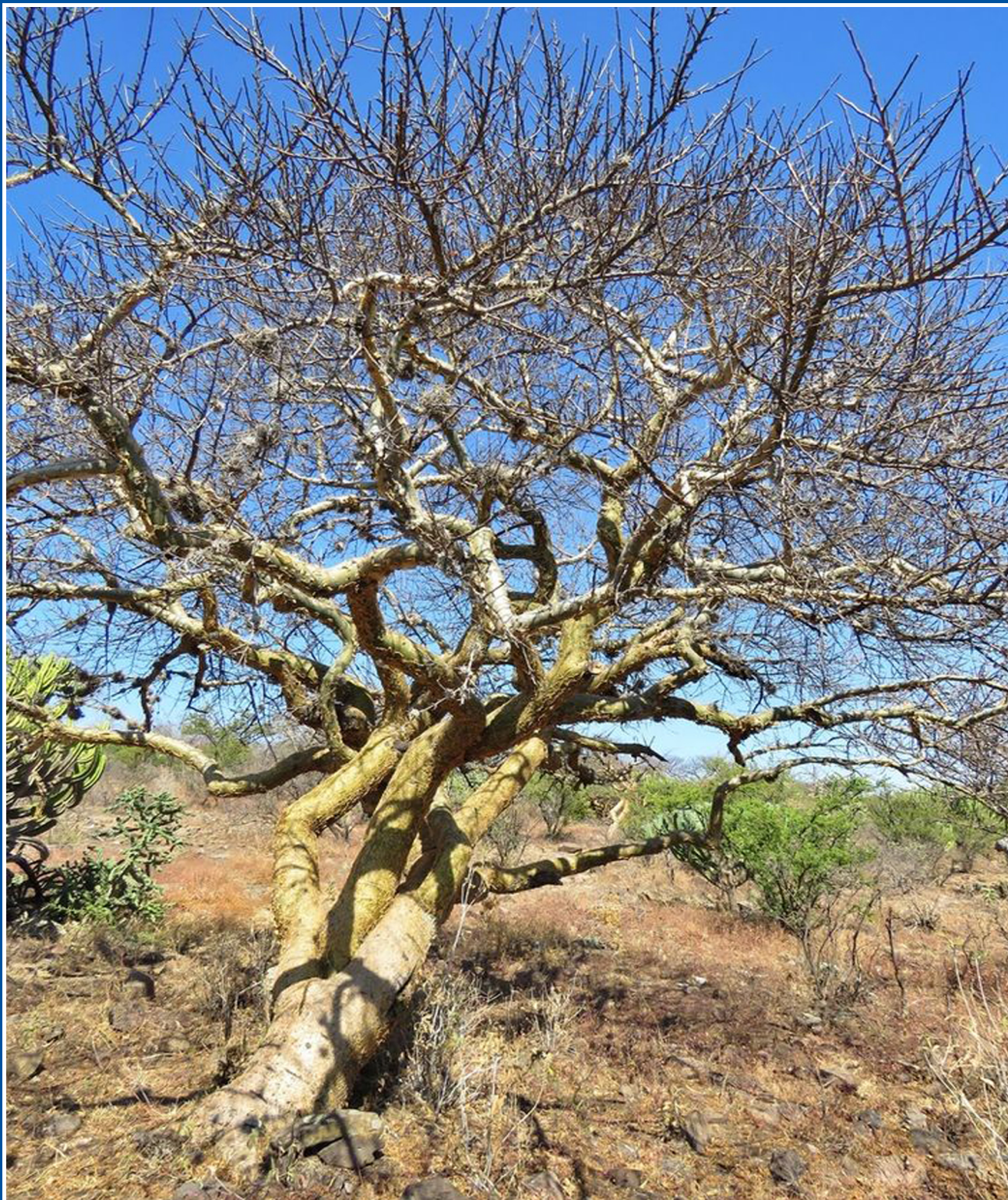


POLIBOTÁNICA

ISSN 1405-2768

ISSN 2395-9525



Núm. 60

 **CONAHCYT**
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
Y CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Julio 2025

PÁG.

CONTENIDO

- 1 *Mammillaria scoria* (cactaceae) una nueva especie de Querétaro, Mexico
Mammillaria scoria (Cactaceae) a new species from Querétaro, México
Pedro González-Zamora | David Aquino | Daniel Sánchez
- 15 Revisión del género *Karwinskia* (Rhamnaceae) en México
Review of the *Karwinskia* genus (Rhamnaceae) in Mexico
Rafael Fernández Nava | Maria de la Luz Arreguín Sánchez
- 39 Diversidad florística de las áreas verdes urbanas de Miahuatlán, una ciudad pequeña de Oaxaca, México
Floristic diversity of the urban green areas of Miahuatlán, a small city from Oaxaca, Mexico
Víctor Gutiérrez Pacheco | Deisy Coromoto Rebolledo López
- 61 Caracterización morfológica de especies del género *Hylocereus* (Cactaceae) en una unidad de cultivo localizada en Molcaxac, Puebla, México
Morphological characterization of species of the genus *Hylocereus* (Cactaceae) in a cultivation unit located in Molcaxac, Puebla, Mexico
Vianey del Rocio Torres Pelayo
- 79 Estandarización del proceso de diafanización vegetal en las especies: *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y una Spermatophyta *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder Rosaceae
Standardization of the plant diaphanization process; of *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) and one Spermatophyta *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae)
Ruth Concepción Márquez Juárez | Arantxa Chowell-López | Diego Martínez Mata | Gabriela Sánchez Fabila Sánchez Fabila | Roberto Moreno Colín | Pilar Amellali Badillo-Suárez | Irma Estrella Beatriz Manuell Cacheux | Rogelio Monterrubio Valdivia
- 91 Análisis de la estructura de un bosque en una región del suroeste del estado de Durango
Analysis of the structure of a forest in a southwestern region of the state of Durango
Manuel Antonio Díaz-Vásquez | Pedro Antonio Domínguez-Calleros | Norberto Domínguez-Amaya | Héctor Manuel Loera-Gallegos | Jesús Alejandro Soto-Cervantes
- 107 Estructura y diversidad arbórea de una selva mediana perennifolia en el complejo ecoturístico Agua Selva, Tabasco, México
Tree structure and diversity of a medium evergreen forest in the Agua Selva ecotourism complex, Tabasco, Mexico
Manuel Pérez de la Cruz | Josué García León | José del Carmén Gerónimo Torres | Facundo Sánchez Gutiérrez | Miguel Alberto Magaña Alejandro | Aracely de la Cruz Pérez
- 123 Diversidad del sotobosque; un atributo de evaluación en reforestaciones utilizadas como estrategias de restauración forestal
Understory diversity; an evaluation attribute in reforestations used as a forest restoration strategy
Francisca Ofelia Plascencia Escalante | Isidoro Herrera Ávila | Marlin Pérez Suárez | Patricia Hernández De La Rosa | Gregorio Ángeles Pérez
- 141 Estructura y diversidad arbórea bajo dos esquemas de manejo forestal e influencia de la orientación geográfica en un bosque de Durango, México
Tree structure and diversity under two forest management schemes and the influence of geographic orientation in a forest in Durango, Mexico
José de Jesús Graciano Luna | Eduardo Alanís Rodríguez | Oscar Aguirre Calderón | César Martín Cantú Ayala | José Yarena Yamallel | Cristian Martínez Adriano | José Luján Soto
- 163 Reserva de carbono orgánico y nitrógeno en Luvisol bajo diferentes usos de suelo en Oaxaca, México
Organic carbon and nitrogen reserve in Luvisol under different land uses in Oaxaca, México
Celestino Sandoval García | Israel Cantú Silva
- 177 Estimación de carbono a nivel árbol individual en bosque natural mediante vehículos aéreos no tripulados (VANT)
Carbon estimation at individual tree level in natural forest using unmanned aerial vehicles (UAV)
Jaime Briseño Reyes | Susana Isabel Hinojosa-Espinoza | José Javier Corral-Rivas | Jesús Aguirre-Gutiérrez | Daniel José Vega-Nieva | Héctor Manuel De los Santos Posadas
- 199 Variación morfométrica y espacial urbana de tres especies arbóreas en función del ancho de camellón en calles de a ciudad de San Luis Potosí, México
Morphometric and urban spatial variation of three tree species in relation to street median width in the city of San Luis Potosí México
Andrea Candia Lomelí | Carlos Renato Ramos Palacios | Jonathan Hammurabi González Lugo | Fredy Alexander Alvarado Roberto
- 229 Descripción inicial de la fenología de *Quercus durifolia* Seemen ex Loes. árbol endémico de la Sierra Madre Occidental
Initial description of the phenology of *Quercus durifolia* Seemen ex Loes. endemic tree of the Sierra Madre Occidental
Rosa Elvira Madrid Aispuro | José Ángel Prieto Ruíz | Arnulfo Aldrete | Silvia Salcido Ruiz | Eduardo Daniel Vivar Vivar | Laura Elena Martínez Nevárez
- 245 Registro polínico en miel de *Apis mellifera* L. de dos localidades de la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán, Jalisco, México
Pollen record on honeybee honey of *Apis mellifera* L. of Sierra of Manantlan Biosphere Reserve, Jalisco, México
Xochilt Morales Najarro | Iris Grisel Galván Escobedo | Monserrat Vázquez Sánchez | Montserrat Medina Acosta

PÁG.

CONTENIDO

- 263 Efecto de complejos orgánicos en la micropropagación de *Phalaenopsis* var. Dudu
Effect of organic complexes on micropropagation of *Phalaenopsis* var. Dudu
Amaury Arzate Fernández | Sandra Martínez Martínez | Tomás Norman Mondragón | María Mariezcurrena Berazain | Arely Piña Sampedreño
- 273 Evaluación de las respuestas de tres variedades de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculadas con bacterias cuando se cultivan en condiciones de estrés por aguas residuales y sulfato de cobre.
Evaluation of the responses of three tomato varieties (*Solanum lycopersicum* L.) inoculated with bacteria when grown under stress conditions due to wastewater and copper sulfate
Abdul Khalil Gardezi | Leticia Manuela Inzunza Medina | Guillermo Carrillo Castañeda | Hector Manuel Ortega Escobar | oscar raul mancilla villa | Juan Enrique Rubiños Panta | Jorge flores Velazquez | Mora Meraz Maldonado | Sergio Roberto Marquez Berber | Hector Flores Magdaleno | Gabriel Haro Aguilar
- 291 Especies de *Meloidogyne* asociadas a cultivos hortícolas en el Valle de Tepeaca, Puebla, México
Perineal patterns and isozyme phenotypes for the identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in vegetables from the Tepeaca Valley, Puebla, Mexico
María Gabriela Medina Canales | Ana Karen Alquicira Jimenez | Norma García Aguilar | Ilia Mariana Escobar Ávila | Alejandro Tovar Soto
- 307 Efecto de las propiedades físicas y químicas del suelo en el estado nutrimental del nopal-verdura (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill variedad Milpa Alta
Effect of soil physical and chemical properties on the nutritional status of nopal-vegetable (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill variety Milpa Alta
Bertha Patricia Zamora Morales | Aurelio Báez Pérez | Leticia Bonilla-Valencia | Jorge Artemio Zegbe Domínguez | Marisela Cristina Zamora Martínez | Abel Quevedo-Nolasco
- 325 Evaluación fitoquímica de extractos de la resina de *Bursera fagaroides* (Kunth) Engl.
Phytochemical evaluation of resin extracts of *Bursera fagaroides* (Kunth) Engl.
Luis Antonio Flores-Hernández | Fanny Imelda Pastenes-Felizola | Fanny Imelda Pastenes-Felizola | Jose Luis Díaz-Núñez | Pablo Noé Núñez-Aragón
- 337 Callogénesis y análisis fitoquímico de *Euphorbia nutans* Lag.
Callogenesis and phytochemical analysis of *Euphorbia nutans* Lag.
Daniel Aguilar Jiménez | Benito Reyes Trejo | José Luis Rodríguez De la O | Juan Martínez Solís
- 355 Evaluación de dos métodos de desinfección de sustratos para la producción de *Pleurotus ostreatus*
Evaluation of two substrate disinfection methods for the production of *Pleurotus ostreatus*
Rosa Elena Hernández Hernández | Veronica Rosales Martinez | Carolina Flota Bañuelos | Mónica Leticia Osnaya González | Porfirio Morales Almora
- 367 Conservación genómica de dos especies del orden Asparagales con cariotipo bimodal, empleando hibridación genómica *in situ* (GISH)
Genomic conservation of two species of the order Asparagales with bimodal karyotype, using genomic *in situ* hybridization (GISH)
María José García Castillo | Luis Carlos Rodríguez Zapata | Lorenzo Felipe Sanchez Teyer
- 381 Prácticas de manejo para la producción de (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) en productores del Municipio de Pungarabato, Guerrero, México
Management practices for the production of (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) in producers of the Municipality of Pungarabato, Guerrero, Mexico
Jaime Olivares | Santos Rodríguez Mejía | Saúl Rojas Hernández | Teolincacihualt Romero Rosales | Miguel Ángel Damian Valdéz | Vania Jiménez Lobato | Lucero Sarabia Salgado
- 395 Manejo del ramón *Brosimum alicastrum* Sw. en huertos familiares de Tzucacab, Yucatán, México
Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) management in home gardens of Tzucacab, Yucatán, México
Rosalba Esther Mex Mex | Juan José Jiménez Osornio | Patricia Irene Montañez-Escalante | Héctor Estrada Medina | Guadalupe del Carmen Reyes Solis
- 411 Rescate y conservación del conocimiento tradicional sobre plantas medicinales en la sierra de Taxco, Guerrero, México: El caso del Toronjil (*Agastache mexicana* subsp. *mexicana*)
Rescue and conservation of traditional knowledge on medicinal plants in the Sierra de Taxco, Guerrero, Mexico: The case of Toronjil (*Agastache mexicana* subsp. *mexicana*)
Judith Morales Barrera | Blas Cruz-Lagunas | Miguel Angel Gruintal-Santos | Mirna Vázquez-Villamar | Teolincacihualt Romero-Rosales | Saúl Rojas-Hernández | Tania de Jesús Adame Zambrano
- 441 Etnobotánica de los chiles silvestres en dos comunidades ch'oles de Tacotalpa, Tabasco, México
Ethnobotany of wild chili peppers in two ch'ol communities of Tacotalpa, Tabasco, Mexico
Guadalupe Morales Valenzuela | María Isabel Villegas Ramírez
- 459 Caracterización sensorial para la diferenciación de mezcal ancestral de dos zonas productoras de Oaxaca, México
Sensory characterization for the differentiation of ancestral mezcal from two producing areas of Oaxaca, Mexico
Susana Yareth López García | Anastacio Espejel García | Arturo Hernández Montes | Landy Hernández Rodríguez | Ariadna Isabel Barrera Rodríguez

REVISTA BOTÁNICA INTERNACIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

EDITOR EN JEFE

Rafael Fernández Nava

EDITORIA ASOCIADA

María de la Luz Arreguín Sánchez

COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

Christiane Anderson
University of Michigan
Ann Arbor, Michigan, US

Delia Fernández González
Universidad de León
León, España

Heike Vibrans
Colegio de Postgraduados
Estado de México, México

José Angel Villarreal Quintanilla
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Saltillo, Coahuila, México

Hugo Cota Sánchez
University of Saskatchewan
Saskatoon, Saskatchewan, Canada

Luis Gerardo Zepeda Vallejo
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Fernando Chiang Cabrera
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Claude Sastre
Muséum National d'Histoire Naturelle
Paris, Francia

Thomas F. Daniel
California Academy of Sciences
San Francisco, California, US

Mauricio Velayos Rodríguez
Real Jardín Botánico
Madrid, España

Francisco de Asis Dos Santos
Universidade Estadual de Feira de Santana
Feira de Santana, Brasil

Noemí Waksman de Torres
Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, NL, México

Carlos Fabián Vargas Mendoza
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Julieta Carranza Velázquez
Universidad de Costa Rica
San Pedro, Costa Rica

José Luis Godínez Ortega
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Tom Wendt
University of Texas
Austin, Texas, US

José Manuel Rico Ordaz
Universidad de Oviedo
Oviedo, España

Edith V. Gómez Sosa
Instituto de Botánica Darwinion
Buenos Aires, Argentina

Edith V. Gómez Sosa
Instituto de Botánica Darwinion
Buenos Aires, Argentina

Dr. Juan Ramón Zapata Morales
Universidad de Guanajuato
Guanajuato, México

Jorge Llorente Bousquets
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

DISEÑO Y FORMACIÓN ELECTRÓNICA

Luz Elena Tejeda Hernández

OPEN JOURNAL SYSTEM Y TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN

Pedro Aráoz Palomino

POLIBOTÁNICA, revista botánica internacional del Instituto Politécnico Nacional, incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales en el área. Tiene una periodicidad de dos números al año, con distribución y Comité Editorial Internacional.

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación son sometidos por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisan y evalúan y son los que finalmente recomiendan la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES PARA LA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS

Se aceptarán aquellos originales que se ajusten a las prescripciones siguientes:

POLIBOTÁNICA incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales que no hayan sido publicados.

1. El autor deberá anexar una carta membretada y firmada dirigida al Editor, donde se presente el manuscrito, así como la indicación de que el trabajo es original e inédito, ya que no se aceptan trabajos publicados o presentados anterior o simultáneamente en otra revista, circunstancia que el autor(es) deberá declarar expresamente en la carta de presentación de su artículo.
2. Al quedar aceptado un trabajo, su autor no podrá ya enviarlo a ninguna otra revista nacional o extranjera.
3. Los artículos deberán estar escritos en español, inglés, francés o portugués. En el caso de estar escritos en otros idiomas diferentes al español, deberá incluirse un amplio resumen en este idioma.
4. Como parte de los requisitos del CONACYT, POLIBOTÁNICA ahora usa la plataforma del Open Journal System (OJS); para la gestión de los artículos sometidos a la misma. Así que le solicitamos de la manera más atenta sea tan amable de registrarse y enviar su artículo en la siguiente liga: www.polibotanica.mx/ojs/index.php/polibotanica
 - a) cargar el trabajo en archivo electrónico de office-word, no hay un máximo de páginas con las siguientes características:
 - b) en páginas tamaño carta, letra times new roman 12 puntos a doble espacio y 2 cm por margen
5. Las figuras, imágenes, gráficas del trabajo deben estar incluidas en el documento de Word original:
 - a) en formato jpg
 - b) con una resolución mínima de 300 dpi y un tamaño mínimo de 140 mm de ancho
 - c) las letras deben estar perfectamente legibles y contrastadas
6. Todo trabajo deberá ir encabezado por:
 - a) Un título tanto en español como en inglés que exprese claramente el problema a que se refiere. El formato para el título es: negritas, tamaño 14 y centrado;
 - b) El nombre del autor o autores, con sus iniciales correspondientes, sin expresión de títulos o grados académicos. El formato para los autores es: alineados a la izquierda, cada uno en un párrafo distinto y tamaño 12. Cada autor debe tener un número en formato superíndice indicando a qué afiliación pertenece;
 - c) La designación del laboratorio e institución donde se realizó el trabajo. La(s) afiliación(es) debe(n) estar abajo del grupo de autores. Cada afiliación deberá estar en un párrafo y tamaño

12. Al inicio de cada afiliación estará el número en superíndice que lo relaciona con uno o más autor/es.

d) El autor para correspondencia deberá estar en el siguiente párrafo, alineado a la izquierda, tamaño 12.

7. Todo trabajo deberá estar formado por los siguientes capítulos:

a) RESUMEN y ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. El resumen debe venir después de la afiliación de los autores, alineado a la izquierda, tamaño 12. La palabra “Resumen: / Abstract:” debe venir en negritas y con dos puntos. El texto del resumen debe empezar en el párrafo siguiente, tamaño 12 y justificado. El texto “Palabras clave / Key Words:” debe venir en negritas seguido de dos puntos. Cada una de las palabras clave deben estar separadas por coma o punto y coma, finalizadas por punto.

b) INTRODUCCIÓN y MÉTODOS empleados. Cuando se trate de técnicas o métodos ya conocidos, solamente se les mencionará por la cita de la publicación original en la que se dieron a conocer. El formato para todas las secciones en esta lista es: negritas, tamaño 16 y centrado.

c) RESULTADOS obtenidos. Presentación acompañada del número necesario de gráficas, tablas, figuras o diagramas de tamaño muy cercano al que tendrá su reproducción impresa (19 x 14 cm).

d) DISCUSIÓN concisa de los resultados obtenidos, limitada a lo que sea original y a otros datos relacionados directamente y que se consideren nuevos.

e) CONCLUSIONES.

ESPECIFICACIONES DE FORMATO PARA EL CUERPO DEL TRABAJO

1. Secciones/Subtítulos de párrafo: Fuente tamaño 16, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula.
2. Subsecciones/Subtítulos de párrafo secundarios : Fuente tamaño 14, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula. Cuando existan subsecciones de subsección formatear en tamaño 13 negrita y centrado.
3. Cuerpo del texto: Fuente tamaño 12, justificado. NO debe haber saltos de línea entre párrafos.
4. Las notas de pie de página deben estar al final de cada página, fuente tamaño 12 justificadas.
5. Cita textual con mas de tres líneas: Fuente tamaño 12, margen izquierdo de 4 cm.
6. Título de imágenes: Fuente tamaño 12, centrado y en negritas, separado por dos puntos de su descripción. Descripción de las imágenes: tamaño 12.
7. Notas al pie de las imágenes: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la imagen, la primera letra debe estar en mayúsculas.
8. Imágenes: deben estar en el cuerpo del texto, insertadas en formato png o jpg, a por lo menos 300 dpi de resolución y centradas. Las imagenes deben estar en línea con el texto. Se consideran imágenes: gráficos, cuadros, fotografías, diagramas y, en algunos casos, tablas y ecuaciones.
9. Tablas de tipo texto: El título de las columnas de las tablas debe estar en negritas y los datos del cuerpo de la tabla con fuente normal. Los nombres científicos deben estar en *italicas*. Se recomienda utilizar las Tablas como imágenes, estas deberán de ir centradas (a por lo menos 300 dpi de resolución).
10. Notas al pie de la tabla: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la tabla, la primera letra debe estar en mayúsculas.
11. Ecuaciones pueden estar en Mathtype 1 o en imagen. En este último caso, seguir instrucciones del punto 8.
12. Citas del tipo autor y año deben estar entre paréntesis, con el apellido del autor seguido por el año (Souza, 2007), primera letra en mayúscula.

- 8. LITERATURA CITADA,** Se tomara como base el Estilo APA para las Referencias Bibliográficas, formada por las referencias mencionadas en el texto del trabajo y en orden alfabético. Es obligatorio utilizar Mendeley® (software bibliográfico). El propósito de utilizar este tipo de software es asegurar que los datos contenidos en las referencias están correctamente estructurados y corresponden a las citas del cuerpo del texto.

ESTRUCTURA Y FORMATO DE LOS AGRADECIMIENTOS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Los Agradecimientos deberán estar después de la última sección del cuerpo del texto. Esta información debe tener como título la palabra “Agradecimientos”, o su equivalente en otro idioma, en negritas, tamaño 12 y centrado. El texto de esta información debe estar en tamaño 12 justificado.
2. Las Referencias bibliográficas deben estar en orden alfabético sin salto de línea de párrafo, alineados a la izquierda, en tamaño 12.
3. Apéndices, anexos, glosarios y otros materiales deben incluirse después de las referencias bibliográficas. En caso de que estos materiales sean extensos deberán ser creados como archivos PDF.

9. REVISIÓN Y PUBLICACIÓN

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación serán sometidos a una revisión “doble ciego”, se enviarán por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisarán y evaluarán y serán los que finalmente recomienden la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

Una vez aceptado el trabajo, se cobrarán al autor(es) \$299 por página más IVA, independientemente del número de fotografías que contenga.

PUBLICATION GUIDELINES

POLIBOTÁNICA, an international botanical journal supported by the National Polytechnic Institute, only publishes material resulting of original research in the botanic area. It has a periodicity of two issues per year with international distribution and an international Editorial Committee.

All articles submitted to POLIBOTÁNICA for publication are reviewed by at least a couple of referees. National or international recognized experts will evaluate all submitted materials in order to recommend the appropriateness or otherwise of a publication. Therefore, the quality of published papers in POLIBOTÁNICA is of the highest international standards.

FOR PUBLICATION OF ARTICLES

Originals that comply with the following requirements will be accepted:

1. POLIBOTÁNICA includes only items that represent the results of original research which have not been published. The author should attach an official and signed letter to Editor stating that the work is original and unpublished. We do not accept articles published or presented before or simultaneously in another journal, a fact that the author (s) must expressly declare in the letter.
2. When an article has been accepted, the author can no longer send it to a different national or foreign journal.
3. Articles should be written in Spanish, English, French or Portuguese. In the case of be written in

languages other than Spanish, it should include an abstract in English.

4. The article ought to be sent to the POLIBOTÁNICA's Open Journal System <http://www.polibotanica.mx/ojs> in an office-word file without a maximum number of pages with the following features:

a) on letter-size pages, Times New Roman font type, 12-point font size, double-spaced and 2 cm margin

5. The figures, images, graphics in the article must be attached as follows:

a) in jpg format

b) with a minimum resolution of 300 dpi and a minimum size of 140 mm wide

c) all characters must be legible and contrasted

6. All articles must include:

a) a title in both Spanish and English that clearly express the problem referred to. The format for this section is: bold, font size 14 and centered.;

b) the name of the author or authors, with their initials, no titles and no academic degrees. The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number indicating the affiliation;

c) complete affiliations of all authors (including laboratory or research institution). The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number at the beginning of the affiliation;

d) correspondence author should be in the next paragraph, font size 12 and aligned to the left.

7. All work should be composed of the following chapters:

a) RESUMEN and ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. The format for this section is: bold, font size 12 and centered. Both words (RESUMEN: and ABSTRACT:) must include a colon, be in bold and aligned to the left. The body of the abstract must be justified and in font size 12. Both palabras clave: and keywords: must include a colon, be in bold and aligned to the left. Keywords must be separated by a comma or semicolon, must be justified and in font size 12.

b) INTRODUCTION y METHODS. In the case of techniques or methods that are already known, they were mentioned only by appointment of the original publication in which they were released.

c) RESULTS. Accompanied with presentation of the required number of graphs, tables, figures or diagrams very close to the size which will be printed (19 x 14 cm).

d) DISCUSSION. A concise discussion of the results obtained, limited to what is original and other related directly and considered new data.

e) CONCLUSIONS. The format for sections Introduction, Results, Discussion and Conclusions is: bold, font size 16 and centered.

FORMAT SPECIFICATIONS FOR THE BODY OF WORK

1. Sections: Font size 16, centered, bold, with the first letter capitalized.
2. Subsections / Secondary Subtitles: Font size 14, centered, bold, with the first letter capitalized. When there are second grade subsections format in size 13 bold and centered.
3. Body: Font size 12, justified. There should NOT be line breaks between paragraphs.
4. Footnotes should be at the bottom of each page, font size 12 and justified.
5. Textual quotation with more than three lines: Source size 12, left margin of 4 cm.
6. Image Title: Font size 12, centered and bold, separated by two points from its description. Description of the images: size 12.
7. Images Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the image, the first letter must be in capital letters.
8. Images: must be in the body of the text, inserted in png or jpg format, at least 300 dpi resolution and centered. Images should be in line with the text. Graphs, charts, photographs, diagrams and, in some cases, tables and equations are considered images.
9. Text Tables: Only The title of the columns of the tables must be in bold. Scientific names must be in italics. It is recommended to use the Tables as images, they should be centered (at least 300 dpi resolution).
10. Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the table, the first letter must be in upper case.
11. Equations can be in Mathtype 1 or in image. In the latter case, follow the instructions in point 8.
12. Quotations of the author and year type must be in parentheses, with the author's last name followed by the year (Souza, 2007), first letter in capital letters.

8. LITERATURE CITED. All references must be cited using the APA stile. POLIBOTÁNICA requires the use of Mendeley® (free reference manager) for the entire bibliography.

STRUCTURE AND FORMAT OF ACKNOWLEDGMENTS AND BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

1. Acknowledgments must be after the last section of the body of the text. This information should be titled the word "Acknowledgments", or its equivalent in another language, in bold, size 12 and centered. The text of this information must be in size 12 justified.
2. Bibliographical references should be in alphabetical order without paragraph line jump, aligned to the left, in size 12.
3. Appendices, annexes, glossaries and other materials should be included after the bibliographic references. If these materials are extensive they should be created as PDF files.

9. REVIEW AND PUBLICATION

All articles submitted to the journal for publication will undergo a review "double-blind", they will be sent at least a couple of referees, recognized national or international experts that reviewed and evaluated and will be finally recommended the relevance or the publication of the article, it is noteworthy that this is the means that we have to take care of the level and quality of published articles.

Once accepted the article, the author will be charged \$15 USD per text page, regardless of how many pictures it contains.

Toda correspondencia relacionada con la revista deberá ser dirigida a:

Dr. Rafael Fernández Nava

Editor en Jefe de

POLIBOTÁNICA

Departamento de Botánica

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional

Apdo. Postal 17-564, CP 11410, Ciudad de México

Correo electrónico:

polibotanica@gmail.com

rfernand@ipn.mx

Dirección Web

<http://www.polibotanica.mx>

POLIBOTÁNICA es una revista indexada en:

CONAHCYT, índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica
del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Google Académico - Google Scholar.

DOAJ, Directorio de Revistas de Acceso Público.

Dialnet portal de difusión de la producción científica hispana.

REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico.

LATINDEX, Sistema regional de información en línea para revistas científicas de América
Latina, el Caribe, España y Portugal.

PERIODICA, Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.



CONSERVACIÓN GENÓMICA DE DOS ESPECIES DEL ORDEN ASPARAGALES CON CARIOTIPO BIMODAL, EMPLEANDO HIBRIDACIÓN GENÓMICA *in situ* (GISH)

GENOMIC CONSERVATION OF TWO SPECIES OF THE ORDER ASPARAGALES WITH BIMODAL KARYOTYPE, USING GENOMIC *in situ* HYBRIDIZATION (GISH)

García Castillo, M.J., L.C. Rodríguez Zapata, L.F. Sánchez Teyer

CONSERVACIÓN GENÓMICA DE DOS ESPECIES DEL ORDEN ASPARAGALES CON
CARIOTIPO BIMODAL, EMPLEANDO HIBRIDACIÓN GENÓMICA *in situ* (GISH)

GENOMIC CONSERVATION OF TWO SPECIES OF THE ORDER ASPARAGALES
WITH BIMODAL KARYOTYPE, USING GENOMIC *in situ* HYBRIDIZATION (GISH)



Conservación genómica de dos especies del orden Asparagales con cariotipo bimodal, empleando hibridación genómica *in situ* (GISH)

Genomic conservation of two species of the order Asparagales with bimodal karyotype, using genomic *in situ* hybridization (GISH)

García Castillo, M.J.,
L.C. Rodríguez Zapata,
L.F. Sánchez Teyer

CONSERVACIÓN
GENÓMICA DE DOS
ESPECIES DEL ORDEN
ASPARAGALES CON
CARIOTIPO BIMODAL,
EMPLEANDO
HIBRIDACIÓN GENÓMICA
in situ (GISH)

GENOMIC CONSERVATION
OF TWO SPECIES OF THE
ORDER ASPARAGALES
WITH BIMODAL
KARYOTYPE, USING
GENOMIC *in situ*
HYBRIDIZATION (GISH)

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 60: 367-379. Julio 2025

DOI:
10.18387/polibotanica.60.22

María José García Castillo <https://orcid.org/MJGC:0000-0001-7595-7809>
Luis Carlos Rodríguez Zapata <https://orcid.org/LCRZ:0000-0002-4872-8231>

Lorenzo Felipe Sánchez Teyer / santey@cicy.mx 

<https://orcid.org/LFST:0000-0002-1714-0240>

Unidad de Biotecnología. Centro de Investigación Científica de Yucatán, Calle 43
No. 130, Colonia Chuburná de Hidalgo, CP. 97200, Mérida, Yucatán, México

RESUMEN: El orden Asparagales, una de las principales subdivisiones de las monocotiledóneas, comprende 14 familias y más de 36,000 especies, destacando por su alta tasa de diversificación. Dentro de este orden, se observa una amplia variabilidad en el tamaño del genoma y en el cariotipo, con algunos géneros mostrando un cariotipo bimodal. El género *Aloe*, perteneciente a la familia Asphodelaceae, es notable por su diversidad y aunque la mayoría son diploides, se han identificado también especies tetraploides y hexaploides. A pesar de esta variabilidad en el número de cromosomas, el cariotipo bimodal de *Aloe* se mantiene relativamente estable, con diferencias en el contenido de ADN entre especies. En contraste, el género *Agave* de la familia Asparagaceae, presenta un cariotipo bimodal conservado con 30 cromosomas en el genoma haploide, que incluye 5 cromosomas grandes y 25 pequeños. Las especies de *Agave* muestran variaciones naturales en ploidía, pero el patrón básico del cariotipo se conserva. La filogenia basada en genomas completos sugiere que *Agave* está estrechamente relacionado con otros géneros como *Manfreda* y *Polianthes*. La investigación sobre la hibridación *in situ* y la técnica GISH ha permitido identificar y analizar reordenamientos genómicos y componentes de cariotipos en diversas especies. En este contexto, se ha llevado a cabo un estudio para hibridar el genoma de *Aloe vera* en núcleos en interfase y células en metafase de *Agave* híbrido H11648 para evaluar cómo un género evolutivamente distanciado se integra en el genoma del *Agave*, buscando entender mejor las dinámicas de cariotipo en estas plantas. Nuestros resultados mostraron conservación de regiones genómicas de *Aloe* en *Agave* al observarse hibridación genómica en todos los cromosomas y en núcleos en interfase de *Agave* híbrido H11648. Estos datos fuertemente sugieren que el cariotipo bimodal de agaves no fue adquirido por la fusión de genomas con diferentes tamaños de cromosomas, sino más bien por rearreglos, fusiones y fisiones durante el período de evolución del género. **Palabras clave:** *Agave*, *Aloe*, GISH, Cariotipo bimodal.

ABSTRACT: The Asparagales order, one of the main subdivisions of the monocots, comprises 14 families and more than 36,000 species, notable for its high rate of diversification. Within this order, a wide variability in genome size and karyotype is observed, with some genera showing a bimodal karyotype. The genus *Aloe*, belonging to the family Asphodelaceae, is notable for its diversity and although most are diploid, tetraploid and hexaploid species have also been identified. Despite this variability in chromosome number, *Aloe*'s bimodal karyotype remains relatively stable, with differences in DNA content between species. In contrast, the *Agave* genus of the Asparagaceae family, presents a conserved bimodal karyotype with 30 chromosomes in the haploid genome, which includes 5 large chromosomes and 25 small chromosomes. *Agave* species show natural variations in ploidy, but the basic karyotype pattern is

preserved. Phylogeny based on whole genomes suggests that *Agave* is closely related to other genera such as *Manfreda* and *Polianthes*. Research on *in situ* hybridization and the GISH technique has made it possible to identify and analyze genomic rearrangements and karyotype components in various species. In this context, a study has been carried out to hybridize the genome of *Aloe vera* in interphase nuclei and metaphase cells of hybrid *Agave* H11648 to evaluate how an evolutionarily distanced genus integrates into the *Agave* genome, seeking to better understand the karyotype dynamics in these plants. Our results showed preservation of genomic regions of *Aloe* in *Agave* by observing genomic hybridization in all chromosomes and in interface nuclei in hybrid *Agave* H11648. These data strongly suggest that the bimodal karyotype of agaves was not acquired by the fusion of genomes with different chromosome sizes, but rather by rearrangements, fusions, and fissions during the period of evolution of the genus.

Key words: *Agave*, *Aloe*, GISH, Bimodal Karyotype

INTRODUCCIÓN

El orden Asparagales, dentro de las monocotiledoneas, incluye 14 familias (Amaryllidaceae, Asparagaceae, Asphodelaceae, Asteliaceae, Blandfordiaceae, Boryaceae, Doryanthaceae, Hypoxidaceae, Iridaceae, Ixioliriaceae, Lanariaceae, Orchidaceae, Tecophilaeaceae y Xeronemataceae), 1122 géneros y más de 36,000 especies (APG). Este orden representa la mayor tasa de diversificación de las monocotiledóneas (Magallón and Castillo 2009), con una edad estimada del grupo corona de aproximadamente 125.3 millones de años (Tank *et al.*, 2015) y una gran diversidad en tamaños de genoma desde 0,3 -82,2 pg (Leitch and Leitch 2013). En este orden existen reportes de diversos géneros que presentan un cariotipo bimodal como *Aloe*, *Agave*, *Camasia*, *Yucca*, *Chologalum*, *Hastingsiana*, *Hesperocallis*, entre otros (Halpin and Fishbein 2013; Robert *et al.*, 2008; McKain *et al.*, 2016).

Aloe L. pertenece a la familia Asphodelaceae que contiene alrededor de 940 especies y una edad aproximada de 45 a 63 millones de años. *Aloe* L. es conocida como una Lili del desierto, con gran aplicación como planta medicinal (Carter and Royal Botanic Gardens 1994), de la cual se conocen alrededor de 500 especies distribuidas alrededor del mundo, principalmente en zonas tropicales (Carter and Royal Botanic Gardens 1994; Gunjan and Roy 2010). El género presenta una gran diversidad en tamaño y morfología desde árboles que crecen 15 m de altura hasta pequeñas plantas con una roseta de 30 mm y aunque en su mayoría son diploides ($2n=14$), se han identificado algunas especies tetraploides y una especie hexaploide (Brandham and Doherty 1998).

Las especies analizadas del género *Aloe* L. en general muestran una estabilidad en el cariotipo bimodal con una estructura básica haploide de un cromosoma grande, submetacéntrico (un brazo del cromosoma es ligeramente mayor que otro), tres cromosomas grandes acrocéntricos (se refiere a cromosomas con el centrómero cercano a un extremo) y tres cromosomas pequeños acrocéntricos (Brandham and Doherty 1998), sin embargo existen reportes de asimetría cariotípica en algunas especies del género (Gunjan and Roy 2010). En contraste con la uniformidad de la estructura básica cromosómica, este género presenta una gran variación en el contenido de ADN 1C desde 10.5 pg en *A. tenuori* hasta 23.9 pg en *A. peckii*, (Brandham and Doherty 1998).

Al evaluar la distribución de la posición de los loci 5S y 45S en 13 especies de *Aloe*, se evidenció una conservación en localización intersticial en cromosomas grandes para 5S, en comparación con diferencias en el número, localización y tamaño de loci encontrado entre las especies analizadas en 45S (Adams *et al.*, 2000) posiblemente originados durante la especiación de *Aloe*. Por su parte, los agaves, pertenece a la familia Asparagaceae que incluye aproximadamente 2900 especies distribuidas alrededor del mundo y se estima que la divergencia del grupo corona comenzó hace unos 89 millones de años (Eguiarte 1994).

El género *Agave* L. es un género joven dentro de Asparagales con una edad estimada entre 7.8 y 10.1 millones que incluye más de 290 especies Good-Avila *et al.* (2006), todas ellas con cariotipo bimodal conservado de 30 cromosomas en genoma haploide que consiste en 5 cromosomas grandes y 25 cromosomas pequeños. En este género se aprecia una serie de ploidías naturales desde diploides hasta octoploides, con una conservación en los sitios y distribución de las

regiones 5S y 45S, independientemente del nivel de ploidía y un incremento proporcional del contenido de ADN con relación al nivel de ploidía (Robert *et al.*, 2008).

El *Agave* híbrido H11648 fue desarrollado en Tanzania a principios del siglo pasado, originado de la cruce de las especies *A. angustifolia* x *A. amaniensis* y retrocruzado con *A. amaniensis*. Es un híbrido con gran capacidad para generar fibra larga con un alto rendimiento, por lo que ha sido la base productiva de fibra natural en Tanzania y el único híbrido comercial de agaves.

El clado agavoide descrito por Bogler and Simpson (1996) incluye 15 géneros y 10 de ellos presentan un cariotipo bimodal constante de 5 cromosomas grandes y 25 cromosomas pequeños mientras que los 5 géneros restantes muestran números variables de cromosomas grandes y pequeños. A este grupo se le denominó como ABK (Agavoid Bimodal Karyotype), por sus siglas en inglés (McKain *et al.*, 2012).

En diversas referencias se propone la hipótesis de que el cariotipo bimodal en *Agave* se establece como la integración de dos genomas ancestrales, con diversos eventos posteriores de rearrreglos internos, duplicaciones, poliploidía y diversos cambios evolutivos (Ramos *et al.*, 2023; McKain *et al.*, 2012). Por su parte, la filogenia basada en genomas completos de cloroplasto agrupa a los géneros *Agave*, *Manfreda*, *Polianthes* y *Besleria*, dentro del clado ABK de cloroplasto, sugiriendo diversidad evolutiva con relación a otros géneros de cariotipo bimodal (McKain *et al.*, 2016).

La hibridación *in situ* (ISH) ha sido una herramienta clave para identificar rearrreglos, inserciones, patrones de distribución y número de sitios de hibridación, así como componentes parentales de cariotipos en diversas especies como fresa, trigo, cebada, algodón, entre otros (Humphreys *et al.*, 1995; Rey *et al.*, 2018; Yu-xiang *et al.*, 2013). En particular, la hibridación genómica *in situ* (GISH) se ha empleado ampliamente para la identificación de componentes genómicos tanto en híbridos como en alopoliploides como *Nicotiana tabacum* (Shibata *et al.*, 2013).

Derivado de lo anterior, en esta investigación hibridamos el genoma de *Aloe vera* en las células en interfase y cromosomas en metafase de *Agave* híbrido H11648 con el objetivo de determinar la representatividad de *Aloe vera*, especie con cariotipo bimodal y alejada evolutivamente por varios millones de años, en el genoma del *Agave*, empleando GISH.

MÉTODOS

Preparación de células en interfase

La colecta de raíces se realizó de plantas de *A.* híbrido H11648 mantenidas en maceta. Los cromosomas en metafase se obtuvieron a partir de ápices de la raíz incubados en una solución saturada de paradichlorobenceno (PDB) durante 3 horas a temperatura ambiente y posteriormente fijadas en una solución de alcohol absoluto y ácido acético glacial (3:1) durante 24 horas.

Las puntas de raíz fueron incubadas con viscozima (SIGMA cat. V2010) a 37°C por 25 minutos y posteriormente, se realizaron dos lavados con agua. Bajo estereoscopio se retiró la cofia de la raíz y se preparó una suspensión celular con ácido acético al 60% y se colocaron 10 ml de la suspensión celular en el portaobjetos y se colocó un cubreobjetos para realizar la homogenización mediante “squash”. El análisis de preparaciones se realizó en un microscopio de contraste de fases. A las preparaciones que presentaban cromosomas en metafase y núcleos en interfase, se les retiró el cubreobjetos para su uso en la técnica de GISH.

Marcaje de la sonda

Por su parte el marcaje de ADN genómico de *Aloe* se realizó por Nick Translation para la incorporación de DIG-11dUTP empleando el kit para marcaje con digoxigenina 'DIG DNA Labeling Kit', (Roche™). La incorporación se verificó mediante dot-blot de acuerdo con lo reportado por Robert *et al.*, (2008).

GISH de ADN genómico de Aloe

Las preparaciones seleccionadas que contenían núcleos en interfase y cromosomas en metafase de *Agave* híbrido fueron tratadas con 100 µg/ml de RNasa A, incubando durante 1 hora a 37°C con dos lavados posteriores con 2X SSC, durante 5 min. Transcurrido el tiempo, las preparaciones se incubaron en 10 mM de HCL por 5 min y posteriormente se incubaron con pepsina (10 µl/ml)

(SIGMA cat. P6887) a 37 °C por 15 min. Posteriormente fueron lavadas dos veces en 2X SSC por 5 min. Se fijaron en paraformaldehído 4% (p/v) (SIGMA cat. P6148), durante 10 min. Transcurrido el tiempo las preparaciones se lavaron dos veces en 2X SSC por 5 min y se deshidrataron con etanol a diferentes concentraciones 70%, 90% y 96%, por 3 min cada una, secando a temperatura ambiente. La desnaturalización de éstas se realizó incubando 2 minutos con 70% de formamida (v/v) (SIGMA cat. F5786) a 75°C. Inmediatamente a la desnaturalización, fueron deshidratadas en etanol al 70%, 90% y 96%, en hielo durante 5 min en cada paso.

A cada preparación se le aplicaron 40µl de la mezcla de hibridación compuesta de formamida 50% (v/v) (SIGMA cat. F5786), 2X SSC, 10% de Sulfato de Dextrano (p/v) (SIGMA cat. D8906), 0.17% de SDS y 100 ng del ADN genómico de *Aloe* con marcaje) previamente desnaturalizada a 75 °C durante 10 min y mantenida en hielo hasta su aplicación. Las preparaciones con la mezcla de hibridación se incubaron a 42 °C en cámara húmeda durante toda la noche. Posterior a la hibridación, se procedió a la detección de la sonda en donde las preparaciones fueron lavadas dos veces en 2X SSC por 5 min. Después de los lavados fueron colocadas por 5 min (una preparación a la vez) en una serie de 20% de formamida (v/v) y 2X SSC atemperadas a 42 °C a baño húmedo. Enseguida, las preparaciones se lavaron dos veces en 4X SSC y 0.2% (v/v) de tween 20 (SIGMA cat. P1379) durante 5 min.

Transcurrido el tiempo de lavados astringentes, a las preparaciones se les adicionó BSA 5% (p/v) (SIGMA cat. A2153) y se incubaron a 37 °C durante 20 min para posteriormente aplicar 5 µl (0.75U/µl) de estreptavidina acoplada con CY3 para la detección del ADN genómico de *Aloe vera*, y se incubó a 37°C durante una hora. Pasado el tiempo de detección, las preparaciones se lavaron dos veces en 4x SSC y 0.2% de tween 20 (v/v) (SIGMA cat. P1379). Las preparaciones se escurrieron y se aplicaron 30 µl (1.5 µg/ml) del medio de montaje Vectashield con DAPI (VECTOR cat. H-1200), un cubreobjetos fue colocado sobre la preparación y por último se mantuvo en oscuridad por 10 min. Las preparaciones fueron analizadas en un microscopio de epifluorescencia Carl Zeiss Axioplan y las imágenes se capturan mediante una cámara AxioCam MRm y el software AxioVision de Carl Zeiss.

Las imágenes fueron procesadas en los parámetros de curvas de nivel, brillo y contraste en el programa Photoshop versión 25.3.1.

RESULTADOS

En este trabajo, a partir de puntas de raíz colectadas a primeras horas de la mañana se obtuvieron tanto núcleos en interfase como cromosomas en metafase de *Agave* híbrido H11648 y en los cuales se analizó, mediante GISH el perfil de hibridación del genoma *Aloe*.

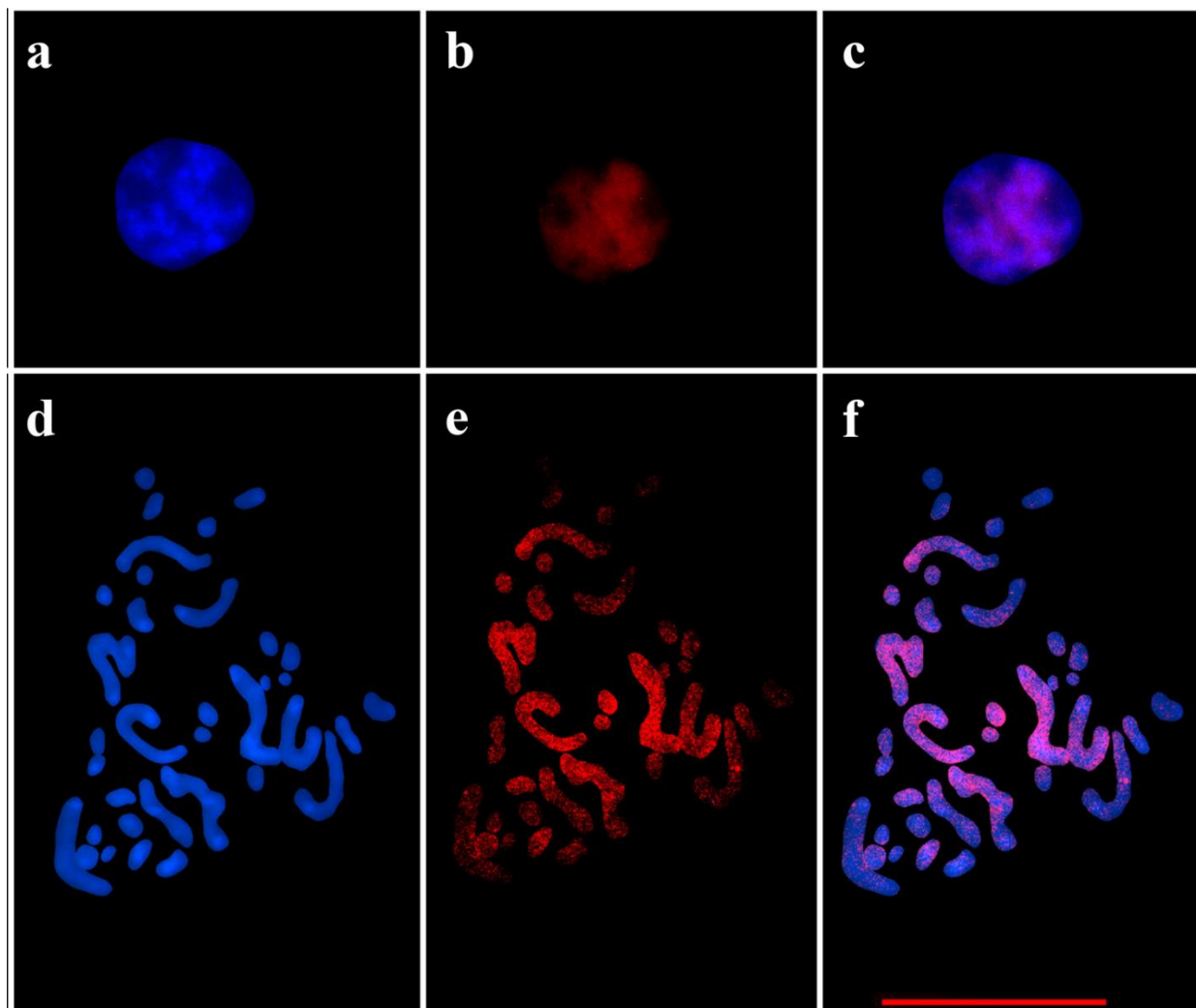


Figura 1. Hibridación genómica *in situ* de *Aloe vera* en *Agave* híbrido H11648. Paneles (a-c) hibridación genómica en células en interfase de *Agave* híbrido H11648 teñidas con DAPI (a), genoma de *Aloe vera* marcado con Cy3-rhodamina (b) e imágenes acopladas (c). Los paneles (d-f) muestran la hibridación genómica *in situ* de *Aloe vera* en cromosomas en metafase de *Agave* híbrido H11648: DAPI(d), genoma de *Aloe*-Cy3 (e), imágenes acopladas (f). La barra de escala representa 10 mm.

Figure 1. *In situ* genomic hybridization of *Aloe vera* on *Agave* hybrid H11648. Panels (a-c) genomic hybridization in interphase cells of *Agave* hybrid H11648 stained with DAPI (a), *Aloe vera* genome labeled with Cy3-rhodamine (b), and flattened images (c). Panels (d-f) show *in situ* genomic hybridization of *Aloe vera* on metaphase chromosomes of *Agave* hybrid H11648: DAPI (d), Aloe-Cy3 genome (e), flattened images (f). Scale bar represents 10 mm.

Para determinar la representatividad del genoma de otra especie con cariotipo bimodal en el genoma de agaves, se realizó la hibridación genómica *in situ* de *Aloe* tanto en núcleos en interfase (Figura 1 panel a-c), como en cromosomas en metafase (Figura 1 panel d-f) de *Agave* híbrido H11648. A partir de la localización genómica de *Aloe* se observó una hibridación (señales en color rojo) de éste en todas las regiones del genoma de *Agave* híbrido, observando una cobertura casi completa, aunque con ligeras diferencias en intensidad para algunas pequeñas regiones del genoma de *Agave* descondensado, en interfase (Figura 1c). Por su parte en cromosomas en metafase se aprecian sitios de hibridación (señales en rojo) a lo largo de los cromosomas tanto en el componente de cromosomas pequeños, como en el componente de cromosomas grandes, pero con hibridación en todos los cromosomas (Figura 1f) aunque con cobertura diferencial.

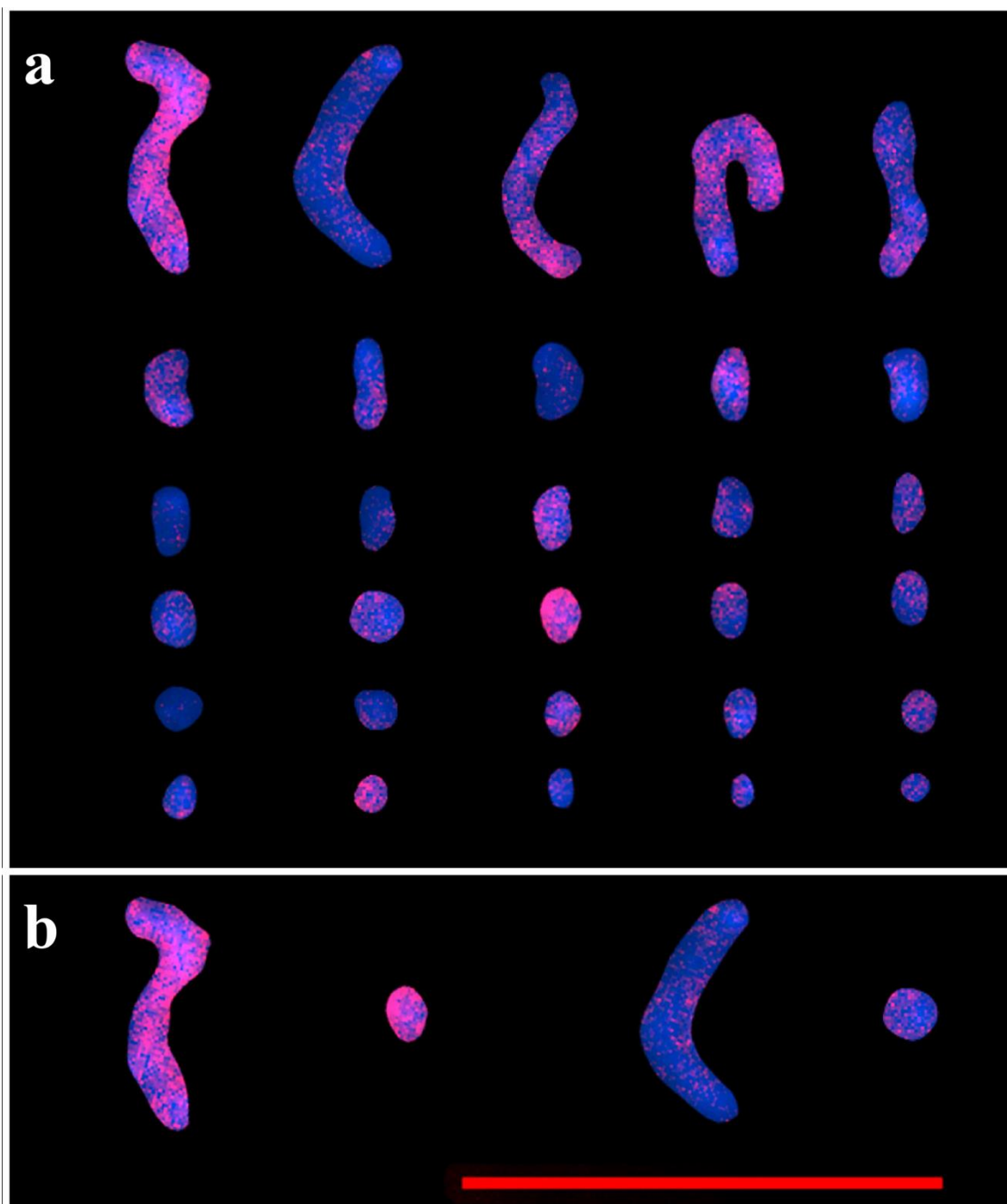


Figura 2. Perfil de hibridación genómica *in situ* del genoma de *Aloe vera* en el componente bimodal de *Agave* híbrido H11648. a) cromosomas en metafase de *Agave* teñidos con DAPI (azul) con hibridación genómica de *Aloe vera* marcado con Cy3 (Rosado). b) Comparativo de cobertura en cromosomas contrastantes seleccionados con relación al perfil de hibridación del genoma de *Aloe vera*. La barra de escala representa 10 mm.

Figure 2. *In situ* genomic hybridization profile of the *Aloe vera* genome in the bimodal component of hybrid *Agave* H11648. a) DAPI-stained *Agave* metaphase chromosomes (blue) with Cy3-labeled *Aloe vera* genomic hybridization (pink). b) Comparison of coverage on selected contrasting chromosomes with respect to the hybridization profile of the *Aloe vera* genome. The scale bar represents 10 mm.

El perfil específico de hibridación se presenta en una muestra de los cromosomas, seleccionando 5 grandes y 25 pequeños (Figura 2a), se observó perfiles de hibridación en los 30 cromosomas. En los cromosomas grandes se observó cobertura casi completa a lo largo de cada cromosoma, aunque con menor incidencia en las regiones teloméricas, en 3 de los 5 cromosomas y parcial en los dos restantes, mientras que en de los 25 cromosomas pequeños se observó una cobertura casi completa en 12 de ellos y parcial en los 13 cromosomas restantes.

La comparación de cobertura del genoma de *Aloe vera* en cromosomas de *Agave* híbrido H11648, de manera contrastante se presenta en la figura 2b, en la cual se comparan dos cromosomas grandes y dos pequeños con perfiles de hibridación diferencial, mientras que en uno grande y uno pequeño la cobertura es cercana al 90% del cromosoma total, el otro es cercano al 10%. El patrón de hibridación se aprecia distribuido a lo largo de los cromosomas, sin un perfil de hibridación específico aparente.

La presencia de hibridación en cromosomas en metafase o núcleos en interfase, evidencia de manera global la conservación de regiones comunes a ambos genomas, ello a pesar de la diferencia evolutiva de varios millones de años.

En otras especies, empleando GISH se ha podido identificar la parte del componente genómico de especies parentales donde claramente uno de los parentales hibrida en una parte de los cromosomas en metafase (Lee *et al.*, 2016). El perfil de hibridación observado en el presente trabajo, sugiere una gran conservación de los genomas evaluados y aporta evidencia que descarta, al menos parcialmente, la hipótesis de la hibridación de genomas como origen del cariotipo bimodal en agaves.

DISCUSIÓN

Mientras que las diferencias en el tamaño del genoma pueden surgir de duplicaciones o delección de ADN redundante o de la duplicación del genoma completo, hay casos de una forma especial de asimetría caracterizada por la presencia de dos conjuntos distintos de cromosomas de tamaño contrastante en un complemento cromosómico, es decir, un "cariotipo bimodal". Tales cariotipos bimodales pueden originarse ya sea por fusión que resulta en la formación de un gran conjunto de cromosomas a partir de diversos cromosomas pequeños o regiones de cromosomas específicos o por fisión que resulta del fraccionamiento de un cromosoma en nuevos cromosomas más pequeños o acumulación diferencial de cromosomas, secuencias repetitivas o por combinaciones aloploidoides de especies con diferentes tamaños cromosómicos (Baez *et al.*, 2019). Los cariotipos bimodales son comunes en familias de monocotiledóneas como Asphodelaceae (*Aloe*, *Haworthia* y *Gasteria*) y Agavaceae (*Agave*, *Yucca* y *Camassia*) (Weiss-Schneeweiss and Schneeweiss 2013).

Los resultados obtenidos en este trabajo con relación a la representatividad del genoma de *Aloe* en el genoma de *Agave*, tanto en cromosomas grandes como pequeños sugiere, de manera preliminar que el cariotipo bimodal no se obtuvo por la integración de dos genomas, tal como se ha reportado para los cariotipos bimodales de especies de espárragos, donde se plantea la hipótesis de un reordenamiento cromosómico que involucra eventos de fusión-fisión (Schubert and Lysak 2011).

El orden Asparagales, que incluye 14 familias tiene una edad estimada del grupo corona de aproximadamente 125.3 millones de años (Tank *et al.*, 2015) y una gran diversidad en tamaños de genoma en valor C que varían entre 0,3 y 82,2 pg (Leitch and Leitch 2013). El género *Aloe* L. pertenece a la familia Asphodelaceae que contiene alrededor de 940 especies y una edad aproximada de 45 a 63 millones de años y presenta una gran diversidad en tamaño y morfología de planta, aunque en su mayoría son diploides se ($2n=2x=14$). Sus especies muestran en general estabilidad en el cariotipo bimodal con una estructura básica haploide de un cromosoma grande, submetacéntrico tres cromosomas grandes acrocéntricos y tres cromosomas pequeños acrocéntricos (Brandham and Doherty 1998). El contenido de ADN reportado en valor C es cercano a los 20 pg por genoma haploide (Steele *et al.*, 2012), pero existen reportes de asimetría cariotípica en algunas especies del género (Gunjan and Roy, 2010). En el estudio reportado por

Jahan y colaboradores en (2014), se establece que los cromosomas de *Aloe vera* mostraron una longitud promedio de una población analizada en Pakistán que varió de 2.36 hasta 7.95 μm . Por su parte, el género *Agave*, de acuerdo a lo reportado por (Good-Avila *et al.*, 2006), es un género joven dentro de Asparagales con una edad estimada entre 7.8 y 10.1 millones de años con una constancia en su tamaño de genoma en valor C cercano a 4.2 pg de ADN por genoma haploide, que incrementa de manera casi proporcional con el nivel de ploidía (Gomez-Rodriguez *et al.*, 2013; Robert *et al.*, 2008) y todas sus especies presentan el cariotipo bimodal típico con número básico de 30 cromosomas, de los cuales 5 cromosomas son grandes y 25 cromosomas son pequeños (Castorena-Sánchez *et al.*, 1991; Robert *et al.*, 2008). Este género presenta una serie de ploidía desde diploide hasta octoploide manteniendo siempre la proporción del número básico y del cariotipo bimodal.

El perfil de hibridación presentado aquí muestra que el genoma de *Aloe*, una especie ancestral, está presente en los cromosomas de *Agave* tanto en el componente de cromosomas grandes como en los pequeños, observando algunos con hibridación casi completa de los cromosomas, a pesar de la distancia evolutiva de ambas familias. Este hecho es relevante y sugiere un mecanismo de conservación de una gran cantidad de información genética a lo largo de la evolución de ambas especies, lo cual contrasta con las diferencias observadas entre las especies de *Agave* y de *Aloe* al evaluar mediante hibridación fluorescente *in situ* la distribución de la región 5S y 45S en 13 especies de *Aloe*, se evidenció una conservación en localización intersticial en cromosomas grandes de la región 5S, en comparación con diferencias en el número, localización y tamaño de loci encontrado entre las especies analizadas en la región 45S (Adams *et al.*, 2000), posiblemente originados durante la especiación de *Aloe*. En contraste, a lo observado en *Agave* muestra que cada genoma haploide presenta un sitio 18S en cromosoma grande y un sitio 5S en cromosoma pequeño y su número aumenta de manera proporcional con el nivel de ploidía, en todas las especies de *Agave* analizadas (Robert *et al.*, 2008; Gomez-Rodriguez *et al.*, 2013).

Los géneros de *Agave* y *Aloe* están evolutivamente alejados con una divergencia superior a 27 millones de años (Bogler and Simpson 1996; Steele *et al.*, 2012), por lo cual es de suma importancia lo observado en el presente trabajo, toda vez que el perfil de hibridación del genoma de *Aloe* en el de *Agave* híbrido muestra presencia de sitios distribuidos a lo largo del genoma de *Agave*, sugiriendo conservación de regiones genómicas conservadas presentes en especies ancestrales anteriores a la divergencia evolutiva de éstas.

La divergencia estimada en géneros relacionadas a los agaves como *Yucca* se estimó en 20 millones de años, mientras que con *Camassia* o *Hesperaloe* se estimó en 25 millones de años y con *Hosta* en aproximadamente 27 millones de años (McKain *et al.*, 2016) y todas ellas presentan un cariotipo bimodal. Basado en análisis de filogenia, se ha reportado que *Aloe vera* compartió el ancestro reciente más común con las especies de Poales y Zingiberales, también dentro del orden Asparagales; siendo más cercano a los otros géneros suculentos como *Haworthia*, *Gasteria* y *Astroloba* (Chase *et al.*, 2016; Qian and Jin 2016) que con los agaves.

Lee *et al.* (2016) demostraron mediante GISH en un híbrido de *Aloe* con cariotipo bimodal, que la especie *A. arborescens* es el donador del genoma materno y el complemento proviene de *A. vera*, lo cual se observó mediante el patrón de hibridación genómica en solamente algunos de los cromosomas del cariotipo. En contraste con este reporte, nuestros resultados mostraron presencia del componente genómico de *Aloe vera* en todos los cromosomas de *Agave* híbrido a lo largo del cariotipo bimodal.

Se ha reportado en angiospermas, que la hibridación ancestral es una fuerza evolutiva importante que desempeña un papel destacado en los mecanismos de especiación (Stull *et al.*, 2023). Por su parte la diversidad cromosómica puede surgir de alteraciones a través de translocaciones intragenómicas, inversiones pericéntricas y fusión/fisión, que pueden afectar o no el tamaño del genoma (Vimala *et al.*, 2021). La diferencia en el tamaño del genoma haploide entre *Agave* (4.2 pg) y *Aloe* (19 pg) es de casi 4 veces, posiblemente derivado de la contribución de las regiones repetidas como satélites y retroelementos que provocan el incremento del genoma.

El mayor impacto en la variación del tamaño del genoma en las plantas, así como en todos los eucariotas, parece haber sido la amplificación/eliminación de secuencias repetitivas, especialmente elementos móviles (Wang *et al.*, 2021a). El número de secuencias repetitivas difiere significativamente entre las especies, y el contenido promedio de secuencias repetitivas en las plantas oscila entre el 14% y el 90%. La mayoría (más del 75%) de este contenido repetitivo

se identificó como elementos móviles (Elliott and Gregory, 2015; Vondrak *et al.*, 2020). Se ha reportado que las regiones repetidas en especies como *Allium* (Pearce *et al.*, 1996) y *Agave* (Ramos *et al.*, 2023), *Zea* (Sharma and Presting, 2008), entre otros, puede rondar del 60 al 90% del genoma total. Como complemento a este trabajo sería importante el aislamiento de familias de retroelementos presentes en especies ancestrales para determinar su contribución al tamaño del genoma de los agaves.

GISH ha sido ampliamente utilizado para determinar el componente ancestral/parentales de híbridos o especies alopoliploides (Markova and Vyskot, 2009), como *Arabidopsis* (Ali *et al.*, 2004), *Brassica* (Hasterok *et al.*, 2005), *Trifolium* (Ullah *et al.*, 2022), *Coffea* (Herrera *et al.*, 2012), *Gossypium* (Wu *et al.*, 2013), *Nicotiana* (Shibata *et al.*, 2013), *Tragopogon* (Chester *et al.*, 2015), y *Triticum* (Wang *et al.*, 2021b), entre otros. La diferenciación exitosa de los subgenomas en los cromosomas y los núcleos de interfase de los poliploides a través de GISH depende en gran medida de la presencia de secuencias repetitivas específicas del genoma (Kato *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

La presencia y cobertura de hibridación del ADN de una especie ancestral como *Aloe vera* en cromosomas en metafase o núcleos en interfase de agave, evidencia de manera global la conservación de regiones comunes a ambos genomas, descartando la teoría de la hibridación genómica como origen del cariotipo bimodal. Lo anterior es relevante ya que el género *Agave* L. es un género joven dentro de asparagales con una edad estimada entre 7.8 y 10.1 millones que incluye más de 290 especies (Good-Avila *et al.*, 2006), todas ellas con cariotipo bimodal conservado de 30 cromosomas en genoma haploide que consiste en 5 cromosomas grandes y 25 cromosomas pequeños. Por su parte *Aloe* L. pertenece a la familia asphodelaceae que contiene alrededor de 940 especies y una edad aproximada de 45 a 63 millones de años y hasta el momento se desconoce el origen del cariotipo bimodal en los agaves. La información generada en esta investigación de manera directa sugiere que el cariotipo bimodal en agaves puede ser originado por fusiones y fisiones más que por alopoliploidía de especies ancestrales. Hasta nuestro conocimiento, este es el primer reporte empleando GISH para estudiar el origen del cariotipo bimodal en agaves.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONAHCYT por la beca postdoctoral de MJGC CVU 591024 y por el proyecto CF-2023-1-1877; agradecen además al IQ Felipe Barredo Pool por el apoyo técnico brindado en microscopia de epifluorescencia.

LITERATURA CITADA

- Adams, S.P., I.J. Leitch, M.D. Bennet, M.W. Chase, A.R. Leitch. (2000). Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (Asphodelaceae). *Am J Bot* 87 (11):1578-1583. <https://doi.org/10.2307/2656733>
- Ali, H.B.M., M.A. Lysak, I. Schubert. (2004). Genomic *in situ* hybridization in plants with small genomes is feasible and elucidates the chromosomal parentage in interspecific *Arabidopsis* hybrids. *Genome* 47 (5):954-960. <https://doi.org/10.1139/g04-041>
- Baez, M., M. Vaio, S. Dreissig, V. Schubert, A. Houben, A. Pedrosa-Harand. (2019). Together But Different: The Subgenomes of the Bimodal Eleutherine Karyotypes Are Differentially Organized. *Front Plant Sci* 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01170>
- Bogler, D.J., B.B. Simpson. (1996). Phylogeny of Agavaceae based on ITS rDNA sequence variation. *Am J Bot* 83 (9):1225-1235. <https://doi.org/10.2307/2446206>

- Brandham, P.E., M.J. Doherty. (1998). Genome size variation in the Aloaceae, an angiosperm family displaying karyotypic orthoselection. *Ann Bot-London* 82:67-73. <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0742>
- Carter, S. (1994). *Flora of Tropical East Africa - Aloaceae* (1994). Royal Botanic Gardens K. Taylor & Francis.
- Castorena-Sánchez, I., R.M. Escobedo, A. Quiroz. (1991). New cytotaxonomical determinants recognized in six taxa of *Agave* in the sections Rigidae and Sisalanae. *Canadian Journal of Botany* 69 (6):1257-1264. <https://doi.org/10.1139/b91-163>
- Chase, M.W., M. Christenhusz, M. Fay, J. Byng, W.S. Judd, D. Soltis, D. Mabberley, A. Sennikov, P.S. Soltis, P.F. Stevens. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical journal of the Linnean Society* 181 (1):1-20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Chester, M., R.K. Riley, P.S. Soltis, D.E. Soltis. (2015) Patterns of chromosomal variation in natural populations of the neoallotetraploid *Tragopogon mirus* (Asteraceae). *Heredity* 114 (3):309-317. <https://doi.org/10.1038/hdy.2014.101>
- Eguiarte, L.E., M.R. Duvall, G.H. Learn Jr., and M.T. Clegg. (1994) The systematic status of the Agavaceae and Nolinaceae and related Asparagales in the Monocotyledons: An analysis based on the *rbcL* gene sequence. *Botanical Sciences* (54): 35-56. <https://doi.org/10.17129/botsci.1427>
- Elliott, T.A., T.R. Gregory. (2015) What's in a genome? The C-value enigma and the evolution of eukaryotic genome content. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370 (1678):20140331. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0331>
- Gomez-Rodriguez, V.M., B. Rodriguez-Garay, G. Palomino, J. Martinez, R. Barba-Gonzalez. (2013). Physical mapping of 5S and 18S ribosomal DNA in three species of *Agave* (Asparagales, Asparagaceae). *Comp Cytogenet* 7 (3):191-203. doi:10.3897/CompCytogen.v7i3.5337
- Good-Avila, S.V., V. Souza, B.S. Gaut, L.E. Eguiarte. (2006). Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103 (24):9124-9129. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603312103>
- Gunjan, K., B.K. Roy. (2010). Karyotype studies in dominant species of *Aloe* from eastern India. *Caryologia* 63 (1):41-49. <https://doi.org/10.1080/00087114.2010.10589707>
- Halpin, K.M., M. Fishbein. (2013). A Chloroplast Phylogeny of Agavaceae subfamily Chlorogaloideae: Implications for the Tempo of Evolution on Serpentine Soils. *Syst Bot* 38 (4):996-1011. <https://doi.org/10.1600/036364413x674850>
- Hasterok, R., T. Ksiazczyk, E. Wolny, J. Maluszynska. (2005). FISH and GISH analysis of genomes. *Acta Biol Cracov Bot* 47 (1):185-192
- Herrera, J.C., J.V. Romero, G.C. Camayo, C.M. Caetano, H.A. Cortina. (2012). Evidence of Intergenomic Relationships in Triploid Hybrids of Coffee (*Coffea* sp.) as Revealed by Meiotic Behavior and Genomic *in situ* Hybridization. *Trop Plant Biol* 5 (3):207-217. <https://doi.org/10.1007/s12042-012-9105-x>
- Humphreys, M.W., H.M. Thomas, W.G. Morgan, M.R. Meredith, J.A. Harper, H. Thomas, Z. Zwierzykowski, M. Ghesquiere. (1995). Discriminating the Ancestral Progenitors of Hexaploid *Festuca-Arundinacea* Using Genomic *in-Situ* Hybridization. *Heredity* 75:171-174. <https://doi.org/10.1038/hdy.1995.120>
- Jahan, B., A.A. Vahidy, R. Saeed, A.A. Mirbahar. (2014). Karyological Studies in Ten Different Populations of Desert Lily *Aloe Vera* from Pakistan. *Pak J Bot* 46 (5):1731-1734
- Kato, A., J.M. Vega, F. Han, J.C. Lamb, J.A. Birchler. (2005). Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques. *Curr Opin Plant Biol* 8 (2):148-154. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.01.014>
- Lee, Y.S., H.M. Park, N.H. Kim, N.E. Waminal, Y.J. Kim, K.B. Lim, J.H. Baek, H.H Kim, T.J. Yang. (2016). Phylogenetic relationship of 40 species of genus *Aloe* L. and the origin of an allodiploid species revealed by nucleotide sequence variation in chloroplast intergenic space and cytogenetic *in situ* hybridization. *Genet Resour Crop Ev* 63 (2):235-242. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0243-5>
- Leitch, I.J., A.R. Leitch. (2013). Genome Size Diversity and Evolution in Land Plants. In: Greilhuber J, Dolezel J, Wendel JF (eds) *Plant Genome Diversity Volume 2: Physical*

- Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes. Springer Vienna, Vienna, pp 307-322. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4_19
- Magallón, S., A. Castillo. (2009). Angiosperm diversification through time. *Am J Bot* 96 (1):349-365. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800060>
- Markova, M., B. Vyskot. (2009). New Horizons of Genomic *in situ* Hybridization. *Cytogenet Genome Res* 126 (4):368-375. <https://doi.org/10.1159/000275796>
- McKain, M.R., J.R. McNeal, P.R. Kellar, L.E. Eguiarte, J.C. Pires, J. Leebens-Mack. (2016). Timing of rapid diversification and convergent origins of active pollination within Agavoideae (Asparagaceae). *Am J Bot* 103 (10):1717-1729. <https://doi.org/10.3732/ajb.1600198>
- McKain, M.R., N. Wickett, Y. Zhang, S. Ayyampalayam, W.R. McCombie, M.W. Chase, J.C. Pires, C.W. dePamphilis, J. Leebens-Mack. (2012). Phylogenomic Analysis of Transcriptome Data Elucidates Co-Occurrence of a Paleopolyploid Event and the Origin of Bimodal Karyotypes in Agavoideae (Asparagaceae). *Am J Bot* 99 (2):397-406. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100537>
- Pearce, S.R., U. Pich, G. Harrison, A.J. Flavell, J.S. Heslop-Harrison, I. Schubert, A. Kumar. (1996). The Ty1-copia group retrotransposons of *Allium cepa* are distributed throughout the chromosomes but are enriched in the terminal heterochromatin. *Chromosome Res* 4 (5):357-364. <https://doi.org/10.1007/bf02257271>
- Qian, H., Y. Jin. (2016). An updated megaphylogeny of plants, a tool for generating plant phylogenies and an analysis of phylogenetic community structure. *J Plant Ecol* 9 (2):233-239. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtv047>
- Ramos, L.C., M. Baez, J. Fuchs, A. Houben, R. Carvalho, A. Pedrosa-Harand. (2023). Differential Repeat Accumulation in the Bimodal Karyotype of *Agave* L. *Genes* 14 (2). <https://doi.org/10.3390/genes14020491>
- Rey, M.D., G. Moore, A.C. Martín. (2018). Identification and comparison of individual chromosomes of three accessions of *Hordeum chilense*, *Hordeum vulgare*, and *Triticum aestivum* by FISH. *Genome* 61 (6):387-396. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0016>
- Robert, M.L., K.Y. Lim, L. Hanson, F. Sanchez-Teyer, M.D. Bennett, A.R. Leitch, I.J. Leitch. (2008). Wild and agronomically important *Agave* species (Asparagaceae) show proportional increases in chromosome number, genome size, and genetic markers with increasing ploidy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 158 (2):215-222. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2008.00831.x>
- Schubert, I., M.A. Lysak. (2011). Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural constraints. *Trends Genet* 27 (6):207-216. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2011.03.004>
- Sharma, A., G.G. Presting. (2008). Centromeric retrotransposon lineages predate the maize/rice divergence and differ in abundance and activity. *Mol Genet Genomics* 279 (2):133-147. <https://doi.org/10.1007/s00438-007-0302-5>
- Shibata, F., K. Nagaki, E. Yokota, M. Murata. (2013). Tobacco karyotyping by accurate centromere identification and novel repetitive DNA localization. *Chromosome Res* 21 (4): 375-381. <https://doi.org/10.1007/s10577-013-9363-y>
- Steele, P.R., K.L. Hertweck, D. Mayfield, M.R. McKain, J. Leebens-Mack, J.C. Pires. (2012). Quality and quantity of data recovered from massively parallel sequencing: Examples in Asparagales and Poaceae. *Am J Bot* 99 (2): 330-348. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100491>
- Stull, G.W., K.K. Pham, P.S. Soltis, D.E. Soltis. (2023). Deep reticulation: the long legacy of hybridization in vascular plant evolution. *The Plant Journal* 114 (4): 743-766. <https://doi.org/10.1111/tpj.16142>
- Tank, D.C., J.M. Eastman, M.W. Pennell, P.S. Soltis, D.E. Soltis, C.E. Hinchliff, J.W. Brown, E.B. Sessa, I.J. Harmon. (2015). Nested radiations and the pulse of angiosperm diversification: increased diversification rates often follow whole genome duplications. *New Phytol* 207 (2):454-467. <https://doi.org/10.1111/nph.13491>
- Ullah, I., H.A. Ansari, I.M. Verry, S.W. Hussain, N.W. Ellison, M.T. McManus, W.M. Williams. (2022). Introgression of *Trifolium ambiguum* Into Allotetraploid White Clover

Recibido:
10/septiembre/2024

Aceptado:
4/junio/2025

- (*Trifolium repens*) Using the Ancestral Parent *Trifolium occidentale* as a Bridging Species. Front Plant Sci 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.858714>
- Vimala, Y., S. Lavania, UC. Lavania. (2021). Chromosome change and karyotype differentiation-implications in speciation and plant systematics. Nucleus Calcutta 64 (1):33-54. <https://doi.org/10.1007/s13237-020-00343-y>
- Vondrak, T., L.A. Robledillo, P. Novak, A. Koblizkova, P. Neumann, J. Macas. (2020). Characterization of repeat arrays in ultra-long nanopore reads reveals frequent origin of satellite DNA from retrotransposon-derived tandem repeats. Plant J 101 (2):484-500. <https://doi.org/10.1111/tbj.14546>
- Wang, Q., Y. Wang, J.H. Wang, Z. Gong, G.Z. Han. (2021a). Plants acquired a major retrotransposon horizontally from fungi during the conquest of land. New Phytol. <https://doi.org/10.1111/nph.17568>
- Wang, Y.J., S.W. Wang, X.J. Jia, Z.R. Tian, Y.F. Wang, C.Y. Wang, H. Zhang, X.L. Liu, J.X. Zhao, P.C. Deng, W.Q. Ji. (2021b) Chromosome karyotype and stability of new synthetic hexaploid wheat. Mol Breeding 41 (10). <https://doi.org/10.1007/s11032-021-01253-w>
- Weiss-Schneeweiss, H, G.M Schneeweiss. (2013). Karyotype Diversity and Evolutionary Trends in Angiosperms. In: Greilhuber J, Dolezel J, Wendel JF (eds) Plant Genome Diversity Volume 2: Physical Structure, Behaviour and Evolution of Plant Genomes. Springer Vienna, Vienna, pp 209-230. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4_13
- Wu, Y.X., J.H. Chen, Q.L. He, S.J. Zhu. (2013). Parental origin and genomic evolution of tetraploid species by molecular marker and GISH analyses. Caryologia 66 (4):368-374. <https://doi.org/10.1080/00087114.2013.857830>
- Yu-xiang, W., C. Jin-hong, H. Qiu-ling, Z. Shui-jin. (2013). Parental origin and genomic evolution of tetraploid *Gossypium* species by molecular marker and GISH analyses. Caryologia 66 (4):368-374. <https://doi.org/10.1080/00087114.2013.857830>