

Nota (Short Communication)

Asimetrías cariotípicas observadas en dos especies de *Gossypium* L.

Karyotypic Assymetries observed in two species of *Gossypium* L.

HERNÁN E. FERRER-PEREIRA ¹
NILDA C. ALCORCÉS-DE-GUERRA ²
& JESÚS R. MÉNDEZ-NATERA ²

La morfología cromosómica está determinada por la posición de la constricción primaria o centrómero. Desde que comenzaron los estudios de cariotipos, los citogenetistas han adoptado varios métodos para determinar la localización del centrómero y han descrito las formas de los cromosomas utilizando diferentes sistemas nomenclaturales, lo cual ha resultado en una gran confusión ya que en muchos casos estos métodos se ajustan a necesidades específicas. ADHIKARY (1974) hace referencia a la literatura existente en la que se emplean diversos términos para identificar los cromosomas de acuerdo con la posición del centrómero, tales como: mediano, casi mediano, submediano, casi submediano, terminal, subterminal, casi subterminal, acrocéntrico, mediocéntrico, metacéntrico, submetacéntrico, telocéntrico, subteloecéntrico, etc.

HEITZ (1925) propuso un sistema de identificación de cromosomas que luego fue mejorado por ISING (1962) en el que los cromosomas eran identificados por medio de símbolos, letras mayúsculas y minúsculas, de acuerdo con la posición del centrómero, la relación entre las longitudes de los brazos cromosómicos y al tamaño relativo del cromosoma. De

^{1,2}Gerencia de Investigación y Desarrollo. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. Apartado Postal 2156, Caracas 1010-A. E-mail: hferrerp@gmail.com. ² Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas. Maturín, estado Monagas, Venezuela. Código postal 6201. E-mails: nildafel@gmail.com, jmendezn@cantv.net

este modo, podrían identificarse cromosomas “V”, “L”, “j”, “l” e “i”. KING (1962) citado por LEVAN *ET AL.* (1964) reunió los dos métodos conocidos argumentando que los cromosomas “V” eran metacéntricos en el punto medio, los “L” y “j” eran submetacéntricos, los “i” eran subtlocéntricos y los “l” acrocéntricos. Luego, LEVAN *ET AL.* (1964) propusieron un sistema de clasificación que unificara los atributos nomenclaturales, empleando la relación entre las longitudes de los brazos cromosómicos y un índice centromérico.

Por otro lado, GHOSH (1964) realizó un estudio utilizando cromosomas de *Oryza* en el que determinó la posición del centrómero a través de la relación brazo corto/brazo largo, pero no utilizó ningún sistema para limitar los rangos de términos y designó, eventualmente, que los cromosomas que variaban entre 0,95 y 0,70 eran medianos, y por debajo de 0,70 hasta 0,33 eran submedianos.

STEBBINS (1971) reconoció 12 posibles tipos de cromosomas basado en las asimetrías y las longitudes cromosómicas en diferentes géneros y especies de la tribu Chicorieae, de la familia Asteraceae, pero al mismo tiempo mencionó que su clasificación es arbitraria y está amoldada según su criterio a las plantas que estudió y que es probable que otro sistema sea más informativamente valioso para otros organismos.

NARANJO *et al.* (1983) propusieron un sistema nomenclatural basado en la utilización de tres plantillas marcadas con las seis categorías identificadas por Levan *et al.* (M, m, sm, st, t, T) a través del cual se podría determinar la posición del centrómero sin necesidad de medir las longitudes de los brazos sino superponiendo las plantillas sobre las fotografías o ilustraciones de los cromosomas.

La determinación de las longitudes cromosómicas y sus relaciones, así como la aplicación de nuevas técnicas permitirán reconocer la efectividad de los sistemas nomenclaturales sobre la cariomorfología de los organismos. El objetivo principal de esta investigación es evaluar cuatro métodos empleados para calcular asimetrías cromosómicas y su aplicabilidad para determinar las relaciones y similitudes dentro de los genotipos de *Gossypium* con fines de mejoramiento genético del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de cada cultivar y ecotipo se colocaron para su germinación en ambiente de laboratorio. Se escogieron las raíces con longitud entre 1 y 2 cm para realizar los estudios de hora mitótica y cariotipo.

Una vez identificada la hora mitótica, se procedió a determinar el número cromosómico utilizando el método de KAWANO (1965). Se realizaron aplastados de los meristemas radiculares, la coloración se realizó

con orceína F.L.P. al 2% y se seleccionaron las mejores células, en las cuales los cromosomas estuvieron bien dispersos en el citoplasma, midiendo en cada caso los cromosomas de cada una de las dos especies con un ocular micrométrico de 100X.

Se observaron 20 células por cada material genético para proceder a su conteo y medición, agrupándolas dentro de un diseño de bloques al azar con cinco repeticiones, donde cada repetición estuvo constituida por cuatro células. Para determinar las longitudes de los brazos cortos, brazos largos y totales de los cromosomas se midieron con un ocular micrométrico, colocando el cero de la regleta en el centrómero dispuesta a lo largo del cromosoma, contando el número de divisiones y luego se realizó la conversión a micras según la calibración previa del microscopio.

A continuación se calculó la relación de los brazos cromosómicos (o arm ratio): brazo corto/brazo largo y brazo largo/brazo corto, las cuales constituyen uno de los elementos de mayor utilidad para la identificación de cada cromosoma; y el índice centromérico por medio de la relación porcentual existente entre la longitud del brazo corto y la longitud total del cromosoma. La clasificación de los cromosomas se realizó siguiendo la nomenclatura utilizada por LEVAN *ET AL.* (1964)

Además se determinó la asimetría intracromosómica e intercromosómica, por medio de dos parámetros numéricos, A_1 y A_2 de acuerdo al método propuesto por ROMERO-ZARCO (1986). El primer índice mide la asimetría intracromosómica y su cálculo se hace mediante la siguiente fórmula:

$$A_1 = 1 - (b_1 / B_1)/n; \text{ donde:}$$

A_1 : Índice de Asimetría Intracromosómica. Varía de 0 a 1 y tiende a cero cuando los cromosomas son metacéntricos.

b_1 : Longitud promedio del brazo corto de cada par de cromosomas homólogos.

B_1 : Longitud promedio del brazo largo de cada par de cromosomas homólogos.

n : Número de pares de cromosomas homólogos.

El segundo índice (A_2), mide la asimetría intercromosómica debido a la relación entre el largo de los cromosomas. Se estima utilizando el Coeficiente de Pearson (ROMERO-ZARCO, 1986):

$$A_2 = s/x$$

donde:

A_2 : Índice de Asimetría Intercromosómica.

s : desviación típica.

x : Promedio de la longitud de los cromosomas.

Otros índices de asimetría fueron calculados para identificar posibles diferenciaciones de especiación evolutiva, tales como:

A — *Porcentaje de Forma Total (% TF)*, según HUZIWARA (1962), basado en la relación en porcentaje de la sumatoria total de longitudes de brazos cortos entre la sumatoria total de longitudes cromosómicas totales. Este índice varía entre 0% y 50% y en la medida que los valores se acercan al valor máximo mencionado los cariotipos tienden a ser más simétricos.

B — *Gradiente Centromérico (GC) e Índice de Dispersión Cromosómica (% ID)*, según la metodología de LAVANIA & SRIVASTAVA (1999), los cuales expresan que altos valores de ID son considerados para indicar altos niveles de especialización cariotípica. El primero se obtiene por el cociente de la longitud del brazo corto del cromosoma mediano y la longitud total del mismo, multiplicado por 100. El segundo se calcula por medio de la medida proporcional del gradiente centromérico con respecto del coeficiente de variación de las longitudes cromosómicas totales del genomio.

$$CG = \text{brazo corto del cromosoma mais mediano} \times 100$$

$$ID = \% CV \times GV$$

C — *Asimetría Cariotípica* de STEBBINS (1971). Este parámetro resulta derivado de la siguiente tabla, la cual ordena doce categorías posibles de formas cariotípicas de acuerdo a dos criterios de clasificación, uno con tres grados de manifestación, y otro con cuatro.

Relación: Cromosomas Más Largo/Más corto	Proporción de cromosomas con arm ratio >2:1			
	0.0	0.01-0.5	0.51-0.99	1.0
< 2:1	1 A	1 B	1 C	1 D
2:1 – 4:1	2 A	2 B	2 C	2 D
> 4:1	3 A	3 B	3 C	3 D

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan las características cromosómicas más resaltantes de los materiales estudiados para facilitar la visualización y comparación entre ambas especies y entre los *taxa* dentro de cada especie. Por otro lado, en la Tabla 2 se representan los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros comúnmente empleados, distintos de los de ROMERO-ZARCO (1986), para evaluar la asimetría cariotípica y la evolución de las especies. De acuerdo con los valores obtenidos, el cultivar Cabuyare de *G. hirsutum* y el ecotipo Fibra Blanca

Tabla 1. Resumen de las características cromosómicas de los materiales genéticos estudiados.

Especie	Cultivares y Ecotipos	2n	Fórmula Cariotípica	LTC (μm)	Rango (μm)	A ₁	A ₂
<i>Gossypium hirsutum</i>	Cabuyare	52	25m + 1sm	58,333	1,36 - 3,30	0,344	0,231
	Deltapine-16	52	19m + 7sm	57,474	1,33 - 3,28	0,360	0,248
<i>Gossypium barbadense</i>	Fibra Blanca	52	20m + 6sm	60,984	1,31 - 3,60	0,351	0,261
	Fibra Marrón	52	20m + 6sm	59,364	1,37 - 3,45	0,352	0,248

LTC, longitud total de la cromatina; A₁, asimetría intracromosómica; A₂, asimetría intercromosómica.

Tabla 2. Índices de asimetría cariotípica en dos cultivares de *Gossypium hirsutum* y dos ecotipos de *G. barbadense* de acuerdo a tres sistemas de clasificación.

Especie	Cultivares y Ecotipos	Porcentaje de Forma Total	Índice de Dispersión Cromosómica	Asimetría Cariotípica
<i>Gossypium hirsutum</i>	Cabuyare	39,1813	1,4467	2B
	Deltapine-16	38,4527	0,7373	2B
<i>Gossypium barbadense</i>	Fibra Blanca	39,5987	1,4176	2B
	Fibra Marrón	38,8565	0,9350	2B

de *G. barbadense* muestran mayor afinidad entre sí que con sus correspondientes *taxa* de nivel inferior a especie. Por otro lado, los resultados obtenidos por los métodos de LAVANIA & SRIVASTAVA (1999) y HUZIWARA (1962) muestran una alta similitud lo cual no permite tener criterio sobre su aplicabilidad para inferir relaciones entre los genotipos evaluados.

DISCUSIÓN

NIE & LI (2003) reportaron las fórmulas cariotípicas de ocho especies semisilvestres de *Gossypium hirsutum*, nativas de México, encontrando que entre ellas existen diferencias notorias. Las razas “*mexicanum*”, “*latifolium*”, “*parmeri*” y “*punctatum*” pertenecen al grupo de cariotipos 1B, de acuerdo con la clasificación de asimetría cromosómica de STEBBINS (1971), y de ellas, la raza “*mexicanum*” era la más primitiva, mostrando la fórmula cariotípica: 22m (3 SAT) + 4sm. Las razas con cariotipo 2B fueron “*yucatanense*”, “*marie-galante*”, “*morilli*” y “*richmondii*”, siendo estas dos últimas las más avanzadas, con fórmulas cariotípicas: 16m (1 o 2 SAT) + 10 sm.

En función de los planteamientos de CHEENAVERAIAH & PATIL (1973) y NIE & LI (2003) sobre la relación entre la asimetría de los cariotipos y el nivel evolutivo de las especies, podría decirse que el cultivar Cabuyare

parece ser el menos evolucionado de todos los *taxa* infraespecíficos analizados en esta investigación, debido a que posee un cariotipo más simétrico que cualquiera de los otros genotipos revisados. Todas estas observaciones y resultados científicos dan a entender la relevancia que posee la cariomorfología y la citogenética en el estudio taxonómico y evolutivo de las especies.

Las asimetrías intracromosómicas reportadas para los cultivares y ecotipos coinciden con lo que expresa ROMERO-ZARCO (1986) que cuando los índices se acercan a cero, los cromosomas son metacéntricos. Al cultivar Cabuyare se le determinó una asimetría intracromosómica de 0,344 y tiene 25 cromosomas metacéntricos; mientras que Deltapine-16 obtuvo un valor de 0,360 y presenta 19 cromosomas metacéntricos.

Acercas de la asimetría intercromosómica, ROMERO-ZARCO (1986) menciona que es un parámetro que ayuda a visualizar la variación existente entre los cromosomas del cariotipo de una misma especie. Cuando los tamaños de los cromosomas de una misma especie son más o menos uniformes o poco variables entre sí, la asimetría intercromosómica tiende a mostrar valores muy bajos. ALCORCÉS (2001) obtuvo valores de 0,19; 0,23 y 0,21 para *Tabebuia capitata*, *T. chrysantha* y *T. guayacan*, respectivamente; concluyendo que los cariotipos de estas especies tienden a ser simétricos. Por esta afirmación, entonces se asume que los cariotipos de los cultivares de *G. hirsutum* y los ecotipos de *G. barbadense* estudiados tienden a ser también simétricos.

Con respecto de los otros índices, publicados por HUZIWARA (1962), STEBBINS (1971) y LAVANIA & SRIVASTAVA (1999) se afirma que ambas especies están muy cercanas en la escala evolutiva dada la similitud que presentan los *taxa* infraespecíficos para cada uno de estos parámetros. Resulta bastante curioso observar que los valores del Índice de Dispersión Cromosómica y Porcentaje de Forma Total para el cultivar Cabuyare y el ecotipo Fibra Blanca son bastante cercanos, incluso más que con su respectivo “compañero” infraespecífico. El valor obtenido para el Índice de Dispersión Cromosómica en Deltapine-16, fue el más bajo observado. Esto puede considerarse contradictorio al argumento del autor antes mencionado acerca de que las especies con valores de Índice de Dispersión Cromosómica más altos, tienen mayores niveles de especiación. Sin embargo, es necesario tener presente los efectos de la adaptación y procesos de mejoramiento genético que sufren los cultivares para ser conducidos hacia la homogenización del pool de genes, lo cual puede tener una incidencia sobre las variaciones físicas de los cromosomas.

Los índices de asimetría de ROMERO-ZARCO (1986), de STEBBINS (1971) y el sistema de clasificación de LEVAN *ET AL.* (1964), resultaron ser los más confiables para determinar la cariomorfología de los materiales evaluados de *Gossypium*, por lo que se recomienda su utilización en futuros ensayos de cariomorfología y fitomejoramiento.

RESUMEN

La morfología cromosómica está determinada por la posición de la constricción primaria o centrómero. Se observaron 20 células por cada material genético de *Gossypium hirsutum* y *G. barbadense* para determinar las longitudes de los brazos cortos, brazos largos y totales de los cromosomas, se calculó la relación de los brazos cromosómicos, se determinó la Asimetría Intracromosómica y Intercromosómica (ROMERO-ZARCO 1986), el Porcentaje de Forma Total (HUZIWARA 1962), el Índice de Dispersión Cromosómica (LAVANIA & SRIVASTAVA, 1999) y la Asimetría Cariotípica (STEBBINS 1971). Los índices de asimetría de ROMERO-ZARCO (1986), de STEBBINS (1971) y el sistema de clasificación de LEVAN *ET AL.* (1964), resultaron ser los más confiables para determinar la cariomorfología de los materiales evaluados de *Gossypium*.

PALABRAS CLAVE: cariotipos; algodón; asimetrías; clasificación-cromosómica; ecotipos; cultivares; *Gossypium*.

KEYWORDS: Karyotype; cotton; asymmetries; chromosomal-classification; ecotypes; cultivars; *Gossypium*.

AGRADECIMIENTO — Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, por el aporte económico en la ejecución del proyecto N° CI-3-0601-1140/03.

BIBLIOGRAFÍA

- ADHIKARY, A.K. 1974. Precise determination of centromere location. *Cytologia* 39: 11-16
- ALCORCÉS DE G., N. 2001. Estudios cariológicos en cinco especies del género *Tabebuia* Gomes (Bignoniaceae) localizadas en el estado Monagas. Trabajo de Ascenso. Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas. Maturín.
- CHEENAVERAIAH, M. S. & B. C. PATIL. 1973. Chromosome number and karyotype study in eight species of *Crotalaria*. *Cytologia* 38:73-79.
- GHOSH, M. 1964. A study of karyotype of different varieties of *Oryza* with special reference to phylogenetic interrelationships. *Nucleus* 7: 77-92.

- HEITZ, E. 1925. Der Nachweis der Chromosomen. Vergleichende Studien über ihre Zahl, Grösse und Form. *Z. Bot.* 18: 625-681.
- HUZIWARA, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of *Compositae*, VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany.* 49:116-119.
- ISING, G. 1962. Chromosome balance in *Cyrtanthus*. *Plant Life.* 18: 95-128.
- NARANJO C.A.; L. POGGIO & P. E. BRANDHAM. 1983. A practical method of chromosome classification on the basis of centromere position. *Genetica* 62: 51-53.
- NIE, R. & M. LI. 2003. Cytological Studies on Semi-Wild Races of *Gossypium hirsutum*. *Acta Botanica Sínica* [en línea]. Dirección URL: http://www.chineseplantscience.com/earticle_read.asp?id=4685. Maturín, 09/03/2005.
- ROMERO-ZARCO, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymetry. *Taxon* 35 (3):526-530
- STEBBINS, G.L. 1971. *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edward Arnold Publishers Ltd. Londres, Inglaterra. 219 pp.

Recebido em 20 de março de 2009.