squash Technique for Chromosome

Morphological Studies. Institute of Genetics. University of Lund, Sweden.

Hereditas 48: 332-341.

Otto, S.P. 2007. The evolutionary consequences of polyploidy. Cell. Vol 131 (3).452-

462.

Otto, S.P., Whitton J. 2000. Polyploid incidence and evolution. Annual Review of

Genetics. Vol. 34.401-437

Palomino, G. y H.M. Heras. 2001. Karyotypic studies on *Opuntia* cochineria, *O.*

hyptiacantha, and *O. atrephacantha* (Cactaceae). Caryologia. 54(2):147-154.

Palomino, H. G., S. Zuleta, y L. Scheinvar. 1988. Estudios citogenéticos de dos

especies y una variedad de género *Nyctocereus* (Cactaceae). Bol. Soc. Bot.

Méx 48: 75-80.

- Parffit, B.D., 1980.** Origin of *Opuntia curvispina* (cactaceae). Systematic Botany 5: 408- 418.
- Parisod, C., Holderegger, R., Brochmann, C. 2010.** Evolutionary consequences of autopolyploidy. New Phytologist. Vol. 186. 5-17.
- Pinkava, D. J., M.A. Baker, B.D. Parfitt, M.W. Mohlenbrock, y R.D. Worthington. 1985.** Chromosome numbers in some cacti of western North America-V. Systematic Botany 10; 471-483.
- Pinkava, D.J. 2002.** On the evolution of the North American Opuntioideae. En: Hunt. D. y Taylor N.P. (eds.) Studies in the Opuntioideae (Cactaceae). David Hunt, The Manse, Chapel Lane, Milbone Port, UK. 59-98p.
- Pinkava, D.J. y B.D. Parfitt. 1982.** Chromosome numbers in some cacti of western North America-IV. Bulletin of the Torrey Botanical Club. 109(2):121-128.
- Pinkava, D.J. y M.G. Mc Leod. 1971.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. Brittonia. 23(2):171-176.
- Pinkava, D.J., B.D. Parfitt, M.A. Baker y R.D. Worthington. 1992.** Chromosome numbers in some cacti of western North America- VI, with nomenclatural changes. Madroño 39: 98-113.
- Pinkava, D.J., J.P. Rebman, y M.A. Baker. 2001.** Nomenclatural changes in *Cylindropuntia* and *Opuntia* (Cactaceae) and notes on interspecific hybridation. Arizona-Nevada Academy of Science. 33(2):150.

- Pinkava, D.J., L.A. McGill, y T.Reeves.1977.** Chromosome numbers in some cacti of western North America-III. Bulletin of the Torrey Botanical Club. 104(2):105-110.
- Pinkava, D.J., M.G. McLeod, L.A. McGill, y R.C. Brown. 1973.** Chromosome numbers in some cacti of western North America-II. Brittonia. 25(1):2-9.
- Pinkava, J.D. y B.D.Parfitt.1988.** Nomenclatural changes in Chihuahuan Desert *Opuntia* (Cactaceae). Sida 13: 125-130.
- Poggio, L. y C.A. Naranjo. 2004.** Citogenética. En: Echenique V. (eds) Biotecnología y Agricultura. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. 69-79p.
- Ramirez, G.F. 1984.** Estudio cromosómico en el género *Opuntia* (Tesis). Universidad Autónoma de Noreste. Saltillo Coahuila México. 36pp.
- Ramsey, J., Ramsey, T.S. 2014.** Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. Vol. 369.
- Ramsey, J., Schemske, D.W. 1998.** Pathways, Mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. Annual Review of Ecology and Systematics. Vol. 29. 475-501.
- Ranney, T.G. 2006.** Polyploidy: From evolution to new plant development. Combined Proceedings International Plant Propagators Society. Vol.56.137-142.
- Raven, P.H. 1975.** The Bases of Angiosperm Phylogeny: Cytology. Annals of the Missouri Botanical Garden. 62(3):724-76

- Rebman, J.P. 1995.** Biosystematics of *Opuntia* subgenus *Cylindropuntia* (cactaceae) the chollas of lower California, México. Arizona State University.
- Rebman, J.P. 2002.** Nomenclatural changes in *Cylindropuntia*, *Grusonia*, and *Nopalea* (Cactaceae). Arizina-Nevada Academy of Science. 34(1):45.
- Rebman, J.P.y D.J. Pinkava. 2001.** *Opuntia* Cacti of North America: An Overview. The Florida Entomologist. 84(4):474-483.
- Remski, M.F. 1954.** Cytological investigation in Mammillaria and some related genera Botanical Gazette 116:163-171.
- Reyes-Agüero, J.A., J.R Aguirre-Rivera, y H.M. Hernández. 2005b.** Notas sistemáticas y descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae). Agrociencia. 39(4):395-908.
- Ríos, R.J., Quintana, M.V.2004.** Manejo General del Cultivo del Nopal. Institución de enseñanzas e investigación en ciencias agrícolas México-Puebla-San Luis Potosí- Tabasco- Veracruz-Córdoba. Secretaria de la Reforma Agraria. México. 114-115p. disponible en www.sra.gob.mx/...general/ManejogeneralcultivoNopal.Pdf
- Ross, R, 1981.** Chromosome counts, cytology, and reproduction in the Cactaceae. American Journal of Botany 68: 463-470.
- Ryan, F.P. 2006.** Genomic creativity and natural selection: a modern synthesis. Biological Journal of the Linnean Society. Vol. 88. 655-672.

- Sáenz, C. 2006.** Utilización Agroindustrial del Nopal. Servicio de Tecnologías de Ingeniería Agrícola y Alimentaria (AGST) con la colaboración de la Red Internacional de Cooperación Técnica de Nopal (FAO-CACTUSNET). Chile. 2-31p disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0534s/a0534s00.pdf>.
- Sahagún de, B. 1997.** Historia General de las Cosas de la Nueva España. México: Porrúa. 1094 p.
- Scheinvar, L. 1995.** Taxonomy of utilized *Opuntias*. In: G. Barbera, P. Inglese and E. Pimienta B. Agroecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO Plant Production and Protection Paper 132. Rome, Italy.
- Scheinvar, L. 2010.** Nopales Silvestres Mexicanos.
- Segura, S., L. Scheinvar., G. Olalde., O. Leblanc., S. Filardo., A. Muratalla., C. Gallegos., y C. Flores. 2007.** Genome sizes and ploidy levels in Mexican cactus pear species *Opuntia* (Turn.) Mill. Series Streptacanthae Britton et Rose, Leucotrichae DC., Heliabravoanae Scheinvar and Robustae Britton et Rose. Genetic Resources and Crop Evolution. 54(5):1033-1041.
- Shoemaker, R.C., Schlueter, J., Doyle, J.J. 2006.** Paleopolyploidy and gene duplications in soybeans and other legumes. Current Opinion in Plant Biology. Vol. 9(2). 104-109.
- Soltis, P.S. y D.E. Soltis. 2009.** The role hybridization in plant speciation. Annual review of plant biology. 60:561-88.

- Sosa R. y Acosta A. 1966.** Poliploidida en *Opuntia* spp. *Agrociencia* (Chapingo) 1:100-106.
- Spencer, J.L. 1955.** A cytological study of the Cactaceae of Puerto Rico. *Botanical Gazette* 177:33-37.
- Starmer, W., R. Schemedicke, y M. Lachance. 2003.** The origin of the cactus-yeast community. *FEMS Yeast Research*. 3(4):441-448.
- Stebbins, G.L. 1959.** The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. 103(2):231-251.
- Stockwell, P. 1935.** Chromosome numbers of some of the Cactaceae. *Botanical Gazette* 96:565-570.
- Strickberger, M.W. 1978.** *Genética*. Segunda edición. México: Editorial Omega.
- Swanson, C., T Mertz., W.J. Young 1981.** *The Chromosome in division inheritance and evolution*. Segunda Edicion. Prentice Hall.INC. Englewood cliffs New Jersey. USA. 304pp.
- Tamayo, J.L. 1988.** *Geografía Moderna de México*. 9^a. Ed. Trillas. México, D.F. 400p.
- Thorpe, P.H., González-Barrera, S., Rothstein, R. 2007.** More is not always better: the genetic constraints of polyploidy. *Trends in Genetics*. Vol 23 (6). 263-266.
- Turner, B.S. 1984.** *Evolutionary genetics of fishes*. USA: Plenum Press.

- Valiente-Banuet, A. y H.A. Godinez-alvarez. 2002.** Population and community ecology. EN: Nobel S.P. (eds.) Cacti: Biology and Uses. University of California Press, Berkeley, California. 108p.
- Velázquez, E. 1998.** E l nopal y su historia. México: Clio Libros y Videos. 96p.
- Wallace, R.S. y S.L. Dickie. 2002.** Systematic implications of chloroplast DNA aequences variation in the Opuntioideae. En: Hunt D. y Taylor N.P. (eds.) Studies in the Opuntioideae (Cactaceae). David Hunt, the Manse, Chapel Lane, Milborne Port, UK. 9-24p.
- Weedin, J.F. y Powell, A.M. 1978.** Chromosome numbers in Chihuahuan desert Cactaceae. Trans Pecos Texas. Amer. Journ. Bot. 65:531-537.
- Weedin, J.F., A.M. Powell, y D.O. Kollé. 1989.** Chromosome numbers in chihuahuan desert Cactaceae. II Trans-Pecos Texas. The Southwestern Naturalist. 34(1):160-164.
- Wendel, J.F. 2000.** Genome evolution in polyploids. Plant Molecular Biology. Vol. 42. 225-249.g
- Winchester, A.M. 1981.** Genética. Tercera Edición. México: Compañía Editorial Continental.