

Nivel de ploidía en poblaciones de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees nativas de México*

Ploidy level in native populations of *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees from Mexico

Santiago Garduño Velázquez¹, Adrián Raymundo Quero Carrillo^{1§}, David Bonnett², Raúl Rodríguez Herrera³, Alejandra Pérez Hernández¹ y Alfonso Hernández Garay¹

¹Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas-Campus Montecillo, Centro de Ganadería. Montecillo, Texcoco, Estado de México. (santiago432@hotmail.com; alejandra.perez@colpos.mx; hernan@colpos.mx). ²Laboratorio de Cruzas Amplias-Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Texcoco, Estado de México. (D.Bonnett@cgiar.org). ³Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila. Colegio de Postgraduados Centro de Ganadería. Carretera km 36.5, México-Texcoco, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230. (rrh961@hotmail.com). [§]Autor para correspondencia: queroadrian@colpos.mx.

Resumen

Leptochloa dubia (Kunth) Nees es una gramínea forrajera perenne, nativa del centro-norte de México, adaptada a zonas de escasa precipitación, su número cromosómico básico es $x=10$ y su nivel de ploidía desde diploide ($2n=2x=20$) a octoploide ($2n=2x=80$). El objetivo fue determinar el número cromosómico y nivel de ploidía de una colección de 67 poblaciones de pasto Gigante, recolectadas durante 2009 en el Altiplano Mexicano entre 19° a 28° latitud norte y 1 500 a 2 450 msnm. Los conteos cromosómicos se realizaron en ápices de raíces en crecimiento activo (5 a 10 mm), tratadas con 8-hidroxiquinolina (2 mM) por 3.5 h, fijadas en solución (3:1 v/v alcohol absoluto y ácido acético glacial) y se conservaron a 4°C , hasta el momento de su evaluación. El recuento de cromosomas se efectuó en microscopio compuesto de contraste de fases. Se observaron células en metafase, por lo menos, cinco preparaciones y 10 células por preparación, para cada planta y población. El 96% de las plantas analizadas fueron tetraploides $2n=4x=40$ y 4% diploides $2n=2x=20$. Las plantas diploides fueron originarias de seis poblaciones de Hidalgo, Guanajuato y de la zona limítrofe entre Aguascalientes, Jalisco y Guanajuato, las plantas tetraploides se encontraron en todas las poblaciones evaluadas; sin embargo, no se encontraron

Abstract

Leptochloa dubia (Kunth) Nees is a perennial forage grass, native to north-central Mexico, adapted to all regions of scarce precipitation, its basic chromosome number is $x=10$ and its ploidy level from diploid ($2n=2x=20$) to octoploid ($2n=2x=80$). The objective was to determine the chromosome number and ploidy level of a collection of 67 populations of green sprangletop, collected during 2009 in the Mexican plateau between 19° to 28° north latitude and 1 500 a 2 450 masl. Chromosome counts were made in root tips actively growing (5 to 10 mm), treated with 8-hydroxyquinoline (2 mM) for 3.5 h, fixed in solution (3:1 v/v absolute ethanol and glacial acetic acid) and stored at 4°C until evaluation. Chromosome counting was made on a phase contrast microscope. Cells in metaphase were observed, at least, five preparations and 10 cells per preparation, for each plant and population. 96% of the analyzed plants were tetraploid $2n=4x=40$ and 4% diploid $2n=2x=20$. Diploid plants were from six populations of Hidalgo, Guanajuato and the border between Aguascalientes, Jalisco and Guanajuato; tetraploid plants were found in all populations evaluated; however, no significant differences were found among sites ($p < 0.05$), according to their ploidy level. The levels found are indicative of the broad center of origin of this species.

* Recibido: agosto de 2014
Aceptado: enero de 2015

diferencias significativas entre localidades ($p < 0.05$), de acuerdo a su nivel de ploidía. Los niveles encontrados son indicativos del amplio centro de origen de esta especie.

Palabras clave: *Leptochloa dubia*, cromosomas, diploide, tetraploide.

Introducción

Leptochloa es un género Norteamericano y de origen polifilético (Peterson *et al.*, 2012) que comprende aproximadamente 32 especies anuales y perennes, rizomatozas, estoloníferas o decumbentes (Snow, 1997), algunas con importancia económica y ecológica como maleza (*L. coerulescens*, *L. fascicularis*, *L. filiformis*, *L. fusca*, *L. scabra*, *L. uninervia* y *L. virgata*), y otras, como forrajeras (*L. dubia*, *L. chinensis*, *L. obtusiflora* y *L. paniceae*), con distribución pantropical (Watson y Dallwitz, 1992). En el continente Americano se han reportado 17 especies de *Leptochloa*, 13 de éstas como nativas (Peterson *et al.*, 2001; 2007) y en México, distribuidas principalmente en los trópicos (Dávila *et al.*, 2006).

El pasto Gigante *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, es perenne amacollado de crecimiento erecto, alcanza una altura de 30 a 110 cm; hojas verde brillante de 10 a 25 cm de longitud por 2 a 5 mm de ancho, panícula en forma piramidal con tres a 12 racimos espigados ascendentes, casi siempre de 4 a 12 cm de largo (Anderson *et al.*, 1995; Snow *et al.*, 2008), es de rápido crecimiento, posee buen potencial de producción de biomasa en zonas de escasa precipitación, alta tolerancia al frío (-10 °C), buen contenido de proteína, excelente digestibilidad y buena capacidad para asociarse con otras gramíneas (Polk *et al.*, 1976; Pitman, 1980; Mielke, 1993; Jaramillo, 1994; Urrutia *et al.*, 2000; Beatriz *et al.*, 2005). Su distribución geográfica se extiende desde el sur de Estados Unidos de América hasta Argentina, se ha encontrado desde los 100 hasta 2 600 y en ocasiones hasta los 3 150 msnm en la cordillera de los Andes (Valls, 1978; Snow, 1997; Peñaloza *et al.*, 2002; Snow *et al.*, 2008). En estudios aislados se ha reportado diferencia en desarrollo de plántula entre ecotipos nativos de México, para crecimiento de raíz, área foliar y peso seco de la parte aérea (Espinoza y Kuruvadi, 1986). Los estudios citogenéticos en gramíneas son importantes (Morales-Fernandes *et al.*, 1973), ya que éste conocimiento, muestra las relaciones dentro de especie, género o familia, ayuda a caracterizar germoplasma, clarificar el origen de los híbridos

Keywords: *Leptochloa dubia*, chromosomes, diploid, tetraploid.

Introduction

Leptochloa is an American genus and polyphyletic origin (Peterson *et al.*, 2012) comprising approximately 32 annual and perennial species, rhizomatous, stoloniferous or decumbent (Snow, 1997), some with economic and ecological importance as weed (*L. coerulescens*, *L. fascicularis*, *L. filiformis*, *L. fusca*, *L. scabra*, *L. uninervia* and *L. virgata*), and others as forage (*L. dubia*, *L. chinensis*, *L. obtusiflora* and *L. Paniceae*), with pantropical distribution (Watson and Dallwitz, 1992). In the Americas have been reported 17 species of *Leptochloa*, 13 of these are native (Peterson *et al.*, 2001; 2007) and in Mexico, are mainly distributed in the tropics (Davila *et al.*, 2006).

Green sprangletop *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees, is perennial tillering of erect growth, reaching a height of 30-110 cm; bright green leaves of 10 to 25 cm long and 2 to 5 mm wide, panicle pyramidal shape with three to 12 ascendant spiky racemes, usually from 4 to 12 cm long (Anderson *et al.*, 1995; Snow *et al.*, 2008), it is fast growing, has good potential for biomass production in regions with scarce precipitation, high tolerance to cold (-10 °C), good protein content, excellent digestibility and good ability to associate with other grasses (Polk *et al.*, 1976; Pitman, 1980; Mielke, 1993; Jaramillo, 1994; Urrutia *et al.*, 2000; Beatriz *et al.*, 2005). Its geographical distribution extends from southern United States to Argentina, has been found from 100 to 2 600 and sometimes up to 3 150 masl in Andes (Valls, 1978; Snow, 1997; Peñaloza *et al.*, 2002; Snow *et al.*, 2008). In isolated studies have been reported differences in seedling development between native ecotypes from Mexico, for root growth, leaf area and dry weight of the aerial part (Espinoza and Kuruvadi, 1986). Cytogenetic studies in grasses are important (Morales-Fernandes *et al.*, 1973), since this knowledge, shows the relationships within species, genus or family, helps to characterize germplasm, clarify the origin of natural hybrids and cultivars (Stace 2000; Pozzobon *et al.*, 2006). Also, complements the information obtained through molecular methods for genetic improvement, when used in intra and inter specific crosses (García, 1990; Sybenga, 1992; Stace, 2000).

naturales y variedades cultivadas (Stace, 2000; Pozzobon *et al.*, 2006). Además, complementa la información obtenida por métodos moleculares, para el mejoramiento genético, cuando se usan en cruzamientos intra e inter-específicos (García, 1990; Sybenga, 1992; Stace, 2000).

La información citogenética es básica para programas de cruzamiento, así como para relacionar el potencial forrajero con el nivel de ploidía (Do Valle *et al.*, 1998; Quero *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2007). Pasto Gigante se caracteriza por un número básico $x = 10$ cromosomas (Brown, 1951; Gould, 1960; Valls, 1978); estudios previos, reportaron cuatro complementos cromosómicos que van desde nivel diploide $2n = 2x = 20$ hasta octoploide $2n = 2x = 80$ (Covas, 1949; Brown, 1951; Gould y Soderstrom, 1967; Valls, 1978). La poliploidía es común en gramíneas (Echandi, 1970), y ésta puede aparecer como consecuencia de fallos en la meiosis que conducen a la formación de gametos no reducidos, con cambios consecuentes en la morfología, fisiología y la creación de barreras de aislamiento que conducen a la divergencia evolutiva o por hibridación de especies diploides (De Wet, 1980; Therman, 1995; Lacaeda, 1996).

La alta frecuencia de poliploides en gramíneas sugiere que ha hecho una contribución importante al proceso de diversificación y especiación en *Poaceae* (Thompson y Lumaret, 1992; Leitch y Bennet, 1997). A mayores altitudes y latitudes existe un aumento en poliploidía, esto debido a que los genes que controlan caracteres de valor selectivo pueden acumularse con mayor facilidad en poliploides, por lo que pueden adaptarse rápidamente a condiciones ambientales extremas (Granados y López, 1980; Lacaeda, 1996; Comai, 2005).

El centro de origen del pasto gigante se localiza en el centro-norte de México (Mielke, 1993; Pohl y Davidse, 1994; Rodríguez, 2000). En los centros de origen de otras gramíneas forrajeras como: *Panicum*, *Brachiaria*, *Tripsacum*, *Paspalum* y *Bouteloua* es donde se ha encontrado la mayor riqueza de morfotipos, citotipos y resistencia (Nakajima *et al.*, 1978; Quero *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2006; Dahmer *et al.*, 2008; Quero *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2013); en éstos puede existir hibridación dentro de la especie con diferente nivel de ploidía (De Wet, 1968; De Wet, 1986; Do Valle), aunque la mayoría de los individuos híbridos son estériles o apomicticos, algunos de ellos pueden presentar ventajas evolutivas y fijar caracteres de importancia agronómica (De Wet, 1986; Sites y Reed, 1994; Leitch y Bennet, 1997), en estas zonas es donde ocurre mayor dinámica de flujo genético entre los diversos niveles de ploidía (Quero *et al.*, 2010).

Cytogenetic information is essential for breeding programs and to relate forage potential with ploidy level (Do Valle *et al.*, 1998; Quero *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2007). Green sprangletop is characterized by a basic number $x = 10$ chromosomes (Brown, 1951; Gould, 1960; Valls, 1978); previous studies reported four chromosome complements that go from diploid levels $2n = 2x = 20$ to octoploide $2n = 2x = 80$ (Covas, 1949; Brown, 1951; Gould and Soderstrom, 1967; Valls, 1978). Polyploidy is common in grasses (Echandi, 1970), and this may occur as consequence of errors in meiosis that lead to the formation of unreduced gametes, with consequent changes in morphology, physiology and building insulation barriers that lead evolutionary divergence or by hybridization of diploid species (De Wet, 1980; Therman, 1995; Lacaeda, 1996).

The high frequency of polyploid in grasses suggests that it has made a major contribution to the process of diversification and speciation in *Poaceae* (Thompson and Lumaret, 1992; Leitch and Bennett, 1997). At higher altitudes and latitudes there is an increase in polyploidy, this is due to genes that control traits of selective value can accumulate more easily in polyploid, so it can easily adapt to extreme environmental conditions (Granados and López, 1980; Lacaeda, 1996; Comai, 2005).

The center of origin of the green sprangletop is located in north-central Mexico (Mielke, 1993; Pohl and Davidse, 1994; Rodríguez, 2000). In the centers of origin of other forage grasses such as: *Panicum*, *Brachiaria*, *Tripsacum*, *Paspalum* and *Bouteloua* is where have been found the greatest wealth of *morphotypes*, *cytotypes* and resistance (Nakajima *et al.*, 1978; Quero *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2006; Dahmer *et al.*, 2008; Quero *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2013); in these there may be hybridization within the species with different levels of ploidy (De Wet, 1968; De Wet, 1986; Do Valle), although most hybrid individuals are sterile or apomictic, some of them may have evolutionary advantages and set traits of agronomic importance (De Wet, 1986; Sites and Reed, 1994; Leitch and Bennett, 1997), in these areas is where greater dynamics of gene flow occurs between the different levels of ploidy (Quero *et al.*, 2010).

Polyploidy in plants occurs from 35 to 40% and in grasses up to 70%, representing an advantage of adaptation to environment (Stebbins, 1972; Thompson and Lumaret, 1992). In forage grasses has been found that most species increase biomass production due to larger cells and larger

En las plantas la poliploidía ocurre de 35 a 40% y en gramíneas, hasta 70%, lo que indica que representa una ventaja de adaptación al ambiente (Stebbins, 1972; Thompson y Lumaret, 1992). En gramíneas forrajeras se ha encontrado que la mayoría de las especies incrementa la producción de biomasa, debido a células de mayor tamaño y mayor plasticidad del genoma para adaptarse a condiciones adversas (Echandi, 1970; Quero *et al.*, 2010). El objetivo fue determinar el número cromosómico y nivel de ploidía de 67 poblaciones de pasto Gigante, nativas del altiplano mexicano y relacionarlos con su origen geográfico.

Materiales y métodos

Se colectó semilla de 67 poblaciones de pasto Gigante [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], en diferentes regiones de 10 estados de la república Mexicana (Figura 1), en su área de distribución natural: Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas; entre los paralelos (19° a 28° latitud norte) y 1 500 a 2 450 msnm. En cada sitio se recolectó semilla de 10 plantas diferentes y éstas fueron consideradas como una población. Se sembraron 4 ó 5 plantas por población en charolas de germinación; tres semanas después de la emergencia, fueron trasplantadas a macetas de 15 cm de diámetro y 20 cm de altura, en condiciones de invernadero. El trabajo se realizó en el Laboratorio de Cruzas Amplias, del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en Texcoco, Estado de México.

El número cromosómico somático (2n) fue determinado a partir de muestras de ápices de raíces en crecimiento activo (5 a 10 mm). Con la finalidad de muestrear el meristemo apical, donde se encuentra mayor número de células en división (Becerra *et al.*, 2002), el momento de muestreo varió entre 10:00 y 11:00 am, cuando se encontró mayor número de células en metafase. Las raíces se trataron con 8-hidroxiquinoleína (2 mM), a temperatura ambiente (18 a 24 °C) durante 3.5 h, se fijaron en solución (3:1 v/v alcohol absoluto: ácido acético glacial), se tiñeron en orceína acética al 2% y se conservaron a 4 °C hasta su evaluación al microscopio compuesto (García, 1990).

Para observar los cromosomas al microscopio óptico, las raíces se colocaron en ebullición en ácido acético al 45% por 30 s, se separó la masa celular y se colocaron sobre portaobjetos, adicionando una gota de ácido acético al 45%;

genome plasticity to adapt to adverse conditions (Echandi, 1970; Quero *et al.*, 2010). The objective was to determine chromosome number and ploidy level of 67 populations of green sprangletop, native from the Mexican plateau and relate them to their geographical origin.

Materials and methods

Seed from 67 populations of green sprangletop [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees], were collected in different regions of 10 states from Mexico (Figure 1), in their natural distribution area: Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Jalisco, Mexico, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí and Zacatecas; between latitudes (19° to 28° north latitude) and 1 500 a 2 450 masl. At each site collected seed from 10 different plants and these were considered as a population. 4 or 5 plants were sown per population in germination trays; three weeks after emergence, were transplanted in pots of 15 cm diameter and 20 cm height, under greenhouse conditions. The work was performed at the Laboratory of Wide Crosses, from the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) in Texcoco, State of Mexico.

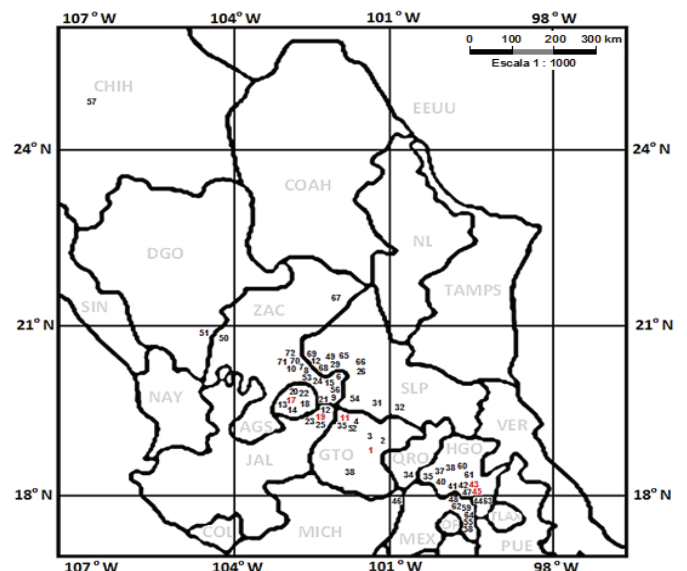


Figura 1. Sitios de recolecta de poblaciones del pasto Gigante *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees. Números negros representan poblaciones tetraploides. Números rojos, poblaciones con plantas diploides y tetraploides.

Figure 1. Collection sites of green sprangletop *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees populations. Bold numbers represent tetraploid populations. Numbers in red, represent diploid and tetraploid plant populations.

enseguida, se ejerció presión uniforme con el pulgar sobre el cubreobjeto, para dispersar los cromosomas, se hicieron recuentos cromosómicos al menos en cinco preparaciones y 10 células metafásicas por preparación, por planta, con el objetivo de inmersión 100 X con contraste de fases (García, 1990; Valladolid *et al.*, 2004).

Para determinar diferencias entre localidades para nivel de ploidía, los datos por localidad (para más de un nivel de ploidía) fueron analizados empleando análisis categórico de datos, con tablas 2 x r, donde 2 representó los niveles de poliploidía (diploides y tetraploides) y r las localidades (SAS, 1997).

Resultados y discusión

El número cromosómico fue determinado para 224 plantas de 67 poblaciones de pasto Gigante, recolectadas en diferentes regiones (Figura 1), se detectaron 215 plantas tetraploides $2n=2x=40$, el 96% de las plantas evaluadas y se presentaron en todas las poblaciones analizadas; además, se observaron nueve plantas diploides $2n=2x=20$, 4% de las plantas evaluadas y éstas fueron encontradas en seis poblaciones, en tres regiones distintas (Figura 1; Cuadro 1): suroeste de Hidalgo (Poblaciones 43 y 45); Guanajuato, una planta diploide (Población 1) y tres sitios en los límites de Guanajuato, Jalisco y Aguascalientes (Poblaciones 11, 17 y 19). Covas (1949), encontró que *L. dubia* poseía 40 cromosomas $2n=4x=40$ en Sudamérica; mientras que Brown (1950), en Texas, observó plantas hexaploides $2n=2x=60$; Gould (1960), encontró tres accesiones diploides $2n=2x=20$ y una tetraploide $2n=4x=40$, en Texas y dos tetraploides en Arizona y Valls (1978), encontró ocho accesiones octoploides $2n=8x=80$ y cuatro tetraploides $2n=2x=40$, en Texas. En gramíneas es común la variación intraespecífica del número cromosómico y la hibridación entre éstas (Khidir, 1985; Fernández *et al.*, 1991).

La poliploidía puede aparecer como consecuencia de la formación de gametos no reducidos, por la fecundación simultánea de un gameto femenino y dos masculinos o por la formación de quimeras o mosaicos poliploides, dando origen a poliploides (Lacaeda, 1996). A mayor nivel de ploidía, es mayor el tamaño del núcleo celular como resultado de la duplicación cromosómica y hay mayor producción de biomasa (Mayers, 1947; Echandi, 1970; Lacaeda, 1996; Quero *et al.*, 2010). En especies

Somatic chromosome number ($2n$) was determined from samples of root tips actively growing (5 to 10 mm). In order to sample apical meristem, where the highest number of dividing cells (Becerra *et al.*, 2002) the sampling time varied between 10:00 and 11:00 am, when a larger number of cells was found in metaphase. The roots were treated with 8-hydroxyquinoline (2 mM), at room temperature (18-24 °C) for 3.5 h, fixed in a solution (3:1 v/v absolute ethanol: glacial acetic acid), stained in orcein acetic 2% and stored at 4 °C until evaluation with phase contrast microscopy (García, 1990).

To observe chromosomes by optical microscopy, the roots were placed in boiling in acetic acid at 45% for 30 s, the cell mass was removed and placed on slides by adding a drop of acetic acid at 45%; then, uniform pressure is exerted with the thumb on the cover glass, to disperse the chromosomes; chromosome counts were made at least in five preparations and 10 metaphase cells by preparing, per floor, with the immersion objective 100 X with phase contrast (García, 1990; Valladolid *et al.*, 2004).

To determine differences among localities for ploidy level, data by locality (for more than one ploidy level) were analyzed using categorical data analysis, with tables 2 x r, where 2 represented the levels of polyploidy (diploid and tetraploid) and r localities (SAS, 1997).

Results and discussion

Chromosome number was determined for 224 plants of 67 populations of green sprangletop collected in different regions (Figure 1), detecting 215 tetraploid plants $2n=2x=40$, 96% of plants evaluated and present in all populations analyzed; also, nine diploid plants $2n=2x=20$, 4% of the plants evaluated and this were found in six populations, in three different regions (Figure 1: Table 1); southwest of Hidalgo (Population 43 and 45); Guanajuato, a diploid plant (population 1) and three sites within the limits of Guanajuato, Jalisco and Aguascalientes (populations 11, 17 and 19). Covas (1949) found that *L. dubia* had 40 chromosomes $2n=4x=40$ in South America; while Brown (1950), in Texas, noted hexaploid plants $2n=2x=60$; Gould (1960) found three diploid accessions $2n=2x=20$ and a tetraploid $2n=4x=40$ in Texas and two tetraploid in Arizona and Valls (1978) found eight octoploid accessions $2n=8x=80$ and four tetraploid $2n=2x=40$, in Texas. In

simpátricas con diferente nivel de ploidía, la hibridación es abundante, por lo que éstos son fuente de diversidad genética (De Wet, 1986).

grasses is common intraspecific variation of chromosome number and hybridization between them (Khidir, 1985; Fernández *et al.*, 1991).

Cuadro 1. Poblaciones evaluadas de *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.

Table 1. Assessed populations of *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees.

Pob	Edo	Coordenadas		Plantas evaluadas (2n)					Pob	Edo	Coordenadas		Plantas evaluadas (2n)					
		Norte	Oeste	Altitud (m)	1	2	3	4			5	Norte	Oeste	Altitud (m)	1	2	3	4
1	Gto	20°51'04"	100°30'38"	2161	20	40	40	40	40	Hgo	20°29'58"	99°18'29"	1799	40	40	40		
2	Gto	21°17'11"	100°35'09"	1983	40	40	40	40	41	Hgo	20°17'15"	99°41'46"	2245	40	40	40		
3	Gto	21°10'55"	100°52'37"	1950	40	40	40		42	Hgo	20°14'18"	99°34'06"	2435	40	40	40		
4	Gto	21°42'06"	101°30'03"	2280	40	40	40		43	Hgo	20°13'28"	98°28'27"	2214	40	20	40	20	40
6	Zac	22°18'35"	101°35'53"	2451	40	40	40		44	Hgo	20°12'30"	99°24'00"	2122	40	40	40	40	
7	Zac	22°40'51"	102°06'24"	2133	40	40	40	40	45	Hgo	20°16'44"	99°24'37"	2158	40	20	40	40	
8	Zac	22°40'07"	102°02'28"	2032	40	40	40		46	Mich	20°07'04"	100°14'16"	2415	40	40	40		
9	Zac	22°35'41"	102°04'99"	2044	40	40	40		47	Hgo	20°10'02"	99°22'01"	2012	40	40	40		
10	Zac	22°38'21"	101°52'46"	2115	40	40	40		48	Méx	19°43'07"	98°45'28"	2346	40	40	40		
11	Gto	21°15'39"	100°41'35"	2003	40	40	20		49	SLP	22°27'28"	101°33'14"	2176	40	40	40		
12	Jal	21°50'41"	101°35'40"	2230	40	40	40		50	Zac	23°45'13"	103°50'33"	2145	40	40	40		
13	Ags	22°13'30"	102°27'28"	1932	40	40	40		51	Dgo	23°44'47"	103°58'25"	1942	40	40	40		
14	Ags	21°58'02"	101°42'50"	2122	40	40	40		52	Gto	21°45'53"	101°33'53"	2194	40	40	40		
15	Zac	22°19'01"	101°39'53"	2266	40	40	40		53	Zac	22°31'33"	101°55'18"	2167	40	40	40		
17	Ags	22°13'25"	102°11'01"	2064	20	20	40	20	54	SLP	21°53'40"	101°21'18"	2185	40	40	40		
18	Zac	22°21'09"	101°56'20"	2121	40	40	40	40	55	Méx	19°29'11"	98°52'57"	2250	40	40	40		
19	Jal	22°00'32"	101°48'10"	2143	40	40	40	20	56	Zac	22°04'36"	101°33'56"	2169	40	40	40		
20	Ags	21°56'21"	101°58'35"	2021	40	40	40		57	Chih	28°35'43"	106°04'01"	1500	40	40	40		
21	Ags	22°01'30"	101°46'38"	2203	40	40	40		58	Méx	19°24'55"	98°53'35"	2254	40	40	40		
22	Ags	22°05'21"	102°03'22"	2018	40	40	40		59	Méx	19°30'54"	98°50'16"	2322	40	40	40		
23	SLP	22°57'51"	101°31'04"	2135	40	40	40	40	60	Hgo	20°28'19"	99°19'49"	1830	40	40	40		
24	Zac	22°21'51"	101°43'46"	2139	40	40	40		61	Hgo	20°25'35"	99°20'04"	1919	40	40	40		
25	Jal	21°59'15"	101°45'12"	2168	40	40	40	40	62	Méx	19°42'52"	98°48'56"	2307	40	40	40		
26	SLP	22°22'48"	101°09'56"	1840	40	40	40		63	Hgo	19°53'10"	98°38'01"	2533	40	40	40		
28	Jal	22°02'30"	101°56'03"	2056	40	40	40		64	Méx	19°33'13"	98°44'15"	2703	40	40	40		
29	SLP	22°23'53"	101°35'44"	2272	40	40	40	40	65	SLP	22°28'33"	101°32'13"	2125	40	40	40		
31	SLP	21°48'36"	101°06'15"	1956	40	40	40		66	SLP	22°18'53"	101°09'54"	1891	40	40	40		
32	SLP	21°48'33"	100°57'48"	1828	40	40	40		67	Zac	24°09'13"	101°29'32"	1891	40	40	40		
33	Gto	21°39'58"	101°34'53"	2142	40	40	40		68	SLP	22°37'37"	101°42'41"	2077	40	40	40		
34	Qro	20°19'39"	99°59'57"	2152	40	40	40		69	Zac	22°38'05"	101°51'54"	2122	40	40	40		
35	Hgo	20°17'16"	99°47'06"	2244	40	40	40		70	Zac	22°29'35"	101°59'14"	2136	40	40	40		
37	Hgo	20°22'14"	99°39'53"	2116	40	40	40		71	Zac	22°40'11"	102°03'58"	2064	40	40	40		
38	Hgo	20°25'25"	99°35'48"	2126	40	40	40		72	Zac	22°44'37"	102°20'44"	2156	40	40	40		
39	Hgo	20°25'42"	99°31'17"	2341	40	40	40											

Estados de México= Ags= Aguascalientes; Dgo= Durango; Gto= Guanajuato; Hgo= Hidalgo; Jal= Jalisco; Méx= Estado de México; Mich= Michoacán; Qro= Querétaro; SLP= San Luis Potosí; Zac= Zacatecas.

Al analizar las localidades y niveles de ploidía con el estadístico al azar Qs, que está marcado como Chi-cuadrada de Mantel-Haenszel, el valor Chi-cuadrada de Pearson Qp esta etiquetado “Chi-cuadrada”. Qs tuvo un valor de 0.0018 (Cuadro 2) y $p= 0.96$; Qp tiene un valor de 3.51 y $p= 0.62$, ambos no son significativos; por tanto, no hay diferencia entre localidades, basándose en el nivel de ploidía. El valor QMH para la correlación no cero fue igual a 0.0018, con 1 grado de libertad, valor no significativo, reforzando la conclusión de que no existen diferencias entre localidades con base al nivel de ploidía (Cuadro 3).

En las localidades, la frecuencia de diploides fue menor (tres magnitudes), en comparación con las tetraploides. Las plantas tetraploides tienen mayor valor adaptativo en comparación con plantas diploides. Hay tres ventajas de los poliploides. Las primeras dos, heterosis y redundancia génica, resultan de duplicación de genes; mientras que la tercera, reproducción asexual (apomixis) significa una ruta de escape a la esterilidad por desbalance embrión: endospermo (Quero *et al.*, 2010). La heterosis causa que los poliploides sean más vigorosos que sus congéneres diploides, mientras que la redundancia génica los protege de efectos deletéreos de las mutaciones.

La reproducción asexual posibilita a los poliploides reproducirse en ausencia de compañeros sexuales (Comai, 2005). Solo en Tapezala (17) se encontró mayor presencia de individuos diploides en comparación con tetraploides. Una posible explicación es que los poliploides adaptados que evitan la extinción entran en una trayectoria evolutiva de diploidización, durante la cual la redundancia genómica es reducida (Comai, 2005).

Los recuentos cromosómicos en *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees son particularmente difíciles, debido a la dureza de las paredes celulares y tamaño pequeño de los cromosomas, característico de la tribu Eragrostideae, que es de 2 a 3 micras en la mayoría de los casos (Valls, 1978; Granados y López, 1980). Es posible que debido a estas dificultades, ningún trabajo citológico sobre pasto gigante presenta descripciones del cariotipo. Sin embargo, estas observaciones muestran que predominan los cromosomas metacéntricos y submetacéntricos (Figura 2). Por lo difícil que resulta realizar conteos cromosómicos en esta especie, algunos autores trataron de estimar el nivel de ploidía por métodos indirectos. Valls (1978), trató de relacionar el nivel de ploidía con el tamaño de polen y estomas, encontró que el tamaño del grano de polen y

Polyploidy can appear as consequence of unreduced gametes formation, by simultaneous fertilization of a female gamete and two male or chimera formation or polyploid mosaics, giving origin to polyploids (Lacaeda, 1996). At higher ploidy level, cell nucleus is of greater size as a result of chromosome duplication and there is higher production of biomass (Mayers, 1947; Echandi, 1970; Lacaeda, 1996; Quero *et al.*, 2010). In sympatric species with different ploidy level, hybridization is abundant, so these are a source of genetic diversity (De Wet, 1986).

When analyzing locations and ploidy levels with statistical random Qs that are marked as Chi-square from Mantel-Haenszel, chi-square value of Pearson Qp is labeled “Chi-square”; Qs had a value of 0.0018 (Table 2) and $p= 0.96$; Qp had a value of 3.51 and $p= 0.62$, both are not significant; therefore, there is no difference between localities, based on ploidy level. QMH value for non-zero correlation was equal to 0.0018, with 1 degree of freedom, no significant value, reinforcing the conclusion that there are no differences between locations based on ploidy level (Table 3).

Cuadro 2. Estadísticos de comparación entre localidades de acuerdo al nivel de ploidía.

Table 2. Statistical comparison between locations according to ploidy level.

Estadístico	Gl	Valor	Probabilidad
Chi- cuadrada	5	3.5156	0.621
Taza de verisimilitud	5	3.4474	0.6314
Chi- cuadrada			
Chi- cuadrada Mantel-Haenszel	1	0.0018	0.9665
Coefficiente Phi		0.375	
Coefficiente de contingencia		0.3511	
Cramer's V		0.375	

Cuadro 3. Estadísticos de Cochran-Mantel-Haenszel (basados en puntuaciones de tabla).

Table 3. Cochran-Mantel-Haenszel Statistical (based on ratings table).

Estadístico	Hipótesis alternativa	Gl	Valor	Probabilidad
1	Correlación no cero	1	0.0018	0.9665
2	Difer. calific. promedio hileras	1	0.0018	0.9665
3	Asociación general	5	3.375	0.6424

del estoma era significativamente más grande, cuando se trataba de plantas octaploides, en comparación con plantas tetraploides.

In localities, diploid frequency was lower (three magnitudes) compared to tetraploid. Tetraploid plants have greater adaptive value compared to diploid plants. There are three

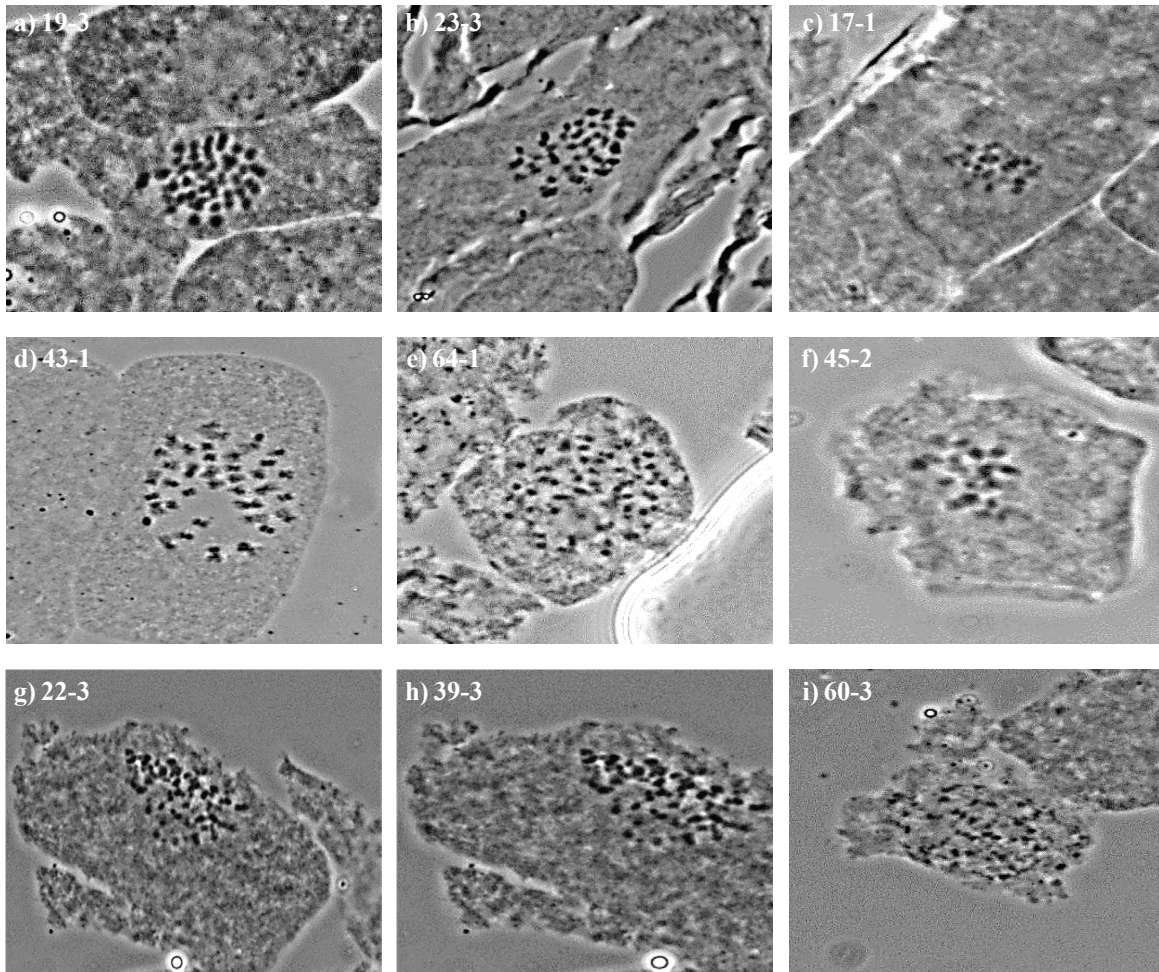


Figura 2. Metafase mitótica de [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees]. a) 19-2 ($2n=4x=40$); b) 23-3 ($2n=4x=40$), c) 17-1 ($2n=2x=20$), d) 43-1 ($2n=4x=40$), e) 64-1 ($2n=4x=40$), f) 45-2 ($2n=2x=20$), g) 22-3 ($2n=4x=40$), h) 39-3 ($2n=4x=40$).

Figure 2. Mitotic metaphase of [*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees]. a) 19-2 ($2n=4x=40$); b) 23-3 ($2n=4x=40$), c) 17-1 ($2n=2x=20$), d) 43-1 ($2n=4x=40$), e) 64-1 ($2n=4x=40$), f) 45-2 ($2n=2x=20$), g) 22-3 ($2n=4x=40$), h) 39-3 ($2n=4x=40$).

Conclusiones

Las plantas tetraploides ($2n=4x=40$) incluyeron a 96% de las poblaciones evaluadas y fueron procedentes de todos los sitios de colecta y 4% fueron diploides ($2n=2x=20$). Las plantas diploides se ubicaron en tres regiones: Suroeste de Hidalgo, Sureste de Guanajuato y límites de Aguascalientes, Guanajuato y Jalisco. No se encontraron diferencias en localidad, de acuerdo a su nivel de ploidía. Conviene realizar estudios de embriología y relacionarlos con el nivel de ploidía.

advantages of polyploid. The first two, heterosis and gene redundancy, resulting from gene duplication; while the third, asexual reproduction (apomixis) means an escape route to sterility by unbalance embryo: endosperm (Quero *et al.*, 2010). Heterosis makes polyploids more vigorous than its diploid congeners, whereas gene redundancy protects them from deleterious effects of mutations.

Asexual reproduction enables polyploidy to reproduce in absence of sexual partners (Comai, 2005). Only in Tapezala (17) was found greater presence of diploid individuals

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca de postgrado otorgada a Santiago Garduño Velázquez, lo que permitió la realización de ésta investigación. A la LPI16 de COLPOS, por su valioso apoyo.

Literatura citada

- Anderson, J. S.; W. Curtis, W. and Hanson, A. A. 1995. Grass varieties in the United States. United States Dep. of Agriculture. CRC Lewis Publishers. EE. UU. 296 p.
- Beatriz, E. R.; Bianco, C. A.; Mercado, S. E. y Scappini, E. G. 2005. Poáceas de San Luis. Distribución e importancia económica. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. 150 p.
- Becerra, N. L.; Barrera, T. E. y Marquínez, C. X. 2002. Anatomía y morfología de los órganos vegetativos de las plantas vasculares. UNIBIBLOS. Bogotá, Colombia. 276 p.
- Brown, W. V. 1950. A cytological study of some Texas Gramineae. Bull. Torrey Bot. Club. 77:63-76.
- Brown, W. V. 1951. Chromosome numbers of some Texas grasses. Bull. Torrey Bot. Club. 78:292-299.
- Carnahan, H. L. and Hill, H. D. 1961. Cytology and genetics of forage grasses. Bot. Rev. 27:1-162.
- Comai, L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploidy. Nature Reviews Genetics. 6:836-846.
- COTECOCA (Comisión Técnico Consultiva de Coeficientes de Agostadero). 1991. Las Gramíneas de México. Tomo III. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). México. 332 p.
- Covas, G. 1949. Estudios cariológicos en antófitas III. Darwiniana. 9:158-162.
- Dahmer, N., Schifino-Wittmann, M. T.; Dall', M. A. and Castro, B. 2008. Cytogenetic data for *Paspalum notatum* Flüge accessions. Sci. Agric. 65:381-388.
- Dávila, P.; Mejía-Saulés, M. T.; Gómez-Sánchez, M.; Valdés-Reyna, J.; Ortiz, J. J.; Morín, C.; Castrejón, J. y Ocampo, A. 2006. Catálogo de las gramíneas de México. UNAM-CONABIO. México. 671 p.
- De Wet, J. M. J. 1968. Diploid - tetraploid - haploid cycles and the origin of variability in *Dichanthium agamospecies*. Evolution. 22:394-397.
- De Wet, J. M. J. 1980. Origins of poliploids In: Lewis, W. H. (Ed.). Poliploidy biological relevance. Plenum Press. New York and London. 583 p.
- De Wet, J. M. J. 1986. Hybridization and polyploidy in the Poaceae. In: Soderstrom, T. R. Hilu, L.; Campbell, K. W. and Barkworth, M. E. (Eds.). Grass systematic and evolution 1st (Ed.). Washington, DC USA. Smithsonian Institution Press. 188-194 pp.
- Do Valle, C. and Savidan, H. 1996. Genetics, cytogenetics and reproductive biology of *Brachiaria*. *Brachiaria*: biology, agronomy, and improvement. CIAT-EMBRAPA. 147-163 pp.
- Do Valle, C.; Miles, B. J.; Agudelo, J.; Calderón, M. A. e Escandón, M. L. 1998. Colección de germoplasma de especies de *Brachiaria*. CIAT: estudios básicos visando ao melhoramiento genético. CIAT-EMBRAPA. 1-36 pp.
- compared with tetraploid. One possible explanation is that adapted polyploidy that avoid extinction enter in an evolutionary path of diploidization during which genomic redundancy is reduced (Comai, 2005).
- Chromosomal counts in *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees are particularly difficult due to the hardness of cell walls and small size of chromosomes, characteristic of Eragrostideae tribe which is 2 to 3 microns in most cases (Valls 1978; Granados and Lopez, 1980). It is possible that due to these difficulties, no cytological work on green sprangletop show karyotype descriptions. However, these observations show that metacentric and submetacentric chromosomes predominate (Figure 2). By the difficulty of performing chromosome counts in this species, some authors tried to estimate ploidy level by indirect methods. Valls (1978) attempted to relate ploidy level with pollen size and stomata, found that the size of pollen grain and stoma was significantly larger when it was about octaploid plants, compared with tetraploid plants.

Conclusions

Tetraploid plants ($2n=4x=40$) included 96% of evaluated populations and were from all collection sites and 4% were diploid ($2n=2x=20$). Diploid plants were located in three regions: Southwest Hidalgo, Southeast Guanajuato and limits of Aguascalientes, Guanajuato and Jalisco. No differences were found in locations, according to their ploidy level. It is convenient to make studies of embryology and relate them with ploidy level.

End of the English version



- Echandi, Z. R. 1970. Mejoramiento de forrajes en especial de las gramíneas. In: Primer Seminario Internacional sobre la enseñanza de cultivos. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA). Turrialba, Costa Rica. 30-37 pp.
- Espinoza, Z. R.; Kuruvadi S. 1986. Potencial del sistema radical en colecciones de zacate gigante (*Leptochloa dubia* H. B. K. Nees). 1986. Universidad Agraria Antonio Narro (UAAAN). 2(1):36-48.
- Fernández, O. A.; Brevedan, R. E. y Gargano, A. O. 1991. Citogenética In: el pasto llorón su biología y manejo. CERZOS. Universidad Nacional del Sur. Argentina. 19-38 pp.
- García, V. A. 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, México. 144 p.

- Gould, F. 1960. Chromosome numbers in southwestern grasses II. *Amer. J. Bot.* 47:873-877.
- Gould, F. and Soderstrom, T. R. 1967. Chromosome numbers of tropical American grasses. *Amer. J. Bot.* 54:676-683.
- Granados, S. D. y López, R. G. 1980. Manual de agrostología. Universidad Autónoma Chapingo (UACH), Departamento de Zonas Áridas. México. 216 p.
- Jaramillo, V. 1994. Revegetación y reforestación de las áreas ganaderas de las zonas áridas y semiáridas de México. Comisión Técnica Consultiva de Coeficientes de Agostaderos (COTECOCA). Subsecretaría de Ganadería. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). México, D. F. 40 p.
- Khidir, W. H. 1985. Biological basis for adaptation in grasses: an introduction. *Ann. Missouri Bot. Garden.* 72:824-825.
- Lacadena, J. R. 1996. Citogenética. Editorial Complutense, S.A. Madrid, España. 931 p.
- Leitch, I. J. and Bennet, M. D. 1997. Polyploidy in angiosperm. *Trends Plant Sci.* 2:470-476.
- Mayers, W. M. 1947. Cytology and genetics of forage grasses. The botanical Review. Springer on behalf of New York Botanical Garden Press. 13:369-421.
- Mielke, J. 1993. Native plants for Southwestern landscapes. University of Texas Press. Texas, EE.UU. 310 p.
- Morales, N. C. R.; Quero, C. A. R.; Hernández, G. A.; Pérez, P. J. y González, S. S. 2006. Evaluación de la diversidad del pasto nativo *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. mediante marcadores de AFLP. *Agrociencia.* 40:711-720.
- Morales, N. C. R., A. R. Quero y C. H. A. Avendaño. 2007. Caracterización de la diversidad nativa del zacate banderita *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. mediante su nivel de ploidía. *Téc. Pec. Méx.* 45:263-278.
- Morales-Nieto. C. R.; Rivero-Hernández, O.; Melgoza-Castillo A.; Jurado-Guerra P. y Martínez-Salvador, M. 2013. Caracterización morfológica y molecular de *Leptochloa dubia* (Poaceae) en Chihuahua, México. *Polibotánica.* 36:79-94.
- Morales-Fernandes, M. I.; Barreto, B. I. and Salzano, F. M. 1973. Cytogenetic, ecologic and morphologic studies in Brazilian form *Paspalum notatum*. *Can. J. Gen. Cytol.* 15:523-531.
- Nakajima, K.; Ochi, M. and Mochizuki, N. 1978. Characteristics and variations of guineagrass strains collected and introduced from Africa. Evaluation of characteristics and variations. *Bull. Natl. Grassl. Inst. Japan.* 12:38-53.
- Peñaloza, J. G.; Peterson, P. M. y Gilardo, D. C. 2002. Los géneros *Eragrostis* y *Leptochloa* (Poaceae: Cynodonteae) en Colombia. *Hickenia* 3. 35:133-141.
- Peterson, P. M.; Soreng, R. J.; Davidse, G.; Filgueiras, T. S.; Zuloaga, F. O. and Judziewicz, E. J. 2001. Catalogue of new world grasses (Poaceae): II. Subfamily Chloridoideae. *Contr. U.S. Natl. Herb.* 41:1-255.
- Peterson, P. M.; Columbus, J. T. and Pennington, S. J. 2007. Classification and biogeography of New World grasses: Chloridoideae. *Aliso.* 23:580-59.
- Peterson, P. M.; Romaschenko, K.; Snow, N. and Johnson, G. 2012. A molecular phylogeny and classification of *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae: Chloridoideae) sensu lato and related genera. *Ann. Bot.* 109:1317-1329.
- Pitman, W. 1980. Relationships between seasonal forage quality patterns and structural carbohydrates of warm-season grasses and environmental factors. Thesis of Doctor of Philosophy. Texas A&M University. 97 p.
- Pohl, R. W. y Davidse, G. 1994. *Leptochloa*. In: G. Davidse, M. Sousa S. y Chater, O. A. (Eds.). Flora Mesoamericana. Alismataceae a Cyperaceae. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Instituto de Biología. México, D. F. 6:335-352.
- Polk, D. B.; Scifres, C. J. and Mutz, J. L. 1976. Establishment, production, and protein content of four grasses in South Texas. *J. Range Manage.* 29:240-244.
- Pozzobon, M. T.; Schifino-Wittmann, M. T. and Bianchetti, L. B. 2006. Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species do: $x=12$ and $x=13$ represent two evolutionary lines?. *Bot. J. Linnean Soc. London.* 151:259-269.
- Quero, C. A. R.; Savidan, Y. H.; Berthaud, J.; Pérez, P. J. y Espinoza, J. V. 1997. Estudios citogenéticos en el género *Tripsacum*. *Agrociencia.* 31:331-334.
- Quero, C. A. R.; Enríquez, J. F. Q. y Miranda, L. J. 2007. Evaluación de especies forrajeras en América tropical, avances o *status quo*. *Interciencia.* 32:566-571.
- Quero, C. A. R.; Enríquez, J. F. Q.; Morales, C. R. N. y Miranda, L. J. 2010. Apomixis y su importancia en el mejoramiento en la selección y mejoramiento de las gramíneas tropicales. *Rev. Mex. Cienc. Pec.* 1:25-41.
- Rodríguez, C. B. 2000. Gramíneas características y claves. Universidad Autónoma Chapingo. México (UACH). 214 p.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 1997. SAS user's guide. Statistics. Version 8. SAS Inst., Cary, NC. USA. Quality, and elemental removal. *J. Environ. Qual.* 1167.
- Sites, J. W. and Reed, K. M. 1994. Chromosomal evolution, especiation and sistematics: some relevant issues. *Herpetologica.* 50:237-249.
- Snow, N. 1997. Phylogeny and systematics of *Leptochloa* P. Beauv. sensu lato (Poaceae: Chloridoideae). Ph. D. dissertation, Washington University, St. Louis, Missouri. 506 p.
- Snow, N.; Peterson, P. M. and Giraldo, D. C. 2008. *Leptochloa* (Poaceae: Chloridoideae) in Colombia. *J. Bot. Res. Inst. Texas.* 2:861-874.
- Stace, C. A. 2000. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th Centuries. *Taxon. Utrecht.* 49:451-477.
- Stebbins, G. L. 1972. The evolution of the grass family. In: Youngner, V. B. and McKell, C. M. (Eds.). The biology and utilization of grasses. Academic Press, New York. 1-17 pp.
- Sybenga, J. 1992. Cytogenetics in plant breeding. Springer, Berlin Heidelberg, New York. 469 p.
- Therman, E. 1995. Chromosome behavior in cell differentiation. A field ripe for exploration?. *Genetics.* 141:799-804.
- Thompson, J. D. and Lumaret, R. 1992. The evolutionary dynamics of poliploid plants: origins, establishment and persistence. *Trends Ecol. Evol.* 7:302-306.
- Urrutia, J. M.; Cordero, M. A. C. y Beltrán, S. L. 2000. Ovinocultura de agostadero en el norte de México. Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). México. 104 p.
- Valladolid, A.; Blas, B. y González, R. 2004. Introducción al recuento de cromosomas somáticos en raíces andinas. In: raíces Andinas: contribución al conocimiento y a la capacitación. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 95-100 pp.
- Valls, J. M. F. 1978. A biosystematic study of *Leptochloa* with special emphasis on *Leptochloa dubia* (Graminae: Chloridoideae). Ph. D. Thesis. Texas A&M Univ., College Station. Texas, EE.UU. 205 p.
- Watson, L. and Dallwitz, M. 1992. The grass genera of the world. Cab International. Cambridge, UK. 1063 p.