

25
2º



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

**NUMERO CROMOSOMICO Y MORFOLOGIA DE
CINCO FENOTIPOS DE LA YERBA DEL SAPO
(*Eryngium heterophyllum* Engelm.), UNA
PLANTA MEDICINAL**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
MARIA REYNA MORALES SOLARES

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1990





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

pág.

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	2
RESUMEN	1
I. INTRODUCCION	
1. La variación como base del fitomejoramiento ..	7
2. Las variaciones hereditarias y las variaciones debidas al ambiente	8
3. Variaciones del número de cromosomas	11
4. Especiación	13
5. Umbelíferas de Chihuahua	15
6. Importancia de las plantas medicinales	16
HIPOTESIS	19
OBJETIVOS	19
II. MATERIALES Y METODOS	21
III. RESULTADOS	
1. Definición de fenotipes	31
2. Número cromosómico	40
IV. DISCUSION	
1. Definición de fenotipes	45
2. Número Cromosómico	51
V. CONCLUSIONES	55

VI. BIBLIOGRAFIA 57

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS	pág.
1. Números cromosómicos de Umbelíferas de Chihuahua	16'
2. Definición hipotética de fenotipos en la yerba del sapo (<u>Eryngium heterophyllum</u>)	24
3. Frecuencia de fenotipos en la yerba del sapo (<u>Eryngium heterophyllum</u> Engelm) 1986	35
4. Frecuencia de cada uno de los números cromosómicos, observados en cinco fenotipos de la yerba del sapo (<u>Eryngium heterophyllum</u>).	44
FIGURAS	
1. Planta del fenotipo Vigoroso (Bienal-Vigoroso-Normal)	33
2. Planta del fenotipo Asilvestrado (Bienal-Asilvestrado-Normal)	34
3. Número de plantas de cada uno de los cinco fenotipos de la yerba del sapo (<u>Eryngium heterophyllum</u>)	37
4. Diagrama de la yerba del sapo. Fenotipo: Vigoroso (Bienal-Vigoroso-Normal)	38

5. Diagrama de la yerba del sapo. Fenotipo: Asilvestrado (Bional-Asilvestrado-Normal)	39
6. Cromosomas del fenotipo Precóz (Bional-Vigoroso-Precóz)	41
7. Cromosomas del fenotipo Vigoroso (Bional-Vigoroso-Normal)	41
8. Cromosomas de la yerba del sapo fenotipo: Tardío (Bional-Vigoroso-Tardío)	42
9. Cromosomas del fenotipo Asilvestrado (Bional-Asilvestrado-Normal)	42
10. Cromosomas del fenotipo Trienal	43

R E S U M E N

En este estudio se definieron y aplicaron tres criterios para determinar fenotipos en una población cultivada de la yerba del saño (Eryngium heterophyllum Engelm) en el ciclo agrícola 1985-1986:

- 1° por su ciclo de vida: (a) Bienales
(b) Trienales
- 2° por el número de ramas: (a) Vigoroso
(b) Asilvestrado
- 3° por la época de floración: (a) Precóz
(b) Normal
(c) Tardío

En una población de 1354 plantas se estudiaron los números cromosómicos de los siguientes fenotipos: Bienal-Vigoroso-Precóz (representado por un 15%); Bienal-Vigoroso-Normal (35%); Bienal-Vigoroso-Tardío (11); Bienal-Asilvestrado-Normal (22%) y Trienal-Vigoroso-Normal (5%). Se evaluaron 100 observaciones del número cromosómico de cada uno de los cinco fenotipos, encontrándose que en todos ellos el número cromosómico correspondiente fue de $2n=12$; el cual constituye un nuevo número cromosó-

mico para el género Eryngium, determinado éste en una población cultivada de Eryngium heterophyllum Engelm, una planta medicinal mexicana.

I. INTRODUCCION .

México es un país que debido a sus condiciones ecológicas presenta una gran diversidad vegetal a nivel mundial (Rzedowski, 1978). La diversidad vegetal de nuestro país, repercute directamente en la gran variedad de plantas medicinales que se encuentra íntimamente relacionada con el medio ecológico de cada uno de los más de cincuenta grupos culturales que han sobrevivido en nuestro territorio hasta la fecha, haciendo uso de los recursos a su alcance para cubrir la mayoría de sus necesidades, éstas son algunas razones por las cuales en algunos casos encontramos reportadas más de cincuenta plantas para cada enfermedad, lo cual representa para México un patrimonio biológico y cultural posiblemente superior a las diez mil plantas medicinales (Estrada, 1985).

A pesar de los notables avances tecnológicos a nivel mundial en el campo de la medicina, aún persisten algunas enfermedades que todavía no tienen curación con los medicamentos modernos o que en el mejor de los casos únicamente se tiene control evitando el agravamiento de la enfermedad, pero sin eliminarla como es el caso de la dia-

betes, el reumatismo, la artritis, etc.

En México existen graves problemas relacionados con la Salud, razón por la cual es necesario encontrar alternativas de solución, máxime que las instituciones oficiales no alcanzan a cubrir la capa poblacional mayoritaria del país (Secretaría de Salubridad y Asistencia, 1982). Esto sin considerar que las empresas transnacionales son productoras de gran cantidad de medicamentos, pero estos son vendidos a precios por encima del poder adquisitivo de la población rural y suburbana. Una de las alternativas se encuentra en el empleo de las plantas medicinales, recurso sumamente abundante en nuestro país (Martínez, 1969), el cual en su mayoría no ha sido reportado ni estudiado (Estrada, 1985).

Una de las especies que forma parte de la diversidad de plantas medicinales existentes en nuestro país es la yerba del sapo, *Eryngium heterophyllum* Engelm, planta con la que se realizó el presente estudio, y con la cual se han obtenido resultados satisfactorios en la curación y prevención de los cálculos biliares (Estrada, Hernández X. y Ortega, 1985). Según datos emitidos por el Instituto

Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S., 1982) y otras instituciones de Salud, los cálculos biliares constituyen un porcentaje considerable en el índice de enfermedades de mayor frecuencia en nuestro país.

El estudio de la yerba del sapo bajo condiciones de cultivo es muy importante debido a que el cultivo de las plantas medicinales tiene como objetivo obtener la mayor cantidad de principios activos. Sin embargo, dentro de las especies de plantas cultivadas puede encontrarse una gran variabilidad (Poehlman, 1983). Dicha variabilidad puede deberse al ambiente o a la herencia, siendo esta la más importante desde el punto de vista evolutivo. La variabilidad debida a la herencia puede resultar en cambios que pueden sufrir las plantas a nivel cromosómico ya sea en su número o en su estructura (Garber, 1975).

El presente proyecto queda integrado en la línea de investigación "Propagación de Plantas Medicinales" del programa que se desarrolla en la Universidad Autónoma Chapingo; los resultados de la presente investigación además de contribuir al conocimiento básico de esta especie representa un avance en la integración de los conocimien-

tos que se van generando sobre las plantas medicinales de México, con el fin de relacionar algún aspecto citogenético, morfológico o fenológico con la concentración de los principios activos presentes en esta planta.

1. La variación como base del fitomejoramiento.

Las plantas cultivadas difieren entre sí de diversas maneras, puede generalizarse con toda seguridad que no existen dos plantas exactamente iguales, aún cuando las observaciones se limiten a una sola especie: por ejemplo, al examinar un cultivo de maíz, se puede ver que aparentemente son todas iguales, que no hay diferencia en las características entre las plantas, tales como el desarrollo del tallo, el tamaño, forma y distribución de las hojas en el tallo y muchos otros aspectos morfológicos de las plantas. Pero si se comparan dos plantas de maíz en forma minuciosa y detallada, y se efectúan cuidadosas mediciones cuantitativas de partes individuales de la planta, encontraremos que las plantas difieren entre sí individualmente en muchos aspectos (Poehlman, 1983). Se pueden obtener plantas diferentes a sus progenitores por medio de diversos tipos de procesamiento, tales como injertos, cruza, etc., para los cuales se consideran las características de los progenitores que se desea que se manifiesten para dar como resultado una planta modificada por el hombre y con alguna parte de la misma especialmente desarrollada, la cual servirá para satisfacer alguna

necesidad humana; es decir, se puede cruzar una planta de porte alto con otra de porte pequeño y obtener una planta de porte intermedio, o bien seleccionar en una población plantas altas o plantas enanas y posteriormente sólo reproducir alguna de estas; o bien una práctica común, intercalar plantas criollas que son resistentes a sequía, a plagas y enfermedades, junto con poblaciones de plantas mejoradas que han perdido la resistencia a estos factores limitantes. Podemos observar la variación como base del fitomejoramiento en las múltiples razas criollas de los cultivos básicos de México como el maíz y el frijol los cuales han sido cultivados y se han ido modificando desde hace 10,000 años; y han sido usadas estas características en los programas de fitomejoramiento para la obtención de híbridos altamente rendidores, etc. (Hernández X., 1968).

2. Las variaciones hereditarias y las variaciones debidas al ambiente.

Las variaciones dentro de una planta cultivada pueden ser de dos clases:

A) Variaciones debidas al ambiente. Estas varia

ciones se pueden descubrir cultivando plantas con características hereditarias similares bajo diferentes condiciones. Una planta de maíz que se cultive en un suelo pobre no crecerá tan grande y vigorosa como lo haría otra planta con herencia similar en un suelo fértil. Esta y otras variaciones en el crecimiento y la diferenciación resultan de los efectos del ambiente en el cual se cultiven las plantas (adecuación), sin embargo en las progenes no se observan necesariamente las variaciones correspondientes (Poehlman, 1983).

- B) Variaciones debidas a la herencia. Estas variaciones de las plantas se originan por:
- (a) recombinaciones de genes después de una hibridación,
 - (b) mutaciones (tales como intercambios, inversiones y deleciones; y (c) poliploidias y aneuploidías (Stebbins, 1950; Dobzhansky , 1975).

Las traslocaciones implican intercambios de segmentos entre cromosomas (John, 1976). Las inversiones ocurren cuando un seg-

mento del cromosoma cambia de posición respecto al resto del cromosoma y en este caso no existe ganancia ni pérdida de material genético; las lesiones involucran pérdidas de fragmentos de cromosoma (Stebbins, 1970). Por medio de estos procesos las especies de plantas han evolucionado en la naturaleza y alcanzado su estado actual de desarrollo. El fitomejorador selecciona los tipos de plantas que satisfagan sus necesidades, entre las poblaciones de plantas de una especie con mezcla genética bajo condiciones naturales (Poehlman, 1983).

Las variaciones hereditarias generalmente se pueden observar cuando se cultivan bajo condiciones similares distintas variedades o especies. Las variaciones hereditarias pueden ser simples y fácilmente observables, o también pueden ser más o menos complejas tales como el vigor de crecimiento, resistencia a enfermedades, altura de la planta, o época de madurez. Las variaciones hereditarias se manifiestan nuevamente en las progenies aún cuando la intensidad de su expresión puede variar de acuerdo con el ambiente (Poehlman, 1983). Sin embargo, las variaciones hereditarias y ambientales de las plantas no son completa-

mente independientes unas de otras y con frecuencia el ambiente influye sobre el genotipo dando lugar no sólo a cambios morfológicos externos en la planta, sino que también puede incluir cambios internos menos obvios (Strickberger, 1982), en funciones básicas tales como la respiración y la fotosíntesis. La variabilidad de estas funciones básicas no ha sido estudiada en gran detalle como los caracteres morfológicos (Solbrig, 1970).

La variabilidad entendida como la fluctuación de las características de los individuos de una población o especie inmersa en un medio determinado, constituye un atributo de todos los grupos de organismos (Solbrig, 1970).

3. Variación del número de cromosomas.

Entre las variaciones cromosómicas las que generalmente resultan más fáciles de observar son las que implican cambios en el número de cromosomas. Estas pueden ser de dos tipos: EUPLOIDIA, variaciones que implican dotaciones completas de cromosomas designándose con una n cada una de las dotaciones y con un prefijo numérico el número de dotaciones de cromosomas o "ploidía"; y ANEU-

PLOIDIA, variaciones que sólo implican cromosomas aislados dentro de una dotación (Strickberger, 1982). La fecundación de gametos irregulares da lugar entonces a cigotos que, o tienen un cromosoma adicional ($2n+1$) o tienen un cromosoma de menos ($2n-1$). La aneuploidía aparentemente no juega un papel importante en la evolución de las plantas como la euploidía (Welch, 1981).

Aparentemente la reducción cromosómica es más común que la ganancia aneuploídica. Por ejemplo, Jackson en 1962, estudiando Haplopappus gracilis con $n=2$ determinó que ha sido derivada de H. revenii con $n=4$ por un mecanismo de pérdida de centrómeros terminales y consecuente fusión. En otros casos, sin embargo, los cambios en el número cromosómico pueden involucrar muy drásticos rearrreglos de la estructura cromosómica (Solbrig, 1970).

La citología como estudio de la célula, ha sido una herramienta en la explicación de los problemas evolutivos y biosistemáticos. La importancia de los cromosomas es doble: en primer lugar, su comportamiento y sus características pueden ser usadas en la clasificación de las especies; y en segundo lugar, los cromosomas pueden dar

una comprensión de los fenómenos genéticos y los procesos evolutivos que llevan a la formación de las especies. Todas las características biológicas de un organismo, los cromosomas y los mecanismos de la división celular y la formación de gametos están sujetos a la selección natural. Por lo tanto varían de especie a especie como resultado de las diferencias en sus historias evolutivas (Solbrig, 1970).

Se ha observado que la distribución de los números cromosómicos entre las plantas vasculares no es al azar. En la mayoría de los géneros y familias existe una tendencia a variar alrededor de un patrón. Además en algunos grupos la poliploidía es común, en otros la aneuploidía está con frecuencia establecida, y en otros hay muy poca variación de las dos. Por consiguiente se ha acordado que los cambios en el número cromosómico son de importancia evolutiva y están relacionados con algunos tipos de selección (Solbrig, 1970; Dobshansky, 1975).

4. Especiación.

La diversidad de ambientes que se encuentran en

el área de distribución de una especie conduce a una diversidad de fuerzas selectivas. Es de esperar, por lo tanto, que los complejos génicos seleccionados en cada población difieran de un punto a otro del área de distribución (Petit, 1976), es decir, los procesos de evolución biológica consisten en cambios en las constituciones genéticas de los organismos (Ayala, 1978).

En las poblaciones naturales de organismos pueden aparecer nuevos genotipos, de los cuales algunos de ellos mejor adaptados que sus predecesores, pueden ser seleccionados y constituir grupos importantes; siendo prácticamente nula la probabilidad de que dos sistemas genéticos separados evolucionen en el mismo sentido (Petit, 1976). El aislamiento reproductivo puede desarrollarse como una acumulación gradual de diferencias genéticas en poblaciones separadas geográficamente. Así, es probable que especies nuevas posean alelos nuevos en muchos loci genéticos y posiblemente patrones de regulación genéticos también nuevos (Darlington, 1977).

5. Umbelíferas de Chihuahua.

El conocimiento de las Umbelíferas del estado de Chihuahua aparentemente comienza con Wislizenus, personaje que viajó al norte de México en la primera mitad del siglo XIX, tiempo en el cual se registra Eryngium heterophyllum Engelm. Actualmente, son conocidos en el estado aproximadamente treinta taxas de Umbelíferas de acuerdo a los conceptos taxonómicos de Mathías y Constance (1945); más de la tercera parte de estas taxas pertenecen al género Eryngium, este total es susceptible a cambio.

En estudios etnobotánicos sobre los Tarahumaras de la Sierra Madre del suroeste de Chihuahua, Constance y Bye, 1976, han dado particular atención a las Umbelíferas obteniendo material de no menos de veinte taxas (incluyendo material citológico de muchos de ellos), cuatro de estas colecciones representan aparentemente especies no descritas.

Robert A. Bye, Jr., Chuang y Constance, 1976, en sus estudios de la cultura Tarahumara en la Sierra Madre del suroeste de Chihuahua obtuvo material de las Umbelíferas

feras para conteos cromosómicos. Uno de los resultados de dichos conteos es el de Eryngium heterophyllum con $n=8$. De los 6 conteos reportados, sólo para E. gentry, $n=7$, es nuevo. De las 100 especies que han sido contadas en éste género cosmopolita tan distintivo, existen series aneuploidicas descendientes extendiéndose a $n=7$, $n=6$, o hasta $n=5$ en ambos hemisferios, algunas veces parecen ser las mismas especies. La poliploidía extensiva, particularmente en las Américas ha surgido en el complemento básico de 8 ($n= 16, 24, 32, 40$ y 48), y series pequeñas basadas aparentemente en 7 en Eurasia.

En el cuadro de la página siguiente, se pueden observar algunas Umbelíferas con su respectivo número cromosómico.

6. Importancia de las plantas medicinales.

La mayoría de los investigadores coinciden al afirmar que en las comunidades indígenas, después de las plantas alimenticias, para la construcción y vestimenta, las plantas medicinales ocupan el primer lugar dentro del

CUADRO No. I
 NUMEROS CROMOSOMICOS DE UMBELIFERAS DE CHIHUAHUA.

ESPECIE	n=	# de Colecta	MUNICIPIO Y LOCALIDAD
<u>Donnellsmithia</u>			
1. <u>D. ternata</u> (S. Wats) C. & R.	20	Bye 4393	Guachochi, Cuárdara
2. <u>D. silvicola</u> Const. & Bye	20	Bye 6376	Guasapares, San Rafael - Las Lagunitas.
<u>Tauschia</u>			
3.- <u>T. bicolor</u> Const. & Bye	22	Bye 3863	Batopilas - Urique, entre Quírrera y Basigochi.
4. <u>T. tarahumara</u> Const. & Bye	44	Bye 6388	Bocoyna, San Ignacio Arareco.
<u>Arracacia</u>			
5. <u>A. edulis</u> S. Wats	20	Bye 6753	Guachochi, Cuárdara
<u>Ligusticum</u>			
6. <u>L. porteri</u> C. & R.	11	Bye 6651	Bocoyna, W de Creel
<u>Pseudocymopterus</u>			
7. <u>P. montanus</u> (A. Gray) C. & R.	11	Bye 6637	Bocoyna W de Creel
<u>Prinosciadium</u>			
8. <u>P. madreense</u> S. Wats.	22	Bye 6352	Batopilas, S. de Quírrera
<u>Eryngium</u>			
9. <u>E. fluitans</u> M. E. Jones	7	Bye 4763	Bocoyna, W de Gonogochi
10. <u>E. gentry</u> Const. & Bye	7	Bye 4766	Bocoyna, E. de Gonogochi
11. <u>E. heterophyllum</u> Engelm	8	Bye 4334	Bocoyna, Gonogochi
12. <u>E. leononi</u> C & R.	8	Bye 4463	Batopilas, N de Quírrera
13 <u>E. phytomae</u> Delar. f.	7	Bye 5905	Bocoyna, W de Creel.

Datos Tomados de Constance et al. 1976.

reino vegetal. En México se han encontrado restos de peyote y mezcal en el estado de Coahuila, con una antigüedad de 8,000 años; plantas que hasta la fecha son utilizadas como ceremoniales, alucinógenas y/o medicinales, como es el caso del peyote (Estrada, 1985). La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.), en 1978 consignó que el 66% de la población de los países subdesarrollados, únicamente recurren a la medicina tradicional para resolver sus problemas de salud. Estas cifras no han cambiado de manera considerable en éstos últimos años. Así las plantas medicinales constituyen una alternativa viable para resolver los problemas de salud en México, de manera complementaria con la "medicina moderna" (Estrada, 1985).

El registro más antiguo de América sobre plantas medicinales lo constituye el llamado Códice Badiano de México, el cual fue escrito en nahuátl por Martín de la Cruz y traducido al latín por Juan Badiano en 1552; éste código contiene 185 ilustraciones en color de plantas medicinales, y menciona 270 especies en total.

Se estima que hay aproximadamente 3,000 especies

registradas, de las cuales no se han estudiado ni el 10% en laboratorio, y desde el punto de vista agronómico el número está lejos de llegar al 5% (Estrada, 1985).

Las investigaciones sobre plantas medicinales se iniciaron en Chapingo con la exploración etnobotánica de las plantas usadas para el tratamiento de la colelitiasis o cálculos biliares. Se registraron un total de 156 especies para esta enfermedad, de las cuales, la yerba del sapo resultó de nuevo registro como medicinal. Esta planta fué de la que se obtuvo el mayor número de evidencias curativas en la gente; algunas bajo control clínico en el Municipio de Dr. Mora Gto. (Estrada, 1985).

A la yerba del sapo se le han hecho estudios relacionados con su distribución en México, biología y cotejo experimental (Estrada, Hernández X. y Ortega, 1985); también se le han hecho estudios químicos (Astudillo et al., 1986). En cuanto a estudios citogenéticos se determinó que 7 ($n=7$) era el número haploide para el género Eryngium (Darlington y Janaki, 1945) y Constance y Bye Jr., 1976 $n=8$ como número cromosómico haploide de E. heterophyllum.

H I P O T E S I S

La variabilidad morfológica y fenológica que se observa en *Eryngium heterophyllum*, se reflejará en una variación del número cromosómico.

O B J E T I V O S

OBJETIVO GENERAL.

Identificar diferencias morfológicas, fenológicas y en el número cromosómico de cinco diferentes fenotipos de la yerba del sapo, *Eryngium heterophyllum*, bajo iguales condiciones de cultivo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Determinar la frecuencia de cada uno de los cinco fenotipos de la yerba del sapo bajo iguales condiciones de cultivo en el campo experimental de Chapingo, México.
- Realizar las observaciones relativas al número

de cromosomas de cada uno de los cinco fenotipos de la
yerba del sapo.

II. M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

ANTECEDENTES DEL CULTIVO DE LA YERBA DEL SAPO (Krynium heterophyllum).

En 1978 se iniciaron los trabajos para introducir al cultivo a la yerba del sapo, bajo las condiciones ambientales de Chapingo. La semilla se colectó de plantas silvestres en 1977 en el Municipio de Dr. Mora, Gte., los siguientes son algunos de los resultados:

- a) La polinización es algama, entomófila y la fler presenta autoincompatibilidad.
- b) Hay mucha variación morfológica en los órganos vegetativos y la biomasa producida bajo cultivo es mayor a la producida por las plantas silvestres.

En 1981 se inició la propagación de la yerba del sapo en los campos experimentales de la Universidad Autónoma Chapingo (U.A.CH.). No se aplica ningún tipo de pesticida ni fertilización con agroquímicos. Se aplica riego semanal los primeros dos meses y el resto del ciclo

mensualmente cuando no hay lluvia; los deshierbes se hacen mensualmente en forma manual (Estrada, Hernández X. y Ortega, 1986).

Eryngium heterophyllum es una planta que en cada ciclo, bajo iguales condiciones de cultivo, presenta una gran variabilidad fenológica y morfológica. Se observan diferencias en la altura del tallo principal; número de ramas basales, intermedias y apicales; así como también se encuentran diferencias en su época de floración y fructificación (Estrada, Hernández X. y Ortega, 1986), algunas cumplen su ciclo biológico cada tres años mientras que la mayoría son bienales.

Después de cultivar la yerba del sapo en los campos experimentales de Chapingo, se ha llegado a determinar la densidad de siembra apropiada para que cada planta manifieste su potencial morfológico; así, una distancia entre planta de 50 cms., y una distancia entre surco de 80 cms., impide la competencia por nutrientes en raíz, así como por luz a nivel de follaje, ya que no se han encontrado diferencias cuando se amplía la densidad de siem

bra (Estrada, 1986, información personal).

DEFINICION DE FENOTIPOS EN LA YERBA DEL SAPO.

En observaciones preliminares en la parcela y en cada ciclo agrícola, se han detectado dos grupos de plantas por su ciclo de vida: aquellos que lo completan después de un invierno (Bienales) y aquellas que lo completan después de dos inviernos (Trienales). También se han detectado diferencias en la forma de la planta, derivada principalmente del número total de ramas a nivel del tallo principal; así se tendrían principalmente dos grupos: aquellas que las presentan en gran número en la base del tallo (Vigorosas) y aquellas que no las presentan (Asilvestradas); el nombre de asilvestradas se asigna porque las silvestres tampoco presentan ramas basales. Otra de las observaciones preliminares que se han hecho en todos los años de cultivo, es lo referente a la época de floración; pues esta comienza desde mayo y termina hasta septiembre, razón por la cual se pueden agrupar las plantas por fechas de floración: Precoces, con floración al principio (mayo); las "Normales" que son la mayoría con floración en junio y julio y denominamos Tardías a las

plantas que florecan en agosto y septiembre. De esta manera, se conforman los tres criterios que se utilizaron para la determinación de fenotipos en la yerba del sape después de 10 años de estarla cultivando en el Colegio de Postgraduados (1977-1979) y en la Universidad Autónoma Chapingo (1980-1986). Así en forma hipotética se podrían tener los siguientes fenotipos:

CUADRO No. 2

DEFINICION HIPOTETICA DE FENOTIPOS EN LA
YERBA DEL SAPO (Bryngium heterophyllum).

1. Bienal-Vigoroso-Precóz
2. Bienal-Vigoroso-Normal
3. Bienal-Vigoroso-Tardío
4. Bienal-Asilvestrado-Precóz
5. Bienal-Asilvestrado-Normal
6. Bienal-Asilvestrado-Tardío
7. Trienal-Vigerose-Precóz
8. Trienal-Vigerose-Normal
9. Trienal-Vigoroso-Tardío
10. Trienal-Asilvestrado-Precóz
11. Trienal-Asilvestrado-Normal
12. Trienal-Asilvestrado-Tardío

De estos fenotipos hipotéticos; se consideró que para la presente investigación se trabajara con aquellos de interés agronómico; es decir, de ciclo corto, mayor biomasa y floración temprana (1); además de evaluar algunos fenotipos contrastantes (2, 3, 5 y 8), aunque no fueran de interés agronómico; por lo tanto se decidió trabajar con los siguientes fenotipos:

1. Bienal-Vigoroso-Precóz
2. Bienal-Vigoroso-Normal
3. Bienal-Vigoroso-Tardío
4. Bienal-Asilvestrado-Normal
5. Trienal-Vigoroso-Normal

Para la evaluación de fenotipos, se procedió a contar el número de plantas de cada fenotipo presente en la población así como también se midió la altura del tallo principal; y se contó el número de ramas basales, intermedias y apicales, en cada caso. Así, se pudo obtener la media de la altura del tallo principal y del número de ramas en cada uno de los cinco fenotipos.

Las plantas de la yerba del sapo utilizadas en este trabajo fueron colectadas en los campos de cultivo de la U.A.CH. durante los meses de abril hasta agosto. Diez plantas vivas colectadas, de cada uno de los cinco fenotipos, se trasladaron a cubetas de plástico de 25 cms. de diámetro con partes iguales de tierra de hoja y tierra negra que contenían una malla de alambre en la parte inferior, que fue por donde las raíces asomaban para ser colectadas. Estas cubetas con las plantas fueron colocadas en el jardín botánico de la U.A.CH.

OBTENCION DEL NUMERO CROMOSOMICO

a) Obtención de Meristemas Radicales.

Las células en metafase se obtuvieron de los ápices de raíz, de plantas de E. heterophyllum enraizadas en invernadero. Se realizaron cortes de raíz de aproximadamente 2 cms. de longitud que posteriormente eran lavados con agua destilada y sometidos a pretratamiento, para lograr un acortamiento adecuado de los cromosomas en metafase.

b) Pretratamiento del Material.

Los ápices de raíz, fueron tratados durante dos horas y media (dos horas en el caso del fenotipo precóz), con una solución saturada de para-di-cloro benceno (pDB) con el propósito de inhibir la formación y organización del huso acromático para que los cromosomas permanecieran dispersos en el citoplasma (Sharma y Sharma, 1965) y con ello se obtuvieran células que nos permitieran contar el número de cromosomas del fenotipo en cuestión.

c) Fijación.

Una vez pretratados los ápices de raíz fueron pasados a una solución fijadora de Farmer (etanol-ácido acético 3:1), esto fue con el fin de preservar la morfología y composición química de la célula (De Robertis, 1977).

d) Hidrólisis.

Posteriormente los ápices se hidrolizaron con ácido clorhídrico (HCl) 5N, durante 13 minutos, con el propósito de disolver la lámina media que mantiene uni-

das a las células y así obtener buena separación de las mismas (Curtis, 1979).

e) Tinción.

Los ápices hidrolizados fueron lavados tres veces con agua destilada y teñidos durante 20 minutos con el colorante orceína acética.

f) Obtención del Tejido en Monocapas.

Se cortó el ápice de raíz, la cual se colocó en un portaobjetos con una gota de ácido acético al 45% dejándose caer un cubreobjetos sobre el mismo y al mismo tiempo haciendo presión con la goma de un lápiz, y realizando las observaciones correspondientes al microscopio.

g) Conteo de Cromosomas.

Al realizarse las preparaciones respectivas, éstas fueron revisadas someramente desechando las que no contenían metafases, así se obtuvieron diez preparaciones por cada fenotipo. En las preparaciones de las plantas de cada uno de los cinco fenotipos se hi-

cieron los respectivos conteos en diferentes células en la misma preparación, las preparaciones fueron observadas con un microscopio compuesto, primero a 10X para localizar células metafásicas con los cromosomas separados adecuadamente y posteriormente se realizó el conteo a 40X. Los mejores campos fueron fotografiados en un microscopio Carl Zeiss optovar 1.25 objetivo 100X. Las fotografías posteriormente fueron amplificadas.

h) Preparaciones Permanentes.

El método de preservación de las preparaciones con metafase consistió en lo siguiente: remoción del cubreobjetos para aclarar y deshidratar las células; en una caja Petri grande la cual contiene dos calzas y 100 ml de la mezcla alcohol 95%-ácido acético glacial 1:1. En la caja las preparaciones son colocadas sobre las dos calzas. Las preparaciones son colocadas de manera que el cubreobjetos queda primero en contacto con la mezcla y finalmente toda la preparación queda sumergida en la misma. Esto es con el fin de que se desprenda el cubreobjetos. Una vez desprendido el cubreobjetos, el portaobjetos es volteado y

pasa a una segunda caja, que contiene 75% de alcohol al 95% y 25% de alcohol butílico terciario para deshidratación y enjuague. Este es durante aproximadamente 5-10 minutos. Después tanto el cubreobjetos como el portaobjetos son nuevamente cambiados a otra caja Petri que contiene alcohol terbutílico, aclarándose aún más la preparación. Se monta en bálsamo de Canadá y finalmente las preparaciones permanecen durante una semana en una estufa a 60°C para su secado.

I I I . R E S U L T A D O S .

1. Definición de Fenotipos.

En los ciclos agrícolas, desde que se introdujo al cultivo Eryngium heterophyllum en 1977, no se había hecho ninguna evaluación de la posible existencia de fenotipos claramente diferenciados; fue así que antes de iniciar la presente investigación y considerando observaciones preliminares de tipo general, se definieron 12 fenotipos de manera hipotética (CUADRO No. 2); de estos fenotipos, se decidió trabajar con aquellos que fueran contrastantes pero incluyendo principalmente aquellos de interés agronómico (de ciclo corto y mayor producción de biomasa).

Los resultados relacionados con la definición y frecuencia con que se presenta cada fenotipo en una población de 1354 plantas de la yerba del sapo, durante el ciclo 1985-1986 y que se muestran en el cuadro No. 3, son los siguientes:

- 1) Los tres criterios utilizados en la definición de los fenotipos resultaron satisfactorios: (a) por ci-

clo de vida: Bienal y Trienal; (b) por biomasa y por número de ramas en el tallo principal: Vigorosas y Asilvestradas y (c) por la época de floración: Precóz, Normal y Tardía.

- 2) Por su ciclo de vida, tenemos que las Bienales (completan su ciclo de vida después de un invierno) constituyen la mayoría de la población estudiada (95%) y por lo tanto; en este ciclo agrícola se observó un 5% de trienalidad.
- 3) En la población bienal se distinguen fácilmente dos fenotipos por su apariencia en general: Vigorosas presencia de varias (12-14) ramas basales y Asilvestradas casi siempre con ausencia de ramas basales (1) y por su apariencia parecida a las silvestres (FIGS. 1 y 2).

Es notable la diferencia en el número total de ramas por planta si comparamos las Vigorosas (25-30) con las Asilvestradas (10-11); sin embargo, esta diferencia se debe a la presencia de las ramas basales ($\bar{X}=14$) en las Vigorosas en comparación con una rama basal ($\bar{X}=1$) en las Asilvestradas; tanto en el número de ramas apicales como intermedias, las diferencias entre las Vigorosas y las Asilvestradas son mucho menos notables (CUADRO No. 3). La población Vigorosa fue



FIG. 1. PLANTA DEL FENOTIPO VIGOROSO

(BIENAL-VIGOROSO-NORMAL).



FIG. 2. PLANTA DEL FENOTIPO ASILVESTRADO
(BIENAL-ASILVESTRADO-NORMAL).

CUADRO N° 3

FRECUENCIA DE FENOTIPOS DE LA YERBA DEL SAPO

(Eryngium heterophyllum Engelm) 1986.

FENOTIPO		No. DE PLANTAS		ALTURA DEL TALLO (CENTIMETROS)			NUMERO DE RAMAS			
		n	%	MIN.	MAX.	X	BASALES	INTERMEDIAS	APICALES	TOTAL
VIGOROSO (Bianal)	PRECOZ	203	15	13	73	37.5 ± 10.3	12	8	5	25
	NORMAL	476	35	13	72	41.7 ± 10.3	15	9	5	29
	TARDIO	149	11	24	73	43.5 ± 10.5	14	11	5	30
ASILVESTRADO (Bianal)	PRECOZ	41	3	19	60	35.6 ± 8.2	1	5	4	10
	NORMAL	298	22	10	70	39.0 ± 9.1	1	6	4	11
	TARDIO	121	9	14	54	34.2 ± 9.0	0	6	4	10
TRIENALES	—	66	5	—	—	—	—	—	—	—

casi del doble (61%) en comparación con la Asilvestrada (34%).

- 4) En la misma población Bional; tanto en el fenotipo Vigoroso como en el Asilvestrado, se pueden dividir fácilmente en otros tres fenotipos cada uno de ellos por la época de floración: Precóz (floración en mayo); Normal (floración en junio y julio) y Tardíos (floración en agosto y septiembre).

Tanto en los fenotipos Vigoroso como Asilvestrado, la época de floración predominante fue aquella comprendida en los meses de junio y julio (normal); 35% en el Vigoroso y 22% en el Asilvestrado, observándose porcentajes mucho menores tanto en las precoces (15 y 3%) como en las tardías (11 y 9%) (FIG. No. 3). La altura del tallo principal en cada uno de los fenotipos descritos no puede ser utilizado como parámetro para diferenciarlos, pues no se observan diferencias significativas entre ellos.

De la información contenida en el cuadro No. 3 se partió para la elaboración de los diagramas de las plantas tanto del fenotipo Vigoroso como del Asilvestrado (FIGS. No. 4y5).

FIG. 3 NUMERO DE PLANTAS DE CADA UNO DE LOS CINCO FENOTIPOS DE LA YERBA DEL SAPO (*Eryngium heterophyllum*).

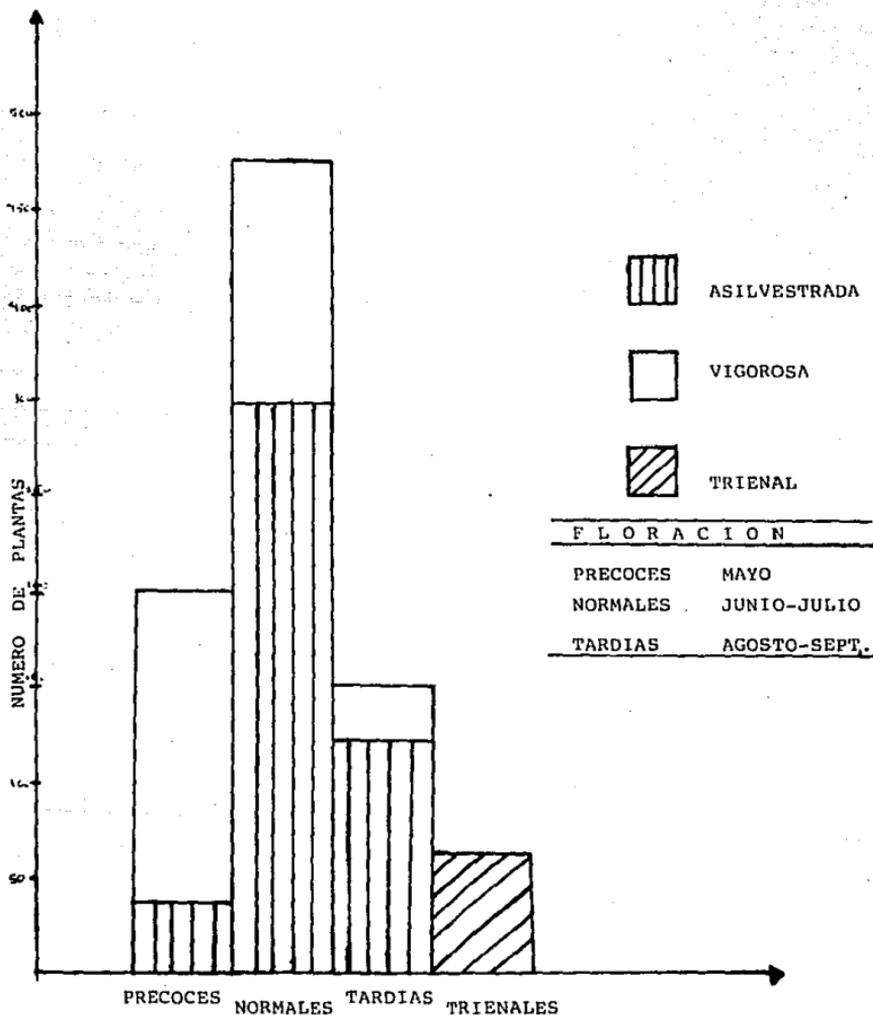


FIG. 4 DIAGRAMA DE LA YERBA DEL SAPO
FENOTIPO: VIGOROSO (BIENAL-VIGOROSO-NORMAL).

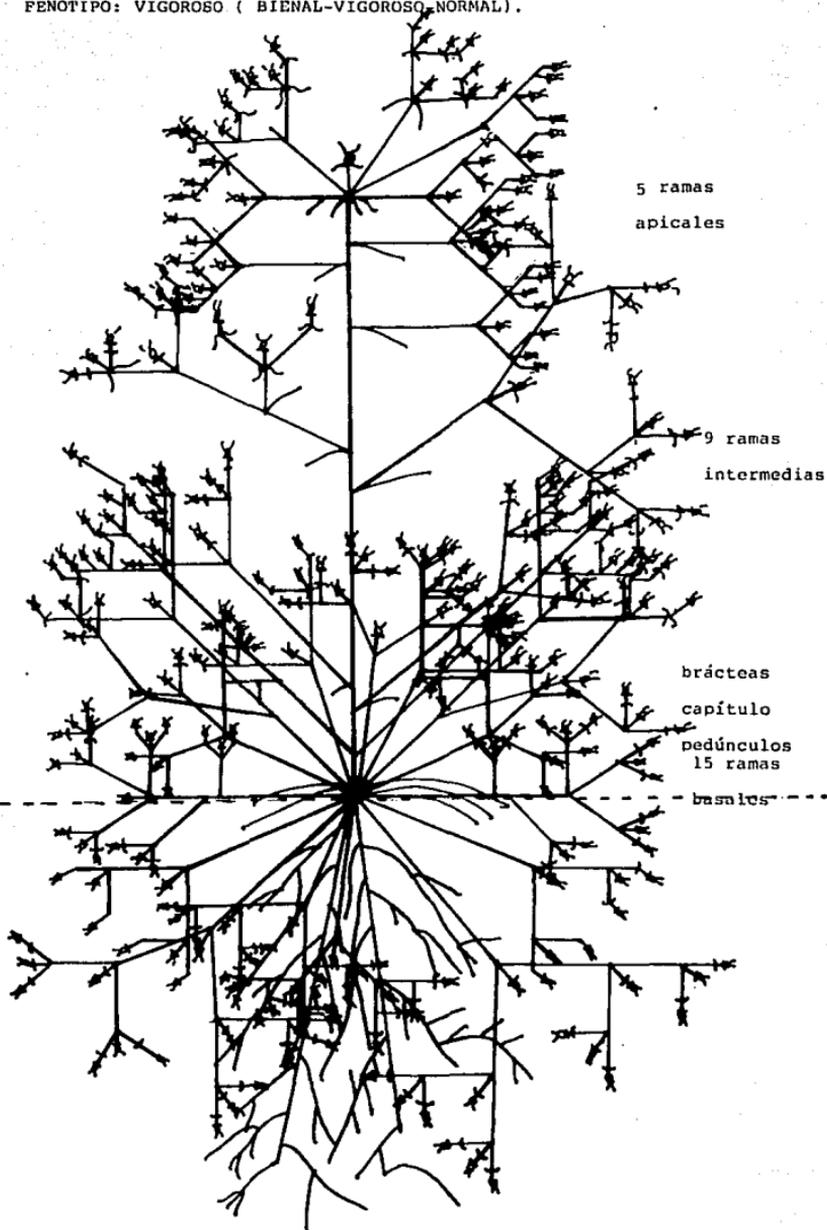
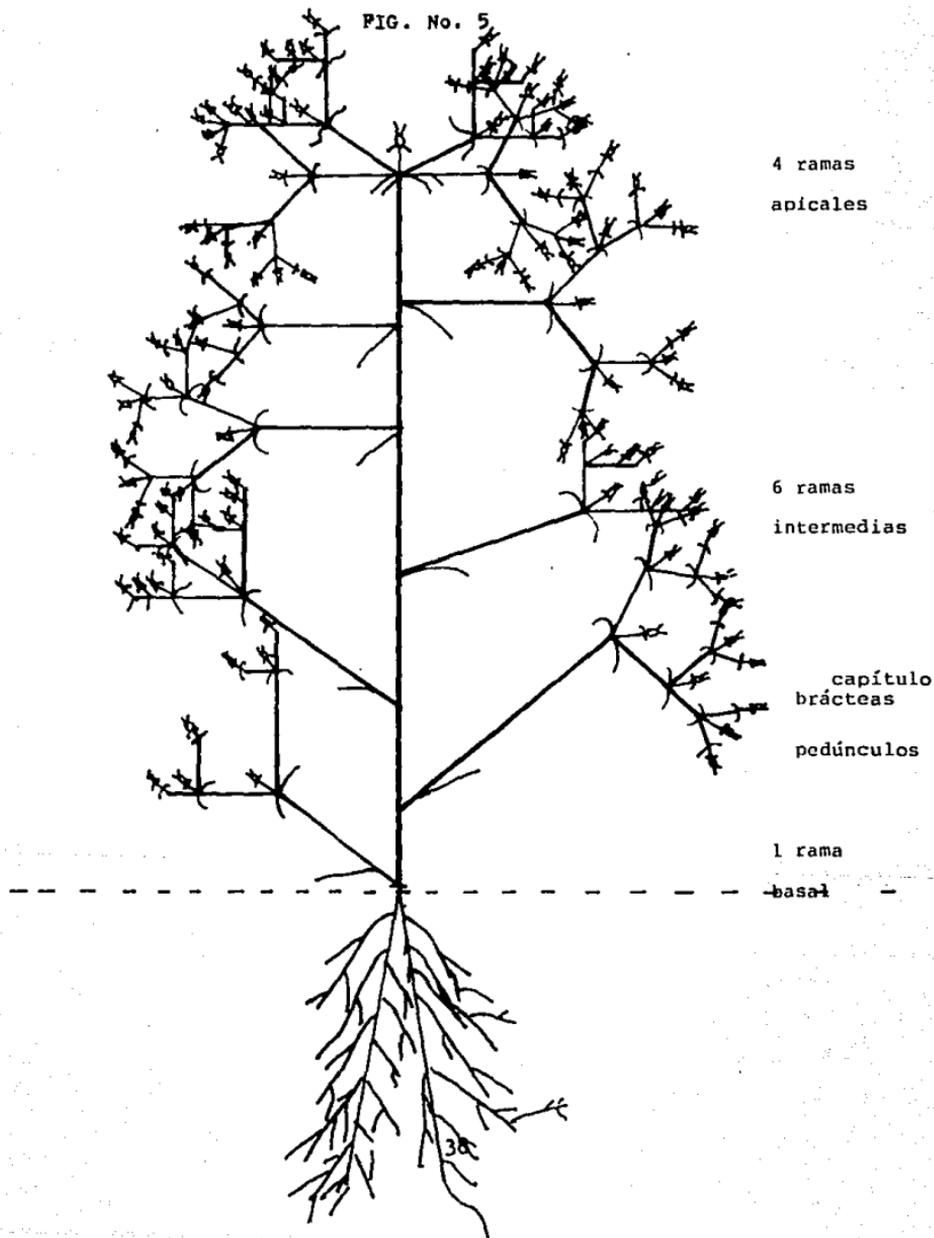


DIAGRAMA DE LA YERBA DEL SAPO
PENOTIPO; ASILVESTRAO (BIENAL-ASILVESTRAO/NORMAL).

FIG. No. 5



2. Número Cromosómico.

$2n=12$ fué el número cromosómico que con mayor frecuencia se observó en cada uno de los cinco fenotipos estudiados (FIGS. 6, 7, 8, 9 y 10), los porcentajes encontrados con éste número cromosómico en los fenotipos Bienales-Vigorosos fue de 90% (Precoces), 80% (Normales) y 85% (Tardíos); en el fenotipo Bienal-Asilvestrado-Normal fue de 93% y en el Trienal-Vigoro-so-Normal 89% (GUADRO No. 4).

Los demás números cromosómicos encontrados correspondieron a los números 6, 8, 9, 11, 13, 14, 16, 19, 22 y 24 con frecuencias de 1% en general; sólo el número 10 se encontró con un poco de mayor frecuencia en los fenotipos; de 6 a 9% en los Bienales y en los Trienales fué el número 14 con 5% de frecuencia.



FIG. 6. Cromosomas del fenotipo Precóz (Bienal-Vigoroso-Precóz)
 $2n=12$.

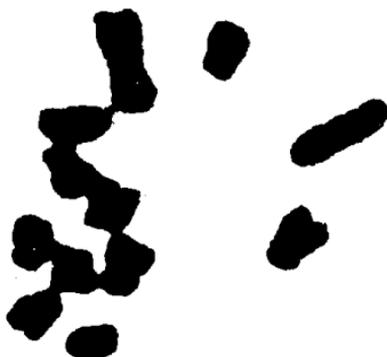


FIG. 7. Cromosomas del fenotipo Vigoroso (Bienal-Vigoroso-Normal)
 $2n=12$.



FIG. 8. Cromosomas de la yerba del sapo. Fenotipo: Tardío (Bienal-Vigeroso-Tardío), $2n=12$.



FIG. 9. Cromosomas del fenotipo Asilvestrado (Bienal-Asilvestrado-Normal) $2n=12$.



FIG. 10. Cromosomas del fenotipo Trienal
 $2n=12$.

CUADRO No. 4

FRECUENCIA DE CADA UNO DE LOS NUMEROS CROMOSOMICOS, OBSERVADOS EN CINCO FENOTIPOS DE LA YERBA DEL SAPO (Ervngium heterophyllum). TAMAÑO DE LA MUESTRA: N=100

FENOTIPO	NUMEROS CROMOSOMICOS	FRECUENCIA (%)
1. Bienal-Vigoroso-Precóz	9 y 13	1
	10	4
	12	90
	14	4
2. Bienal-Vigoroso-Normal	9, 16, 22 y 24	1
	8	4
	10	9
	12	80
	14	3
3. Bienal-Vigoroso-Tardío	8, 11, 13 14 y	
	19	1
	9	2
	10	8
	12	85
4. Bienal-Asilvestrado-Normal	10	6
	12	93
	14	1
5. Trienal-Vigoroso-Normal	6, 9 y 10	1
	11	3
	12	89
	14	5

I V . D I S C U S I O N .

1. Definición de Fenotipos.

Los criterios utilizados para la definición de los fenotipos: 1) por ciclo de vida; 2) por biomasa y número de razas; y 3) por la época de floración nos permitió agrupar a toda la población de plantas en cada uno de los fenotipos.

- 1) por ciclo de vida; es claro que la yerba del sapo bajo condiciones de cultivo es una planta eminentemente Bienal (95% de la población total) por lo tanto, la trienalidad en estas condiciones es muy reducida (5%). Estos dos ciclos de vida reflejan la plasticidad genética que en general caracterizan a las especies silvestres; plasticidad fijada en el genoma suficiente como para que después de 10 años de tener esta planta en condiciones de cultivo, se continúe manifestando éste carácter; esto a pesar de las condiciones favorables en el ciclo agrícola. Nos llama la atención el hecho de que la trienalidad sólo halla sido del 5% considerando que en los ciclos agrícolas de 1980-1985 los porcentajes de

trienalidad oscilaron entre el 13 y el 18%, siendo en el (1984-1985) de 15% (Estrada y López, 1986). Esta información nos muestra una tendencia hacia una posible eliminación de plantas trienales en la población bajo estudio, debido seguramente al número de años en que se han cultivado bajo condiciones mucho más favorables que las de las silvestres; sin embargo, debe considerarse que la semilla que se selecciona en cada ciclo agrícola para mantener el cultivo es de tipo Bienal.

En condiciones silvestres, el contar una misma población con dos ciclos de vida, le garantiza a la especie una mayor amplitud de opciones para que según se presenten las condiciones ambientales en un año determinado, una parte de la población complete su ciclo de vida floreciendo y fructificando; y la otra parte se mantiene en estado vegetativo durante un año más. Lo cual propicia seguramente una mayor sobrevivencia para las poblaciones silvestres de la yerba del saño. Así, la población con base en sus ciclos de vida puede agruparse en sólo dos fenotipos: Bienal y Trienal.

Desde el punto de vista agronómico son mucho más importantes las poblaciones Bienales que las Trienales, por

la sencilla razón de que con plantas de ciclo corto se obtiene una mayor cantidad de biomasa en menos tiempo. Esta fue la razón que nos condujo a que de los cinco fenotipos estudiados cuatro fueran Bienales y sólo uno de ciclo largo.

- 2) Selección de Fenotipos por su Apariencia, por Número de Ramas y por Biomasa. Estos tres aspectos están íntimamente relacionados entre sí y nos permitieron separar fácilmente otra categoría de fenotipos, correspondientes tanto al fenotipo Bienal como al Trienal, sólo que para fines agronómicos sólo consideraremos a los de ciclo corto (Bienales). Así, un mayor número de ramas en el tallo principal nos va a definir la apariencia de la planta, así como la cantidad de biomasa que se obtiene en función de un mayor o menor número de ramas. Relacionando el cuadro de resultados (No. 3), nos podemos percatar con cierta facilidad que el aspecto de la planta es propiciado por la presencia o ausencia de ramas basales en el tallo principal, lo cual nos condujo a separarlas en dos grupos: el Asilvestrado (ausencia de ramas basales) y el Vigoroso (presencia de ramas basales). El nombre de estos fenotipos

tipos está dado; en el caso del fenotipo Asilvestrado por su parecido a las plantas silvestres y el tipo Vigoroso por una cantidad mucho mayor de biomasa dada por la presencia de ramas basales, aspecto que cambia notablemente la apariencia de la planta.

Desde el punto de vista agronómico y medicinal, nos interesa además de que sean plantas de ciclo corto, que produzcan una mayor cantidad de biomasa, razones que nos llevaron a estudiar los números cromosómicos en la mayoría de este tipo de fenotipos (Bienal-Vigoroso).

La población Vigorosa fue casi del doble (61%) en comparación con la asilvestrada (34%). Estos porcentajes consideraremos que se observaron así después de 10 años de cultivo en que la semilla que se selecciona en cada ciclo agrícola para sembrarse en el siguiente, corresponde precisamente a plantas del fenotipo Bienal-Vigoroso; es decir, en las poblaciones silvestres no se observan ramas basales y en las cultivadas se nota su presencia desde su primer ciclo agrícola, aspecto relacionado seguramente con las condiciones favorables que se tienen en el campo experimental de Chapingo, lo cual nos indica que existe en la población silvestre información genética

para producir ramas basales y por lo tanto multiplicar la biomasa, pero que no se manifiesta bajo condiciones de su ambiente natural, aunque, el hecho de que después de 10 años se sigan presentando sin ramas basales nos indica que la información genética relacionada con su presencia o ausencia no está generalizada en la población silvestre y tampoco en la cultivada.

La plasticidad que se manifiesta al observar tanto plantas Asilvestradas como Vigorosas puede estar relacionada con el acceso de humedad y nutrientes que de acuerdo a su disponibilidad, la planta este por desarrollar o no ramas basales, por un lado y por el otro aún en condiciones favorables la planta puede economizar recursos disponibles al no generar ramas basales; estas especulaciones podrán ser confirmadas en estudios posteriores.

- 3) Selección de Fenotipos por la Época de Floración. Esta es quizá, la característica que muestra una mayor plasticidad en la planta, tanto en condiciones silvestres como después de 10 años bajo cultivo ya que la época total de floración comprende 5 meses del año siendo esta de mayo-septiembre. Plasticidad que queda manifiesta en todos los fenotipos: Bienal y Trienal; Bienal-Vigoro

sa y Bienal-Asilvestrada. El hecho de persistir bajo condiciones favorables con una época de floración de cinco meses nos indica que este caracter está fijado en el genoma tanto en la población silvestre como en la población después de 10 años de condiciones favorables para su reproducción; sin embargo, desde el punto de vista agronómico los fenotipos que más nos interesa son los que florecan en los primeros meses del año; es decir, el fenotipo ideal es el Bienal-Vigoroso-Precóz. Esto a pesar de que después de 10 años de cultivo sólo ocupe el 15% de la población total en el ciclo '85-'86.

Este último aspecto consideramos que constituye uno de los aportes más importantes del presente trabajo, pues a partir del siguiente ciclo agrícola la selección de la semilla para continuar cultivando la yerba del sapo será aquella que provenga precisamente del fenotipo Bienal-Vigoroso-Precóz y ya sólo resta verificar farmacológicamente que en ésta selección de fenotipos persista el efecto curativo de la planta en la prevención y curación de los cálculos biliares, así como en la reducción de los niveles de colesterol en sangre, pues consideramos como fundamental la persistencia

de dicho efecto curativo en virtud de que cuando se introducen al cultivo nuevas especies, puede implicar modificaciones fenotípicas o genotípicas y que por lo tanto, se corre el riesgo de dejar de producir los principios activos, razón por la cual debe cotejarse su persistencia a través del proceso (Estrada, 1986).

2. Número Cromosómico.

$2n=12$ fue el número cromosómico que con mayor frecuencia se observó en todos los fenotipos estudiados (CUADRO No. 4). Esta información representa uno de los aspectos más importantes de este trabajo, pues constituye un número cromosómico nuevo para el género Eryngium, ya que los registros que se conocen corresponden a números cromosómicos de $2n=14$ y $2n=16$ (Constance, Chuang y Bye Jr., 1976; Darlington y Janaki, 1945). Estos números cromosómicos fueron determinados en plantas de la yerba del sapo (Eryngium heterophyllum) colectadas en el estado de Chihuahua y que la planta motivo del presente estudio, procede del estado de Guanajuato. El encontrar con éste 3 números cromosómicos diferentes para Eryngium heterophyllum nos conduce

a plantear de inmediato nuevas investigaciones con el fin de dilucidar o en su caso ampliar la información referente a que número cromosómico corresponde a cada población; esto considerando que la misma especie se distribuye por los siguientes estados de la República y que con este fin hemos colectado semilla de la misma especie en el Estado de México, Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango y Chihuahua; con el fin de que en un futuro cercano, determinar la variación cromosómica en esta especie, así como observaciones morfológicas y fenológicas que nos conduzcan a precisar si todas estas poblaciones corresponden o no a Eryngium heterophyllum.

El no haber encontrado diferencias significativas, en cuanto al número cromosómico, en ninguno de los cinco fenotipos estudiados y en donde claramente predomina el número cromosómico $2n=12$ nos lleva a rechazar la hipótesis de que la variabilidad morfológica y fenológica que se observa en esta especie se reflejará en una variación observada en el ciclo de vida, en la forma de la planta, en la cantidad de biomasa y en la época de floración; el número cromosómico de $2n=12$ es estable y predominante para todos los fenotipos; lo cual nos conduce a plantear inves-

tigaciones mucho más finas con el fin de intentar relacionar fenotipos con variaciones cromosómicas, si no en número pudieran darse por variaciones estructurales (Riley, 1977).

En general, es necesario un análisis cariológico detallado, debido a que por ejemplo la presencia de cierto tipo de cromosomas como los submetacéntricos y subtelocéntricos en la especie podría explicarse por la ocurrencia de cambios estructurales en los cromosomas como inversiones y traslocaciones desiguales de los cromosomas ancestrales (Debschanky, 1975). Además de que es importante determinar la asimetría o simetría de un cariotipo, debido a que esto nos da información con respecto a la mayor o menor especialización de una especie (Stebbins, 1971).

Este tipo de estudios sobre la biología básica de las plantas medicinales, se pretende se relacionen con la producción de principios activos, es decir, se busca relacionar alguna característica de la planta ya sea morfológica, fenológica o citológica con una mayor producción de principios activos, ya que la meta es producir algún fenotipo altamente rendidor de estos compuestos químicos,

por esa razón se trabajó con 5 fenotipos diferentes y contrastantes.

V. C O N C L U S I O N E S .

Con base a los resultados de la presente investigación, a continuación se pueden resumir como las conclusiones más importantes:

- 1) en la población de la yerba del sapo bajo cultivo, ciclo 1985-1986, los siguientes criterios permitieron definir fenotipos:

Por ciclo de vida:

- a) Bienales y
- b) Trienales.

Por el número de ramas:

- a) Vigoroso y
- b) Asilvestrado

Por la época de floración:

- a) Precóz
- b) Normal y
- c) Tardío.

- 2) Los fenotipos objeto del presente estudio estuvieron representados en la población de la siguiente manera:

Bienal-Vigoroso-Precóz 15%
Bienal-Vigoroso-Normal 35%
Bienal-Vigoroso-Tardío 11%
Bienal-Asilvestrado-Normal 22%
Trienal-Vigoroso-Normal 5%.

- 3) $2n=12$ es un número cromosómico nueve para el género Bryngium, el cual fue determinado en una población cultivada de E. heterophyllum, proveniente originalmente de Guanajuato.
- 4) No se encontraron diferencias en los 5 fenotipos estudiados en cuanto al número cromosómico.

V I . B I B L I O G R A F I A .

- Astudillo V., A.; Ortega D., M. L.; Hernández X., E.; Estrada L., E.; y Ramírez T., L. 1986. Estudio Químico Farmacológico de Eryngium heterophyllum Engelm (yerba del sape), Relacionado con la Prevención de Cálculos Biliares. AGROCIENCIA. No. 60 pp. 7-19.
- Ayala, F.J. 1978. Molecular Evolution. Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts, USA.
- Constance, L., Chuang, T. I., Bye, R. A. Jr. 1976. Chromosome Numbers in Chihuahuan Umbelliferae. Botanical Mus. Leaflets, Harvard University Vol. 24 No. 8 pp. 241-247.
- _____ and Bye R. A. Jr. 1976. New Chihuahuan Umbelliferae. Botanical Mus Leaflets, Harvard University, Vol. 24 No. 8 pp. 225-230.
- Curtis, P. J. 1979 Manual para la Elaboración de Preparaciones Cromosómicas en Plantas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Darlington y Janaki E. K. 1945. Chromosome Atlas of Cultivated Plants. London, George Allen & Unwin.
- _____ 1977. The Chromosome Evolution. Chromosome

Today Vol. 6: 1-9.

- De Robertis, J.E. y E.M.T. De Robertis. 1977. Biología Celular. 9a. ed. Buenos Aires
- Dobzhansky, Th. 1975. Genética del Proceso Evolutivo. Ed. Extemporáneas 463 pp. Méx.
- Estrada L., E. 1985. Jardín Botánico de Plantas Medicinales MAXIMINO MARTINEZ. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- _____, Hernández X., E. Ortega D., Ma. L. 1985. Prevención y Curación de los Cálculos Biliares por la Yerba del Sapo (Eryngium heterophyllum Engelm) en el Hámster Dorado (Mesocricetus auratus). AGROCIENCIA No. 60 pp. 21-38.
- _____, Hernández X., E. Y Ortega D., Ma. L. 1986. Contribución al Conocimiento de la Biología de la Yerba del Sapo (Eryngium heterophyllum Engelm), Una Planta Medicinal. AGROCIENCIA No. 65 pp. 61-78.
- _____ 1986. Jardines Botánicos Comunitarios. Plantas Medicinales. Chapingo, No. 50-51; pp. 17-21 y No. 52-53; pp. 132 y 133.
- Garber E., D. 1975. Introducción a la Citogenética. C.E.C.S.A. México.

- Hernández X., E. 1968. Herbarios, Genética y Fitomejoramiento. Reimpreso de la Memoria del Tercer Congreso Nacional de Fitogenética (1^{er} SIMPOSIO). Soc. Mexicana de Fitogenética A.C. GENEINEA Chap., Méx. 361 pp.
- Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.). 1982. Boletín Estadístico Anual Sobre Motivos de Consulta en Población Usuaría, 1980. México.
- John, E. 1976. Population Cytogenetics. Edward Arnold. London 301 pp.
- Martínez, M. 1969. Plantas Medicinales de México. Ed. Botas México. 657 pp.
- Mathías, M. E., and L. Constance. 1945. Umbelliferae; FLN. América.
- Organización Mundial de la Salud (O.M.S.). 1978. Promoción y Desarrollo de la Medicina Tradicional. Informes Técnicos 622., 44 pp.
- Petit, C. 1976. Genética y Evolución. Omega. Barcelona 392 pp.
- Pehlman. 1983. Mejoramiento Genético de las Cosechas. Limusa, México.
- Riley, R. 1977. The Evolution of Karyotypes an Introduction. Chromosome Today. 6:119-121.

- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa; México 432 pp.
- Secretaria de Salubridad y Asistencia. 1982. La Salud Pública en México: 1959-1982.
- Sharma., K. y Sharma A. 1965. Chromosome Techniques. Theory and Practice. Butterworths. London.
- Solbrig, O. T. 1970. Principles and Methods of Plant Biosystematics. The MacMillan Company. New York.
- Stebbins G. L. 1950. Variation and evolution in Plants. Columbia University Press. New York, New York USA.
- _____ 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plant Addison-Wesley Publishing Company. Great Britain.
- Strickberger M. 1982. Genética. 2a ed. Omega, S.A. Barcelona.
- Welchs, J. R. 1981. Fundamentals of Plants Genetics and Breeding. John Wiley & Sons New York.