

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
Facultad de Ingeniería y Tecnología de la Madera
Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera



T E S I S

Identificación molecular de dos especies vegetales
del género *Ageratina* Spach (Asteraceae: Eupatorieae)

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestro en Ciencias y Tecnología de la Madera

PRESENTA:

Q.F.B. Daniel Soto Rangel

ASESOR:

D.C. David Raya González

CO-ASESORES:

D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco
D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres



Este trabajo se realizó en un esquema de vinculación académica y de investigación entre los laboratorios de Preservación de la Madera de la Facultad de Ingeniería de la Madera y los laboratorios de Química de los Productos Naturales, Fisiología Celular y Metabólica del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas dependencias pertenecientes a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo así como el laboratorio de Biotecnología Microbiana perteneciente a la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato. Los responsables son los Doctores en Ciencias David Raya González, Rosa Elva Norma del Río Torres, Mauro Manuel Martínez Pacheco y Ma. Teresa Vieyra Hernández, respectivamente. Para su realización se contó con el apoyo de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH y CONACyT.





*Queda prohibido llorar sin aprender,
levantarte un día sin saber qué hacer,
tener miedo a tus recuerdos.*

*Queda prohibido no sonreír a los problemas,
no luchar por lo que quieres,
abandonarlo todo por miedo,
no convertir en realidad tus sueños.*

Fragmentos de Pablo Neruda





DEDICATORIA

Al ser omnipresente, que llamamos por sus diferentes nombres según la ideología religiosa personal, por darme la oportunidad de despertar cada mañana y tener a mi lado a las personas que amo.

A mi Madre, Catalina Rangel Román, por sus consejos, valores y por enseñarme a ser dedicado, constante y responsable, características que me han permitido ser una persona de bien; pero sobre todo por su amor incondicional.

A mi Padre, José Guadalupe Soto Valencia, por sus ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan los cuales ha cultivado en mí siempre, por el valor mostrado para salir adelante y de una forma silenciosa demostrarme su inmenso amor.

A mi Novia, Mariana Elizabeth Velázquez Suárez, por acompañarme siempre y ser parte importante y fundamental en esta loca aventura de mi vida.

“No debemos tener miedo de cuestionarnos... Hasta los planetas chocan y del caos nacen las estrellas”

Charles Chaplin





AGRADECIMIENTOS

“Hay momentos en la vida que tú sabes quién es importante para ti, quién nunca lo fue, quién ya no lo es y quién lo será siempre”

Institucionales

A la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería y Tecnología de Madera de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por brindarme la oportunidad de pertenecer a su distinguido programa de Maestría en Ciencias.

Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por la colaboración y los medios para realizar este proyecto y culminar esta etapa de mi formación Profesional y Académica, en particular al laboratorio de Fisiología Celular y Metabólica.

A la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato por permitirme realizar una estancia de investigación y facilitarme el uso de sus instalaciones, equipo, material y recursos humanos para realizar los experimentos de la parte molecular de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la Beca Nacional No. 249549 otorgada durante el periodo Sep11-Feb13 así como la Beca Mixta para Movilidad Nacional No. 290673 correspondiente al periodo Ago12-Dic12 para la realización de mi Estancia en la Universidad de Guanajuato.

Personales

Al D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco por considerarme parte de su equipo de trabajo, por su paciencia, dirección y asesoría. Por seguir cultivando en mí el interés en este mundo apasionante de la investigación.

A la D.C. Ma. Teresa Vieyra Hernández por su valioso apoyo en las técnicas moleculares así como por su dedicación académica y personal durante mi estancia en la Universidad de Guanajuato, pero sobre todo por su valiosa amistad.





Al D.C. David Raya González por aceptarme para la colaboración de este proyecto y por todos los consejos brindados durante estos dos años.

A la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres por las facilidades proporcionadas para realizar las colectas de las especies vegetales así como haberme proporcionado los especímenes herborizados.

Al M.C. Alberto Flores García por la paciencia y apoyo incondicional dentro del laboratorio, por que más que el Técnico te considero un amigo, simplemente el laboratorio sin ti no tendría esa magia.

Al D.C. Pablo Albarrán López por el apoyo y eficiencia en los trámites durante mi desarrollo en esta Maestría en Ciencias.

A Liliana Lizett Llanas Resendiz, Coordinadora de la Unidad de Relaciones Interinstitucionales de la DICIVA Campus Irapuato-Salamanca de la UG, por la atención personal durante mi estancia en esta institución.

A mi abuelita, Rosalina Valencia Ochoa, por su apoyo moral e incondicional.; a mi hermano, Uriel Alejandro, y a mi sobrino, Kevin Alejandro, por ser parte importante de mi vida así como a la Sra. Florencia Dolores Suárez García por darle vida a la mujer que me acompaña todos los días.

A las personas que considero mis amigos incondicionales les agradezco todas esas aventuras que hemos vivido juntos: Jesús Tejeda Cárdenas, Julio César Pardo Novoa y Jorge Arturo Mejía Barajas.

A mis compañeros de generación de Maestría (2011-2013): María Josefa, Ana Cristina, Marisol, Anayantzi y Edgar.

A mis compañeros y amigos que hacen grato el tiempo de trabajo en laboratorio: M.C. Edgar, M.C. César Bonifacio, M.C. María Eugenia, M.C. Mariana, M.C. Rosa María, Biol. Raúl, Clemen, Yanín, Fátima, Nataly, Mónica, Mariela, Ana, Alejandra, Evelin, Angélica, Celeste, Nadia, Hugo, Luis, Julio, Rafa y Roberto.





RESUMEN

El número de especies asignadas a *Eupatorium* L. (Asteraceae: Eupatorieae) ha incrementado en los últimos años a más de 500, resultando en un grupo taxonómicamente difícil de manejar por lo que la similitud morfológica entre las especies vegetales de este género en ocasiones dificulta su identificación por métodos tradicionales tal es el caso específico de *E. cardiophyllum* y *E. lasioneuron* las cuales no han sido ampliamente reconocidas por ser especies diferentes a pesar de que de ellas se han aislado compuestos diferentes de los mismos órganos vegetales. Se ha reportado la reclasificación de algunas especies de *Eupatorium* mediante la relocalización taxonómica de muchas especies de éste a otros géneros, principalmente a *Ageratina* Spach. En este trabajo se realizó una identificación a nivel de género mediante descripción macro y micromorfológica, análisis estadísticos entre caracteres morfométricos de hoja y de flor y análisis moleculares de las secuencias de los espacios transcritos internos (ITS) y de los genes 18S y 26S de la región nuclear ribosomal del DNA entre dos especies vegetales. Por último se realizó un análisis filogenético entre las secuencias de las tres regiones del nrDNA de ambas especies con secuencias reportadas para la Tribu Eupatorieae. Los resultados del análisis multivariante de los datos de hoja analizados muestran diferencias significativas entre las especies analizadas mientras que los caracteres de flor se observó una similitud entre ellas. A partir de la descripción morfológica y mediante el uso de claves dicotómicas se logró identificar ambas especies dentro del género *Eupatorium* no pudiendo llegar a nivel de especie, ambas poseen una morfología similar en la mayoría de sus caracteres, sin embargo algunas características morfológicas son compartidas con especies de *Ageratina* por lo que es controversial poder elucidar al género que pertenecen utilizando solamente datos morfológicos. Los datos moleculares proveen una fuerte evidencia de que: **(1)** estas especies poseen un parentesco molecular muy estrecho, lo que concuerda con los datos morfológicos y morfométricos, **(2)** son especies molecularmente diferentes y **(3)** pertenecen al género *Ageratina* y no a *Eupatorium*. Para seguir apoyando los resultados moleculares obtenidos continuaremos analizando secuencias DNA de cloroplastos y de genes que codifican para proteínas.

Palabras clave: Molecular, morfología, similitud, secuencia, especie transcrito interno, filogenia, *Eupatorium*, *Ageratina*.





ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
i. Ecosistemas de México	5
ii. Vegetación en Michoacán.....	7
iii. Tipos de plantas.....	8
iv. Árboles y arbustos	9
v. Recursos forestales no maderables (rfnm).....	10
a. Clasificación	11
b. Importancia	11
vi. Generalidades de la familia Asteraceae	12
a. Asteraceae en México.....	15
vii. Tribus, géneros y especies de Asteraceae	17
viii. Género <i>Eupatorium</i>	21
b. Características botánicas	25
c. Fitoquímica	30
III. OBJETIVOS	33
i. General.....	34
ii. Particulares.....	34
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	35
i. Estrategia experimental	36
VIII. PERSPECTIVAS	37
IX. BIBLIOGRAFÍA	39
X. ANEXOS	51





ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flujo de materia y energía dentro de un ecosistema.	5
Figura 2. Distribución de los ecosistemas de México.	6
Figura 3. Principales tipos de vegetación en Michoacán. Tomado de Cué-Bär <i>et al.</i> , (2006).	8
Figura 4. Distribución de la familia Asteraceae. El territorio habitado por las.....	13
Figura 5. Inflorescencia de las Compuestas: A) Capítulo y B) Flores.	14
Figura 6. Árbol filogenético de Asteraceae y familias relacionadas con edades estimadas de acuerdo a los métodos NPRS. Tomado de Kim <i>et al.</i> (2005).	20
Figura 7. Segmento del “Árbol grande” mostrando a la tribu Eupatorieae como un grupo bien definido dentro de la supertribu Helianthodea. El árbol deriva de datos de ITS localizados en GenBank.g.....	21
Figura 8. Distribución biogeográfica de <i>Eupatorium</i> sp. en Michoacán. El área sombreada corresponde al territorio en Michoacán donde <i>Eupatorium</i> spp ha sido colectado durante aproximadamente 100 años. Tomado de García-Sánchez <i>et al.</i> (2011).	23
Figura 9. Árbol filogenético obtenido del análisis de máxima parsimonia de datos de sitio restricción de cpDNA para algunos miembros de la tribu Eupatorieae. Tomado de Schilling <i>et al.</i> (1999).	26
Figura 10. Árbol filogenético de <i>Eupatorium</i> basado en secuencias de ITS de nrDNA y RFLP de cpDNA, donde se muestran algunas especies nativas de América. Tomado de Ito <i>et al.</i> (2000) ...	27
Figura 11. Árbol filogenético obtenido del análisis parsimonioso de datos ITS de <i>Eupatorium</i> Tomado de Schilling <i>et al.</i> (2007).	28
Figura 12. Árbol filogenético obtenido del análisis Bayesiano de datos ITS de <i>Eupatorium</i> Tomado de Schilling (2011).	29
Figura 17. Diagrama de la estrategia experimental.	36
Figura 50. Grupos monofiléticos. De acuerdo con el concepto filogenético de especie, cualquier .	55
Figura 51. Regiones del nrDNA y oligonucleótidos que las amplifican.....	61
Figura 52. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales. calculado mediante el método estadístico de ME.	66
Figura 53. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales. calculado mediante el método estadístico de UPGMA.	66
Figura 54. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales. calculado mediante el método estadístico de MP.	67
Figura 55. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales. calculado mediante el método estadístico de ML.....	67
Figura 56. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 18S del nrDNA de la familia Asteraceae. calculado mediante el método estadístico de ME.....	68
Figura 57. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 18S del nrDNA de la familia Asteraceae. calculado mediante el método estadístico de MP.....	69
Figura 58. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 18S del nrDNA de la familia Asteraceae. calculado mediante el método estadístico de ML.	70
Figura 59. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género <i>Eupatorium</i> calculado mediante el método estadístico de NJ.	71
Figura 60. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del género <i>Eupatorium</i> calculado mediante el método estadístico de ME.	71





Figura 61. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de UPGMA..... 72

Figura 62. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de MP. 72

Figura 63. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de ML..... 73

Figura 64. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de NJ. 73

Figura 65. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ME. 74

Figura 66. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de UPGMA..... 74

Figura 67. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de MP. 75

Figura 68. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ML..... 75

Figura 69. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de NJ. 76

Figura 70. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ME. 76

Figura 71. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de UPGMA..... 77

Figura 72. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de MP. 77

Figura 73. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ML..... 78

Figura 74. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de NJ. 79

Figura 75. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de ME. 80

Figura 76. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de MP. 81

Figura 77. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de ML..... 82





ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Extensión de los ecosistemas de México (CONABIO, 2011).	6
Cuadro 2. Tipos vegetación y extensión territorial en Michoacán.	7
Cuadro 3. Recursos forestales no maderables.	10
Cuadro 4. Familias de Magnoliophyta en México.	15
Cuadro 5. Número de géneros nativos de Asteraceae por tribu en los distintos continentes o partes de continentes. Tomado de Bremer (1994).	18
Cuadro 6. División taxonómica del género <i>Eupatorium</i> . Modificado de Castelo <i>et al.</i> (2003-2005). 22	
Cuadro 7. Número de especies de <i>Eupatorium</i> relocalizadas en Michoacán.	25
Cuadro 8. Compuestos aislados de especies de <i>Eupatorium</i> . Modificado de Zhang <i>et al.</i> (2008).. 31	
Cuadro 9. Estructuras químicas aisladas de plantas de <i>Eupatorium</i> spp.	32
Cuadro 26. Conceptos de especie. Para una revisión más extensa puede consultarse de Queiroz (1998).	54





ABREVIATURAS

®	Marca registrada (del inglés: <i>Registered</i>)
°C	Grados centígrados
µM	Micromolar
18S	Subunidad ribosomal 18S (eucariotas)
28S	Subunidad ribosomal 28S (eucariotas)
5.8S	Subunidad ribosomal 5.8S
BLAST	Herramienta de búsqueda de alineamiento básico local (del inglés: <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>)
C:I	Cloroformo:alcohol isoamílico
Cinvestav	Centro de Investigaciones de Estudios Avanzados
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
DDBJ	Banco de Datos de DNA de Japón (del inglés: <i>DNA Data Bank of Japan</i>)
DIECA	Ácido dietilditiocarbámico (del inglés: <i>diethyldithiocarbamic acid</i>)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Trifosfato desoxirribonucleótido
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético (del inglés: <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
EMBL-EBI	Laboratorio de Biología Molecular Europea del Instituto de Bioinformática Europeo (del inglés: <i>European Molecular Biology Laboratory-European Bioinformatics Institute</i>)
<i>et al.</i>	Y otros (del latín: <i>et alii</i>)
EtOH	Etanol
F:C	Fenol:cloroformo
F:C:I	Fenol:cloroformo:alcohol isoamílico
HCl	Ácido clorhídrico ó cloruro de hidrógeno
IGS	Regiones de espacios intergénicos (del inglés: <i>intergenic spacer regions</i>)
ITS	Espacio transcrito interno (del inglés: <i>internal transcribed spacer</i>)
Kb	Kilobases
KCl	Cloruro de calcio
KDa	Kilodaltones
L	Litros
Langebio	Laboratorio Nacional de Genética y Biodiversidad
LSU	Subunidad mayor (del inglés: <i>Large subunit</i>)
M	Molaridad





ME	Mínima evolución (del inglés: Minimum evolution)
MgCl₂	Cloruro de magnesio
min	Minutos
mL	Mililitros
ML	Máxima probabilidad (del inglés: Maximum likelihood)
mM	Milimolar
MP	Máxima parsimonia (del inglés: Maximum parsimony)
MQ	Mili-Q
NaCl	Cloruro de sodio
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica (del inglés: <i>National Center Biotechnologic Information</i>)
NJ	Vecino más cercano (del inglés: Neighbor-Joining)
nom. cons.	Nombre conservado
NPRS	Emparejamiento de tasas no paramétricos (del inglés: <i>Non parametric Rate Smoothig</i>)
NTS	Espacio no transcrito (del inglés: <i>non-transcribed spacer</i>)
OD	Densidad óptica (del inglés: <i>optical density</i>)
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés: <i>Polymerase chain reaction</i>)
PORTA	
ps	Posible
PVP-40	Polivinil pirrolidona (del número 40)
RFLP	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (del inglés: <i>Restriction fragment length polymorphism</i>)
RFNM	Recursos forasteros no maderables
RNA	Ácido ribonucleico (del inglés: <i>Ribonucleic acid</i>)
RNasa	Ribonucleasa
rpm	Revoluciones por minuto
SDS	Sulfato dodecil de sodio
seg	Segundos
Semarnap	Secretaría de medio ambiente, recursos naturales y pesca
Semarnat	Secretaría de medio ambiente y recursos naturales
sp.	Especie (desconocida)
spp.	Especies (conocidas)
SSU	Subunidad ribosomal menor (del inglés: <i>Small subunit</i>)
Sup.	Superficie
TAE	Tris-acetato-EDTA
TBE	Tris-borato-EDTA





TE	Tris-EDTA
TENS	Tris-HCl- EDTA-NaCl-SDS
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
U	Unidades
UPGMA	Método no ponderado de grupo par con media aritmética (del inglés: Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages)
µg	Microgramos
µL	Microlitros
SS	Suma de cuadrados (del inglés: sum of squares)
MS	Cuadrado medio (del inglés: medium square)
DF	Grados de libertad (del inglés: degree of freedom)
F	Estadístico F
p	Probabilidad
PCA	Análisis de componentes principales (del inglés: principal components analysis)
CA	Análisis de correspondencia (del inglés: correspondence analysis)
ANOVA	Análisis de varianza (del inglés: analysis of variance)
RI	Índice de retención (del inglés: retention index)
CI	Índice de consistencia (del inglés: consistence index)
RCI	Índice de integridad relativa (del inglés: relative completeness index)





I. INTRODUCCIÓN





Por lo general, cuando se habla de bosques se piensa sólo en árboles y en la madera que de ellos se extrae. Esta visión, herencia de una forma errónea de ver la naturaleza y de los viejos modelos extractivos de explotación de los recursos naturales, deja de lado a la mayoría de las especies vegetales que, junto con los árboles, constituyen lo que se conoce como *ecosistemas forestales*. En dichos ecosistemas existe un sin número de plantas, que asociados con los árboles de valor comercial reconocido o maderables, aportan numerosos bienes y servicios: productos alimenticios, forrajes, materiales para curación, construcción, retención de agua, captura de carbono, extracción de materias primas y principios activos, o simplemente como refugio de otras especies. Todos estos organismos forman parte de complejas redes de relaciones biológicas, mismas que crean las condiciones necesarias para el equilibrio y la preservación de los ecosistemas. Por este motivo no podemos dejar en el olvido a las especies vegetales no arbóreas sin antes haber realizado estudios sobre ellas.

Desde la antigüedad ha existido la necesidad de clasificar a las plantas para su mejor comprensión para lo cual, se ha hecho uso de la Taxonomía. Esta es la ciencia que estudia la clasificación de los organismos y se basa en el análisis de marcadores genéticos tanto morfológicos como moleculares.

En primer orden, la caracterización e identificación tradicional de especies se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos. No obstante, el uso de marcadores morfológicos tiene limitantes, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos, por ejemplo el tamaño y color de los frutos. Con frecuencia estos marcadores sólo es posible evaluarlos a nivel de planta completa y cuando esta llega a su estado adulto. Para la gran mayoría de las especies vegetales esto significa una espera, no deseable, de varios años. Además, pueden ocurrir cambios epigenéticos que limitan el número de marcadores que pueden ser evaluados sin equivocación en la población segregante; la epigenética hace referencia, en un sentido amplio, al estudio de todos aquellos factores no genéticos que intervienen en la determinación del desarrollo de un organismo, desde el óvulo fertilizado hasta su senescencia, pasando por la forma adulta.





Por otro lado, con los avances en la biología molecular se ha desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares que superan, en la gran mayoría de los casos, las limitaciones de los métodos tradicionales. Los marcadores moleculares son fenotípicamente neutros, presentan mayor segregación o polimorfismo que los morfológicos, pueden ser evaluados desde los primeros estadios de desarrollo de las plántulas, son aplicables a cualquier tipo de material vegetal, son independientes de la época del año en que se realiza el análisis, permiten la identificación correcta de la variedad sin necesidad de muchos caracteres y están libres de efectos epistáticos (interacción génica entre diferentes genes para una determinada característica). Dentro de los marcadores moleculares se menciona la existencia de dos tipos: las proteínas (principalmente isoenzimas) y los marcadores de ADN.

El Estado de Michoacán posee condiciones edafoclimáticas contrastantes lo que se traduce en una extraordinaria riqueza genética, con variaciones dentro y entre las especies en los diferentes ecosistemas ocupando así el quinto lugar en biodiversidad Nacional. El Estado cuenta con cerca de 5,000 especies vegetales dentro de los cuales el género *Eupatorium* L. (Asteraceae: Eupatorieae) es un gran representante en el Estado. El número de especies en este género ha incrementado en los últimos años a más de 500, resultando en un grupo taxonómicamente difícil de manejar por la similitud morfológica que llegan a presentar las especies vegetales dentro de este género aspecto que en ocasiones dificulta la identificación de las especies por métodos tradicionales, tal es el caso específico de *E. cardiophyllum* y *E. lasioneuron* las cuales no han sido ampliamente reconocidas por ser especies diferentes aun cuando de ellas se han aislado metabolitos secundarios diferentes de los mismos órganos vegetales. Se ha reportado la reclasificación de algunas especies de *Eupatorium* mediante la relocalización taxonómica de muchas especies de éste a otros géneros, principalmente a *Ageratina* Spach.

Se han realizado estudios de identificación y de relaciones de parentesco morfológico y molecular de especies de la tribu Eupatorieae, donde se incluyen especies de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina*. Sin embargo, estos trabajos son de especies vegetales que habitan la región Euroasiática por lo que no existen reportes, sobre todo moleculares, de especies de *Eupatorium* en nuestro País ni en Michoacán donde se incluyan a *E. cardiophyllum* y *E. lasioneuron*.





II. ANTECEDENTES



i. ECOSISTEMAS DE MÉXICO

En los ecosistemas interactúan especies entre sí y con su ambiente abiótico, mediante procesos como la depredación, el parasitismo, la competencia y la simbiosis, y con su ambiente biótico al desintegrarse y volver a ser parte del ciclo de energía y de nutrientes (**fig. 1**). Las especies del ecosistema, incluyendo bacterias, hongos, plantas y animales dependen unas de otras.

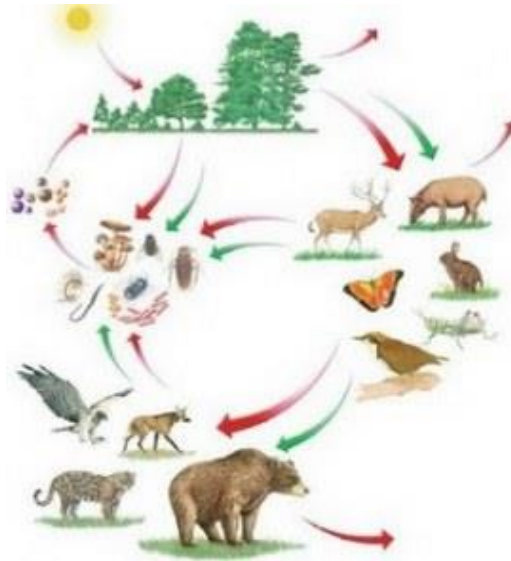


Figura 1. Flujo de materia y energía dentro de un ecosistema.

Tomado de <http://upch-ing-ambientales-iqb.blogspot.mx/2012/09/primer-a-unidad.html>

El significado del concepto de ecosistema ha evolucionado desde su origen. El término acuñado en los años 30s del siglo XX, se adscribe a los botánicos ingleses Roy Clapham (1904-1990) y Sir Arthur Tansley (1871-1955). En un principio se aplicó a unidades de diversas escalas espaciales, desde un pedazo de tronco degradado, un charco, una región o la biósfera entera del planeta, siempre y cuando en ellas pudieran existir organismos, ambiente físico e interacciones.

Más recientemente, se le ha dado un énfasis geográfico y se ha hecho análogo a las formaciones o tipos de vegetación; por ejemplo, matorral, bosque de pinos, pastizal, etc. Esta simplificación ignora el hecho de que los límites de algunos tipos de vegetación son discretos, mientras que los límites de los ecosistemas no lo son.

Debido a su ubicación geográfica y a sus condiciones edafoclimáticas México es un país rico en biodiversidad (**fig. 2**); su flora se estima que es aproximadamente entre 20 000 y 30 000 especies, así ocupa el cuarto lugar a nivel mundial en diversidad florística, entre el 52 % y 65 % de especies florísticas son endémicas (**Rzedowski, 1978; Ramamoorthy y Lorente, 1987; Toledo, 1988; Mittermeier, 1988; Rzedowski, 1991; Mittermeier y Goettsch, 1992**).



Figura 2. Distribución de los ecosistemas de México.
Tomado de <http://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/mapas/mapa.html>

De acuerdo a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (**SEMARNAT, 2011**) los matorrales cubren cerca del 29% del territorio nacional, le siguen los bosques (17%) y las selvas (16%) datos que concuerdan con los que reporta la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) en el mismo año (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Extensión de los ecosistemas de México (CONABIO, 2011).

Ecosistema	Sup. (Km ²)	Ecosistema	Sup. (Km ²)
Matorral	508 958	Selva seca	164 357
Pastizal	103 159	Selva húmeda	151 511
Bosque templado	323 305	Manglar	7 700
Bosque nublado	18 252	Cuerpos de agua	13 529

ii. VEGETACIÓN EN MICHOACÁN

El territorio de Michoacán tiene un intervalo de 0 a 3 840 metros sobre el nivel del mar, tiene una gran variedad de climas, suelos y tipos de vegetación los cuales generan una variedad de condiciones ambientales, ofrece una enorme biodiversidad en siete tipos de ecosistemas de los ocho que reporta la CONABIO (**fig. 2**), lo que indica que Michoacán es uno de los Estados mexicanos con una flora extensa (**Villaseñor et al., 1997; Rzedowski 1978; Toledo 1988**). Sin embargo, la delimitación de las comunidades vegetales de Michoacán es un asunto complejo (**Rzedowski, 1978; Madrigal- Sánchez, 1997**) (**fig. 3**). **Palacios-Prieto et al. (2000)** reportan 17 tipos de vegetación en Michoacán (**cuadro 2**).

Cuadro 2. Tipos vegetación y extensión territorial en Michoacán.

Tipo de vegetación	Superficie (Km ²)
Bosque de <i>Abies</i>	115
Bosque de <i>Pinus</i>	3981
Bosque de <i>Pinus-Quercus</i>	8233
Bosque de <i>Quercus</i>	3114
Bosque mesófilo de montaña	85
Selva mediana caducifolia y subcaducifolia	1371
Selva baja caducifolia y subcaducifolia	13 707
Matorral subtropical	2197
Selva baja espinosa	18
Mezquital	2
Matorral crassicuale	15
Pantanal	16
Sabana	7
Pantanal inducido	6149
Vegetación acuática y subacuática	123
Palmar y dunas costeras	33
Vegetación halófila y gipsófila	27

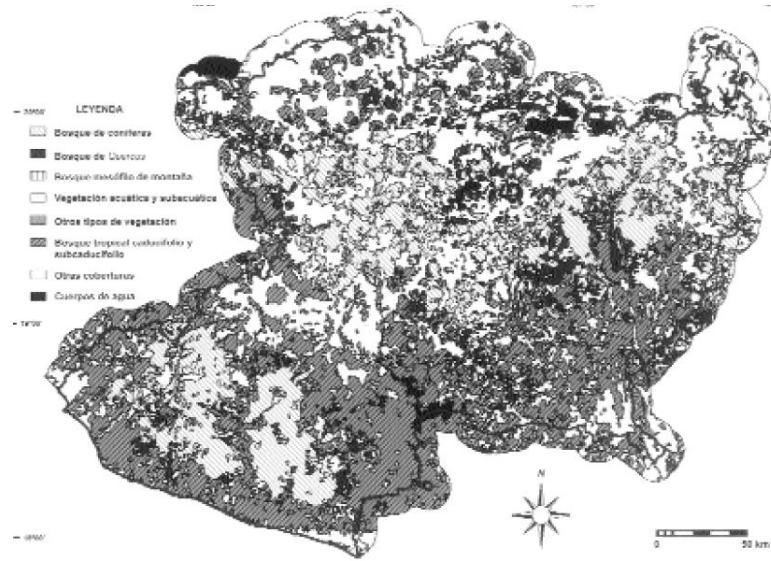


Figura 3. Principales tipos de vegetación en Michoacán. Tomado de Cué-Bär *et al.*, (2006).

iii. TIPOS DE PLANTAS

Las plantas son organismos vivientes autosuficientes las cuales son parte fundamental de los ecosistemas. Existen más de 300 000 especies vegetales, de las cuales más de 250 000 son angiospermas. Las plantas pueden clasificarse según el punto de vista que se tenga en cuenta y dentro de este proyecto se denominará a las plantas de acuerdo a su tamaño en las siguientes categorías:

- **Árboles:** Son aquellas plantas de tallo leñoso con una altura superior a cinco metros. En este caso los tallos se conocen con el nombre de troncos, los cuales no se ramifican hasta una altura considerable del suelo.
- **Arbustos:** Son aquellas plantas de tallo leñoso que miden entre uno y cinco metros de altura. La ramificación en este caso comienza a nivel del suelo.
- **Matas:** Son aquellas plantas de tallo leñoso con una altura inferior a un metro.
- **Hierbas:** Son aquellos tallos que no han desarrollado estructuras leñosas endurecidas. Su consistencia es blanda.



iv. ÁRBOLES Y ARBUSTOS

La flora de la República Mexicana es una de las más abundante y variada en especies de la Tierra. En su territorio se han establecido diversos tipos de vegetación caracterizados por la presencia de numerosas especies de árboles y arbustos, los cuales constituyen un recurso forestal natural renovable por los muchos productos y beneficios que de ellos se derivan. Por ello son un patrimonio para todos los habitantes de la tierra.

Los bosques controlan la temperatura ambiental debido a que su follaje intercepta, absorbe y refleja la radiación solar abatiendo las temperaturas extremas de una localidad determinada. En el interior de un bosque los cambios de temperatura son menos drásticos que en una zona desprovista de vegetación. Su follaje amortigua el impacto de la lluvia y permite escurrimiento por las ramas y fustes hacia el suelo, obligándolo a derivar lentamente por las laderas e introducirse en los perfiles interiores, para incorporarse después a las corrientes subterráneas que originan los manantiales. Además de regular el ciclo hidrológico, liberan oxígeno al ambiente, proporcionan hábitat y alimento a la fauna silvestre, protegen el suelo de la erosión y favorecen su fertilidad ya sea por medio de los compuestos nitrogenados que se forman en las raíces de muchas especies o bien por medio de la descomposición de las ramas, hojas, flores y frutos, los que forman el mantillo que más tarde se convierte en rico suelo vegetal.

En el medio rural proporcionan a la gente del campo diversos productos entre los que destacan la leña y el carbón, madera para construir viviendas y artículos de uso agrícola y doméstico, semillas, frutos y forraje, néctar, ceras, grasas y aceites, tanino y sustancias medicinales, gomas, látex, resinas y colorantes, así como esencias y condimentos. En el medio urbano su presencia en avenidas, parques y jardines refresca el ambiente y da diversidad y armonía al paisaje por lo vistoso de su follaje y por la belleza de sus flores y frutos. En las grandes ciudades los árboles y arbustos ayudan a reducir la contaminación del aire ya que sus hojas absorben gases tóxicos e interceptan partículas de contaminantes sólidos, lamentablemente altas concentraciones de éstos los matan lentamente.



Desde el punto de vista industrial, muchas especies de árboles y arbustos son muy apreciadas por su madera o porque producen goma, cera, látex, alcaloides, esencias, colorantes y resinas. Tales productos se utilizan para fabricar pulpa para papel, tripaly, tableros, muebles, duela, lambrín, parquet, pintura, lacas, barnices, explosivos, lubricantes, perfumes, fármacos, jabones, tintas e insecticidas.

Sin embargo, el desconocimiento del hombre acerca de la importancia de los árboles y arbustos, así como de la necesidad de satisfacer sus más esenciales necesidades, ha propiciado la destrucción de extensas zonas de vegetación en diversas partes del mundo, en particular en países de desarrollo con recursos forestales. Esta destrucción acelerada de los bosques naturales, además de alterar el equilibrio ecológico y dañar considerablemente la economía de la región afectada ha colocado en peligro de extinción a diversas especies además de las plantas. En algunos lugares poblaciones completas de árboles y arbustos producto de millones de años de evolución han desaparecido de la faz de la Tierra, muchas veces sin haber sido estudiadas completamente.

Se ha reportado que algunos géneros de arbustos son considerados recursos forestales no maderables (RFNM) (**cuadro 3**).

Cuadro 3. Recursos forestales no maderables.

Género	Número de especies
<i>Fuchsia</i>	Con alrededor de 100 especies, principalmente americanas.
<i>Berberis</i>	Agrupar aprox. 450 especies en casi todo el mundo.

v. RECURSOS FORESTALES NO MADERABLES (RFNM)

Los RFNM son considerados recursos biológicos diferentes a la madera que son recolectados de bosques tanto naturales como manejados (**Peters, 1994**). **Wickens (1992)** los refiere como bienes de subsistencia para el consumo humano o industrial y servicios derivados de recursos y biomasa forestal renovables, que brindan posibilidades para aumentar los ingresos familiares reales y el empleo en las zonas rurales.



Los RFNM, de acuerdo con las Normas Oficiales Mexicanas que regulan su aprovechamiento, son considerados como “la vegetación y los hongos de poblaciones naturales, así como sus partes, sustancias y residuos que no están constituidos principalmente por materiales leñosos, y los suelos de terrenos forestales o de aptitud preferentemente forestal”.

a. Clasificación

No existe un esquema general de clasificación de los RFMN, por lo que es común encontrar en la literatura diferentes clasificaciones. **Wickens (1992)** propone la siguiente:

- **Productos vegetales no madereros:** productos alimenticios, forrajes, productos farmacéuticos, toxinas, productos aromáticos y bioquímicos, fibras y productos ornamentales.
- **Productos animales silvestres:** carne, pieles, plumas, aceites y secreciones.
- **Funciones de las tierras forestales en materia de servicio:** hábitat, mejora y protección del suelo, áreas protegidas.

La Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), actualmente SEMARNAT, elaboró una página (<http://beta.semarnap.gob.mx/pfnm>) sobre las especies con usos no maderables en bosques de encino, pino y pino-encino de algunos Estados del país.

b. Importancia

En los bosques mexicanos se utilizan más de 2 000 especies de plantas (**Centro de Investigaciones Social y Económica sobre el Medio Ambiente, 1993**) y se conocen más de 250 productos no maderables que incluyen: hojas, flores, frutos, semillas, tallos, rizomas, resinas, gomas, ceras, cortezas y hongos. La diferencia entre el número de especies y el número de productos, responde a que generalmente hay más de una especie para un mismo producto. Aproximadamente 70 de los productos, son usados regularmente y su aprovechamiento se encuentra legislado por una serie de normas que regulan el





aprovechamiento de los RFNM, incluso para la tierra de monte, que en otros países no se considera un recurso con valor extractivo por sus funciones ecológicas.

El aprovechamiento de estos recursos por las comunidades rurales marginadas, se basa principalmente en la recolección realizada por los integrantes de unidades domésticas con poca o ninguna organización para la comercialización. Este aprovechamiento es limitado debido principalmente a la falta de conocimiento sobre su taxonomía, técnicas de manejo y tecnologías de transformación, así como, a la deficiencia en la organización para la producción y por la ausencia de mercados formales, y son pocos los casos de las comunidades que han hecho uso eficiente e integral de los RFNM, como las ubicadas en Quintana Roo, donde la extracción de chicle que se comercializa a Japón e Italia ha permitido el establecimiento y mantenimiento de áreas forestales, reduciendo la tasa de conversión de bosques a usos agrícolas (**Jardel et al., 2001**).

Se estima que un importante número de miembros de la familia Asteraceae son consideradas especies arbustivas y/o especies no maderables, aunque a la fecha no exista un documento que demuestre esta evidencia.

Hasta este punto de la revisión bibliográfica se ha dado un panorama general del área en la cual estaremos involucrados en este proyecto. A continuación se abordarán los antecedentes, de lo general a lo particular, de los organismos vegetales sobre los que se centra esta investigación los cuales son especies vegetales arbustivas del género *Eupatorium* las cuales pertenecen a la familia Asteraceae.

vi. GENERALIDADES DE LA FAMILIA ASTERACEAE

La familia Asteraceae o Compositae (compuesta) está ampliamente distribuida a nivel mundial, aún no se tiene con exactitud el número de géneros y especies existentes en esta familia. Sin embargo, se estima que la componen aproximadamente 1 620 géneros y unas 23 600 especies (**Stevens, 2001**). Están distribuidas por todo el mundo encontrándose mejor representada en regiones semiáridas, tropicales y subtropicales (**Heywood, 1985**), excepto en la Antártida (**fig. 4**), por lo que son consideradas cosmopóliticas. El origen



etimológico del nombre de la familia proviene del término latino “*aster*” que significa “*estrella*” y que se refiere a la forma de las inflorescencias **(Freire Fierro, 2004)**.

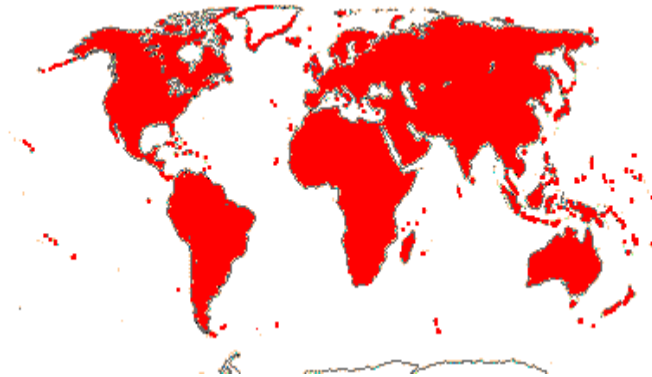


Figura 4. Distribución de la familia Asteraceae. El territorio habitado por las asteráceas se muestra de color rojo. **(Vester 1940; Hultén 1971)**.

La familia la agrupan pequeñas hierbas de un centímetro de altura hasta árboles de más de 30 m. La mayoría de sus integrantes son arbustos o matas de hoja persistente, o plantas herbáceas rizomatosas perennes, aunque también son frecuentes las herbáceas vivaces con raíces tuberosas; anuales o bianuales; abundan poco los grandes árboles y son raras las epifitas y las verdaderamente acuáticas. Algunas especies de montañas y de islas tropicales son herbáceas gigantes; muchas son rupícolas, otras, verdaderamente lianas y no pocas, suculentas, con tallos y hojas carnosos **(Heywood, 1985; Katinas et al., 2007)**.

Esta familia está caracterizada por poseer una inflorescencia denominada capítulo o cabezuela (formada por flores sésiles, gamopétalas epíginas y pentámeras, sobre un receptáculo común, rodeadas por un involucre de brácteas o filarios) **(fig. 5A)**. Presentan frutos llamados aquenios, que en la mayor parte de los casos están coronados por estructuras escamosas o pilosas que reciben el nombre de papus o vilano las cuales participan en la dispersión, poseen estambres usualmente sinanteros y su ovario es bicarpelar **(fig. 5B)**. Además desde el punto de vista químico, son vegetales con inulina y muchas de sus especies producen látex **(Cabrera et al., 2000)**.

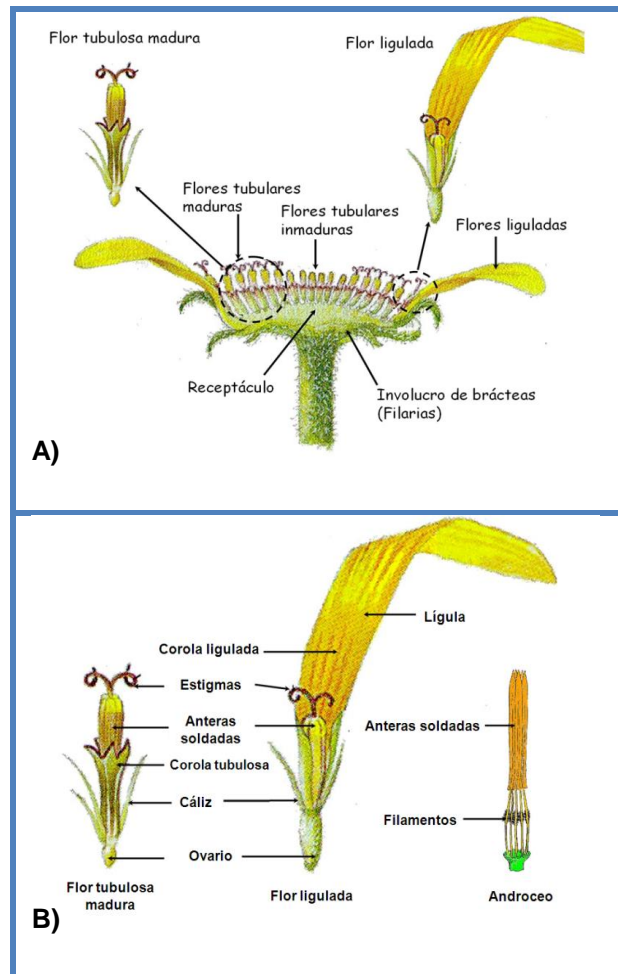


Figura 5. Inflorescencia de las Compuestas: A) Capítulo y B) Flores.

Teofrasto hace más de 2,300 años, describió a la familia de las Asteraceae, la cual era conocida con el nombre de Compositeae por **Griseke (1792)**. El código internacional de nomenclatura botánica permite también el uso del nombre Asteraceae Dumortier (*nom. cons.*), nombre asignado a la familia en 1822 (**Greuter et al., 2000**).

Las contribuciones más importantes al conocimiento y la sistemática de la familia comienzan con el francés Henri Cassini a través de numerosas publicaciones durante el período 1812-1831 que incluyen descripciones detalladas de la morfología de las asteráceas. Cassini además estableció 19 tribus en la familia (**Cassini, 1816**). **Lessing (1832)** las redujo a ocho y de **Candolle (1838)** a tres. Otro gran contribuyente al conocimiento de la familia fue **Bentham (1873)**, que trató a las asteráceas en su monumental obra “*Genera Plantarum*” (1862-1883) junto con Joseph Dalton Hooker. Fue Bentham quien estableció 13 tribus, que son las tradicionalmente usadas hasta hoy.

a. Asteraceae en México

En una revisión taxonómica y florística basada en varios herbarios, se estima que Asteraceae es la familia más amplia dentro de la flora mexicana. El número de géneros y especies existente es controversial y de acuerdo con **Rzedowski (1991)** se estima la presencia de 314 géneros y 2,400 especies. De forma similar, **Turner y Nesom (1993)** calcularon la presencia de 323 géneros y 2,700 especies, en el mismo año, **Villaseñor (1993)** registra 2,861 especies agrupadas en 387 géneros y años más tarde **Villaseñor et al., (1997)** reportan la existencia de 3,084 especies distribuidas en 402 géneros (**cuadro 4**).

Cuadro 4. Familias de Magnoliophyta en México.

Familia	Géneros	Especies*
Asteraceae	402	3 084
Poaceae	207	1 317
Fabaceae	164	2 028
Orchidaceae	156	1 062
Cactaceae	76	836
Euphorbiaceae	56	816
Rubiaceae	94	639
Lamiaceae	42	530
Solanaceae	34	458
Cyperaceae	22	438

*Incluye miembros no nativos

De acuerdo con el listado de la *Flora Fanerógamica* se registra la existencia de 202 familias, 1,246 géneros y 4,442 especies en La Cuenca del Río Balsas, la cual es considerada como una de las regiones más extensas e importantes de México, con una superficie de aproximadamente 112,320 Km². La familia mejor representada en esta región es: Compositae con 136 géneros y 573 especies. Los Estados mejor representados son Guerrero, Michoacán y Morelos (**Fernández et al., 1998**). El tamaño y la diversidad de la familia Asteraceae en México le permite presentar una gama amplia de formas de vida, están presentes en prácticamente todas las comunidades vegetales y presentan diferentes



mecanismos de dispersión, éstas son un grupo natural de plantas, bien definido por sus inflorescencias primarias (**Villaseñor, 1993**). La familia, además de sobresalir por el número de sus especies, es importante porque posee especies de valor económico como el girasol, cártamo, lechuga, guayule, alcachofa, dalia, crisantemo y otras.

b. Filogenia de Asteraceae

Un hito importante en la historia taxonómica de las asteráceas y que trajo gran controversia fue la denominada *New Synantherology* (“Nueva Sinantherología”, pues los especialistas en asteráceas se llaman sinanterólogos ya que se basan en clasificar a las plantas por la morfología de las anteras), establecida en numerosos trabajos de los botánicos estadounidenses Harlod Robinson y Robert M. King (**King y Robinson, 1970**). Esta tendencia consistía en dar un mayor énfasis en el uso de los microcaracteres (caracteres anatómicos, citológicos y químicos) en lugar de los macrocaracteres para tomar decisiones taxonómicas. A modo de ejemplo, entre 1967 y 1976 King y Robinson publicaron no menos de 167 trabajos científicos sobre Eupatorieae, en los que incluyeron el género *Eupatorium*, que tenía en ese momento cerca de 600 especies, en numerosos géneros menores (**McVaugh, 1982**).

Uno de los aportes más significativos a la clasificación y filogenia de las asteráceas llegó con los estudios moleculares de ADN de **Jansen y Palmer (1987)**. Se ha comprobado que no pocos géneros se encuentran mal colocados y otros requieren separación en tribus aparte; en niveles inferiores a tribus la clasificación en subtribus y géneros ha de exhibir grandes transformaciones y se reducirá el número de especies aceptadas (**Heywood, 1985**).

El descubrimiento inicial de **Jansen y Palmer (1987)** fue que los géneros muestreados de asteráceas poseían una inversión de 22 Kb en el genoma cloroplástico, excepto en los tres géneros *Barnadesia*, *Chuquiraga* y *Dasyphyllum* de la subtribu Barnadesiinae (perteneciente en ese momento a la tribu Mutisieae) y algunas familias afines a Asteraceae. Ello hizo que unos años después esta subtribu pasara a subfamilia Barnadesioideae y que sea considerado el taxón basal en el árbol evolutivo de la familia (**fig. 13**).





El primer cladograma de la familia Asteraceae fue elaborado en 1987 por el botánico sueco Kare Bremer basándose en caracteres morfológicos y más tarde publicó un tratado de la familia (**Bremer, 1994**). La clasificación de Bremer en 1994 (**cuadro 5**) incluye los avances en el conocimiento de la filogenia de la familia, hasta ese tiempo.

Kim et al. (2005) recientemente propusieron una filogenia para la familia Asteraceae, donde demuestran el origen de la familia que se localiza entre 49-42 millones de años los cuales corresponden al periodo del Eoceno tardío (**fig. 14**), este análisis fue determinado usando un reloj fósil molecular calibrado.

vii. TRIBUS, GÉNEROS Y ESPECIES DE ASTERACEAE

La gran distribución de Asteraceae a nivel mundial es debido a que sus integrantes han sido extraordinariamente exitosos en la adaptación a los más diversos hábitats. Su distribución en los continentes se muestra en el **cuadro 5**:

- ✚ En las filas puede verse que hay tribus ampliamente distribuidas (ejemplo, Eupatorieae, Helenieae), mientras que otras son endémicas de un continente o parte de un continente (ejemplo, Barnadesieae, Liabeae) o tienen distribuciones relativamente restringidas (ejemplo, Arctoteae, Plucheeae).
- ✚ Las columnas muestran que hay tribus que son típicamente del Nuevo Mundo, algunas de ellas concentradas en América del Norte (ejemplo, Astereae, Helenieae) y otras en América Central y América del Sur (ejemplo, Eupatorieae, Heliantheae, Vernonieae). También hay tribus claramente concentradas en el Viejo Mundo (ejemplo, Anthemideae, Arctoteae, Calenduleae).

En su conjunto, existe una mayor representación de las tribus en el hemisferio sur.



Cuadro 5. Número de géneros nativos de Asteraceae por tribu en los distintos continentes o partes de continentes. Tomado de Bremer (1994).

Subfamilias	Tribus	América Central y del Sur	América del Norte	África	Europa	Asia	Oceanía
Barnadesioideae	Barnadesieae	9					
Cichorioideae	Arctoateae			14		2	1
	Cardueae	2	3	35	38	77	3
	Lactuceae	10	26	32	47	59	7
	Liabeae	14					
	Mutisieae	59	8	3		9	1
	Vernonieae	66	2	27		12	1
Asteroideae	Anthemideae	4	10	69	32	52	3
	Astereae	39	69	32	9	32	30
	Calenduleae			9	1	2	
	Eupatorieae	128	53	3	1	3	2
	Gnaphalieae	21	10	66	9	19	84
	Helienieae	28	99	4	1	10	4
	Heliantheae	128	100	17		7	16
	Inuleae	8	3	22	4	22	2
	Plucheeae			16		9	8
	Senecioneae	40	24	37	10	29	12

a. Filogenia de la tribu Eupatorieae

La mayor parte de la historia taxonómica de la tribu Eupatorieae ha dependido de los grandes conceptos genéricos tales como los de **Bentham (1873)**, **Hoffmann (1890–1894)**, y **B.L. Robinson (1913)**. Algunos géneros bastante bien definidos fueron reconocidos como *Brickellia* Elliot, *Mikania* Willd. y *Stevia* Cav., pero el centro de la tribu consistió de un concepto amplio de *Eupatorium* L. y muchos segregados artificialmente basados en variaciones en el vilano y apéndices de las anteras. La redefinición del grupo central hacia unidades razonablemente filéticas fue el objetivo de los estudios realizados por King y Robinson resumidos en el tratado de 1987.

De acuerdo con los estudios de biosistemática y fenética de Eupatorieae realizados por **King y Robinson (1987)**, basados en la morfología, anatomía, citología y química de metabolitos secundarios, y la posterior comparación de éstos con los resultados preliminares de DNA secuenciado, un método de estudio no disponible en 1987, se logró diseñar un árbol filogenético donde se incluye la tribu Eupatorieae (**fig. 15**) el cual muestra los resultados de DNA secuenciado derivados en su mayoría de los trabajos de **Schilling et al., (1999)**, **Schmidt y Schilling (2000)** e **Ito et al., (2000a, b)**.

King y Robinson (1987) reportan una amplia extensión de número de cromosomas en especies de Eupatorieae, $x=10$ fue considerado como el número básico para la tribu, y los géneros con un alto número de cromosomas fueron considerados derivados de éstos. Según los datos de la secuencia de DNA de **Schilling et al. (1999)**, el elemento grande (*Eupatorium* L.) de la tribu con número base de cromosoma estabilizado de $x=10$ es aparentemente derivado de otros géneros con número más alto de cromosomas (**fig. 16**). Este es el grupo con mayor número de cromosomas que son más pleisomórficos (Pleiosomorfia: cuando comparamos dos caracteres que forman una serie, llamamos *pleisomórfico* al que representa el estado ancestral y *apomórfico* al que deriva de él), una situación que también se ve en varios género de Heliantheae y Helenieae (**Robinson, 1981**). El origen poliploide de la tribu se confirmó por **Ito et al., (2000b)**.

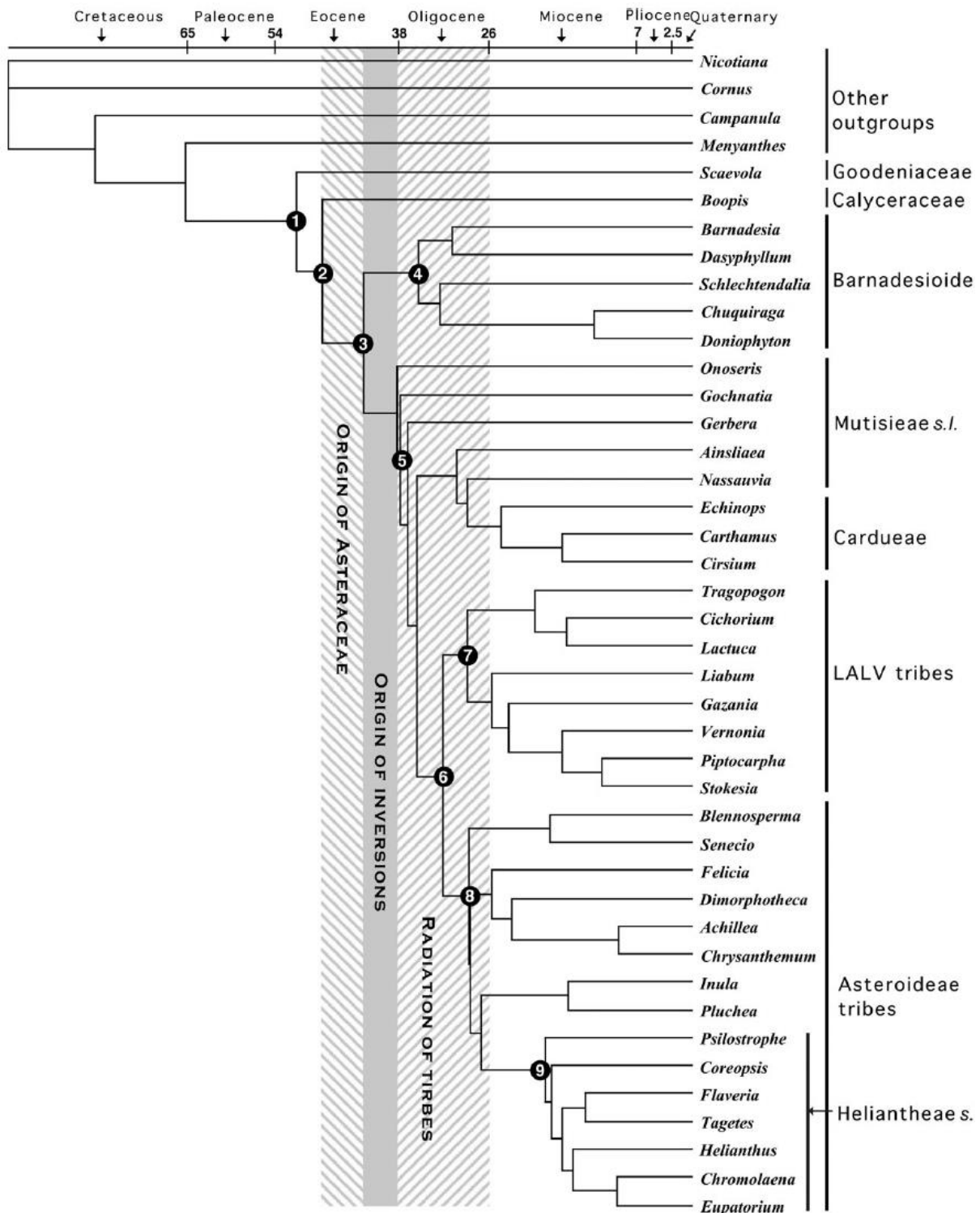


Figura 6. Árbol filogenético de Asteraceae y familias relacionadas con edades estimadas de acuerdo a los métodos NPRS. Tomado de Kim *et al.* (2005).

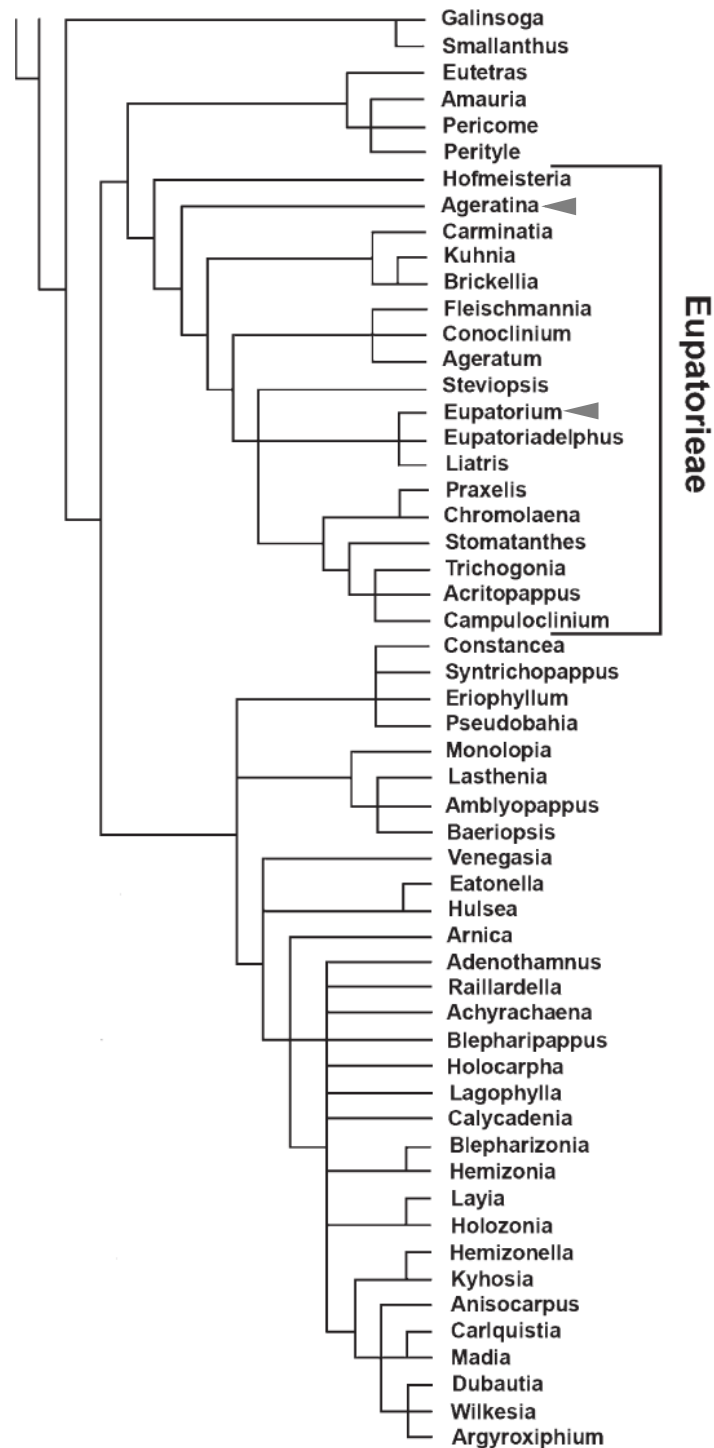


Figura 7. Segmento del “Árbol grande” mostrando a la tribu Eupatorieae como un grupo bien definido dentro de la supertribu Helianthodea. El árbol deriva de datos de ITS localizados en GenBank.g

viii. GÉNERO *Eupatorium*

El género *Eupatorium* pertenece a la tribu Eupatorieae de la familia Asteraceae (**cuadro 6**), una de las trece tribus de la familia de las Asteraceae. Este es un género complejo con respecto de su clasificación taxonómica. Dentro de este género se han reportado alrededor de un total de 1,200 especies distribuidas principalmente en regiones tropicales de América, África y Asia (**Zhang et al., 2008**). Se ha sugerido que el origen de *Eupatorium* spp es el continente Americano (**Katinas et al., 2007**) y se estima que aparecieron hace alrededor de 7.4 millones de años (**Schmidt y Schilling, 2000**).

Cuadro 6. División taxonómica del género *Eupatorium*. Modificado de Castelo et al. (2003-2005).

Taxo	Nombre	Autor
Domino:	Eukaryota	Whittaker & Margulis, 1978
Reino:	Plantae	Haeckel, 1866
Subreino:	Viridaeplantae	Cavalier-Smith, 1981
Filum:	Tracheophyta	Sinnott, 1935 ex Cavalier-Smith, 1998
Subfilum:	Euphyllophytina	----
Clase:	Spermatopsida	Brongniart, 1843
Subclase:	Asteridae	Takhtajan, 1967
Superorden:	Campanulanae	Takhtajan Ex Reveal, 1992
Orden:	Asterales	Lindley, 1833
Familia:	Asteraceae	Martinov, 1820
Subfamilia:	Asteroideae	----
Tribu:	Eupatorieae	Cass., 1819
Subtribu:	Eupatoriinae	----
Género:	<i>Eupatorium</i>	L., 1753

En Michoacán se reporta un grupo de 69 especies vegetales de *Eupatorium* que sobreviven en el Estado ocupando un 70% del territorio (**fig. 6**). La presencia de especies del género *Eupatorium* en el territorio estatal se ha reportado desde el siglo XIX, con la recolección en 1891 de una muestra de *E. areolare* por el Botánico C. Pringle en el municipio de Patzcuaro. Se ha demostrado además que 31 especies referidas como *Eupatorium* han sido

recolectadas solamente desde los últimos 120 años (**García-Sánchez et al., 2011**). Desde entonces, los especímenes vegetales han sido colectados cerca de cuerpos de agua o sobre los bancos de los arroyos y ríos y todas ellas tempranamente han sido colocadas taxonómicamente en el género *Eupatorium* (**Espinosa et al., 1995**).



Figura 8. Distribución biogeográfica de *Eupatorium* sp. en Michoacán. El área sombreada corresponde al territorio en Michoacán donde *Eupatorium* spp ha sido colectado durante aproximadamente 100 años. Tomado de García-Sánchez et al. (2011).

Nuestro equipo de investigación utiliza como objeto de estudio especies del género *Eupatorium* (**fig. 7**), principalmente para obtener compuestos que puedan ser utilizados como antialimentarios contra insectos que degradan la madera, así como en la obtención de compuestos que posean actividad contra patógenos intrahospitalarios, primordialmente bacterias y hongos.

a. Filogenia de *Eupatorium*

Se ha demostrado mediante análisis de DNA ribosomal nuclear y de cloroplasto (**fig 17**) que algunas especies del género *Eupatorium* tuvieron su origen en el continente Americano (**Ito et al., 2000a**) y posteriormente algunas de éstas se han propagado al viejo continente, tal es el caso de *E. adenophorum* (**Sang et al., 2010**). En años recientes se ha construido la filogenia (**fig. 17 y 18**) de *Eupatorium* spp mediante técnicas de análisis molecular de las regiones de los espacios transcritos internos (ITS) así como también con técnicas de enzimas de restricción, como los RFLPg (**Schilling et al., 2007; Schilling, 2011**).

Es bien reconocido que la taxonomía de *Eupatorium* L. en el Este de Norte América es complicada debido a la presencia de hibridización, apomixis y poliplodia (**Grant 1953**;



Sullivan 1972; Sullivan 1976). En el territorio de Michoacán no es posible calcular de manera directa y precisa, a nivel taxonómico, el número de especies que habitan, esto debido a que especies ya identificadas como *Eupatorium* han sido recientemente relocalizadas a otros taxa y también a que las características morfológicas son a menudo indistinguibles y dan lugar especies sinónimas (**García-Sánchez et al., 2011**).

La aplicación de datos de secuencias de la región ITS del DNA ribosomal nuclear (**Baldwin et al., 1995**) ha proporcionado información invaluable para la confirmación o elucidación de especies del género *Eupatorium* así por lo general es la más útil herramienta para la sistemática molecular a nivel de especie e incluso dentro de las especies debido a su mayor grado de variación que otras regiones génicas de rDNA (SSU y LSU), la variación entre rDNA individual repetido algunas veces se puede observar dentro de las regiones ITS e IGS. El uso de ITS como marcador está aumentando en las especies de *Eupatorium* porque estos datos son únicos para cada especie en particular y así cada especie es caracterizada por una combinación distinta de sustituciones de pares de bases (**Schilling et al., 2007**). De la misma forma se han utilizado amplificaciones de la región 5.8S con el fin de obtener información para realizar filogenias de especies vegetales (**Ito et al., 2000a**).

Schilling et al. (1999) mostraron que *Eupatorium* debe ser considerado como un género con menos integrantes que como se tenía considerado (**Benth, 1873**). Una evidencia es la reclasificación de especies de *Eupatorium* por la relocalización de muchos integrantes de este género a otros géneros, principalmente a *Ageratina* Spach (**King y Robinson, 1970a, b**). Un reporte más reciente muestra la relocalización que han tenido 38 especies de *Eupatorium* las cuales han sido reclasificadas dentro de otros géneros (**cuadro 11**), de igual forma que en los 70's del siglo XX la relocalización se dio principalmente hacia *Ageratina* (**García-Sánchez et al., 2011**). Otros trabajos de DNA proporcionan más estudios de *Eupatorium* en el sentido estricto con sus parientes más cercanos (**Schmidt y Schilling, 2000; Ito et al., 2000a**).





Cuadro 7. Número de especies de *Eupatorium* relocalizadas en Michoacán
Tomado de García-Sánchez *et al.*, 2011.

Género	No.
<i>Ageratina</i>	28
<i>Brickellia</i>	2
<i>Chromolaena</i>	3
<i>Critonia</i>	1
<i>Dyscritogyne</i>	1
<i>Fleischmannia</i>	1
<i>Ophryosporus</i>	1
<i>Piptothrix</i>	1

Una reducción diplodid en el número de cromosomas ha ocurrido en el curso de la diversificación de la tribu Eupatorieae y el número básico de cromosomas en la tribu ha sido reducido de $x=17$, a $x=11$ y $x=10$, éste último es el número básico de cromosomas para el género de *Eupatorium* (Ito *et al.*, 2000b).

b. Características botánicas

Eupatorium spp son hierbas generalmente perennes, arbustos o arbolitos bajos, con hojas opuestas o en ocasiones alternas; capítulos homógamos, generalmente pequeños, dispuestos en inflorescencias corimbiformes o paniculiformes, rara vez solitarios; involucre cilíndrico, turbinado, campanulado o hemisférico, sus brácteas en número variable, dispuestas en dos o más series, imbricadas, de longitud similar y entonces a menudo con calículo, otras veces desiguales y graduadas; receptáculo plano, convexo o cónico, desnudo; flores pocas o numerosas, todas hermafroditas, blancas, rosadas, moradas o azulosas; corola tubulosa, tubo corto, limbo brevemente pentalobulado o pentadentado, anteras con la base obtusa y el apéndice del conectivo reducido o bien desarrollado; ramas del estilo largas y sobresalientes, lineares o claviformes, a veces coloreadas, su ápice obtuso, sin pelos y cubierto de numerosas papilas cortas; aquenios prismáticos de ápice truncado, con cuatro a seis costillas bien definidas, glabros o pilosos, vilano de pocas o numerosas cerdas capilares persistentes y libres de la base (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 2005).



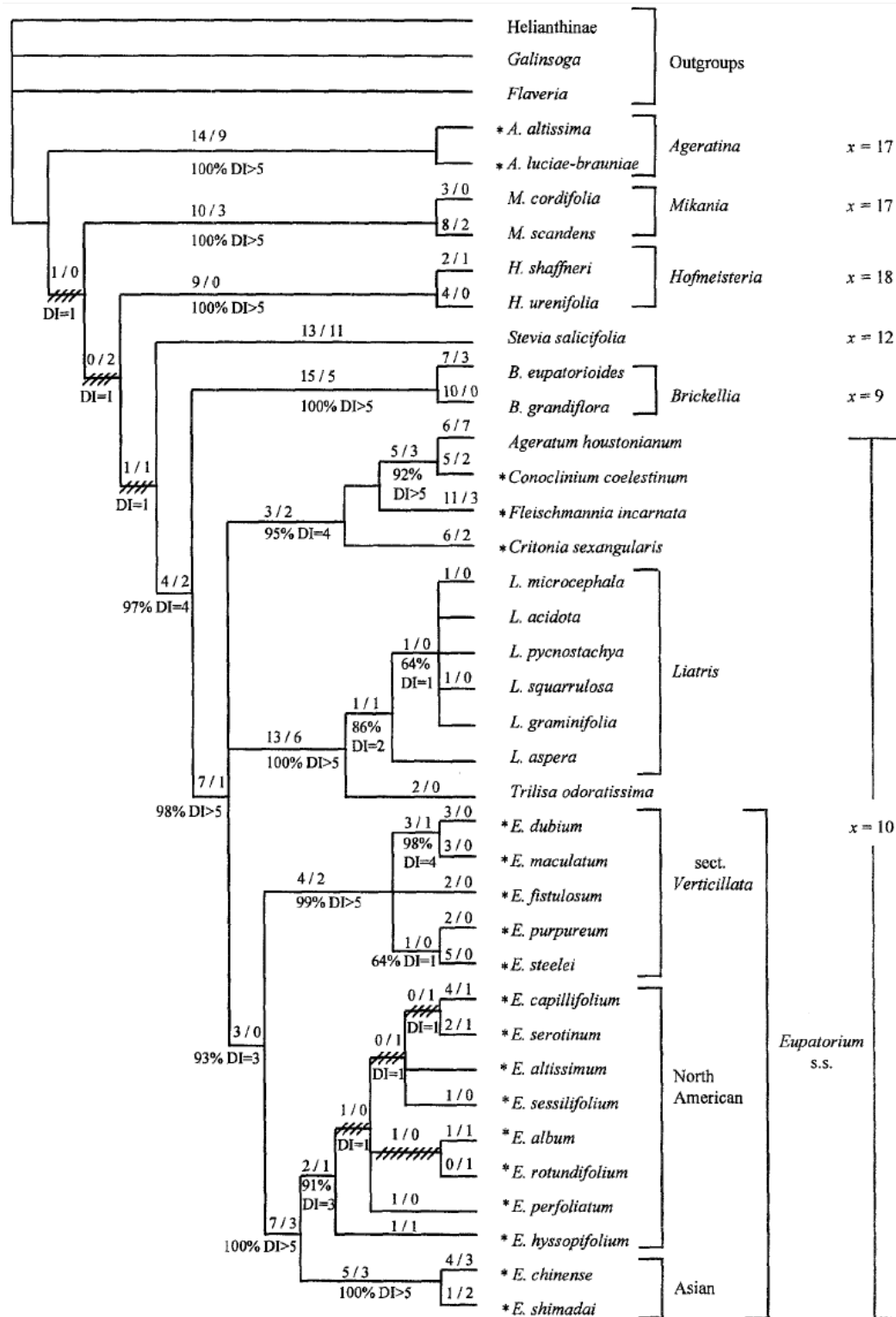


Figura 9. Árbol filogenético obtenido del análisis de máxima parsimonia de datos de sitio restricción de cpDNA para algunos miembros de la tribu Eupatorieae. Tomado de Schilling *et al.* (1999).

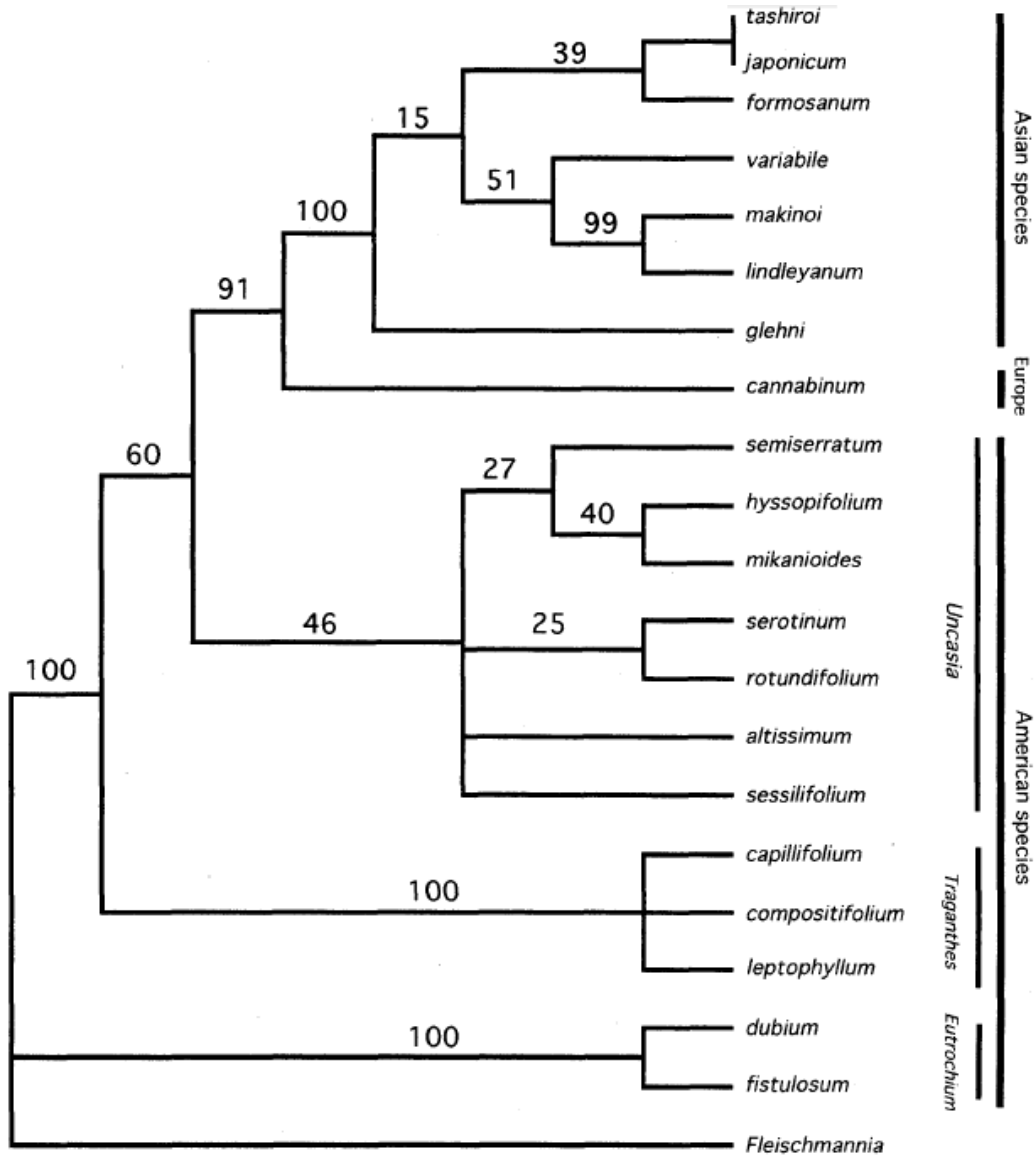


Figura 10. Árbol filogenético de *Eupatorium* basado en secuencias de ITS de nrDNA y RFLP de cpDNA, donde se muestran algunas especies nativas de América. Tomado de Ito et al. (2000)

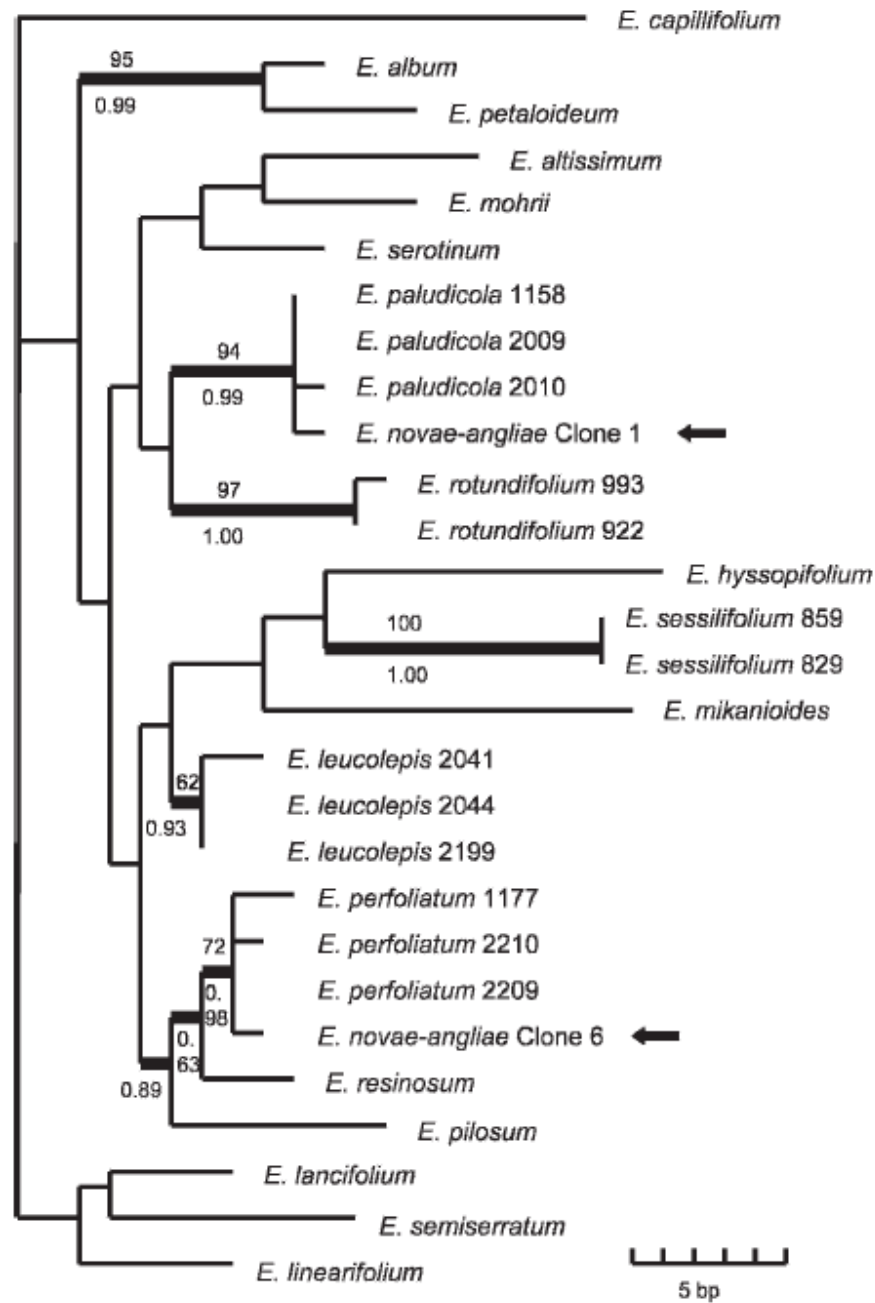


Figura 11. Árbol filogenético obtenido del análisis parsimonioso de datos ITS de *Eupatorium* Tomado de Schilling *et al.* (2007).

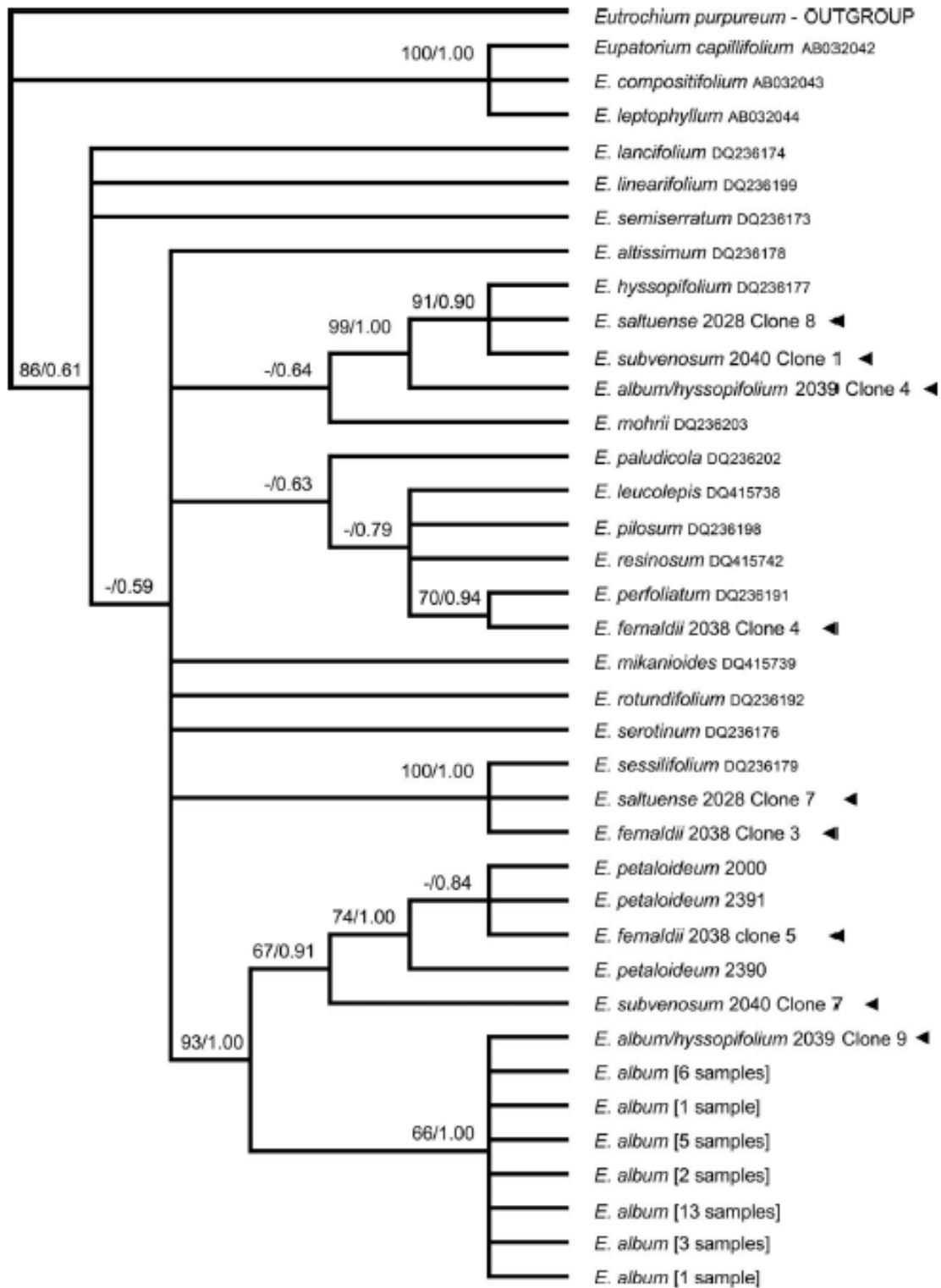


Figura 12. Árbol filogenético obtenido del análisis Bayesiano de datos ITS de *Eupatorium* Tomado de Schilling (2011).



c. Fitoquímica

Los constituyentes químicos reportados en el género *Eupatorium* son bastantes, 149 han sido compilados (**Zhang et al., 2008**) donde se incluyen monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, flavonoides, alcaloides del tipo pyrrolizidina, aceites esenciales, algunos de ellos se describen en los **cuadros 7 y 8**.

Se han realizado estudios de sensibilidad antibacteriana sobre bacterias Gram positivas donde se ha encontrado que extractos hexánicos de hoja de *E. areolare* inhiben el crecimiento de *S. aureus*, *B. subtilis*, y *S. saprophyticus*, siendo el ácido *ent-kaur-16(17)-en-19-oic*, o también llamado ácido kaurénico, el que posee dicha actividad (**Del Moral-Hernández, 2010**). Se aisló, identificó y evaluó la actividad microbicida de dos componentes mayoritarios del extracto metanólico de hoja de *E. glabratum* los cuales corresponden al 10-Benzoiloxi-8,9-dihidroxi-6-hidroxi-isobutirato de timilo y el 6-O- β -D-glucopiranosiloxi-3-hidroxi-*p*-mentol-1-eno. De éstos dos compuestos sólo el primero posee actividad contra *B. subtilis* y *S. aureus* (**Pardo-Novoa, 2011**).

León-Hernández (2010) reportó actividad citotóxica de algunos extractos obtenidos de *E. cardiophyllum*: el extracto hexánico de flor presentó actividad contra las células 3T3, el hexánico de hoja presenta actividad contra las células MCF7, el hexánico de tallo presenta actividad contra las células A549 y MCF7, y el cloruro metilénico de flor presentó actividad contra las células A549. También identificó seis compuestos de *E. cardiophyllum*: escualeno, isobutirato de timilo, ácido labda-7,13-dien-15-oico, ácido catívico, ácido labdanólico y tetranor labdandiol. El escualeno inhibe la proliferación celular con concentraciones letales cincuenta de 140.1, 155.1, 126.5, y 110.1 $\mu\text{g/mL}$ para las líneas celulares A549, MCF7, MDA-MB y 3T3, respectivamente.

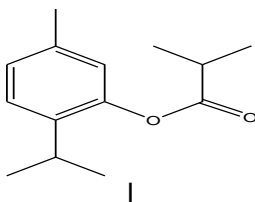
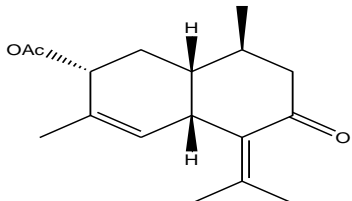
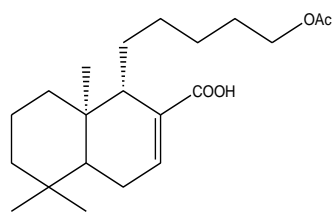
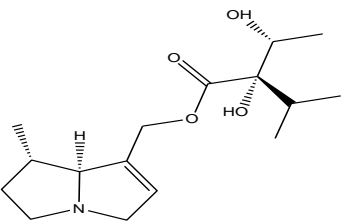
Algunas especies de este género tienen uso en la medicina tradicional con efectos antimaláricos, antibacterial, antifúngico y antiinflamatorio, conteniendo un número de productos naturales bioactivos. Muchas sesquiterpen lactonas, se han reportado presentes en los extractos de especies de *Eupatorium*.



Cuadro 8. Compuestos aislados de especies de *Eupatorium*. Modificado de Zhang *et al.* (2008).

Especie	Nombre del compuesto	Referencia
Monoterpenos		
<i>E. fortunei</i>	8,9-Dihidroxitimol	Tori <i>et al.</i> , 2001
<i>E. glechonophyllum</i>	10-Acetoxi-8,9-dihidroxi-3-O-isobutiriltimol	Monache <i>et al.</i> , 1984
<i>E. kiirunense</i>	9-Acetoxi-3-O-angeloil-8,10-epoxitimol	Shen <i>et al.</i> , 2005
Guaianos (sesquiterpenos)		
<i>E. chinense</i>	8 β -(Angeloxi)-3 β ,4 β ,14-trihidroxi-5 α H,6 β H,7 α H-guaia 1(10),11(13)-dien-12,6-olido (Eupachinilide A)	Zhang <i>et al.</i> , 2008
<i>E. lindleyanum</i>	3-Diacetileupalinina A	Zhang <i>et al.</i> , 2008
<i>E. kiirunense</i>	3 β -Hidroxi-8 β -(tigloiloxi)-1 α ,10 α -epoxi-6 β H,7 α H-helianga- 4,11(13)-dien-12,6-olida (Heliangine)	Shen <i>et al.</i> , 2005
Germacrenos (sesquiterpenos)		
<i>E. kiirunense</i>	1 β -Hidroxi-8 β -(tigloiloxi)-2 β ,3:4 β ,5-diepoxi-6 β H,7 α H- germacra-10(14).11(13)-dien-12,6-olido (Eupakirusina A)	Shen <i>et al.</i> , 2005
<i>E. glehni</i>	2 β -Acetoxiepitulipinolida	Motoo <i>et al.</i> , 2002
Cadinanos (Sesquiterpenos)		
<i>E. adenophorum</i>	3 β -Acetoxi-6 β H,8 β H,10 β H-cadina-4,7(11)-dien-12,8-olida (Eupatoranolida)	Wang <i>et al.</i> , 2006
Diterpenos		
<i>E. bunifolium</i>	Ácido-15-hidroxi-ent-labda-8(20)-en-18-oico	Carreras <i>et al.</i> , 1998
Triterpenos		
<i>E. glutinosum</i>	3-Acetoxidammara-20,24-dieno	El-Seedi <i>et al.</i> , 2002
Flavonoides		
<i>E. glandulosum</i>	Quercetagetin -O-(6''-acetil- β -D-glucopiranosido)	Zhang <i>et al.</i> , 2008
<i>E. lindleyanum</i>	Quercetina	Zhang <i>et al.</i> , 2008
Alcaloides del tipo pirrolizidina		
<i>E. fortunei</i>	Supinina	Liu <i>et al.</i> , 1992
<i>E. clematideum</i>	Rinderina	Zhang <i>et al.</i> , 2008

Cuadro 9. Estructuras químicas aisladas de plantas de *Eupatorium* spp.

Especies	Estructura y Nombre	Referencia
<i>E. fortunei</i>	 I Isobutirato de timilo	Tori <i>et al.</i> , 2001
<i>E. adenophurum</i>	 3-Acetoxy-4,5,7,11-tetrahydrocadinan-8-ona	Ding <i>et al.</i> , 2006
<i>E. glutinosum</i>	 Ácido-15-acetoxi-labd-7-en-17-oíco.	El-Seedi <i>et al.</i> , 2002
<i>E. fortunei</i> <i>E. clematideum</i>	 Supinina	Roeder <i>et al.</i> , 1992



III. OBJETIVOS





i. GENERAL

Identificar la variabilidad morfométrica y genético molecular entre dos especies vegetales e identificarlas a nivel de género.

ii. PARTICULARES

1. Demostrar la variabilidad morfométrica entre la especie 1 y 2 y corroborar la identificación morfológica de ambas mediante claves dicotómicas.
2. Caracterizar molecularmente a las dos especies vegetales a través de la región ITS1-5.8S-ITS2 y las regiones parciales de los genes ribosomales 18S y 26S.
3. Realizar un análisis filogenético entre la especie 1 y 2 y diversos géneros vegetales.





VI. MATERIAL Y MÉTODOS



i. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

En el siguiente diagrama se esquematizan los procedimientos a seguir en este trabajo de investigación. Cada uno de ellos se detalla más adelante.

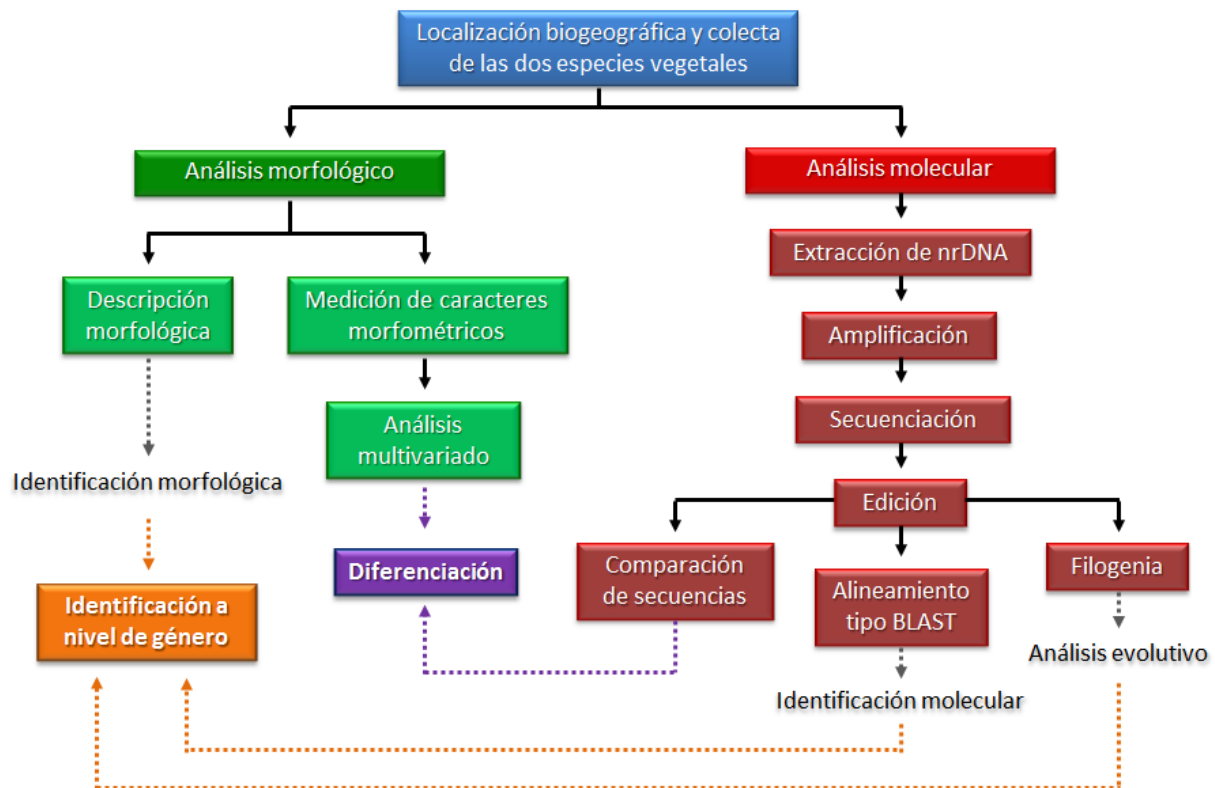


Figura 13. Diagrama de la estrategia experimental.



VIII. PERSPECTIVAS





i. PERSPECTIVAS

Para fortalecer los resultados obtenidos en este proyecto de investigación proponemos, para trabajos futuros, continuar con los siguientes trabajos:

- Realizar una concatenación con genes de proteínas.
- Analizar el cpDNA y/o realizar clonaciones de interés y utilizar marcadores moleculares (AFLP, RAPD's o microsatélites) para realizar inferencias filogenéticas entre estas dos especies.
- Analizar las relaciones filogenéticas entre las especies aquí estudiadas y otras especies del género *Eupatorium* y *Ageratina* que habitan el Estado de Michoacán, incluso con otras especies de géneros diferentes.
- Proponer un clave de identificación para estas dos especies, mediante un estudio más detallado de caracteres morfológicos.





IX. BIBLIOGRAFÍA





- Avise, J. C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. New York, London: Chapman & Hall.
- Baldwin, B. G. (1992). Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: An example from the Compositae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*(1), 3-16.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M. S., Porter, J. M., Wojciechowski, C. S., Campbell, C. S., & Donoghue, M. J. (1995). The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*(82), 247-277.
- Bena, G., Jubier, M.-F., Oliveri, I., & Legeune, B. (1997). Ribosomal external and internal transcribed spacers : combined use in the phylogenetic analysis of *Medicago* (Leguminosae). *Journal of Molecular Evolution*(46), 299-3006.
- Bentham, G. (1873). Compositae. En G. Bentham, & J. D. Hooker (Edits.), *Genera Plantarum* (Vol. 2, págs. 163-533). Reeve, London.
- Bentham, G. (1873). Compositae. En G. Bentham, & J. D. Hooker (Edits.), *Genera Plantarum* (Vol. 21, págs. 163-533). Reeve, London.
- Bessey, C. E. (18983). Evolution and classification. *Bot. Gaz.*(18), 329-332.
- Bremer, K. (1987). Tribal interrelationships of the Asteraceae. *Cladistics*(3), 210-253.
- Bremer, K. (1994). *Asteraceae: cladistics and classification*. Timber Press, Portland, Oregon.
- Brochmann, C., Borgen, L., & Stabbetorp, O. E. (2000). Multiple dipliod hybrid speciation of the Canary Island endemic *Agyranterum sindingii* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution*(220), 77-92.
- Brouis, J., & Gould, S. J. (1992). On "Genomenclature": A Comprehensive (and Respectfull) Taxonomy for Pseudogenes and Other "Junk DNA". *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 89(22), 10706-10710.
- Bruschi, P., Vendramin, G. G., & Bussotti, F. (2000). Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in Northern and Central Italy. *Annals of Botany*(85), 325-333.
- Bult, C., Sweere, A., & Zimmer, E. (1995). Cryptic sequence simplicity, nucleotide composition bias, and molecular coevolution in the large subunit of ribosomal DNA in plants: implications for phylogenetic analyses. *Annals of the Missouri Botanical Garden*(82), 235-246.
- Cabrera, A. L., Crisci, J. V., Delucchi, G., Freire, S. E., Giuliano, D. A., Ihariegui, L., . . . Urtubey, E. (2000). *Catálogo ilustrado de las Compuestas (=Asteraceae) de la Provincia de Buenos*





- Aires, Argentina: *Sistemática, Ecología y Usos*. Provincia de Buenos Aires, Argentina: Comisión de la Bioiversidad Bonaerense.
- Candolle, A. P. (1838). *Prodromus Systematics Naturalis Regni Vegetabilis* (Vol. 7). Paris.
- Carreras, C., Rossomando, P., & Giordano, O. (1998). Ent-Labdanos in *Eupatorium buniifolium*. *Phytochemistry*(48), 1031-1034.
- Cassini, H. (1816). Quatrième memoire sur le famille des synantherées, contenant l'analyse de l'ovaire et de ses accesories. *Journal Phys. Chem. Hist. Nat.*(85), 5-21.
- Castelo, E., Ricalde, O., & Panero, J. (2003-2005). *Catálogo de Autoridades de Asteráceas Mexicanas y Actualización de tirbus Heliantheae y Eupatorieae*. México.
- Chakrabarti, R., & Schutt, C. E. (2001). The enhancement of PCR amplification by low molecular-weight sulfones. *Gene*(274), 293-298.
- Chang, C. Y., Lue, M. Y., & Pan, T. M. (2006). Isolation and identification of two *Antrodia cinnamomea* strains from fruiting bodies. *Journal of Food and Drug Analysis*, 14(2), 174-182.
- Clewell, A. F., & Wooten, J. w. (1971). A revision of *Ageratina* (Compositae: Eupatorieae) from Eastern North America. *Brittonia*(23), 123-143.
- Davies, N., & Bermingham, E. (2002). The historical biogeography of two Caribbean butterflies (Lepidoptera: Haliconiidae) as inferred from genetic variation at multiple loci. *Evolution*(56), 573-589.
- DePries, P. (1987). Papilionidae, Pieridae, Nymphalidae. En *The butterflies of Costa Rica and their natural history* (pág. 327). Nueva Jersey: Pricenton University Press.
- Doyle, J. J. (1992). Gene Trees and species trees: molecular systematics as ome-character taxonomy. *Sys. Bot.*(17), 144-163.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation prodecure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* (19), 11-15.
- Eichler, A. W. (1896). *Syllabus der Vorlesungen über spezielle und medizinisch-pharmazeutische Botanik*. Borntraeger, Berlin.
- El Seedi, H. R., Ohara, T., Sata, N., & Nishiyama, S. (2002). Antimicrobial diterpeniodds from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*(81), 293-296.
- Endress, P. K. (1993). Federico Delpino and early views on angiosperm origin and macroevolution. *Diss. Bot.*(196), 77-83.





- Endress, P. K. (1994). *Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers*. Cambridge University Press.
- Endress, P. K. (1996). Diversity and Evolutionary trends in Angiosperms Anthers. En W. D'Arcy, & R. Keating, *The Anther, form, function and phylogeny* (págs. 92-110). Cambridge: Cambridge University Press.
- Engler, A. (1897). Nachträge. En A. Engler, & K. Prantl (Edits.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Engelmann, Leipzig.
- Erlich, H. A., & Arheim, N. (1992). Genetic analysis using polimerasa chain reaction. *Annal Review of Genetics*(26), 479-506.
- Espinosa, G. J., & Rodríguez, J. L. (1995). Fascículo complementario VII. Listado florístico de Michoacán. Sección II (Angiospermae: Compositae). En J. Rzedowski, & G. Calderón de Rzedowski, *Flora del Bajío y Regiones Adyacentes* (págs. 84-103). Patzcuaro, Michoacán, México.
- Espinosa-García, F. J., Villaseñor, J. L., & Vibrans, H. (2004). The rich generally get richer, but there are exceptions: Correlations between species richness of native plant species and alien weeds in Mexico. *Diversity Distribution*(10), 399-407.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal Molecular Evolution*(17), 368-376.
- Felsenstein, J. (1994). *PHYLIP (phylogeny inference package)*. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- Fernández, N. R., Jiménez, R. C., Sánchez, A. M., & Jiménez, R. A. (1998). Listado florístico de la Cuenca del Río Balsas, México. *Revista Polibotánica*(9), 1-151.
- Fernández, T., Zolezzi, P. C., Risco, E., Martino, V., López, P., Calvin, M., . . . Álvarez, E. (2002). Immunomodulating properties of Argentine plants with ethnomedicinal use. *Phytomedicine: International Journal of Phytopharmacology*(9), 546.
- Fitch, W. M. (1970). Toward defining the course of evolution: minimal change for a specific tree topology. *Syst Zool*(17), 406-416.
- Flores, A., Chet, I., & Herrera-Estrella, A. (1997). Improved biocontrol activity of *Trochoderma harzianum* by overexpression of the proteinase encoding gene *prb1*. *Curr. Genet.*(31), 30-37.
- Font Quer, P. (1953). *Diccionario de Botánica*. Salvat.
- Freire Fierro, A. (2004). Botánica Sistemática Ecuatoriana. *Missouri Botanical Garden*, 122-123.





- García Sánchez, E. (2008). Escrutinio de la actividad microbicida de *Eupatorium* spp. Morelia, Michoacán, México.
- Gentry, A. (1993). *A field guide to the families of woody plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru) with supplementary notes of herbaceous taxa*. Washington, D.C.: Conservation International.
- Giseke, P. D. (1792). *Praelectiones in ordines naturals plantarum*. Hamburg, Germany.
- Gómez, L. M., Gildardo, C., López, A., & Uribe, S. (2009). Molecular and Morphological differentiation of *Oleria makrena* (Hewitson) and *Oleria fumata* (Haensch) (Lepidoptera: Ithomiinae). *Systematics, Morphologic and Physiology*, 38(5), 616-623.
- Grant, W. F. (1953). A cytotaxonomic study in the genus *Eupatorium*. *American Journal of Botany*(40), 726-742.
- Grant, W. F. (1953). A cytotaxonomic study in the genus *Eupatorium*. *American Journal of Botany*(40), 729-742.
- Grueter, W., McNeill, J., Barrie, F., Burdet, H. M., Demoulin, V., Filgueiras, T. S., . . . Hawksworth, D. L. (2000). International Code of Botanical Nomenclature (St. Louis Code). *Sixteenth International Congress*. St. Louis, Missouri.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*(41), 95-98.
- Hamby, R. Z., & Zimmer, E. A. (1992). Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematics. En P. S. Soltis, J. E. Soltis, & J. J. Doyle (Edits.), *Molecular systematics of plants* (págs. 50-91). New York, NY: Chapman and Hall.
- Herbert, P. D., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H., & Hallwachs, W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgurator*. *Proc Natl Acad Sci Unit States Am*(101), 14812-148171.
- Heywood, V. H. (1985). En *Las plantas con flores* (pág. 259 y 329). España: Reverté.
- Hillis, D. M., & Wiens, J. J. (2000). Molecules versus morphology in systematics. En J. J. Wiens (Ed.), *Phylogenetic analysis of morphological data* (págs. 1-19). Washington: Smithsonian Institution Press.
- Hinton, J., & Rzedowski, J. (1975). Goerge B. Hinton, explorador botánico en el Sudoeste de México. *An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Méx.*(21), 1-114.
- Hoffmann, O. (1890-1894). Compositae. En A. Engler, & K. Prantl (Edits.). Engelmann, Leipzig: Die Natürlichen Pflanzenfamilien.





- Huelsenbeck, J. P., Bull, J. J., & Cunningham, C. W. (1996). Combining data in phylogenetic analysis. *TREE*(11), 152-158.
- Hultén, E. (1971). The circumpolar plants. II. Dicotyledons. *Kungl. Svenska Vetenskap. Handl. Ser.*, 3(13), 1-463.
- Huxley, J. S. (1940). *The New Systematics*. Oxford: Oxford University Press.
- Ito, M., Watanabe, K., Kita, Y., Kawahara, T., Crawford, D. J., & Yahara, T. (2000). Phylogeny and phytogeography of Eupatorium (Eupatorieae, Asteraceae): Insights from sequence data of the nrDNA ITS regions and cpDNA RFLP. *Journal of Plant Research*(113), 79-89.
- Ito, M., Yahara, T., King, R. M., Watanabe, K., Oshita, S., Yokoyama, J., & Crawford, D. J. (2000). Molecular phylogeny of Eupatorieae (Asteraceae) estimated from cpDNA RFLP and ITS amplification for the polyploid origin hypothesis of the tribe. *Journal of Plant Research*(113), 91-96.
- Jansen, R. K., & Palmer, J. D. (1987). A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*(84), 5818-5822.
- Jardel, P., Moermond, T. C., & Mason, D. J. (2001). Sustainable forest and communal forestry: experiences from indigenous people. En N. Foster, *Communal forestry in the Americas: case studies* (pág. 5). Cal., USA: Island Press. Covello.
- Katinas, L., Gutiérrez, D. G., Crossi, M. A., & Crisci, J. V. (2007). Panorama de la familia Asteraceae (=Compositae) en la República de Argentina. *Biol. Soc. Argent. Bot.*, 42(1-2), 113-129.
- Kato, A., Nakajima, T., Yamashita, J., & Tanifuji, S. (1990). The structure of the large spacer region of the rDNA in *Vicia* and *Pisum sativum*. *Plant. Mol. Biol.*(14), 983-993.
- Kim, K. J., Choi, K. S., & Jansen, R. K. (2005). Two chloroplast DNA inversions originated simultaneously during the early evolution of the sunflower family (Asteraceae). *Molecular Biologic Evolution*, 22(9), 1783-1792.
- King, R. M., & Robinson, H. (1970). The new synanthology. *Taxon*(19), 6-11.
- King, R. M., & Robinson, H. (1970a). Studies in the Eupatorieae (Compositae). XIX. New contributions in Argentina. *Phytologia*(19), 208-229.
- King, R. M., & Robinson, H. (1970b). Eupatorium, a Compositae genus of Arcto-tertiary distribution. *Taxon*(19), 769-774.
- King, R. M., & Robinson, H. (1987). The genera of the Eupatorieae (Asteraceae). En *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. Missouri Botanical Garden, St. Louis.





- Kita, Y., & Ito, M. (2000). Phylogeography of genus *Aconitum* subgenus *Aconitum* in Asia inferred from sequence of the nrDNA ITS regions. *Plant Systematics Evolution*.
- LeBlond, R. J., Schilling, E. E., Porcher, R. D., Sorrie, B. A., Townsend, J. F., McMillan, P. D., & Weakley, A. S. (2007). *Eupatorium paludicola* (Asteraceae): a new species from the Coastal plain of North and South Carolina. *Rhodora*, 109(938), 137-144.
- Lessing, C. F. (1832). *Synopsis Generum Compositarum*. (Duncker, & Humblot, Edits.) Berlin, Germany.
- Lipscomb, D. (1998). *Basics of Cladistic Analysis*. Washington D.C.: George Washington University.
- Liu, K., Roeder, E., Chen, H. L., & Xiu, X. J. (1992). Pirrolizidine alkaloids from *Eupatorium fortunei*. *Phytochemistry*, 31(7), 2573-2574.
- Mc Vaugh, R. (1982). The new synanthology vs. *Eupatorium* in Nueva Galicia. *Contr. Univ. Mich. Herb.*(15), 181-190.
- Mittermeier, R. A. (1988). Biodiversidad. En E. O. Wilson (Ed.), *Primate diversity and the tropical rain forest: case studies from Brazil and Madagascar and the importance of the megadiversity countries* (págs. 145-154). Washington, D.C.: National Academy Press.
- Mittermeier, R. A., & Goettsch, C. (1992). La importancia de la biodiversidad biológica en México. In J. Sarukhán, & R. Dirzo (Eds.), *México entre los retos de la biodiversidad* (pp. 63-73). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Motoo, T., Yoshiko, T., Hiroe, K., Katsuyuki, N., & Masakazu, S. (2002). Seven germacranolides, eupaglehnins A, B, C, D, E, and F, and 2 α -acetoxypitulipinolide from *Eupatorium glehni*. *Chemical Pharmacy Bulletin*(50), 1250-1254.
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York, USA: Oxford University Press.
- Nickrent, D. L., & Soltis, D. E. (1995). A comparison of angiosperm phylogenies from nuclear 18S rDNA and rbcL sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 208-234.
- Olmstead, R. G., & Sweere, J. A. (1994). Combining data in phylogenetic systematics: an empirical approach using three molecular data sets in to Solanaceae. *Syts. Bot.*(43), 467-481.
- Otero Arnaiz, A., de la Cruz, M., & Oyama, K. (1997). Uso de los RAPDS como marcadores moleculares. *Bol. Soc. Bot.*(60), 85-117.
- Peters, C. M. (1994). Sustainable harvest of non-timber plant resources in tropical moist forest: an ecological primer biodiversity support program. En M. D. Lanvoder, *WWF, The Nature Conservancy and Word Resources Institute* (pág. 45). Corporate Press Inc.





- Ramamoorthy, T. P., & Lorence, D. H. (1987). Species vicariance in the Mexican flora and a description of a new species of *Silvia* (Lamiaceae). *Bulletin du Muséum National d'Historie Naturelle*, 167-175.
- Robinson, B. L. (1913). A key to the genera of the Compositae-Eupatorieae. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*(49), 429-437.
- Robinson, H. (1981). A revision of the tribal and subtribal limits of the Heliantheae (Asteraceae). *Smithsonian Contributions to Botany*(51), 1-102.
- Rong-Cheng, L., Zai-Song, D., Liang-Bi, L., & Ting-Yung, G. (2001). A rapid and efficient DNA minipreparation suitable for screening transgenic plants. *Plant Molecular Biologic Reporter*(19), 379a-349e.
- Rzedowski, G. C., Rzedowski, J., & otros, y. (2005). Flora fanerogámica del Valle de México. Patzcuaro, Michoacán, México: Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Rzedowski, J. (1978). *Vegetación de México*. México, D.F.: Limusa.
- Rzedowski, J. (1990). Vegetación potencial. En *Atlas Nacional de México* (Vol. 2). México.
- Rzedowski, J. (1991). El endemismo en la flora fanerogámica de México: una aproximación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana*(15), 47-64.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., . . . Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*(239), 487-491.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biologic Evolution*(4), 406-425.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning a laboratory manual* (Third ed.). Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sánchez-Colón, S., Flores-Martínez, A., Cruz-Lyva, I. A., & Velázquez, A. (2009). Estado y transformación de los ecosistemas terrestres por causas humanas. En *Capital Natural de México* (Vol. II, págs. 75-126). México, D.F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad de México.
- Sang, W., Zhu, L., & Axmacher, J. C. (2010). Invasion pattern of *Eupatorium adenophorum* Spreng in Southern China. *Biologics Invasions*(12), 1721-1730.
- Schilling, E. E. (2011). Systematics of the *Eupatorium album* Complex (Asteraceae) from Eastern North America. *The American Society of Plant Taxonomics. Systematic Botany*, 36(4), 1088-1100.





- Schilling, E. E., LeBlond, R. J., Sorrie, B. A., & Weakley, A. S. (2007). Relationships of the New England Boneset, *Eupatorium novae-angliae* (Asteraceae). *Rhodora*, 109(938), 145-160.
- Schilling, E. E., Panero, J. L., & Cox, P. B. (1999). Chloroplast DNA restriction site data support a narrowed interpretation of *Eupatorium* (Asteraceae). *Plants Systematics and Evolution*(219), 209-223.
- Schmidt, G. J., & Schilling, E. E. (2000). Phylogeny and biogeography of *Eupatorium* (Asteraceae: Eupatoriae) based on nuclear ITS sequence data. *American Journal of Botany*(87), 716-726.
- Shen, Y. C., Lo, K. L., Kuo, K. L., & Khail, A. T. (2005). Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium kiirunense*, a coastal plant of Taiwan. *Journal of Natural Products*(68), 745.
- Silva-Brandão, K. L., Azeredo-Espin, A. M., & Freitas, A. V. (2008). New evidence on the systematic and phylogenetic position of *Parides burchellanus* (Lepidoptera: Papilioniodae). *Mol Ecol Res*(8), 502-511.
- Simon, L. S., Grierson, L. M., Naseer, Z., Bookman, A. A., & Sez Shainhouse, J. (2009). Efficacy and safety of optical diclofenac containing dimethyl sulfoxide (DMSO) compared with those of optical placebo, DMSO vehicle and oral diclofenac for knee osteoarthritis. *Pain*(143), 238-245.
- Simpson, G. G. (1961). *Principles of animal taxonomy*. University Press, New York.
- Simpson, G. G. (1980). *Why and How: Some problems and methods in historical biology*. New York: Pergamon Press.
- Siripun, K. C., & Schilling, E. E. (2006b). *Eupatorium*. En F. o. Committee (Ed.), *Flora of North America north of Mexico* (Vol. 21, págs. 462 – 474). New York: Oxford University Press.
- Sokal, R., & Michener, C. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38, 1409–1438.
- StatSoft.Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.
- Stevens, P. F. (2001). *Angiosperm Phylogeny Website*. Recuperado el 20 de Diciembre de 2011, de <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Stuessy, T. (2004). A transitional-combinational theory for the origin of angiosperms. *Taxon*, 53(1), 3–16.
- Sullivan, V. I. (1972). Investigations of the breeding systems, formation of autoand allopolyploids and the reticulate pattern of hybridization in North American *Eupatorium* (Compositae). En F. S. University (Ed.). Tallahassee.
- Sullivan, V. I. (1979). Diploid, polyploid, and agamospermy among species of *Eupatorium* (Compositae). *Canadian Journal of Botany*(54), 2907-2917.





- Swofford, D. L. (1993). *PAUP: phylogenetic analysis using parsimony*. Illinois Natural History Survey, Champaign, IL.
- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Waddell, P. J., & Hillis, D. M. (1996). Phylogenetic inference. En D. Hillis, C. Mortiz, & B. Mable (Edits.), *Molecular Systematics* (págs. 407-514). Sinauer, Sunderland, MA.
- Takashima, Y., Morita, T., & Michiaki, Y. (2006). Complete mitochondrial DNA sequence of Atlantic horse mackerel *Trachurus Trachurus* and molecular identification of two commercially important species *T. trachurus* and *T. japonicus* using PCR-RFLP. *Fisheries Science*, *72*, 1054-1065.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biologic and Evolution*(24), 1596-1599.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximun Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximun Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, *28*(10), 2731-2739.
- Taylor, D. W., & Hickey, L. J. (1992). Phylogenetic evidence for the herbaceous origin of angiosperms. *Syst. Evol.*(180), 137-156.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research*(22), 4673-4680.
- Tipton, K. F. (1993). The naming of parts. *Trends in Biochemical Sciences*(18), 113-115.
- Toledo, V. M. (1988). La biodiversidad de México. En *Ciencia y Desarrollo* (Vol. 81, págs. 17-30). México.
- Tori, M., Ohara, T., Nakashima, K., & Sono, M. (2001). Thymol derivativez from *Eupatorium fortunei*. *Journal of Natural Products*(64), 1048-1051.
- Torres-Colín, L., & Villaseñor, J. L. (1993). *Eupatorium guiengolense* (Asteraceae: Eupatorieae), una nueva especie de Oaxaca, México. *Acta Botánica Mexicana*(23), 47-51.
- Tucci, G., Simeone, M. C., & Maggini, F. (1994). Intergenic spacers of rRNA genes iin three species of the Cynarae (Asteraceae). *Plant Syst. Bot.*(190), 187-191.
- Turner, B. L. (1987). Study of the *Ageratina mairetiana* complex (Asteraceae: Eupatorieae). *Phytologia*(63), 417-427.
- Turner, B. L. (1996). A new species of *Ageratina* (Asteraceae: Eupatorieae) from Jalisco, Mexico. *Phytologia*, *80*(2), 128-132.





- Turner, B. L. (2012). Three new species fo Ageratina (Asteraceae, Eupatorieae) from Mexico belonging to the *A. capillipes* complex. *Phytologia*, 94(2), 228-236.
- Turner, B. L., & Nesom, G. L. (1993). Biogeografía, diversidad y endemismo o estatutos tratados de Asteraceae en México. En *Diversidad Biológica en México: Origen y distribución* (págs. 559-576).
- Vester, v. H. (1940). Die Areale und Arealtypen der Angiospermen-Familien . *Bot. Arkiv.*, 41(203), 203-275, 295-356.
- Villaseñor, J. L. (1993). La familia de las Asteraceae en México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 117-124.
- Villaseñor, J. L. (2003). Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*(28), 160-167.
- Villaseñor, J. L., Ibarra, G., & Ocaña, D. (1997). Strategies for the conservation of Astereceae in Mexico. *Conservation Biology*(12), 1066-1075.
- Wang, M.-Z., Zhang, Y.-Y., Li, S.-L., Cai, X.-H., & Luo, X.-D. (2006). Cadinene derivatives from *Eupatorium adenophorum*. *Helvetica Chimica Acta*, 89(12), 3014-3108.
- Ward, D. B. (2004). New combinations in the Florida flora II. *Novon*(14), 365-371.
- Weberling, F. (1989). *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge University Press: Cambridge New York.
- Weller, S. J., Simmoms, R. B., & Carlson, A. L. (2004). *Empyreuma* species and species limits: evidence, from morphology and molecules (Arcriidae: Ctenuchini). *J Lepid Soc*(58), 21-32.
- Whinnett, A., Zimmermann, M., Willmott, K., Herrera, N., Mallarino, R., Simpson, F., . . . Mallet, J. (2005). Strikingly variable divergence times inferred across an Amazonian butterfly 'suture zone'. *Proc. R. Soc. London B. Biol. Sci.*(272), 2525-2533.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. W. (1990). Aplication and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninky, & T. J. White (Edits.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (págs. 315-322). New York: Academic Press, Inc.
- Wickens, G. E. (1992). "Productos forestales no madereros; posibilidades futuras". Estudio FAO MONTES No. 97. *Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*, 36.
- Wilkinson, H. (1979). The plant surface (mainly leaf). En C. R. Metcalfe, & L. Chalk, *Anatomy of the Dicotyledons, Volume I: Systematic anatomy of leaf and stem with brief history of the subject*. Oxford University Press.





Willey, E. O. (1981). Phylogenetics. En *The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics* (pág. 439). New York: Wiley-Interscience.

Woerdenbag, H. J. (1986). Eupatorium cannabinum L. a new emphasizing the sesquiterpene lactones and their biological activity. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific* (8), 245.

Zang, M.-L., Wu, M., Zhang, J.-J., Dianne, Y.-C., & Qing, W.-S. (2008). Chemical constituents of plants from the genus Eupatorium. *Chemistry and Biodiversity*(5), 40-45.

Zimmermann, W. (1938). Die Telometheorie. *Biologe*(7), 385-391.

Zimmermann, W. (1952). Main results of the "Telome Theory". *The Palaeobotanist*(1), 456-470.





X. ANEXOS





i. CONCEPTOS DE ESPECIE

Antes de comprender las bases de la taxonomía y sistemática primero hay que definir el concepto de *especie*. No es lo mismo definir especie en base a criterios morfológicos que basándose en criterios reproductivos. En el primer caso, poblaciones con diferencias fenotípicas producidas por adaptaciones locales serían consideradas como especies, pero si estas mismas poblaciones comparten un acervo genético común, no serían especies diferentes bajo el segundo tipo de criterios.

Aunque el criterio de especie es básico dentro de la biología, no hay un claro consenso para su definición, como se pone claramente de manifiesto por el gran número de intentos de definición de “especie” que han ido apareciendo a lo largo de los años (**cuadro 26**). Estos han sido propuestos por especialistas de muy diversos campos (genética, taxonomía, biogeografía, paleontología, etc.), con lo que reflejan definiciones que pueden ser adecuadas para sus propias disciplinas, pero que no suelen ser aplicables a toda la diversidad de los seres vivos.

En todas las culturas se han dado nombres que agrupaban a los seres vivos en categorías fijas (especies). Esta aproximación puede considerarse que es circunstancial con el lenguaje humano. Los agrupamientos se hacen básicamente atendiendo a similitud morfológica y se tiende a primar la homogeneidad frente a la diversidad. Quizás este sea el concepto de especie más antiguo, el denominado tipológico o esencialista, el cual establece categorías específicas basándose en rasgos fijos de organismos patrón o tipo, sin recoger la variación y adaptación local que pueden darse en las poblaciones. Frente al criterio tipológico han aparecido diversas definiciones de especie basadas en conceptos evolutivos (**cuadro 26**). Cada concepto de especie puede ser útil para determinados propósitos, y quizás no sea realista pensar que puede haber un único criterio que funcione correctamente para todos los seres vivos. Sin embargo, hay ciertas características generales que recogen prácticamente todas las definiciones biológicas de especie: las especies consisten en grupos de poblaciones que se entrecruzan, que comparten una serie de rasgos distintivos y que evolucionan de forma separada. Es lo que se ha dado en llamar “independencia evolutiva” y que implica que los procesos evolutivos (mutación, selección, deriva y migración) operan de forma independiente en cada especie.





Los conflictos entre definiciones de especie aparecen básicamente al definir criterios operativos para identificar estos taxones. Por un lado se tienen los que se podrían denominar conceptos taxonómicos, que sería aquellos cuyo objetivo es clasificar y que no asumen ningún tipo de hipótesis acerca del proceso de especiación. Frente a éstos aparecen conceptos evolutivos, en los cuales las especies se definen como unidades evolutivas. Los partidarios de los conceptos evolutivos de especie están más interesados en establecer filogenias, identificar grupos monofiléticos (**fig. 50**) y determinar patrones y procesos de especiación que únicamente la clasificación de especies. Dentro de las definiciones evolutivas se puede diferenciar entre conceptos de “clados” y los “contemporáneos” de especie (**Endler 1989**). Entre los primeros se agruparía los conceptos de filogenéticos (más relacionados con patrones de ascendencia-descendencia y de cladogénesis). Por su parte, aquí se podrían integrar conceptos basados en la reproducción (como el biológico de especie o el de reconocimiento) en la cohesión (el concepto cohesivo o evolutivo).

El concepto biológico de especie es el más utilizado por los biólogos evolutivos interesados en los mecanismos genéticos de especiación, puesto que establece un criterio claro (reproducción sexual y fertilidad de la descendencia) de especiación. Sin embargo, este concepto es utilizable únicamente en organismos con reproducción sexual, por lo que no puede aplicar en organismos vegetales. Es fundamental entender que la reproducción sexual provoca la homogeneización de los acervos genéticos de las poblaciones a través de la recombinación genética, previniendo la excesiva divergencia entre individuos pertenecientes a la misma especie. Otro problema adicional para el concepto biológico de especies es la hibridación. Multitud de especies vegetales y de hongos y algunas especies animales hibridan con éxito. En estos casos, la aplicación de esta definición de especie provoca claros problemas.





Cuadro 10. Conceptos de especie. Para una revisión más extensa puede consultarse de Queiroz (1998).

Concepto	Definición	Referencia
Biológico	Un grupo de individuos completamente fértiles entre sí, pero aislados del intercruzamiento con otros grupos similares por sus propiedades fisiológicas (debido a incompatibilidad de los progenitores, esterilidad de los híbridos o ambas cosas).	Dobzhansky, 1937
	Grupos de poblaciones con capacidad real o potencial de intercruzamiento entre sí, que están aislados reproductivamente de otros grupos similares.	Mayr, 1942
Evolutivo	Una sola línea de poblaciones ancestro-descendientes que mantiene su identidad respecto a otras líneas y que mantiene sus propias tendencias evolutivas y destino histórico.	Willey, 1978
Filogenético	Un cluster basal de organismos que es diagnosticablemente diferente de otros cluster similares, dentro del cual hay un patrón de ascendencia-descendencia.	Cracraft, 1989
	El grupo monofilético más pequeños con ascendencia común.	de Queiroz & Donoghue, 1990
Reconocimiento	La población más inclusiva de individuos biparentales que compartan un sistema de fecundación común (sistema de apareamiento).	Paterson, 1985
Cohesivo	La población más inclusiva de individuos con potencial para la cohesión fenotípica mediante mecanismos de un grupo de intrínsecos de cohesión (intercambiabilidad genética o demográfica).	Templeton, 1989
Genealógico	Grupo de organismos que muestran exclusividad. La exclusividad aparece cuando todos los componentes de un grupo muestran mayor grado de relación entre ellos que con cualquier otro organismo fuera del grupo.	Baum y Shaw, 1995
Ecológico	Un linaje (o conjunto de ellos) que ocupa una zona adaptativa mínimamente diferenciada	Van Valen, 1976
Internodal	De cualquier linaje de su rango, y que evoluciona separadamente de todos los linajes externos a su rango.	Kornet, 1993
Agrupamientos (clusters) genotípicos	Grupo diferenciable de individuos que no tienen, o tiene pocos, individuos intermedios cuando se sitúan en contacto.	Mallet, 1995
	Los agrupamientos se reconocen por el déficit de individuos intermedios, tanto para un único locus (déficit de heterocigotos) como para varios loci (correlaciones genotípicas y desequilibrio de ligamiento que sean divergentes entre agrupamientos).	



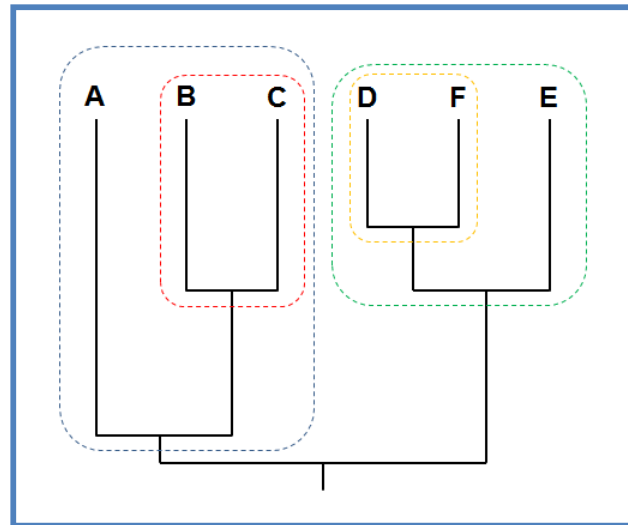


Figura 14. Grupos monofiléticos. De acuerdo con el concepto filogenético de especie, cualquier taxón específico debe ser monofilético. En la figura aparecen diversos agrupamientos que forman grupos monofiléticos y podrían ser considerados especies, aunque es posible establecer otros agrupamientos diferentes, dependiendo de qué nivel de diversificación se considere. Sin embargo, agrupar en la misma especie a las líneas B, C, D, E y F no sería adecuado, pues el resultado sería una especie polifilética o parafilética con respecto de A.

ii. TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA

Durante largo tiempo se consideró a la Taxonomía y a la Sistemática como sinónimas, ocupadas sólo de la clasificación de los organismos. Mediados del siglo XX se perfila la Taxonomía como “*la teoría y práctica de la clasificación*” y la Sistemática como *el estudio de la diversidad biológica... y de las relaciones entre los organismos*” (Huxley, 1940; Simpson, 1961); la Biología Sistemática, más inclusiva, recoge absolutamente todo lo que se sabe de los seres vivos presentes y extintos (desde el nivel molecular hasta el ecosistémico). Y, como la diversidad se ha producido mediante evolución, una parte de su estudio implica la investigación de la historia evolutiva de cada estirpe (su filogenia) necesaria para la posterior elaboración de clasificaciones naturales. Simpson (1980) afirma que la filogenia *es lo que ha sucedido y la clasificación es la disposición de sus resultados*.

Almacenar la información referente a las formas de vida y permitir su fácil recuperación es la tarea principal de la Sistemática; ello requiere: recolección; conservación; descripción; denominación inequívoca (Nomenclatura); catalogado; identificación; establecimiento de la



historia evolutiva (Filogenética); ordenamiento en un sistema general de referencia (Taxonomía); divulgación (guías de campo, etc.); estudio de la evolución (modos de operar en todos los niveles de la jerarquía biológica).

En principio la Sistemática se desarrolló en el marco de la Biología de los organismos y es evidente que a la mayoría de los “científicos moleculares” les parece una “ciencia del pasado”, sin embargo ellos desarrollan la de su propio nivel de estudio (molecular) pues igualmente aíslan (recolectan), describen (moléculas y familias de moléculas), catalogan, identifican, realizan filogenias de genes y proteínas... tienen, en definitiva, sus propios bancos de datos, aunque han descuidado la tarea de formalizar la nomenclatura (reglas, códigos) que, por el momento, resulta caótica y dificulta la comunicación (**Brosius & Gould, 1992; Tipton, 1993**).

iii. SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA

La sistemática filogenética o cladística estudia la diversidad orgánica a través del reconocimiento de las relaciones genealógicas de los organismos, las que se reflejan en la clasificación natural de los mismos (**Willey, 1981**). Entre las funciones más importantes de la sistemática filogenética se encuentran las siguientes (**Lipscomb, 1998**):

1. Proveer, mediante la clasificación, el marco conceptual mediante el cual los biólogos puedan comunicar información acerca de los seres vivos.
2. Proporcionar, mediante los cladogramas, bases para proveer diferentes interpretaciones evolutivas.
3. Predecir, mediante los cladogramas y las clasificaciones derivadas de los mismos, propiedades de los organismos recién descubiertos o poco conocidos.

a. Pasos de un estudio sistemático

Para llevar a cabo un estudio sistemático aplicando metodología cladística se siguen básicamente cuatro pasos:

1. Seleccionar los taxones que serán las unidades de estudio.





2. Seleccionar los caracteres que brindarán la evidencia sobre las relaciones genealógicas de los taxones estudiados.
3. Descubrir las relaciones genealógicas de los taxones analizados y expresarlas en un cladograma.
4. Traducir las relaciones genealógicas del cladograma en una clasificación formal.

iv. MARCADORES MOLECULARES

Las estrategias clásicas para la detección de variación (anatomía, morfología, embriología y fisiología) han sido complementadas con técnicas moleculares. Estas técnicas incluyen el análisis de constituyentes químicos y la caracterización de macromoléculas.

Los marcadores moleculares o marcadores ADN revelan sitios de variación naturales a nivel de secuencia de ADN. A diferencia de los marcadores controlados por genes asociados a caracteres morfológicos (fenotipos de fácil identificación visual), las variaciones en los marcadores de ADN no se muestran por sí mismas en el fenotipo, porque pueden ser diferencias en un solo nucleótido del gen o en un fragmento de ADN repetitivo. Los marcadores moleculares son una serie de métodos de análisis genético-moleculares que se basan en la detección de polimorfismos en proteínas y ADN, cuyos principios y técnicas se han utilizado para resolver problemas específicos en genética y ecología de poblaciones, evolución de sistemas reproductivos, mapeo genético de caracteres de interés agronómico, procesos de hibridación e introgresión, determinación de patrones biogeográficos, resolución e identificación de relaciones taxonómicas, reconstrucción de filogenias y biología de la conservación (**Otero et al., 1997**).

En los últimos años se han desarrollado las estrategias generales para la detección de polimorfismos moleculares como la hibridación molecular, amplificación enzimática y secuenciación de ADN. Un ejemplo de esto es la introducción de la reacción en cadena de la polimerasa (**Saiki et al., 1988; Erlich & Arnheim, 1992**). Un método *in vitro* de amplificación enzimática de segmentos específicos de ADN que ha simplificado el estudio de la variación genética y ha transformado la manera en que se llevan a cabo los análisis genéticos.



a. Espacios transcritos internos (ITS)

Los ITS han sido usados en numerosos estudios de sistemática en niveles genéricos y específicos de una amplia gama de taxones vegetales (**Baldwin et al., 1995**). Los dos espacios transcritos internos, ITS-1 e ITS-2, están localizados entre los genes que codifican a las subunidades del RNA ribosomal nuclear (nrRNA) 5.8S, 18S y 26S (**fig. 51**) (**Baldwin, 1992**). Individualmente el ITS-1 e ITS-2 tienen una longitud de alrededor de 300 pb y la subunidad 5.8S la más invariante dentro de las angiospermas (163-164 pb), por lo que toda la región posee una longitud de menos de 700 pb.

Aún cuando los ITS son parte de la unidad transcripcional ribosomal, estas secuencias no son incluidas en los ribosomas maduros (**Baldwin, 1992**). Las dos secuencias de los ITS, sin embargo, parecen funcionar en la maduración de los RNA's ribosomales como deleciones específicas o mutaciones puntuales en ITS-1 pueden inhibir la producción de RNA's maduros grandes o pequeños, y deleciones o mutaciones puntuales en ITS-2 previenen o reducen el procesamiento de subunidades de RNA's grandes.

Varios factores hacen que la región de los ITS sea valiosa para su uso en los análisis filogenéticos (**Baldwin et al., 1995**):

1. Esta región se repite en los genomas nucleares de las plantas, junto con otros componentes de la familia multigénica de nrDNA incluyendo una región muy variable entre la repetición ribosomal, el espacio intergénico. El gran número de copias del nrDNA repetido facilita su amplificación y secuenciación.
2. En segundo lugar, la familia multigénica nrDNA experimenta una rápida evolución concertada como se describió anteriormente. Esta propiedad de la región ITS es más importante desde el punto de vista filogenético y promueve la reconstrucción exacta de las relaciones de las especies de secuenciación. Sin embargo, copias no homólogas están ocasionalmente presentes con mutaciones puntuales y/o eventos de inserción/delección, causando una pequeña variación entre las copias dentro de una especie.



3. Por último, la región ITS es relativamente pequeña (700 pb) y está flanqueada por secuencias muy conservadas de los genes de nrDNA 18S y 26S (**Baldwin et al., 1995**). Debido a esto, oligonucleótidos universales pueden utilizarse para amplificar y secuenciar la región ITS. Oligonucleótidos fueron originalmente diseñado para la amplificación de rRNA de hongos y derivaron de secuencias de hongos (*Saccharomyces*), animales (*Drosophila*) y las plantas (*Oryza sativa* y *Hordeum vulgare*) (**Blanco et al., 1990**). Estos oligonucleótidos se han utilizado con éxito con los miembros de las Liliáceas, Asteraceae, Rosaceae y Araliaceae.

v. USO COMBINADO DE ESPACIOS TRANSCRITOS INTERNOS Y EXTERNOS RIBOSOMALES EN LA SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA

Datos moleculares incrementan el número de caracteres informativos potencialmente usados en los análisis filogenéticos. La simplicidad del DNA secuenciado, el poder y la sofisticación de los programas de análisis filogenéticos (**Swofford, 1993; Felsenstein, 1994**) y el desarrollo de estudios teóricos sobre evolución molecular han mejorado grandemente nuestras habilidades de inferir relaciones filogenéticas entre organismos. Un número de diferentes regiones del DNA han sido satisfactoriamente usadas en las reconstrucciones filogenéticas de plantas. Es bien conocido que varias partes del genoma, incluyendo varias regiones muy cercanas del DNA, podrían no evolucionar a la misma velocidad. La elección de la secuencia para ser usada podría depender del nivel de divergencia taxonómico estudiado. En plantas, el genoma de cloroplasto ha provisto la mayoría de estas secuencias, de regiones codificantes y no codificantes que fueron usadas para resolver varios análisis filogenéticos vegetales en varios niveles (**Olmstead & Sweere, 1994**). El genoma del DNA mitocondrial, debido a su baja velocidad de sustitución (**Avice, 1994**), ha sido escasamente usado para reconstrucciones filogenéticas vegetales. Secuencias del genoma nuclear, especialmente del DNA ribosomal han sido usadas (**Hamby & Zimmer, 1992**).





El uso de más de un conjunto de datos para reconstruir y solidificar una filogenia requiere al menos de dos pasos:

1. Encontrar secuencias que evolucionen a una velocidad adecuada de acuerdo a nivel de variación estudiado.
2. La información filogenética contenida en ambos conjuntos de datos para ser usadas tienen que ser congruentes. Diferentes conjuntos de datos podrían producir diferentes estimaciones filogenéticas.

Aún existen muchos debates acerca de las relaciones filogenéticas de géneros y especies y una falta de consenso sobre como datos diversos podrían ser analizados en análisis filogenéticos.

El espacio transcrito interno (ETS) muestra un decremento gradual de la conservación nucleotídica “*río arriba*” del gen 18S y 26S entre diferentes especies. Esta región nunca es duplicada y podría ser secuenciada fácilmente con un oligonucleótido localizado en la región conservada del gen 18S. Las mismas propiedades favorables de los ITS están disponibles para la región ETS, esto promueve su uso para análisis filogenéticos (**Tucci et al., 1994; Kato et al., 1990**).



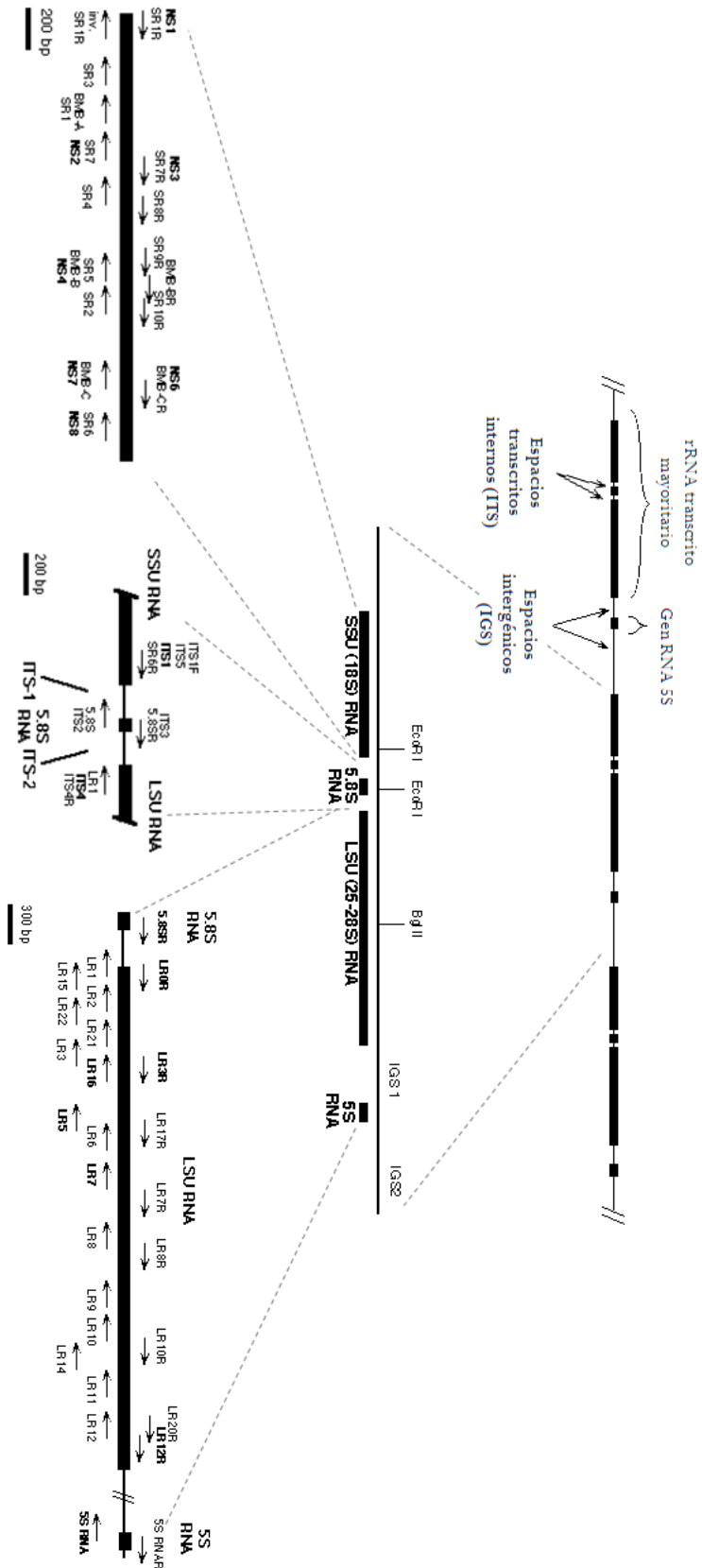


Figura 15. Regiones del rDNA y oligonucleótidos que las amplifican.
SSU: Subunidad ribosomal menor





vi. CLAVES DICOTÓMICAS

i. Clave Rzedowski *et al.* (2005).

➤ Clave para la separación de grupos

1. Estigma o estigmas presentes; óvulos encerrados en un ovario, semillas dentro del fruto; hojas de formas diversas.....*Angiospermae*

➤ Angiospermae

1. Embrión con 2 cotiledones; hojas casi siempre recorridas por nervaduras pinnadas o palmadas; flores frecuentemente pentámeras o tetrámeras. Incluye plantas parásitas de partes aéreas de otros vegetales.....*Dicotyledoneae*

➤ Dicotyledoneae

1. Flores por lo general marcadamente constituidas de un cáliz verde y de una corola de otro color.
2. Corola de una sola pieza; los pétalos están unidos por lo menos en su base.....*Simpétalas*

➤ Simpétalas

1. Plantas generalmente hermafroditas o monoicas, o si son diocas, los estambres no en número de 10.
3. Ovario ínfero.
56. Plantas sin zarcillos.
57. Ovario unilocular.
58. El fruto es un aquenio indehisciente con una sólo semilla; cáliz de una sola pieza o representado por un vilano.
59. Flores en cabezuelas; estigmas 1 o 2; estambres 4 o 5.





60. Plantas sin reunir el conjunto de tales características; estambres generalmente 5, por lo común con las anteras unidas; estigmas 2; cáliz en forma de vilano (a veces de una sola pieza): familia muy bien representativa en el Valle de México tanto en número de especies como en individuos.....*Compositae*

➤ Clave para la identificación de géneros de la familia Compositae

1. Flores liguladas dispuestas en la periferia de las cabezuelas, o bien, ausentes; plantas generalmente sin látex.
2. Lígulas ausentes.
6. Vilano presente.
7. Vilano de cerdas capilares.....*Clave G*

➤ Clave de identificación para el género *Eupatorium*.

Clave G. Flores liguladas ausentes; vilano de cerdas capilares.

1. Receptáculo sin páleas ni cerdas.
7. Cerdas del vilano 12 o más.
10. Flores todas hermafroditas.
15. Hojas y brácteas involucrales sin glándulas oleíferas traslúcidas, aunque a menudo con pequeños glóbulos de exudado resinoso.
16. Hojas principales opuestas o verticiladas, a veces las de la inflorescencia alternas.
17. Aquenios prismáticos, con 4 a 6 costillas.
18. Cerdas del vilano no plumosas, las setas laterales, de presentarse, menos de 5 veces más largas que el diámetro de la cerda.
19. Cerdas del vilano, al menos las principales, menos de 2 veces más cortas que el aquenio.....*Eupatorium*





ii. Clave de la “Flora of North America”.

➤ Clave para Eupatorieae

1. Cabezuelas disciformes, discoideas, radiadas, radiantes o cuasi-radiadas, cuasi-radiantes o cuasi-ligulóflora (no notablemente ligulóflora; savia lechosa raramente).
2. Base de la antera usualmente redondeada u obtusa a agudo (algunas veces sagitada, sin cola).
3. Estilo usualmente ± filiforme (no dilatado distancialmente), ramas del estilo en su mayoría lanceoladas o lineares (no adheridas casi al extremo), apéndices de las ramas del estilo en su mayoría claviforme, deltadas, lanceoladas, peniciladas o cilíndricas, a veces filiformes a lineales.
4. Apéndices de las ramas del estilo usualmente cilíndricas a claviforme (longitudes usualmente 2-5 veces más grandes de las líneas de los estigmas); hojas usualmente opuestas, algunas veces verticiladas o alternadas; cabezuelas disciodes; corolas blancas, blanco-amarillentas o rosa a púrpura (nunca amarillas).....*Eupatorieae*

➤ Clave para *Eupatorium* y *Ageratina*

1. Involucro campanulado, cilíndrico, elipsoide, hemisférico u obcónico, (2-)3-7(-25) mm de diámetro; brácteas (5-)8-45(-65+) en (1-)2-8+ series; flores (3-)10-1258(-200+).
3. Aquenio (3-)4-5(-8) acanalados.
 9. Vilano de (5-)10-80+ cerdas barbelulados, barbelados o plumosas o setifomes escalas.
 18. Involucros usualmente obcónicos a hemisféricos, algunas veces campanulados, cilíndrico o elipsoide (2-7 mm de diámetro); cerdas del vilano suaves a barbeluladas o barbeladas (no plumosa).
 19. Brácteas ± iguales.
 20. Receptáculos planos o convexos.





- 21. Brácteas 2- o 3-nervadas o no notablemente nervadas o pinnatinervadas; base del estilo usualmente pubescente (glabra en *Eupatorium capillifolium*); aquenios usualmente glandulosos.....*Eupatorium*
- 21. Brácteas 3-nervadas o 2-nervadas; base del estilo glabra; aquenio algunas veces glanduloso.
 - 22. Involucro 3-6 mm de diámetro; brácteas aprox. 30 in 2-3 series; flores 10-60.....*Ageratina*
- 19. Brácteas no iguales (el exterior más corto).
 - 23. Base del estilo usualmente pubescente base del estilo usualmente pubescente (glabra en *Eupatorium capillifolium*); aquenio usualmente glabro y glanduloso, algunas veces escabelouso en las costillas.
 - 24. Hojas en su mayoría opuestas (algunas verticiladas, las distales algunas veces alternas).....*Eupatorium*



vii. RECONSTRUCCIONES FILOGENÉTICAS

a. Región del gen 26S

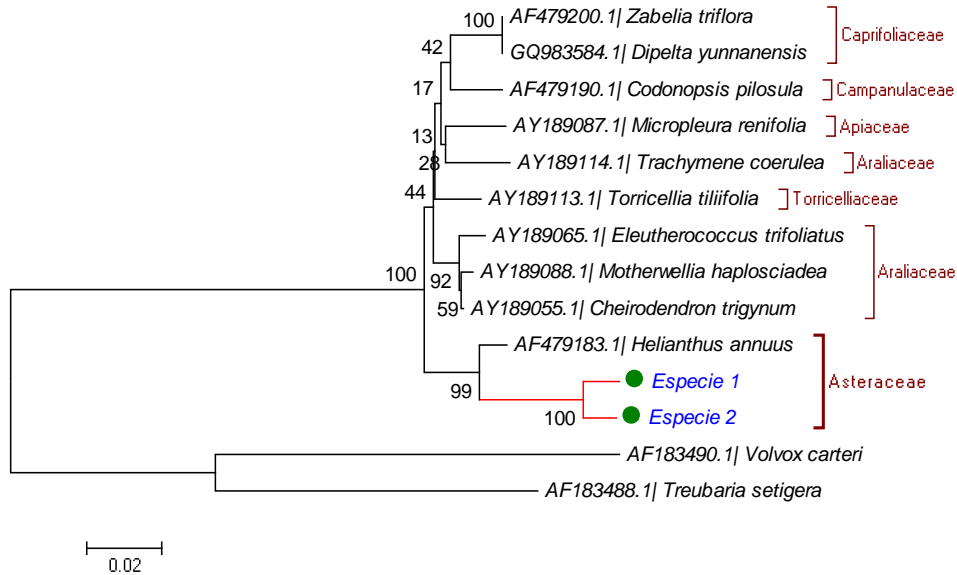


Figura 16. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales, calculado mediante el método estadístico de ME.

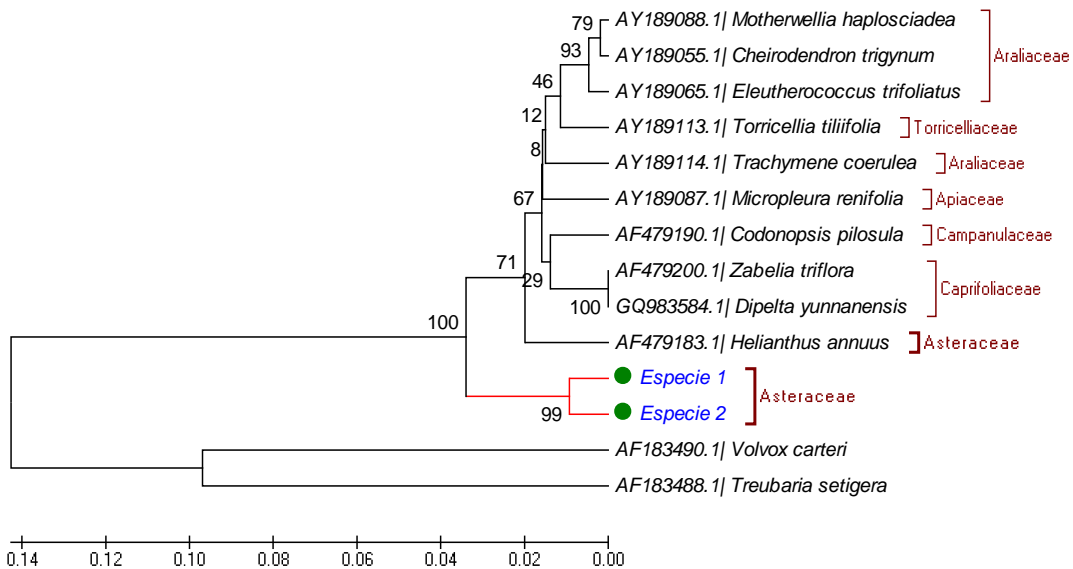


Figura 17. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales, calculado mediante el método estadístico de UPGMA.

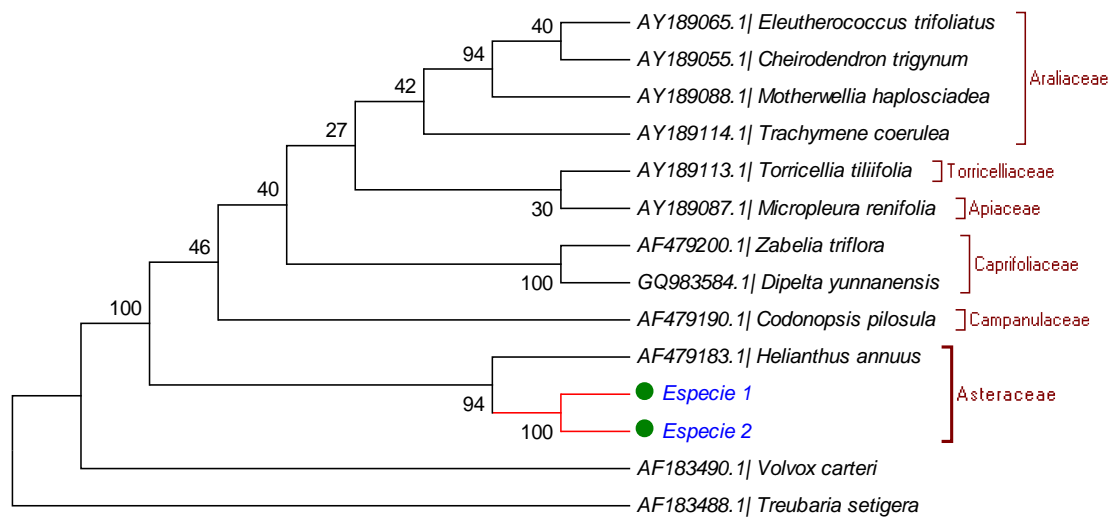
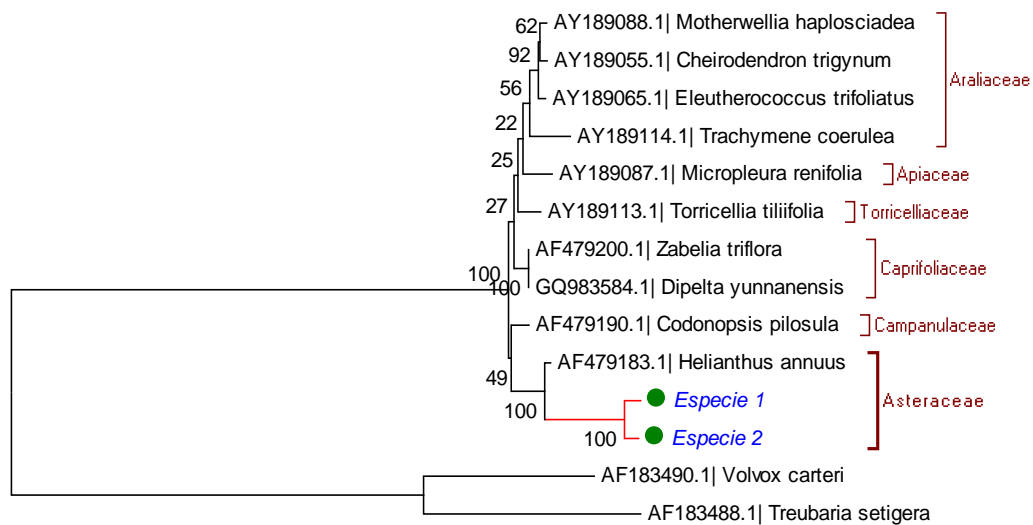


Figura 18. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales. calculado mediante el método estadístico de MP.



0.05

Figura 19. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 26S del nrDNA del Orden Asterales. calculado mediante el método estadístico de ML.

b. Región del gen 18S

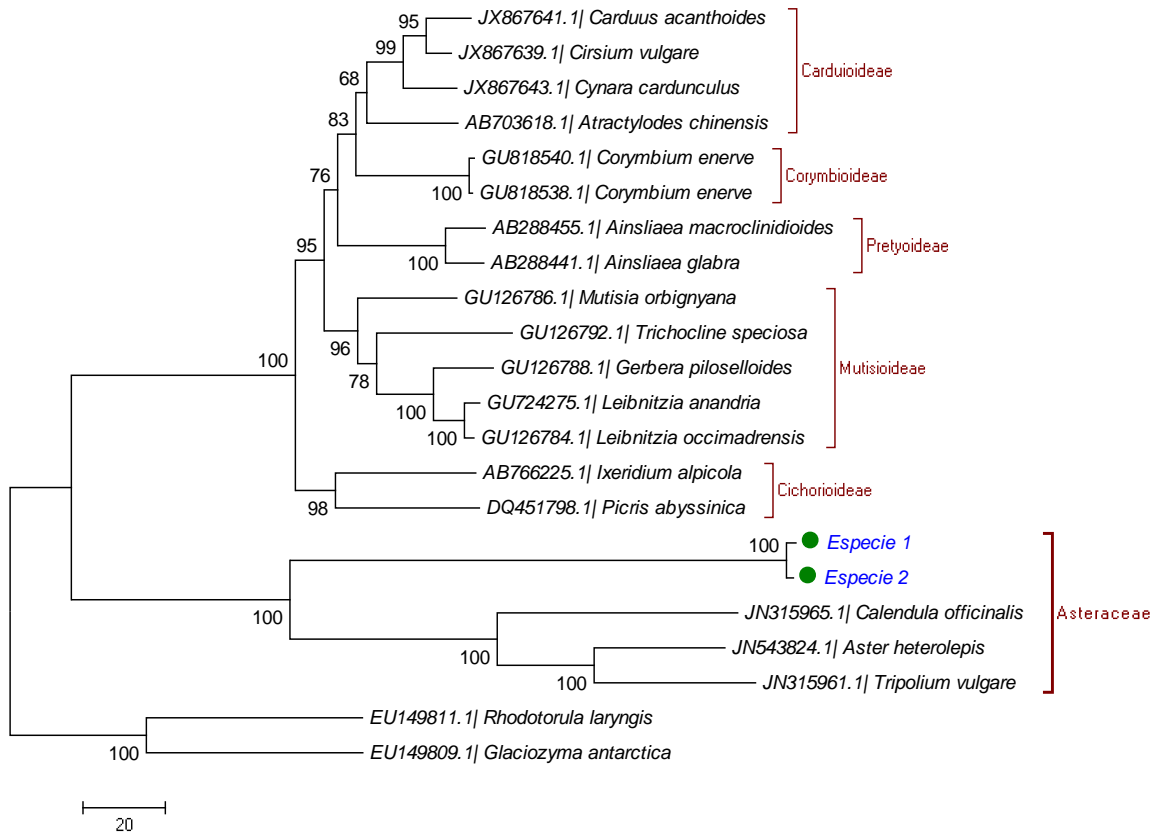


Figura 20. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 18S del nrDNA de la familia Asteraceae. calculado mediante el método estadístico de ME

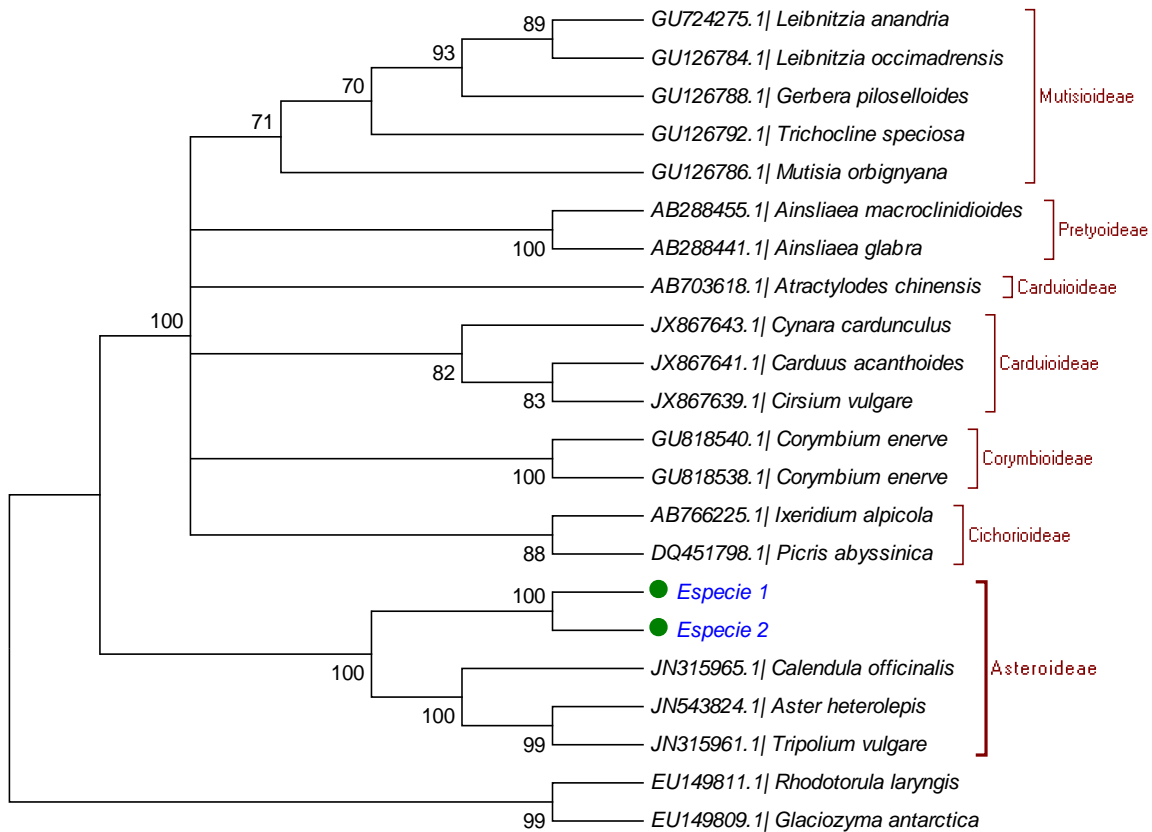


Figura 21. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 18S del nrDNA de la familia Asteraceae. calculado mediante el método estadístico de MP

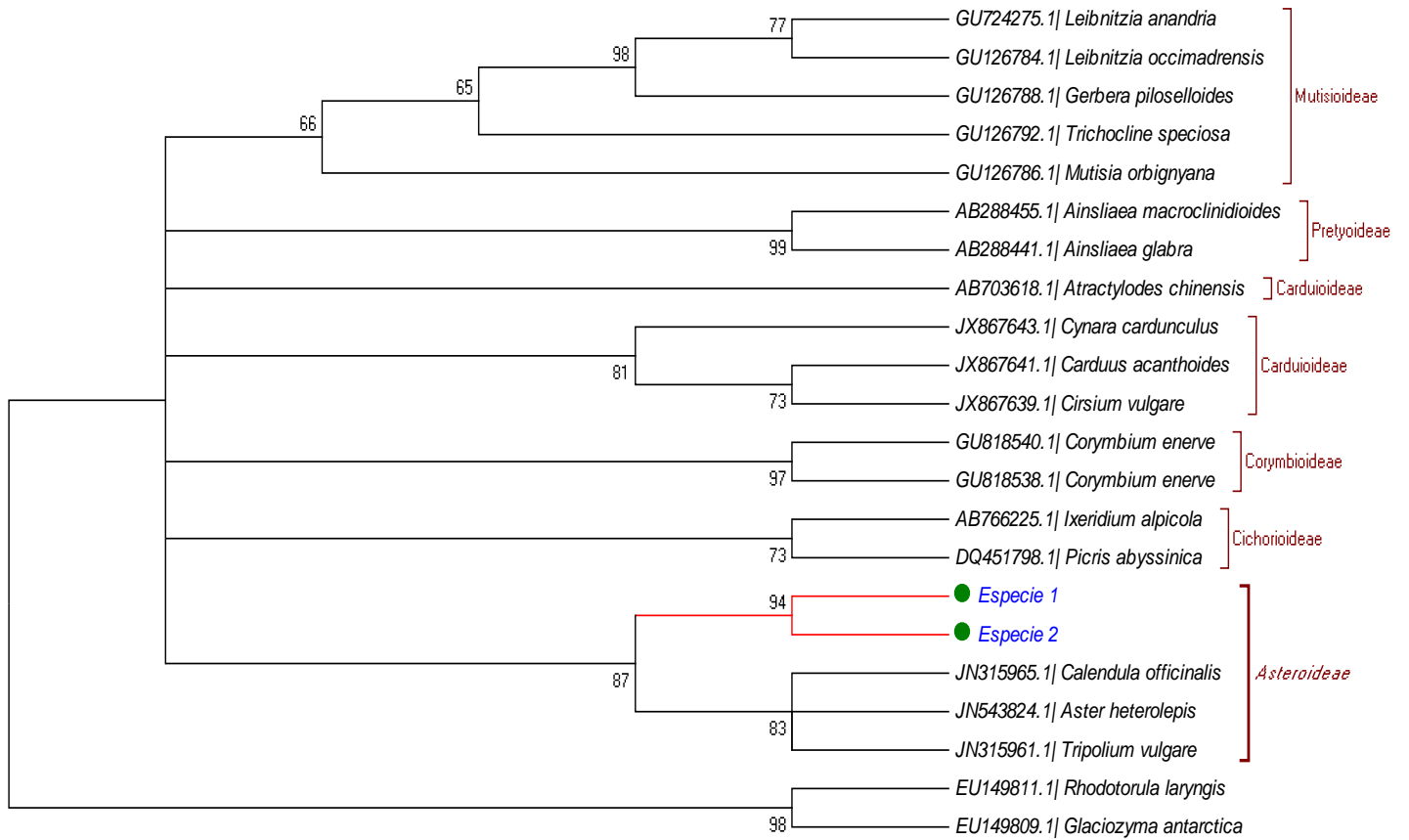


Figura 22. Árbol filogenético basado en secuencias del gen 18S del nrDNA de la familia Asteraceae. calculado mediante el método estadístico de ML.

c. Región de los ITS

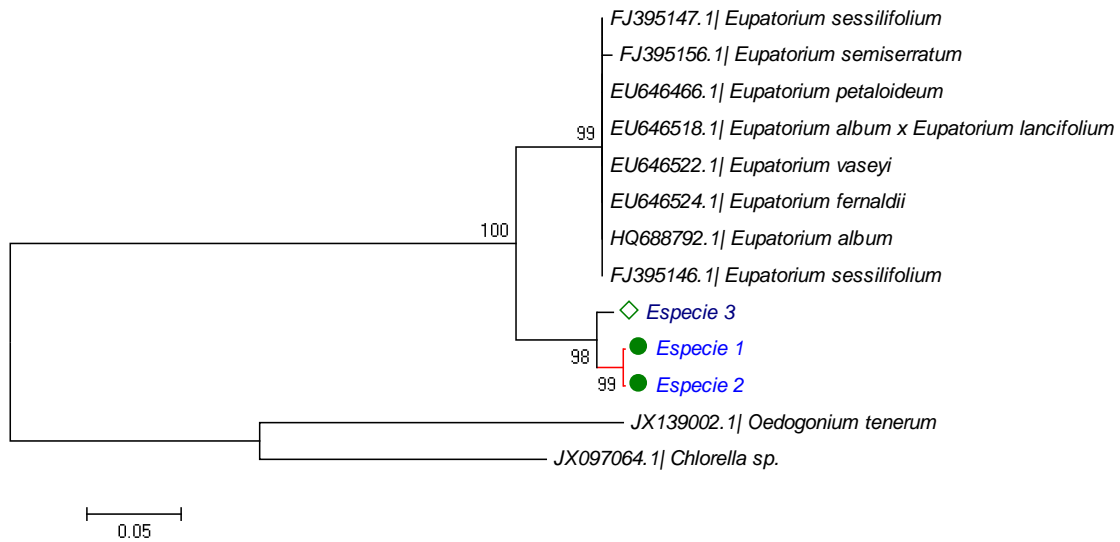


Figura 23. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de NJ.

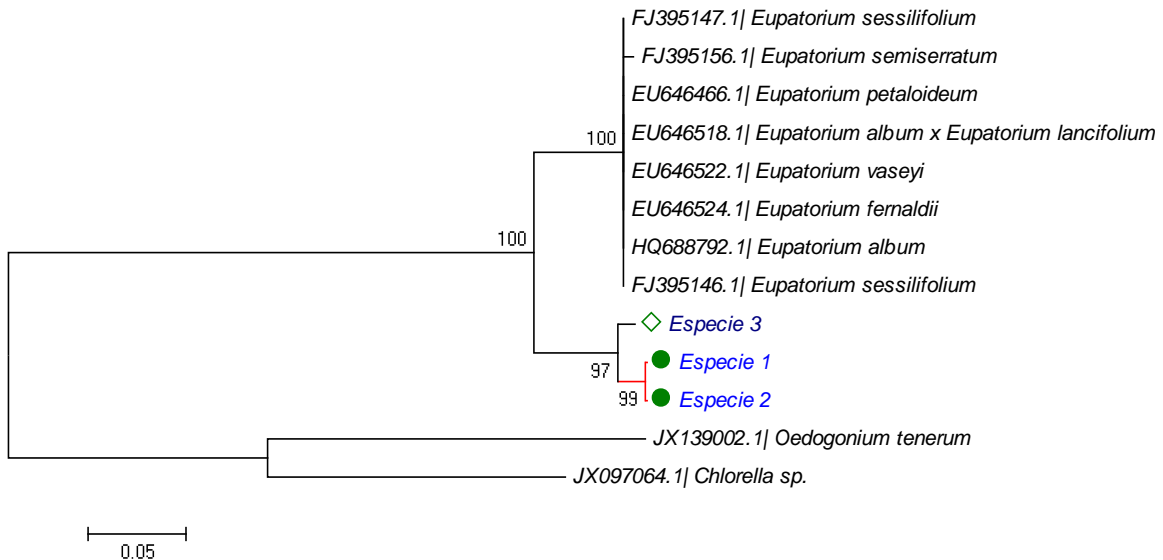


Figura 24. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de ME.

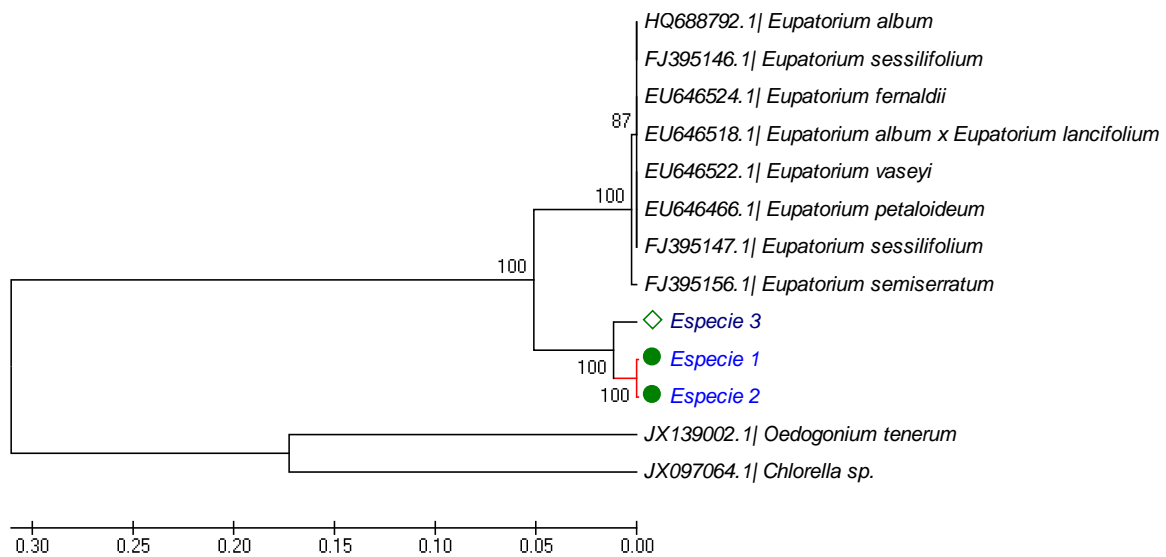


Figura 25. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de UPGMA.

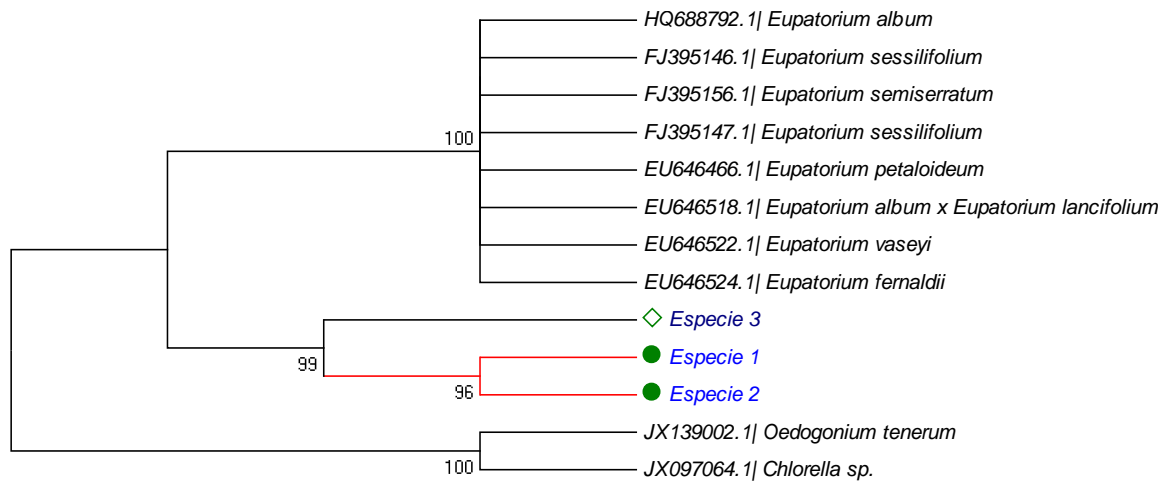


Figura 26. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de MP.

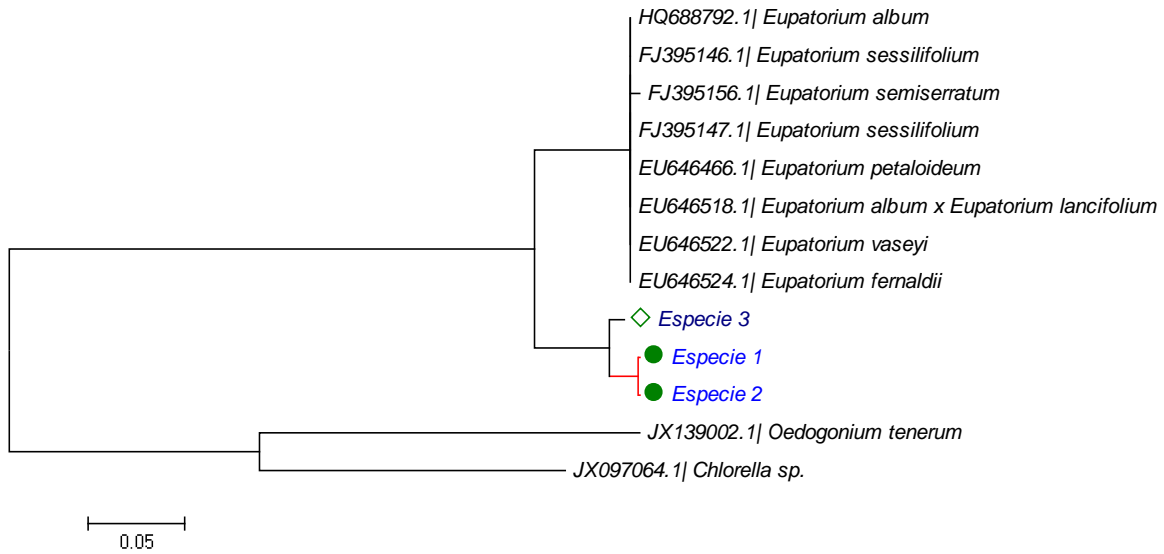


Figura 27. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Eupatorium* calculado mediante el método estadístico de ML.

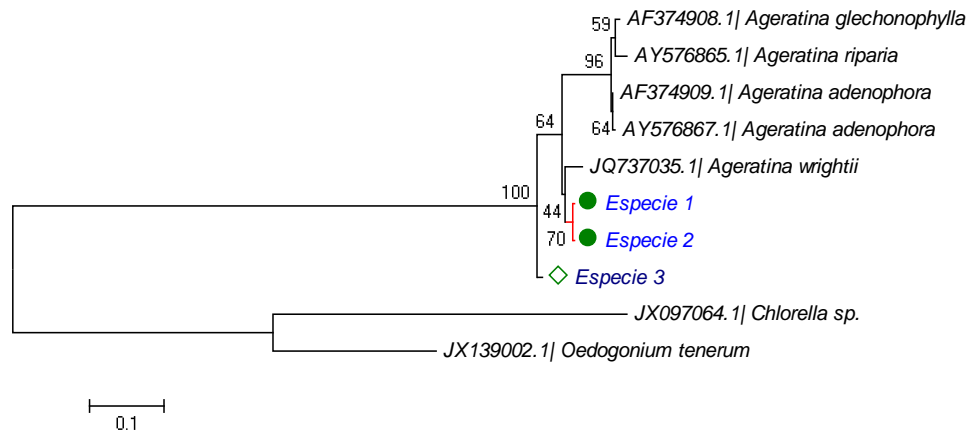


Figura 28. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de NJ.

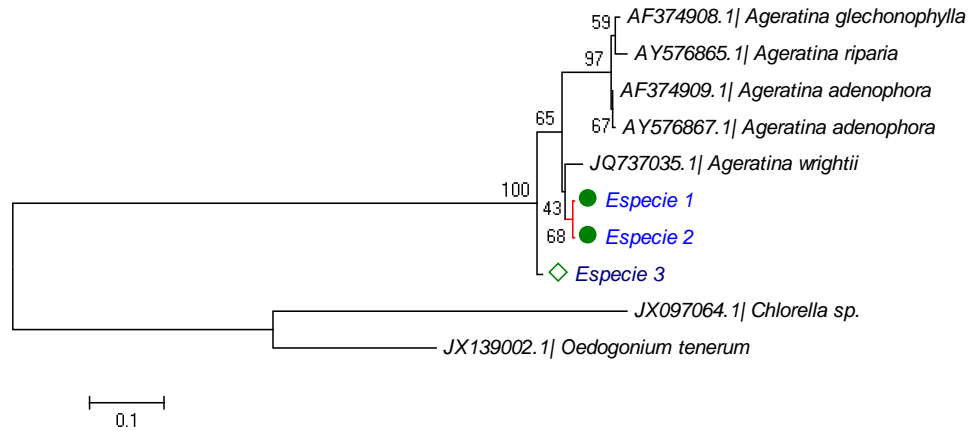


Figura 29. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ME.

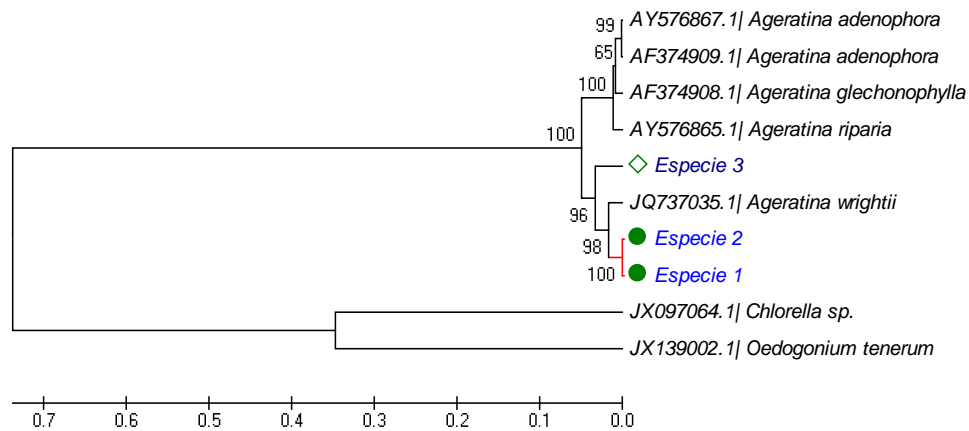


Figura 30. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de UPGMA.

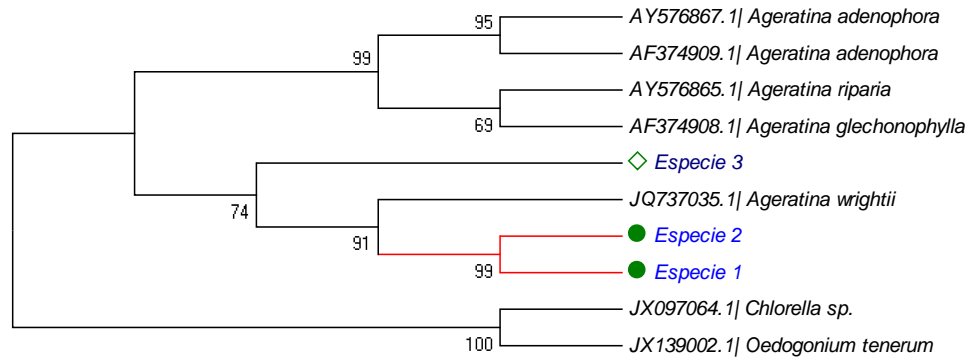


Figura 31. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de MP.

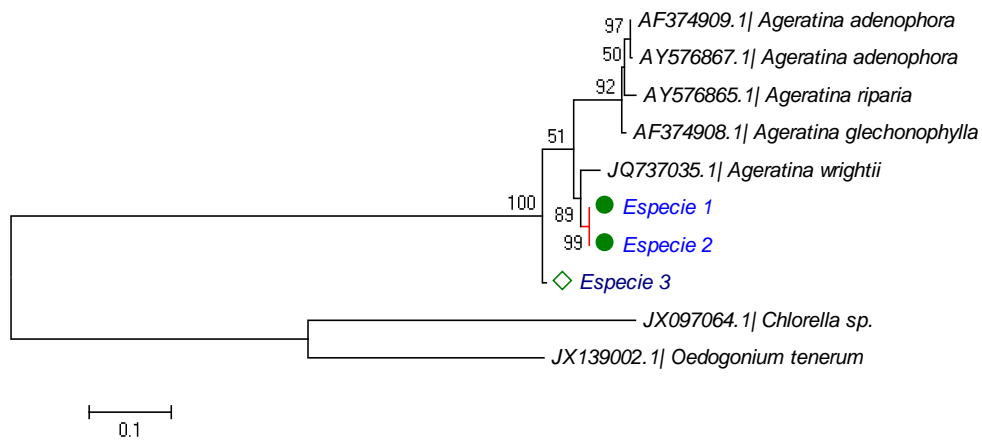


Figura 32. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA del género *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ML.

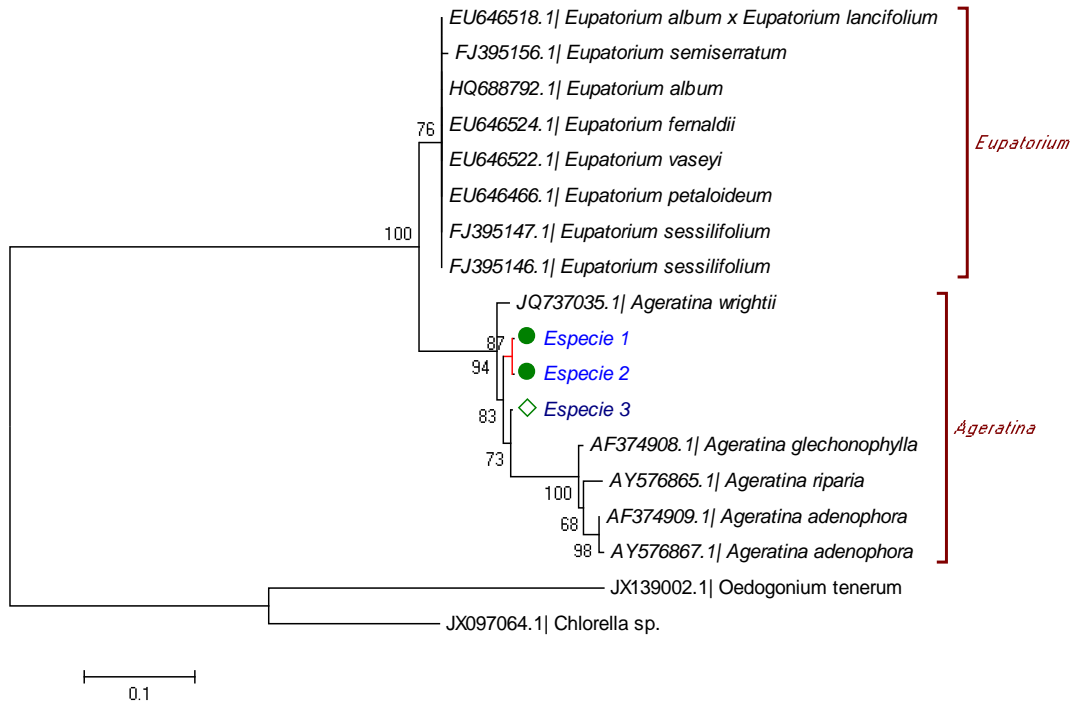


Figura 33. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de NJ.

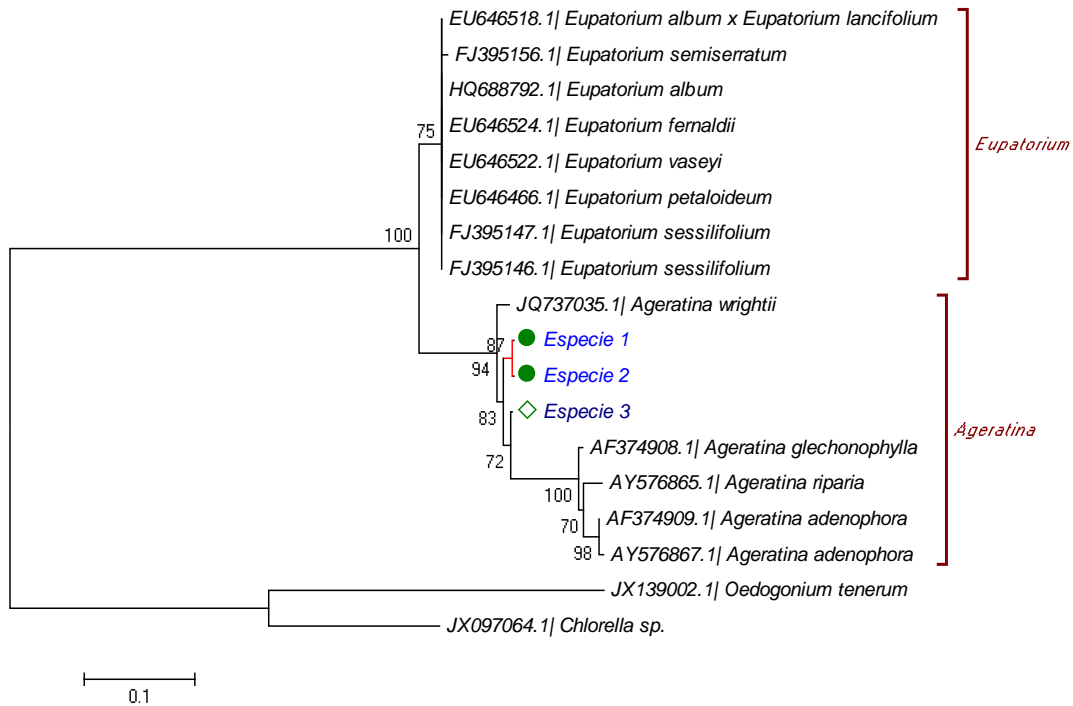


Figura 34. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ME.

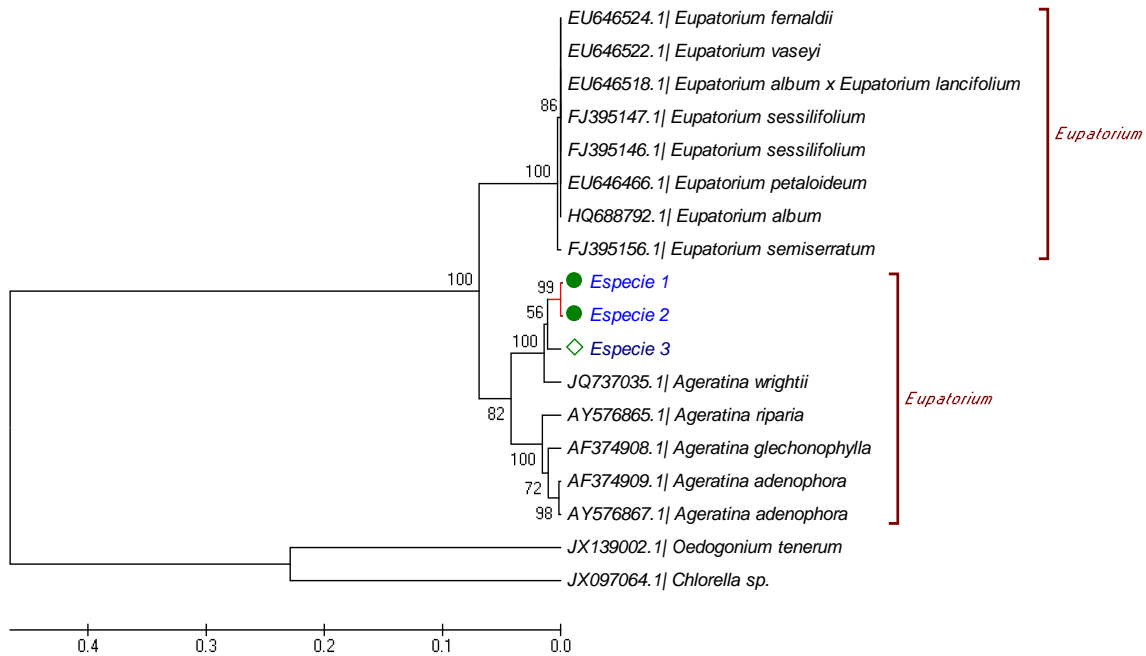


Figura 35. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de UPGMA.

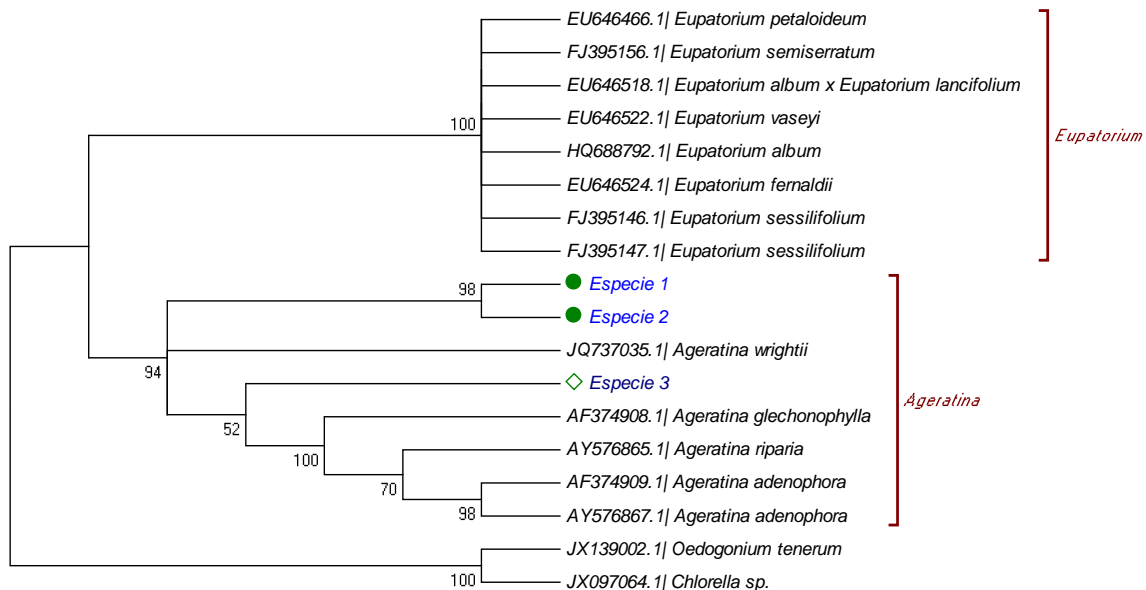


Figura 36. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de MP.

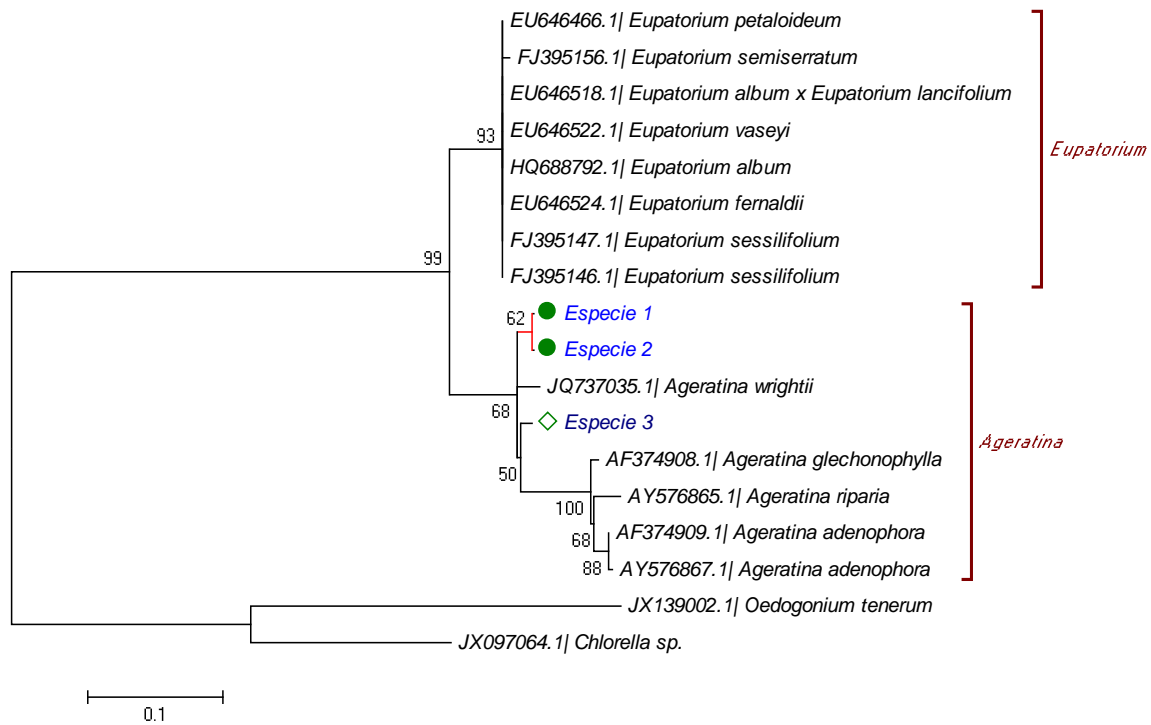


Figura 37. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de los géneros *Eupatorium* y *Ageratina* calculado mediante el método estadístico de ML.

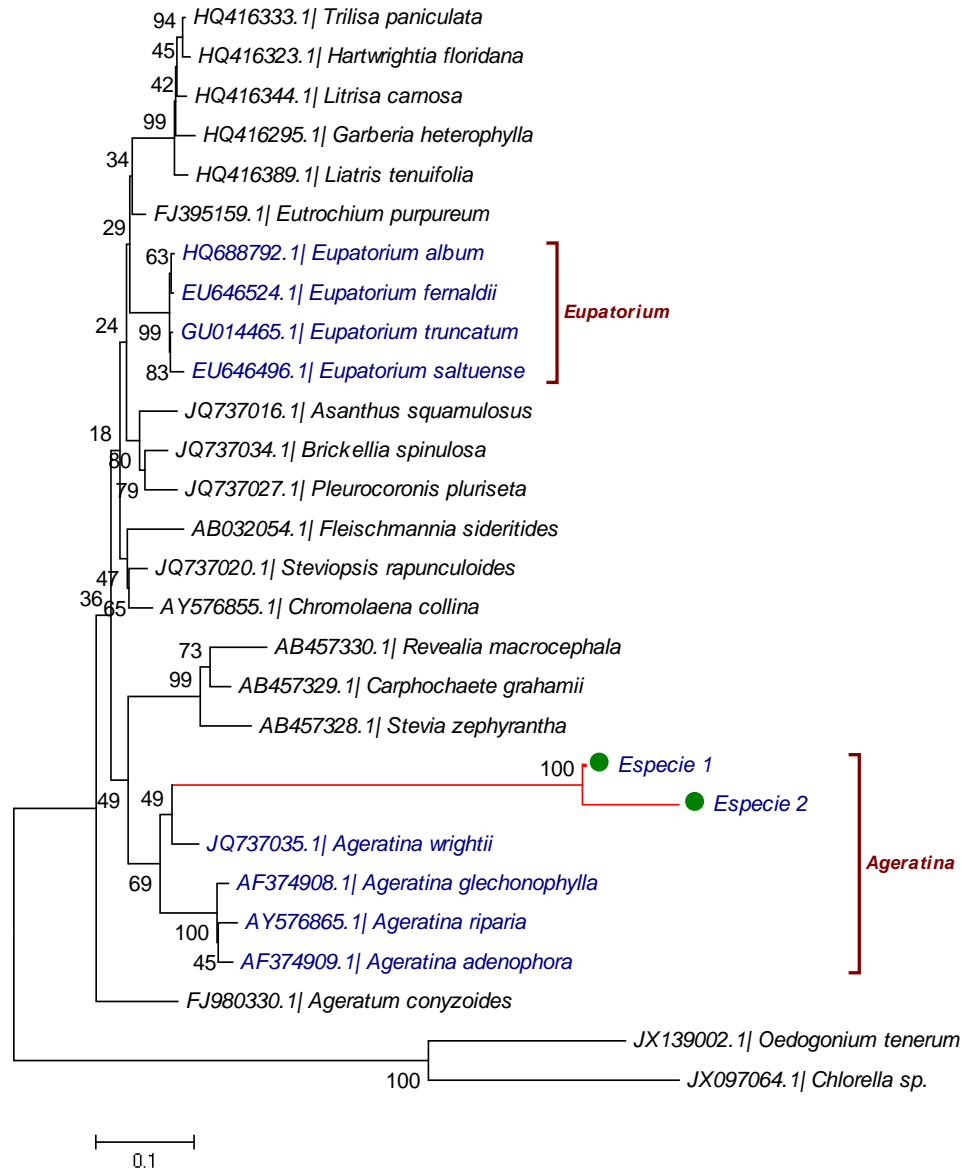


Figura 38. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de NJ.

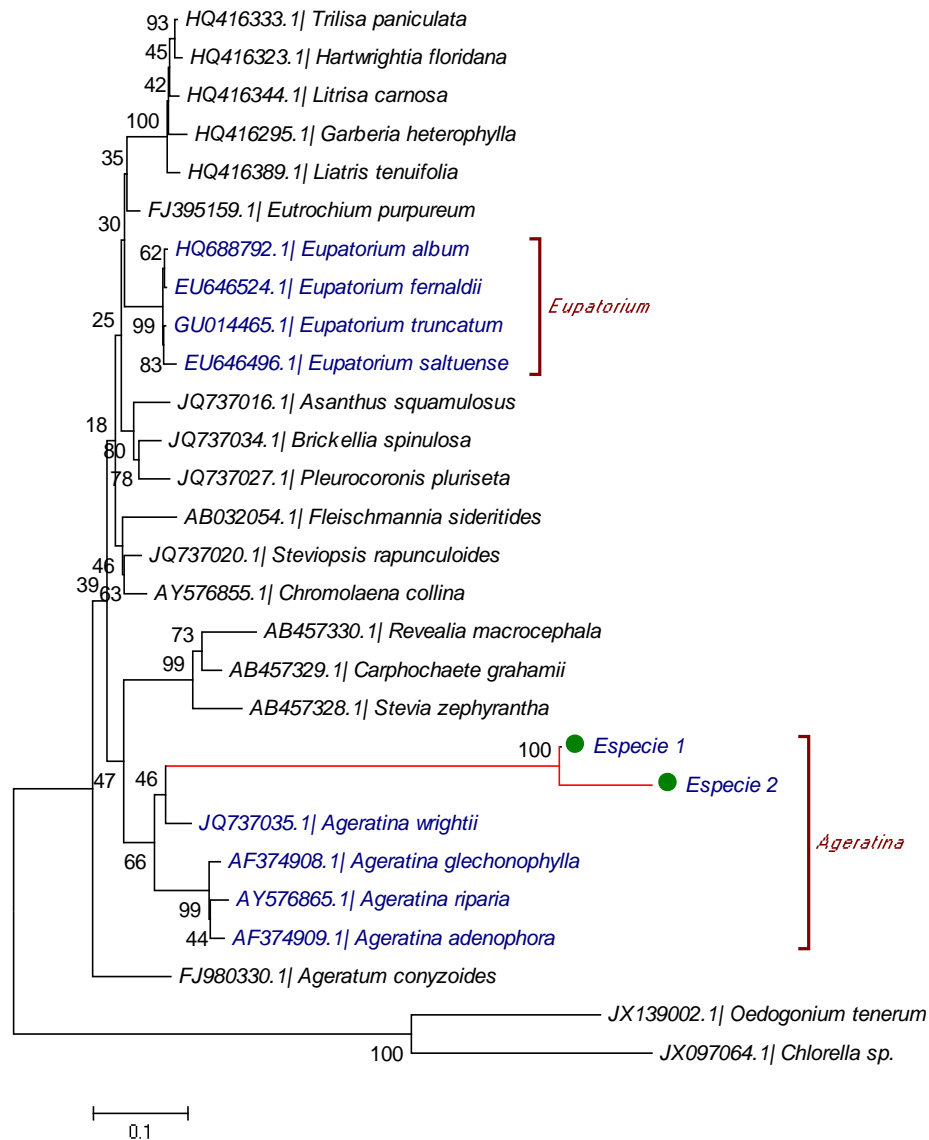


Figura 39. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de ME.

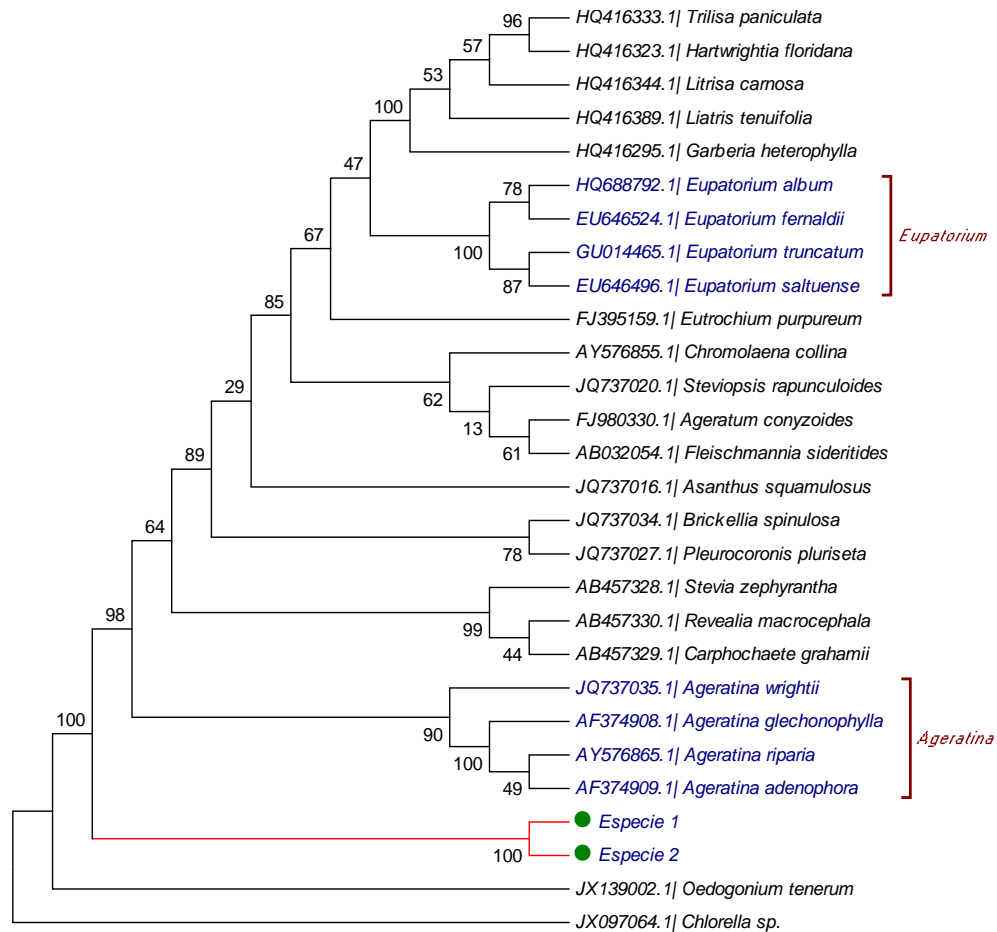


Figura 40. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de MP.

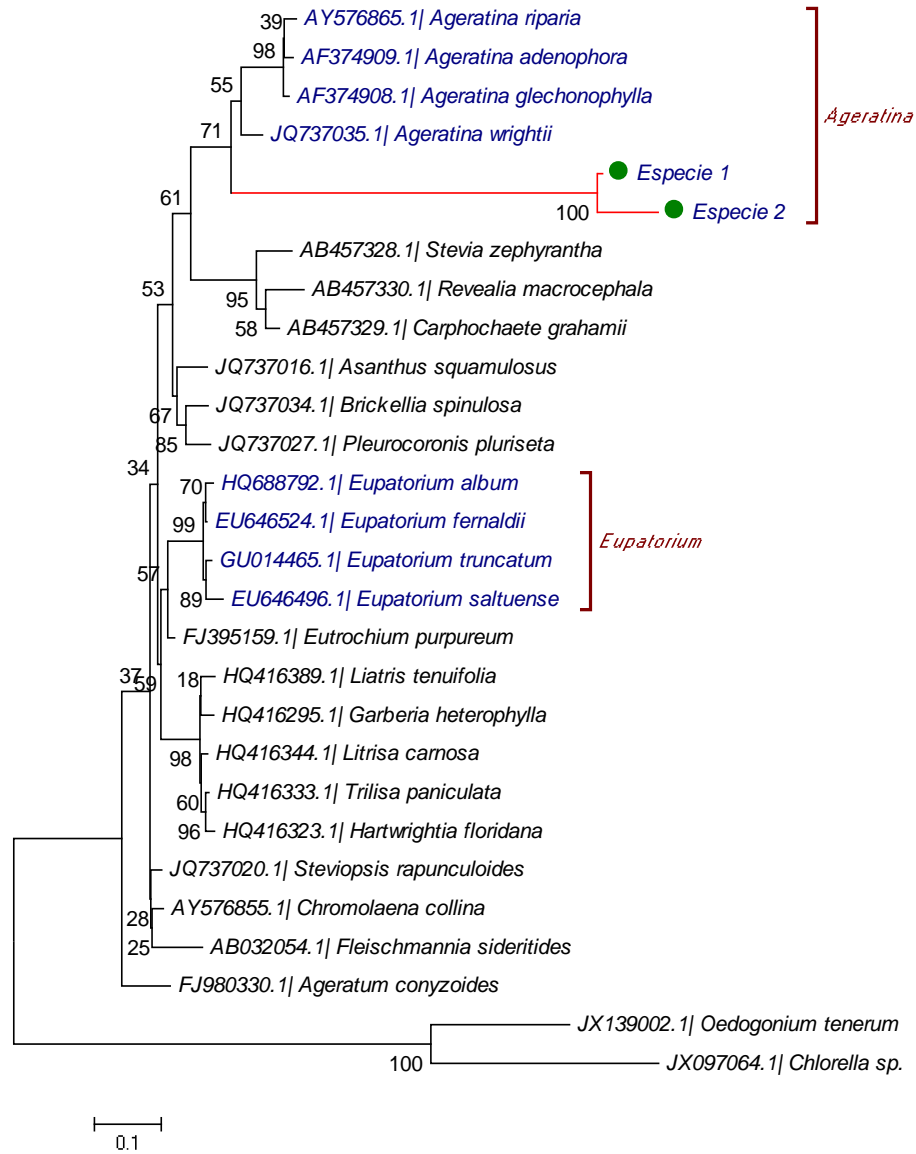


Figura 41. Árbol filogenético basado en secuencias de los ITS del nrDNA de la tribu Eupatorieae calculado mediante el método estadístico de ML.



viii. CONCENTRACIÓN DE REACTIVOS

a. Regulador de extracción TENS

- Tris-HCl 10 mM (pH 7.5)
- EDTA 0.1 mM
- NaCl 0.1 mM
- SDS 1% (w/v)

b. Solución de CTAB

- Tris-HCl 1 M (pH 8.0)
- NaCl 5 N
- EDTA 0.5 M
- CTAB 2% (w/v)
- PVP-40 4% (w/v)
- Ácido ascórbico 0.5% (w/v)
- DIECA 0.5%
- 2-β-mercaptoetanol 10% (v/v).

c. Solución PORTA

- Tris-HCl 1M (pH 8.0)
- EDTA 0.5M
- NaCl 5N
- 2-β-mercaptoetanol 10% (v/v).

d. Regulador de extracción de Lin

- Tris-HCl 100 mM (pH 8.0)
- EDTA 50 mM (pH 8.0)
- NaCl 500 mM
- SDS 2% (w/v)
- PVP 1% (w/v)
- 2-β-mercaptoetanol 2% (v/v)

e. Solución de TAE

- Tris-HCl 1 M (pH 8.0)
- Ácido acético glacial Concentrado
- EDTA 0.5 M

f. Indicador de corrida 6X

- Azul de bromofenol 0.25% (v/v)
- Xilen cianol 0.25% (v/v)
- Glicerol 30% (v/v)





ix. PRODUCTOS CIENTÍFICOS OBTENIDOS

Durante el desarrollo de este proyecto se realizó una estancia por un periodo de seis meses que comprendió del 1° de Agosto de 2012 al 31 de Diciembre del mismo año, las actividades fueron realizadas bajo la supervisión de la D.C. Ma. Teresa Vieyra Hernández y se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana del Departamento de Ingeniería Ambiental adscrito a la División de Ciencias de la Vida (DICIVA) Campus Irapuato-Salamanca de la Vida de la Universidad de Guanajuato (UG).

Se presentaron algunos resultados en la Modalidad de Ponencia Oral en el 7mo. Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y Primer Encuentro de Tesistas y Beneficiarios del Programa de Becas-Tesis, CONACYT-CECTI.





Carta becas Mixtas

Página 1 de 1



DIRECCIÓN ADJUNTA DE POSGRADO Y BECAS

DIRECCIÓN DE BECAS

MÉXICO D. F. A 31 de agosto de 2012

SOTO RANGEL DANIEL
CVU: 368888
Presente

Con base en la Convocatoria **Becas Mixtas 2012-2013 para Movilidad Nacional (290673)**, ha sido elegido para participar en una estancia de investigación en **UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO, México**, por el periodo del **01 de agosto 2012 al 28 de diciembre 2012**.

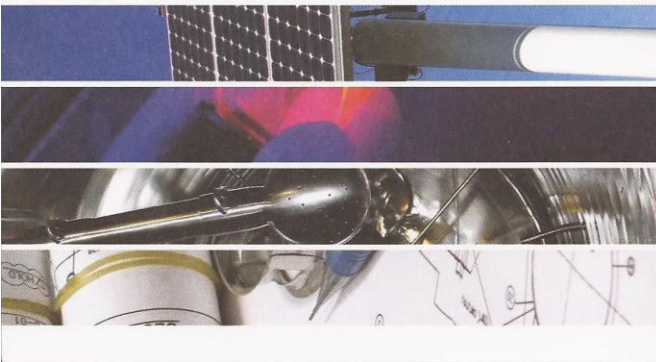
En este sentido, el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología le apoyará con una beca de manutención mensual por \$8,000.00 M.N..

Sin más por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente,

M. en C. Jorge Herrera Espinosa
Director de Becas.





El Gobierno del Estado de Michoacán a través del Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Otorgan la presente

CONSTANCIA

A:

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE DOS POSIBLES ESPECIES VEGETALES DEL GÉNERO Eupatorium

Daniel Soto Rangel, Ma. Teresa Vieyra Hernández, David Raya González y Mauro Manuel Martínez Pacheco

Por su participación en el marco de las actividades académicas realizadas en el **7mo. Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y Primer Encuentro de Tesistas y Beneficiarios del Programa Becas - Tesis, CONACYT - CECTI** celebrado el 30 y 31 de Octubre de 2012.

Morelia, Mich., a 31 de Octubre de 2012.

Dra. Esther García Garibay
Directora General del Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación

7^{mo} Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación
Primer Encuentro de Tesistas y Beneficiarios del Programa Becas - Tesis, CONACYT - CECTI