

Análisis del tamaño del genoma, poliploidía y patrón endopoliploide en poblaciones de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae) en Tamaulipas, México

Nuclear genome size, polyploidy and endopolyploidy pattern in populations of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae) in Tamaulipas, México

S. A. Nodal-Moreno¹; G. Palomino²; P. Almaguer-Sierra^{1*}; F. Blanco-Macías³,
L. Barrientos-Lozano¹, J. Flores Gracia¹

¹ División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Cd. Victoria, Boulevard Emilio Portes Gil No. 1301, C. P. 87010, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. Correo electrónico: almagavetec@hotmail.com

² Laboratorio de Citogenética, Jardín Botánico del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

³ Centro Regional Universitario Centro Norte (CruceN), Universidad Autónoma de Chapingo.

*Autor de correspondencia.

Resumen

En este estudio se describe el número de cromosomas diploides (2n), niveles de ploidía y su contenido de ADN por citometría de flujo (CF) en tres poblaciones de *Nopalea cochenillifera* ubicadas en Tamaulipas, México. El contenido de ADN 2C del parénquima del cladodio fue de 4.1 pg en la población de Ciudad Victoria (CV), para la población de Villagrán (VG) de 3.91 pg y en Gómez Farías (GF) de 3.9 pg, siendo significativamente diferente la población CV, respecto a las demás. Todas las poblaciones mostraron un patrón endopoliploide definido por la presencia de poblaciones nucleares de 2C, 4C y 8C en células de parénquima del cladodio. Las poblaciones resultaron ser diploides, mediante una mayor frecuencia de células nucleares 2C. Se definió el número de cromosoma base para esta especie ($n = 11$). Estos resultados básicos son útiles para establecer estrategias de mejoramiento genético, biotecnológico y de conservación.

Palabras clave: Citometría de flujo; endopoliploidía; poliploidía.

Abstract

This study describes the number of diploid chromosomes (2n), ploidy levels and their DNA content by flow cytometry (CF) in three populations of *Nopalea cochenillifera* located in Tamaulipas, Mexico. The content of 2C DNA of the parenchyma of the cladode was 4.1 pg in the population of Ciudad Victoria (CV), for the population of Villagrán (VG) was 3.91 pg, and in Gómez Farías population (GF) was 3.9 pg. The CV population was significantly different from the other two populations. All populations showed an endopolyploid pattern defined by the presence of nuclear populations of 2C, 4C, and 8C in parenchymal cells of the cladode. The populations turned out to be diploid, through a higher frequency of 2C nuclear cells. The basic chromosome number for this species was defined ($n = 11$). These results are useful to establish breeding, biotechnology and conservation strategies.

Keywords: Flow cytometry; endopolyploidy; polyploidy.

Recibido: 16 de abril de 2017

Aceptado: 25 de julio de 2019

Publicado: 16 de octubre de 2019

Como citar: Nodal-Moreno, S. A., Palomino, G., Almaguer-Sierra, P., Blanco-Macías, F., Barrientos-Lozano, L., & Flores Gracia, J. (2019). Análisis del tamaño del genoma, poliploidía y patrón endopoliploide en poblaciones de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae) en Tamaulipas, México. *Acta Universitaria* 29, e2238. doi: <http://doi.org/10.15174/au.2019.2238>

Introducción

La familia Cactaceae presenta una gran riqueza constituida por cerca de 2000 especies, distribuyéndose desde Canadá hasta la Patagonia (Bravo-Hollis & Scheinvar, 1999). Además, esta familia muestra una alta complejidad taxonómica y variación intra e interespecífica en especies silvestres y cultivadas, obedeciendo en parte a diferentes eventos biológicos como evolución convergente, hibridación, diferentes formas de polinización, aislamiento reproductivo e incremento en niveles de poliploidía (Cota & Wallace, 1996; Palomino *et al.*, 2016). Este último evento es una de las principales causas de especiación para esta familia (Pinkava, 2002).

El género *Nopalea* (L.) Salm-Dyck pertenece a la familia Cactaceae y está conformado por diez especies (Bravo, 1978). México se considera como el centro de origen y de diversificación, con ocho especies endémicas y una domesticada sin espinas, dispersa en el bosque tropical seco (Griffith, 2004). En el estado de Tamaulipas el género *Nopalea* se encuentra representado por dos especies *N. dejecta* y *N. cochenillifera*, esta última ubicada en la zona centro de Tamaulipas como "Verde Esmeralda o Imperial". Además, se le puede considerar una especie de suma importancia por su amplia distribución geográfica, encontrándose en México, Brasil, Costa Rica y España. Promoviendo así su amplia diversidad de usos, como fuente de alimento, forraje, biorremediador de suelos y usos medicinales entre otros (Adki, Jadhav & Bapat, 2013; Negrón-Ortiz, 2007; Ramírez-Tobías, Reyes-Agüero, Pinos-Rodríguez & Aguirre-Rivera, 2007; Torres Sales, de Mello Viera Leite & Pereira de Andrade, 2016).

Las plantas de *N. cochenillifera* (L) son arbustivas, sus cladodios jóvenes son inermes, mientras los viejos presentan algunas espinas cortas; su flor es roja tubular de 5 cm de largo con estambres excertos y es polinizada por colibríes; el tipo de fruta es una baya roja, elipsoide, ovoide y subglobosa de 2.5 cm a 5.0 cm de ancho con escasas semillas; areolas blancuzcas (Bravo, 1978; Lim, 2012).

La poliploidía es un evento con condición hereditaria en donde poblaciones, individuos, tejidos o células presentan un complemento de dos o más juegos cromosómicos por núcleo, considerándose como un mecanismo clave para la evolución de las angiospermas (Castro & Loureiro, 2014; Jiao *et al.*, 2011; Soto-Trejo, Palomino, Villaseñor & Crawford, 2013). Además, crea una variación en la cantidad nuclear de genoma básico (1Cx) ácido desoxirribonucleico (ADN), cambios en el número y estructura en los cromosomas, parámetros claves para el crecimiento de la planta como la duración del tamaño celular, ciclo celular y forma de vida (Bennett 1972; 1987; Gregory, 2005; Murray, De Lange & Ferguson, 2005; Palomino *et al.*, 2016).

Los estudios citológicos han demostrado la frecuencia de la poliploidía en la familia Cactaceae (Cid & Palomino, 1996; Grimaldo-Juárez, García-Velázquez, Ortiz-Cereceres & Ruiz-Posadas, 2001; Pinkava & McLeod, 1971; Powel & Weddin, 2001). El género *Nopalea* tiene un número cromosómico básico $x = 11$. Este valor ha sido corroborado con las observaciones de 22 cromosomas en células en metafase en varias especies de *Nopalea* (Majure, Puente & Pinkava, 2012; Marhold, 2013; Negrón-Ortiz, 2007; Spencer, 1955), sin embargo, también se ha evidenciado que la especie *N. lutea* o en su sinonimia *N. guatemalensis* es tetraploide ($2n = 44$), esta se distribuye en Costa Rica, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Majure *et al.*, 2012). El conteo de cromosomas mitóticos y meióticos es el método más usado para determinar la ploidía (Cid & Palomino, 1996; Negrón-Ortiz, 2007; Palomino *et al.*, 2016; Palomino & Heras, 2001). Del mismo modo, la medición del contenido de ADN nuclear por Citometría de flujo (CF) también es un método factible para evaluar los niveles de ploidía (Das, Mohantyht & Das, 2000; Segura *et al.*, 2007). Además, se ha utilizado para observar variaciones inter e intraespecíficas en diferentes grupos de plantas (Bennett, Bhandol & Leitch, 2000; Ohri, 1998; Palomino & Sousa 2000).

La endopoliploidía es definida como la presencia de niveles de ploidía diferentes en un organismo generada por endoreduplicación, evento que es predominante en plantas (Barow, 2006). Se ha corroborado la presencia de diferentes grados de endopoliploidía de acuerdo con el órgano vegetal a estudiar (Cebolla *et al.*, 1999). El patrón endopoliploide es una característica adaptativa que confiere la capacidad de generar células de gran tamaño con altos niveles de ploidía y así almacenar mayor cantidad de agua, otorgando a las plantas una mayor probabilidad de supervivencia en ambientes áridos (De Rocher, Harkins, Galbraith & Bohnert, 1990; Joubès & Chevalier, 2000).

En este trabajo se determinó el contenido nuclear de ADN en picogramos (pg) y en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb), el nivel de poliploidía y el cariotipo en un ecotipo cultivable y dos ecotipos de traspatio de la especie de *N. cochenillifera* (L.) Salm-Dyck en Tamaulipas, México, con el objetivo de analizar la variación de sus genomas; esta información es necesaria para plantear mejores estrategias de fitomejoramiento, biotecnológicas y de conservación para la especie.

Materiales y Métodos

Material vegetal y sitios de muestreo

Las plantas estudiadas se obtuvieron de una población cultivada de *N. cochenillifera* ubicada en Gómez Farías, Tamaulipas, sitio localizado a 23°02' N, 99°09' O, a una elevación de 350 m s. n. m.; otras dos, de poblaciones de traspatio, una ubicada en Villagrán, Tamaulipas 24°28' N, 99°29' O a una elevación de 330 m s.n.m. y otra en Ciudad Victoria, Tamaulipas localizada a 23°44' N, 99°08' O elevación de 316 m s.n.m. Se recolectaron diez individuos de cada sitio y se mantuvieron en macetas con una mezcla de suelo orgánico y vermiculita durante tres meses en el invernadero del Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria para generar el crecimiento de raíces secundarias.

Conteo y análisis de cromosomas mitóticos

Para obtener el nivel de ploidía se cuantificó el número de cromosomas a partir de seis células mitóticas en metafase por población estudiada. Dichas células provenían de meristemos radiculares, los cuales se lavaron con agua corriente y se depositaron en una solución mitostática de 8-hidroxiquinoleína y se mantuvieron en ella, bajo condiciones de oscuridad por 5 h. Este agente actúa impidiendo el avance de la mitosis, por la inhibición en la formación de las fibras del huso acromático. Este procedimiento es importante ya que en la metafase los cromosomas expresan con mayor definición sus formas y tamaños. Enseguida se procedió a fijar el material mediante la inmersión y reposo por un mínimo de 24 h en el reactivo de Farmer recién preparado (alcohol etílico al 96% y ácido acético, en proporción 3:1). La solución fijadora promueve la muerte de las células e impide el crecimiento de microorganismos (bacterias y hongos). El siguiente paso fue hidrolizarlas. Para esto se colocaron en una solución de HCl 1N a 60 °C por 20 min. Nuevamente las raíces se lavaron con agua bidestilada y se procedió a teñirlas con el reactivo de Schiff (Feulgen) durante 30 min en temperatura ambiente y en oscuridad.

El montaje en el portaobjetos se efectuó sobre una gota de propio-orceína al 1.8%, cortando solamente el ápice de la raíz. Posteriormente se disgregó el material vegetativo y se procuró obtener las células en un solo plano. Después de este proceso se llevó al microscopio óptico para observarlas. Al encontrar células mitóticas se procedió a realizar las laminillas permanentes mediante el método del hielo seco y montándolas en bálsamo de Canadá propuesto por Conger & Fairchild (1953). Una vez obtenidas las laminillas permanentes o en fresco se analizaron con detalle en un microscopio óptico utilizando un

objetivo de 40x y 100x, seleccionando las mejores células para ser fotografiadas en un Fotomicroscopio Carl Zeiss-Forni-II.

Determinación del tamaño del genoma y nivel de ploidía

Se utilizaron seis plantas de *N. cochenillifera* de cada población y se realizaron seis repeticiones por cada planta. Como especie de referencia se utilizó plantas de maíz (*Zea mays* cv. CE- 777) 2C de ADN = 5.433 pg (Dolezel *et al.*, 1998). El análisis del tamaño del genoma y el nivel de ploidía se realizó en núcleos aislados de la epidermis del cladodio. Se determinó el contenido total de ADN nuclear, el tamaño del genoma en pg y en millones de pares de bases de nucleótidos (Mpb) y los niveles de ploidía mediante citómetro de flujo (CF) modelo Partec CYFlow SL cytometer (Partec, Munster, Germany). La calibración del aparato se realizó con "green beads" (Partec) para corroborar la linealidad del CF. La potencia se ajustó para que el histograma uno represente los núcleos G1 (2C) de *N. cochenillifera* ubicándose en el carril 100 y así asegurar las condiciones óptimas del CF.

La extracción de los núcleos de las plantas se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Otto (1990), con las modificaciones sugeridas por Dolezel, Greiher & Suda (2007). En una caja petri conteniendo 3 ml de la solución de Otto-1, se colocaron 500 mg de epidermis de *N. cochenillifera* previamente lavado por un día, para extraer el mucilago. El material se picó finamente usando una navaja de afeitar y la suspensión se filtró a través de una malla de nylon de 45 µm a 50 µm. Los núcleos suspendidos se centrifugaron a 2000 rpm por tres min, se eliminó el sobrenadante y se resuspendieron en 1.5 ml de Otto-1 y se volvió a centrifugar por tres min a 2000 rpm volviendo a re-suspender en 1ml Otto1. Después se tomaron 0.05 ml de la preparación de núcleos y se le agregaron 0.037 ml de una preparación de núcleos de *Zea mays* (2C= 5.93 pg) que se había obtenido con 50 mg de hoja, empleando el mismo procedimiento de *N. cochenillifera*. Se adicionaron 2 ml de solución de Otto-2 (0.4 M de Na₂ HPO₄), agregando 125 µl de RNAasa y una cantidad de 125 µl de yoduro de propidio con una concentración final de 50 µg ml⁻¹. En cada muestra se analizaron al menos 10 000 núcleos. De cada individuo de *N. cochenillifera* analizado, se realizaron mediciones por triplicado. El tamaño del genoma se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$2C \text{ ADN } N. \text{ cochenillifera} = \left(\frac{\text{Media histograma } \frac{G0}{G1} \text{ de } N. \text{ cochenillifera}}{\text{Media histograma } \frac{G0}{G1} \text{ de } Zea \text{ mays}} \right) * 2CADN \text{ Zea mays (5.43 pg)}$$

La composición del genoma se obtuvo: 1pg de ADN= 978 Mpb (Dolezel *et al.*, 2007).

Patrón de endopoliploidía

El patrón de endopoliploidía se corroboró con el parénquima de los cladodios de todas las poblaciones de *N. cochenillifera*. El número de núcleos se obtuvo por CF, como se describió anteriormente. Como medida de la poliploidía, el valor del ciclo celular se calculó de acuerdo con Barow & Meister (2003).

$$\text{Valor del ciclo} = \frac{(0 \times n_{2C} + 1 \times n_{4C} + 2 \times n_{8C})}{(n_{2C} + n_{4C} + n_{8C})}$$

donde $n_{2C} + n_{4C} + n_{8C}$ son el número de núcleos con el valor C correspondiente (2C, 4C y 8C). se considera que un órgano con un valor de ciclo mayor a 0.1 es endopoliploide (Barow & Meister, 2003).

Análisis estadístico

Las diferencias del contenido de ADN (pg) 1Cx y su composición en Mpb entre los genomas de las tres poblaciones de *N. cochenillifera* con una réplica aleatoria por población de 35 muestras para Ciudad Victoria (CV), 33 en la población Gómez Farías (GF) y 38 para Villagrán (VG); se evaluaron mediante el análisis de varianza de una sola vía (Anova); si los resultados de estos análisis fueron significativos, se aplicó la prueba de HSD de Tukey-Kramer. Estos análisis se realizaron mediante el paquete estadístico llamado STATISTICA. El modelo consideró las localidades de las poblaciones y las repeticiones en cada planta.

Resultados

Número de cromosomas diploides

En total se analizaron 18 células, de las cuales seis células de la población de Gómez Farías resultaron ser diploides $2n = 2x = 22$ con una fórmula cariotípica de $18m + 6sm$ (figura 1A-1B). Mientras que la población de Ciudad Victoria resultó ser tetraploide $2n = 4x = 44$ con una fórmula cariotípica de $44m$ (figura 1C-1D). Además, la población de Villagrán resultó ser diploide $2n = 2x = 22$, con una fórmula cariotípica de $22m$ (figura 1E-1F).

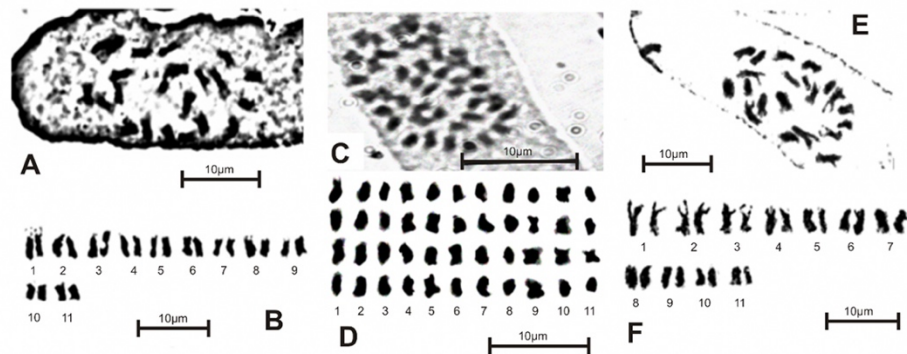


Figura 1. Células radiculares de *N. cochenillifera* en metafase. (A) Población de Gómez Farías (GF) $2n=22$, (B) Cariotipo con $18m + 4sm$. (C) Población de Ciudad Victoria (CV) $2n= 44$, (D) Cariotipo con $44m$. (E) Población de Villagrán (VG) $2n= 22$, (F) Cariotipo con $22m$.
Fuente: Elaboración propia.

Tamaño del genoma y niveles de ploidía

Las tres poblaciones de *Nopalea* que se estudiaron, mostraron un patrón endopoliploide compuesto de células $2C$, $4C$ y $8C$ representando tres niveles de ploidía: diploides, tetraploides y octaploides (figura 2A-2C). Se presentaron tres diferentes porcentajes de núcleos en cada uno de los niveles de ploidía en donde más de 5000 núcleos obtuvieron una cantidad de ADN $2C$ y $4C$, mientras menos de 1000 núcleos presentó una cantidad de ADN $8C$ (figura 3). Sin embargo, según el criterio propuesto por De Laat, Gohde & Volgezakg (1987) y De Rocher *et al.* (1990) se puede establecer que las tres poblaciones son diploides; ya que los picos de los histogramas $2C$ fue el de mayor frecuencia celular (figura 2A-2C).

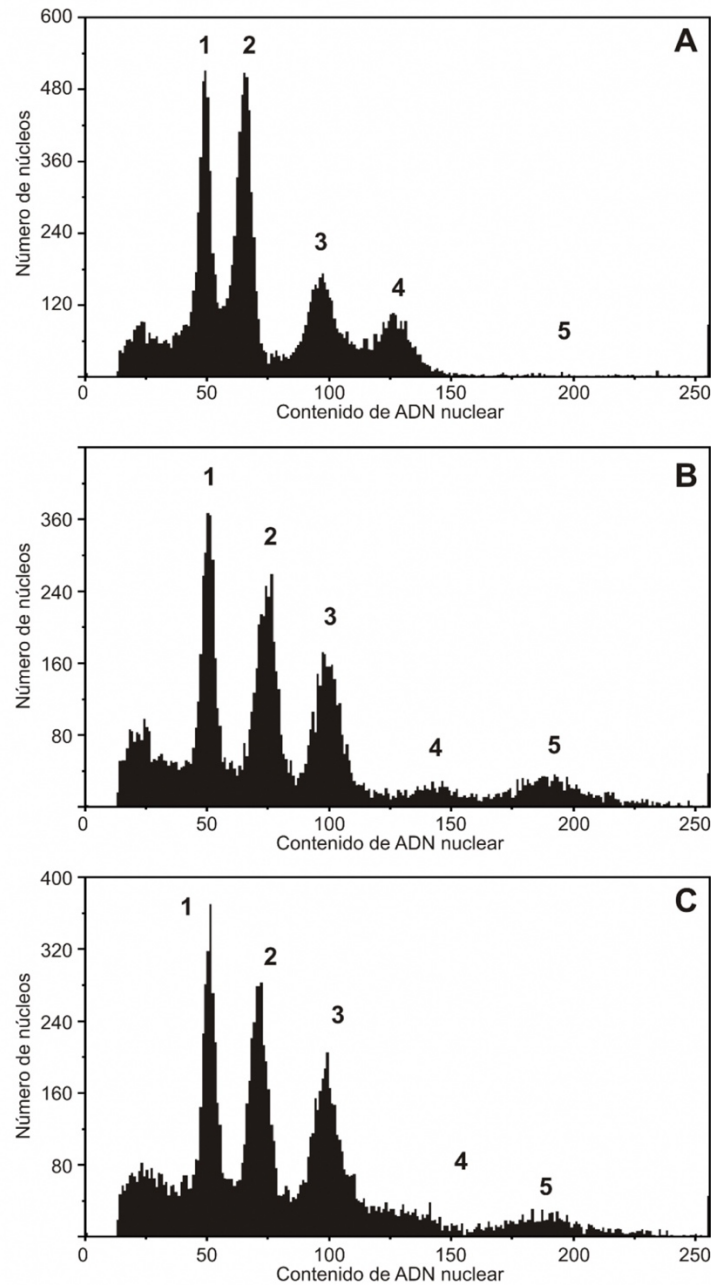


Figura 2. Estimación de contenido de ADN nuclear en tres poblaciones de la especie *N. cochenillifera* mediante el uso de citometría de flujo. **(A)** análisis simultáneo lineal de núcleos aislados de *N. cochenillifera* población Cd. Victoria ($2n = 22$) utilizando como planta estándar *Zea mays*. El histograma 1, 3 y 5 representan los núcleos G_1 (2C), G_2 (4C) y 8C de *N. cochenillifera*. El histograma 2 y 4 representan los núcleos G_1 (2C) y G_2 (4C) de *Zea mays*. **(B)** análisis simultáneo lineal de núcleos aislados de *N. cochenillifera* población Gómez Farías ($2n = 22$) utilizando como planta estándar *Zea mays*. El histograma 1, 3 y 5 representa los núcleos G_1 (2C), G_2 (4C) y 8C de *N. cochenillifera*. El histograma 2 y 4 representan los núcleos G_1 (2C) y G_2 (4C). **(C)** análisis simultáneo lineal de núcleos aislados de *N. cochenillifera* población Villagrán ($2n = 22$) utilizando como planta estándar *Zea mays*. El histograma 1, 3 y 5 representan los núcleos G_1 (2C), G_2 (4C) y 8C de *N. cochenillifera*. El histograma 2 y 4 representan los núcleos G_1 (2C) y G_2 (4C).

Fuente: Elaboración propia.

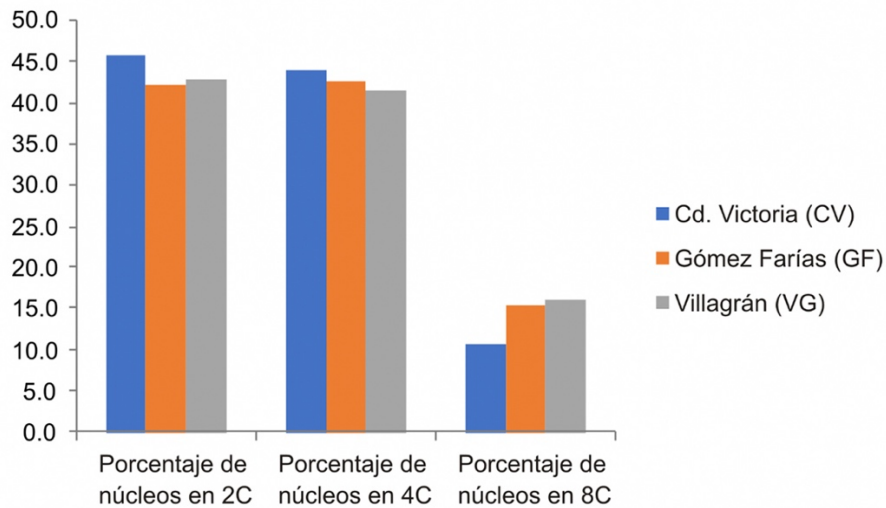


Figura 3. Patrón endopoliploide en tres poblaciones de *N. cochenillifera* diploide ($2n = 2x = 22$) representando a VG, GF y CV.
Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con el umbral establecido por Barow & Meister (2003) todas las poblaciones de estudio contaron con patrones de endopoliploidía (figura 2A-2C) ya que los valores del ciclo celular estaban por encima de 0.1, el más bajo se encontró en la población de CV (0.651), siguiendo la población de VG (0.733) y con el valor de ciclo más alto la población de GF (0.732). Las cantidades de 2C de ADN calculado con base en el cociente del valor de la muestra respecto a la media de los histogramas se observan en la tabla 1. El promedio del tamaño del genoma para la especie de *N. cochenillifera* 2C de ADN fue = 4.00 pg con una composición del genoma monoploide 1Cx = 1951 Mpb. El menor contenido de ADN en la población de GF con 2C ADN = 3.90 pg y una composición del genoma 1Cx = 1907 Mpb, siguiendo la población de VG con 2C ADN = 3.91 pg y una composición de genoma 1Cx = 1912 Mpb, por último, el mayor tamaño del genoma correspondió a la población de CV con 4.16 pg y una composición del genoma 1Cx = 2034 Mpb. Hubo diferencia estadística altamente significativas en el contenido de ADN entre la población de CV respecto a la de GF y VG (Prueba de Tukey-Karner tabla 1.).

Tabla 1. Contenido nuclear de ADN y cariotipo de *N. cochenillifera* en tres poblaciones de Tamaulipas, México.

Localidades	Contenido 2C ADN (pg*)	Contenido 1Cx ADN (Mpb)**	Fórmula cariotípica	Valor de ciclo
1. Cd. Victoria	4.16 ± 0.05 ^a	2034 ^a	44 m	0.651
2. Gómez Farías	3.90 ± 0.06 ^b	1907 ^b	18 m + 4 sm	0.733
3. Villagrán	3.91 ± 0.039 ^b	1912 ^b	22 m	0.732
Promedio	4.00	1951		

*1pg, 1 picogramo = 978 Mpb (Dolezel *et al.*, 2007).

** Millones de pares de bases de nucleótidos del grupo de cromosomas monoploides (1Cx).

Letras diferentes en el contenido 2C ADN (pg*) y contenido 1Cx ADN (Mpb**) muestra diferencias significativas, como resultado de la prueba de Tukey.

Fuente: Elaboración propia.

Discusión

De acuerdo con la información obtenida del citómetro de flujo se confirma que las poblaciones estudiadas del estado de Tamaulipas, México, son diploides con $2n = 2x = 22$. Este estudio ratificó el número cromosómico base $x = 11$ para el género *Nopalea* (tabla 1, figura 1) coincide con lo que señalan Palomino & Heras (2001) y Negrón-Ortiz (2007), siendo un número común en la mayoría de los géneros de Cactaceae, propuesto por Pinkava, Baker, Parfitt, Mohlenbrock & Worthington, (1985), y por Pinkava (2002). De las diez especies que integra el género, solamente en seis especies se conoce el número cromosómico, de las cuales cuatro son $2n$ (Majure *et al.*, 2012) y una $4n$. Se ha observado que el grado de endopoliploidía varía entre los órganos de la planta y en diferentes tejidos (hoja, fruto, epidermis, raíz, endospermo y embrión) de un mismo individuo (Barow, 2006; Barow & Meister, 2003; Chevalier *et al.*, 2011; Joubés & Chevalier, 2000). La diferencia encontrada para la población de CV entre las células tetraploides en meristemos radiculares y en el contenido de ADN de la epidermis del cladodio se pueda deber a este efecto. El cual indicaría que la mayor cantidad de células que componen el sistema radicular son tetraploides, mientras que las células que componen el parénquima del cladodio son diploides. Aun así, la cantidad células analizadas del sistema radicular no son suficientes para poder definir un grado de polodia. Esto se debió a la gran dificultad de encontrar células mitóticas. Cosendai & Hörandl (2010) muestran dos citotipos $2x$ y $4x$ de la especie *Ranunculus kuepferi* el cual presenta el contenido de ADN nuclear 4.00 pg y 8.20 pg respectivamente, indicando que una población tetraploide puede presentar casi el doble de cantidad de ADN nuclear a comparación de una población diploide. Incluso las medidas obtenidas de ADN nuclear de las poblaciones estudiadas son similares a los valores reportados por Palomino *et al.*, (2016), quienes muestran el contenido de ADN nuclear de *Opuntia heliabravoana*, *heliabravoana* diploide $2n = 2x = 22$ y un contenido de ADN de 3.81 pg. El valor promedio de las poblaciones estudiadas es de $2C$ ADN = 4 pg, $1 Cx = 1951$ Mpb y patrón endopoliploide con células $2C$, $4C$ y $8C$. Este es el primer registro de estos parámetros para la especie *N. cochenillifera* en México; ya que Negrón-Ortiz (2007) presentó una cantidad de $2C$ ADN = 1.96 pg y $1 Cx = 959$ Mpb para la especie en Costa Rica, no encontrando dicho patrón. Esta diferencia se debe a que ellos utilizaron como órgano de estudio la raíz y otra planta como testigo interno que correspondió a *Pisum sativum*.

Las poblaciones estudiadas mostraron un patrón endopoliploide según el valor del ciclo celular obtenido. Varios autores han mencionado que este evento es beneficioso para los cactus y suculentas que poseen tamaño de genoma pequeño, siendo favorable para aumentar en las células de parénquima del cladodio la capacidad de almacenamiento de agua (Del Angel, Palomino, García & Méndez, 2006; De Rocher *et al.*, 1990). Del Angel *et al.* (2006) muestra un patrón similar con $2C$, $4C$, $8C$ y $16C$ en siete especies de *Mammillaria* y de igual manera Palomino *et al.* (2016) encontraron un patrón de $2C$, $4C$ y $8C$ en seis especies del género *Opuntia*.

Conclusiones

Se muestra el primer registro para México, de los parámetros de contenido $1Cx$ y $2C$ del patrón endopoliploide y cariotipo de la especie *N. cochenillifera*. Se confirma el número cromosómico base para la familia Cactaceae $n = 11$. Se encontró que las tres poblaciones estudiadas son diploides, establecido por la mayor frecuencia celular $2C$ que se presentó en el cladodio de la planta y a la comparación del contenido de ADN con otras especies de esta misma familia. Estos resultados básicos son útiles para establecer estrategias de mejoramiento genético, biotecnológico y de conservación.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada para la realización de esta investigación. Al Dr. C. S. Venegas Barrera por su corroboración en los análisis estadísticos. A la institución Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM) del laboratorio de citogenética vegetal del jardín botánico, donde se realizaron los estudios de contenido de ADN. Gracias a M. Madrid por sus comentarios al manuscrito.

Referencias

- Adki, V. S., Jadhav, J. P., & Bapat, V. A. (2013). *Nopalea cochenillifera*, a potential chromium (VI) hyperaccumulator plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(2), 1173-1180. doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1125-4>
- Barow, M. (2006). Endopolyploidy in seed plants. *BioEssays*, 28(3), 271-281. doi: <https://doi.org/10.1002/bies.20371>
- Barow, M., & Meister, A. (2003). Endopolyploidy in seed plants is differently correlated to systematics, organ, life strategy and genome size. *Plant, Cell Environment*, 26(4), 571-584. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.00988.x>
- Bennett, M. D. (1972). Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the royal society B*, 181(1063), 109-135. doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.1972.0042>
- Bennett, M. D. (1987). Variation in genomic form in plants and its ecological implications. *New Phytologist*, 106(1), 177-200. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04689.x>
- Bennett, M. D., Bhandol, P., & Leitch, I. J. (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. *Annals of Botany*, 86(4), 859-909. doi: <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1253>
- Bravo-Hollis, H. (1978). *Las Cactáceas de México*. D. F., México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Recuperado el 5 de marzo de 2018 de https://www.academia.edu/24808346/_Bravo-Hollis_H._Las_Cactaceas_de_Mexico. Vol.1.Bookos.org
- Bravo-Hollis, H., & Scheinvar, L. (1999). *El interesante mundo de las cactáceas*. México: Fondo de Cultura Económica (FCE).
- Castro, S., & Loureiro, J. (2014). El papel de la reproducción en el origen y la evolución de las plantas poliploides. *Ecosistemas*, 3(23), 67-77. doi: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-3.09>
- Cebolla, A., Vinardell, J. M., Kiss, E., Oláh, B., Roudier, F., Kondorosi, A., & Kondorosi, E. (1999). The mitotic inhibitor ccs52 is required for endoreduplication and ploidy-dependent cell enlargement in plants. *The Embo Journal*, 18(16), 4476-4484. doi: <https://doi.org/10.1093/emboj/18.16.4476>
- Chevalier, C., Nafati, M., Mathieu-Rivet, E., Bourdon, M., Frangne, N., Cheniclet, C., Renaudin, J. P., Gévaudan, F., & Hernould, M. (2011). Elucidating the functional role of endoreduplication in tomato fruit development. *Annals of Botany*, 107(7) 1159-1169. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mcq257>
- Cid, R., & Palomino, G. (1996). Cytotypes and meiotic behavior in Mexican Populations of *Myrtillocactus geometrizans* var. *geometrizans* (Cactaceae). *Cytologia*, 61(3), 343-348. doi: <https://doi.org/10.1508/cytologia.61.343>
- Conger, A. D., & Fairchild, L. M. (1953). A quick-freeze method for making smear slides permanent. *Stain Technology*, 26(6), 281-283. doi: <https://doi.org/10.3109/10520295309105555>
- Cosendai, A. C., & Hörandl, E. (2010). Cytotype stability, facultative apomixis and geographical parthenogenesis in *Ranunculus kuepferi* (Ranunculaceae). *Annals of Botany*, 105(3), 457-470. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mcp304>
- Cota, J. H., & Wallace, R. S. (1996). La citología y la sistemática molecular en la familia Cactaceae. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 41(2), 27-46. Recuperado el 12 de febrero de 2018 de <https://biblat.unam.mx/es/revista/cactaceas-y-suculentas-mexicanas/11>

- Das, A. B., Mohanthy, S., & Das, P. (2000). Cytophotometric estimation of 4C DNA content and chromosome analysis in four species of *Astrophytum*. Lem., of the family Cactaceae. *Cytologia*, 65(2), 141-148. doi: <https://doi.org/10.1508/cytologia.65.141>
- De Laat, A. M. M., Gohde, W., & Volgezakg, M. J. D. C. (1987). Determination of ploidy of single plants and plant populations by flow cytometry. *Plant Breeding*, 99(4), 303-307. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1987.tb01186.x>
- De Rocher, E. J., Harkins, K. R., Galbraith, D. W., & Bohnert, H. J. (1990). Developmentally regulated systemic endopolyploidy in succulents with small genomes. *Science*, 250(4977), 99-101. doi: <https://doi.org/10.1126/science.250.4977.99>
- Del Ángel, C., Palomino, G., García, A., & Méndez, I. (2006). Nuclear genome size and karyotype analysis in *Mammillaria* species (Cactaceae). *Caryologia, International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 59(2), 177-186. doi: <https://doi.org/10.1080/00087114.2006.10797914>
- Dolezel, J., Greilhuber, J., & Suda, J. (2007). Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols*, 2(9), 2233-2244. doi: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.310>
- Dolezel, J., Greilhuber, J., Lucretti, S., Meister, A., Lysák, M. A., Nardi, L., & Obermayer, R. (1998). Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. *Annals of Botany*, 82(Supplement A), 17-26. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a010312>
- Gregory, T. R. (2005). The C-value enigma in plants and animals: a review of parallels and an Appeal for partnership. *Annals of Botany*, 95(1), 133-146. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mci009>
- Griffith, M. P. (2004). The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(11), 1915-1921. doi: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1915>
- Grimaldo-Juárez, O., García-Velázquez, A., Ortíz-Cereceres, J., & Ruiz-Posadas, L. M. (2001). Características cariotípicas de seis genotipos de pitahaya (*Hylocereus* spp.). *Revista de Chapingo Serie Horticultura*, 7(2), 177-186. doi: <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2000.08.056>
- Joubès, J., & Chevalier, C. (2000). Endoreduplication in higher plants. *Plant Molecular Biology*, 43(5-6), 735-745. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1006446417196>
- Jiao, Y., Wickett, N. J., Ayampalayam, S., Chanderbali, A. S., Landherr, L., Ralph, P. E., Tomsho, L. P., Hu, Y., Liang, H., Soltis, S. P., Soltis, D. E., Clifton, S. W., Schlarbaum, S. E., Schuster, S. C., Ma, H., Leebens-Mack, J., & de Palmphilis, C. W. (2011). Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature, International Journal of Science*, 473, 97-100. doi: <https://doi.org/10.1038/nature09916>
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants. Volume 3, Fruits*. Germany: Springer
- Majure, L. C., Puente, R., & Pinkava, D. J. (2012). Miscellaneous Chromosome numbers in Opuntieae DC. (Cactaceae) with y compilation of counts for the group. *Haseltonia*, 18(18), 68-78. doi: <https://doi.org/10.2985/026.018.0109>
- Marhold, K. (2013). IAPI/IOPB chromosome data 15. *Taxon*, 62(5), 1073-1083. Recuperado el 16 de febrero de 2018 de <http://www.jstor.org/stable/taxon.62.5.1073>
- Murray, B. G., De Lange, P. J., & Ferguson, A. R. (2005). Nuclear DNA variation, chromosome numbers and polyploidy in the endemic and indigenous grass flora of New Zealand. *Annals of Botany*, 96(7), 1293-1305. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mci281>
- 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. doi: <https://doi.org/10.3732/ajb.94.8.1360>
- Ohri, D. (1998). Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany*, 82(1-1), 75-83. doi: <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0765>
- Otto, F. (1990). DAPI Staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. En: H.A. Crissman, Z. Darzynkiewics (Eds.). *Methods in cell biology* (pp.105-110). New York, USA: Academic Press.
- Palomino, G., & Heras, H. M. (2001). Karyotypic studies in *Opuntia cochinera*, *O. hyptiacantha*, and *O. streptacantha* (Cactaceae). *Caryologia*, 54(2), 147-154. doi: <https://doi.org/10.1080/00087114.2001.10589221>

- Palomino, G., Martínez, J., Méndez, I., Muñoz-Urías, A., Cepeda-Cornejo, V., & Pimienta-Barríos, E. (2016). Nuclear genome size, ploidy level and endopolyploidy pattern in six species of *Opuntia* (Cactaceae). *Caryologia*, 69(1), 1-8. doi: <https://doi.org/10.1080/00087114.2015.1109956>
- Palomino, G., & Sousa, S. M. (2000). Variation of nuclear DNA content in biflorus species of *Lonchocarpus* (Leguminosae). *Annals of Botany*, 85(1), 69-76. doi: <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0998>
- Pinkava, D. J., & McLeod, M. G. (1971). Chromosome numbers in some cacti of western North America. *Brittonia*, 23(2), 171-176. doi: <https://doi.org/10.2307/2805433>
- Pinkava, D. J. (2002). On the evolution of the North American Opuntioideae. En: D. Hunt, & N. Taylor (Eds.). *Studies in the Opuntioideae (Cactaceae)* (pp.59-98). Sherborne: DH Books.
- Pinkava, D. J., Baker, M. A., Parfitt, B. D., Mohlenbrock, M. W., & Worthington, R. D. (1985). Chromosome numbers in some cacti of western North America-V. *Systematic Botany*, 10(4), 471-483. doi: <https://doi.org/10.2307/2419140>
- Powell, A. M., & Weedin, J. F. (2001). Chromosome numbers in Chihuahuan desert Cactaceae. III. Trans-Pecos Texas. *American Journal of Botany*, 88(3), 481-485. doi: <https://doi.org/10.2307/2657113>
- Ramírez-Tobías, H. M., Reyes-Agüero, J. A., Pinos-Rodríguez, J. M., & Aguirre-Rivera, J. R. (2007). Efecto de la especie y madurez sobre el contenido de nutrientes de cladodios de nopal. *Agrociencia*, 41(6), 619-626. Recuperado el 19 de marzo de 2018 de <http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2007/ago-sep/art-3.pdf>
- Segura, S., Scheinvar, L., Olalde, G., Leblanc, O., Filtrado, S., Muratalla, A., Gallegos C., & Flores, C. (2007). Genome sizes and ploidy levels in Mexican cactus pear species *Opuntia* (Tourn.) Mill. Series *Streptacanthae* Britton et Rose, *Leucotrichae* DC. *Heliabravoanae* Scheinvar and *Robustae* Britton et Rose. *Genetic Resources Crop Evolution*, 54(5), 1033-1041. doi: <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9196-z>
- Spencer, J. L. (1955). A cytological study of the Cactaceae of Puerto Rico. *Botanical Gazette*, 117(1), 33-37. doi: <https://doi.org/10.1086/335887>
- Soto-Trejo, F., Palomino, G., Villaseñor, J. L. & Crawford, D. J. (2013). Polyploidy in Asteraceae of the xerophytic scrub of the ecological reserve of the Pedregal of San Angel. México City. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 173(2), 211-229. doi: <https://doi.org/10.1111/boj.12080>
- Torres Sales, A., de Mello Viera Leite, L. de M. & Pereira de Andrade, A. (2016). Adaptación de cultivares de nopal forrajero al semiárido estado de Paraíba, Brasil. *Agronomía Mesoamericana*, 27(1), 151-157. doi: <http://dx.doi.org/10.15517/am.v27i1.21894>