

COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE UN TRIPLOIDE DE CENTENO

Por

TOMAS NARANJO

Departamento Interfacultativo de Genética.
Universidad de Oviedo

RESUMEN

Se analizan los valores de apareamiento cromosómico y la distribución de cromosomas en un triploide de centeno. Se puede deducir que todos los cromosomas del complemento del centeno tienen la misma probabilidad, 0,7, de formar un trivalente en metafase I. La probabilidad en paquítenu resultó ser $f = 0,71$, lo cual sugiere que el apareamiento puede empezar en más de dos puntos o que existe preferencia para que dos cromosomas aparezcan en un punto y otros dos en otro. El número de quiasmas en el triploide era mayor que en los diploides. Los cromosomas del grupo extra seguían una distribución al azar en anafase I, teniéndolos univalentes observados en metafase I una probabilidad $e = 0,64$ de dividir ecuacionalmente.

SUMMARY

Chromosome pairing values and chromosome distribution were analyzed in one triploid plant of rye. It was deduced that all seven chromosomes of the rye complement showed the same probability, 0.7, to form a trivalent at metaphase I. The trivalent pairing frequency at pachytene resulted in $f = 0.71$, which suggested that a number of pairing initiation points larger than two or a preference for pairing between two specific chromosomes at one end and the other two at the other end could take place. The number of chiasmata in the triploid was greater than in diploids. The chromosome of the extra set showed a random distribution at anaphase I, univalents observed at metaphase I having probability $e = 0.64$ of dividing equationally.

INTRODUCCION

El comportamiento meiótico viene determinado por tres fenómenos fundamentales: apareamiento cromosómico, formación de quiasmas y distribución cromosómica. Cualquier variación o irregularidad que afecte a estos procesos puede tener consecuencias genéticas importantes al repercutir de forma directa en las diferentes clases y frecuencias gaméticas.

En general, la poliploidia puede considerarse como causante de variaciones

en el comportamiento meiótico, si bien nos restringiremos a continuación a los efectos de la triploidia. Puesto que se admite como regla general que en un punto sólo pueden aparearse dos cromosomas homólogos, en los triploides se establece una competencia para formar la pareja dentro de cada trío de cromosomas homólogos (SYBENGA, 1975). Aunque este hecho es común a todos los triploides, las frecuencias con las que aparecen los dos tipos básicos de asociaciones cromosómicas en metafase I, trivalentes y bivalentes más univalentes, no son las mismas en todos los casos (DAWSON, 1962; JOHN y LEWIS, 1965). Esta variación sugiere la existencia de otros factores, además de la competencia, que pueden afectar al apareamiento en los triploides.

En cuanto a la distribución de los cromosomas en anafase I, los resultados obtenidos en *Datura stramonium* (SATINA y BLAKESLEE, 1937 a y b) indican que existe una tendencia a que el grupo de cromosomas extra emigre conjuntamente a un polo, no existiendo por tanto segregación al azar. No obstante ésta no es la regla general para todos los triploides (JOHN y LEWIS, 1965).

En el presente trabajo se estudia el apareamiento y la distribución cromosómica en anafase I en un triploide de centeno.

MATERIAL Y METODOS

El material utilizado ha sido una planta triploide de centeno, *Secale cereale*, ($3n = 21$, Fig. 1) obtenida en el cruzamiento de centeno tetraploide cultivar «Gigantón» ($2n = 4x = 28$) (TJIO, SÁNCHEZ-MONGE y ALVAREZ-PEÑA, 1953) por centeno diploide cultivar «Ailés» ($2n = 14$).

Para el control del número cromosómico se emplearon meristemos de raíz que fueron pretratados con frío, 4°C durante 48 h, para contraer los cromosomas. Seguidamente, las raíces se fijaron en alcohol-acético 3:1. La tinción se realizó con la técnica de Feulgen tras haber efectuado una hidrólisis con CIH IN a 60°C durante 12 minutos. Para la observación de la meiosis se utilizaron anteras fijadas en alcohol acético 3:1 que fueron teñidas también con la técnica de Feulgen. Las preparaciones se hicieron permanentes con sandeural después de separar porta y cubre con nieve carbónica.

RESULTADOS

Apareamiento en metafase I

Cada trío de cromosomas homólogos presentaba únicamente dos alternativas en metafase I: podía formar un trivalente o bien, un bivalente más un univalente. En ningún caso se observaron tres univalentes homólogos, puesto que no aparecieron células madres de polen con menos de siete asociaciones de cromosomas apareados.

La distribución de trivalentes por célula en las 200 CMP analizadas se expresa en la Tabla I. Esta distribución se ajusta a la binomial $(0,7 + 0,3)^7$, donde 0,7 es la probabilidad de que tres cromosomas homólogos estén formando un trivalente en metafase I y 0,3 la probabilidad de que formen un bivalente más un univalente (ver NARANJO *et al.* 1979).

Ahora bien, tres cromosomas homólogos apareados en trivalente durante paquitena, pueden no dar lugar a un trivalente en metafase I si no se han formado los quiasmas apropiados. En consecuencia, la probabilidad de formación de trivalentes estimada anteriormente con un valor de 0,7, puede resultar por debajo de su valor real. SYBENGA (1965) desarrolla un método aplicable a trisómicos primarios que estima con mayor exactitud la probabilidad de que los tres cromosomas homólogos estén apareados en paquitena. Este método se basa en las frecuencias que presentan los distintos tipos de trivalente (cadena, sartén o Y), bivalentes (abiertos o cerrados) y trio de univalentes. Dicha probabilidad (f) de formación de un trivalente en paquitena viene dada por la expresión siguiente:

$$f = \frac{\text{triv. cadena} + \text{triv. sartén}}{\text{biv. cerrados} + \text{triv. cadena} + \text{triv. sartén}}$$

Este método puede ser perfectamente aplicable a los triploides que se consideran como trisómicos primarios múltiples. En 100 CMP de las 200 analizadas fue posible distinguir con claridad los distintos tipos de trivalentes siendo sus frecuencias respectivas: trivalentes en cadena 291, trivalentes en sartén 191 y trivalentes en forma de Y 9. Además aparecieron 195 bivalentes cerrados, 14 bivalentes abiertos y los correspondientes 209 univalentes. Para estos valores corresponde una $f = 0,71$ y $1-f = 0,29$. Además, considerando que entre dos brazos unidos ha ocurrido como mínimo un quiasma, fue posible establecer en estas 100 CMP la distribución del número mínimo de quiasmas por célula (Tabla I). Dicha distribución presenta una media de $15,77 \pm 0,28$.

Distribución cromosómica en anafase I

En anafase I se observaron dos tipos de comportamiento cromosómico: cromosomas que dividían reduccionalmente, las dos cromátidas dirigidas al mismo polo, y cromosomas que aparecían como retardatarios y dividían ecuacionalmente, una cromátida a cada polo. Mientras que el primer tipo de comportamiento lo pueden presentar cromosomas que en metafase I están apareados o como univalentes, el segundo es exclusivo de los univalentes.

Para establecer como tiene lugar la distribución cromosómica en anafase I hay que tener en cuenta las siguientes observaciones:

1) En todas las CMP se van a repartir siete cromosomas a cada polo puesto que de cada trío de homólogos, al menos dos estaban apareados en metafase I.

TABLA I

Distribución de frecuencias para trivalentes y número mínimo de quiasmas por célula en un triploide de centeno

Trivalentes	Configuración meiótica		Número células	Número (l) mínimo de quiasmas	Número de células
	Bivalentes	Univalentes			
0	7	7	0	20	1
1	6	6	0	19	4
2	5	5	6	18	5
3	4	4	18	17	15
4	3	3	48	16	33
5	2	2	64	15	24
6	1	1	43	14	14
7	0	0	21	13	4
Total			200		100
Media			4,91 ± 0,17		15,77 ± 0,28

(1) El número mínimo de quiasmas se ha establecido en base a que un trivalente en cadena forma como mínimo dos quiasmas, un trivalente en sartén tres, un trivalente en Y dos, un bivalente cerrado dos y un bivalente abierto 1. Los tres tipos de trivalentes fueron claramente distinguidos en las 100 CMP analizadas.

2) Los siete cromosomas restantes pueden dividir ecuacionalmente o reduccionalmente.

2.1) El número de cromosomas que dividen ecuacionalmente por CMP va a venir determinado por dos factores: el número de univalentes existentes en esa célula en metafase I y la probabilidad de que dividan ecuacionalmente. En el supuesto de que los univalentes fueran independientes con respecto a su orientación, y que todos tuvieran la misma probabilidad e de dividir ecuacionalmente (y por tanto reduccionalmente, $r = 1-e$), la distribución de univalentes por célula dividiendo ecuacionalmente vendría dada por la siguientes expresión (GIRÁLDEZ and LACADENA, 1976).

$$E_x = \sum_{i=0}^{i=5} P_i \binom{i}{x} e^x r^{i-x}$$

donde:

i = número de univalentes por célula en metafase I.

E_x = probabilidad de obtener una CMP en anafase I con x univalentes dividiendo ecuacionalmente.

P_i = probabilidad de que dicha CMP presentara en metafase I i univalentes.

Siguiendo a GIRÁLDEZ y LACADENA (1976) el valor de e lo podemos estimar de la siguiente manera:

$$e = \frac{M \times E}{A \times U}$$

siendo:

M = número de CMP examinadas en metafase I.

A = número de CMP examinadas en anafase I.

E = número de univalentes dividiendo ecuacionalmente en las A células.

U = número de univalentes en las M células.

De acuerdo con esta expresión el valor de e resultó ser $e = 0,64$ y por tanto $r = 0,36$.

2.2) Si los cromosomas que dividen reduccionalmente, procedan de trivalentes o de univalentes, son independientes y tienen 1/2 de probabilidad para emigrar a un polo determinado, la probabilidad de las distintas clases de distribución vendría dada por la expresión (SFICAS, 1963):

$$E_z = 2 \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \quad \text{para } z < \frac{7-x}{2}$$

$$E_z = \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \quad \text{para } z = \frac{7-x}{2}$$

siendo:

E_z = probabilidad de que en una CMP con 7-x cromosomas dividiendo reduccionalmente, z vayan a un polo y 7-x-z vayan al polo opuesto (x = univalentes dividiendo ecuacionalmente en esa CMP).

2.3) La probabilidad compuesta de obtener una CMP con x cromosomas dividiendo ecuacionalmente y 7-x dividiendo reduccionalmente de los cuales: z van a un polo y el resto 7-x-z al polo opuesto, vendrá dada por la expresión:

$$\bar{E}_z E_x = 2 \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \sum_{i=0}^{i=5} P_i \binom{i}{x} e^x r^{i-x} \quad \text{para } z < \frac{7-x}{2}$$

$$\bar{E}_z E_x = \binom{7-x}{z} \left(\frac{1}{2}\right)^{7-x} \sum_{i=0}^{i=5} P_i \binom{i}{x} e^x r^{i-x} \quad \text{para } z = \frac{7-x}{2}$$

3) Considerando el total de 21 cromosomas, las distintas clases de células que aparecerán en anafase I tendrían x cromosomas dividiendo ecuacionalmente, 14-x-z en un polo y 7 + z en el polo opuesto. En la Tabla II se expresan los valores observados para cada uno de estos tipos de células y los esperados según

las expresiones indicadas en el punto 2.3. La prueba de χ^2 efectuada indica que estas distribuciones no difieren significativamente y por lo tanto, 14 de los 21 cromosomas se distribuyen en dos grupos de 7 cada uno a un polo y de los 7

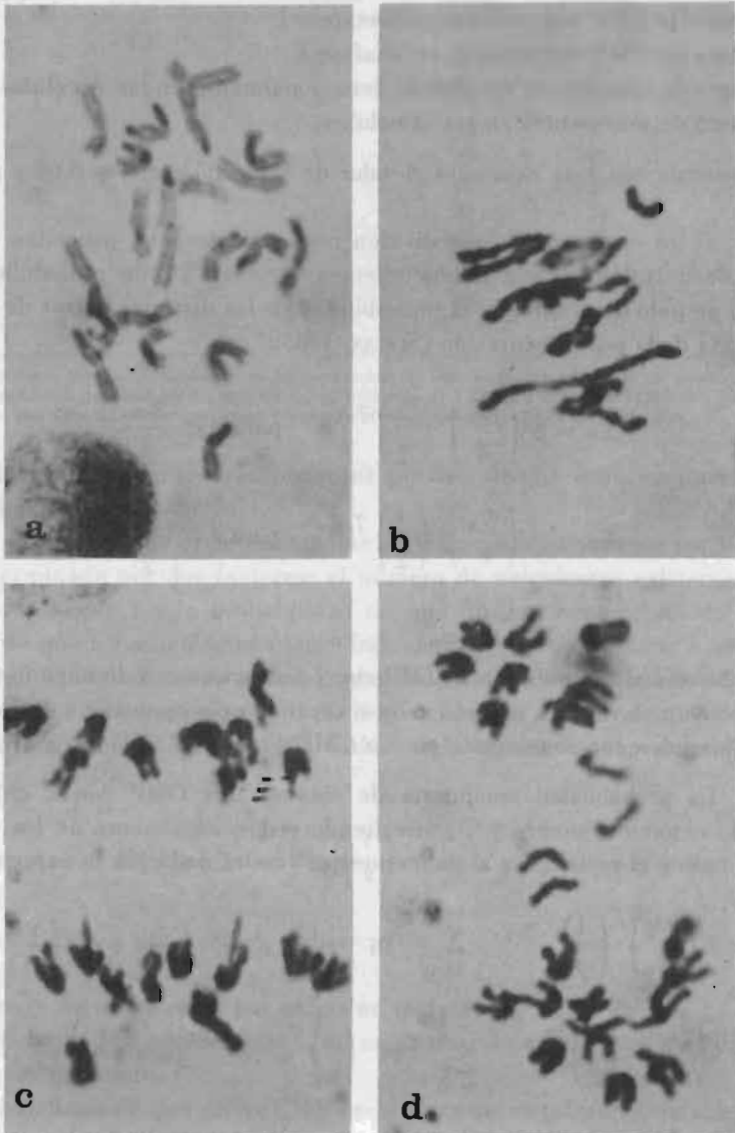


Fig. 1.—Centeno triploide, $2n = 3x = 21$ cromosomas. a) Metafase somática. b) Metafase I mostrando 5 III en cadena, 1 III en sartén, 1 II cerrado y 1 I. c) Anafase I con 11 cromosomas en un polo y 10 en el otro. d) Anafase I con dos cromosomas dividiendo ecuacionalmente, 11 cromosomas en un polo y 8 en el otro.

cromosomas extras, los derivados de univalentes dividen ecuacionalmente con una probabilidad $e = 0,64$ y los restantes se distribuyen al azar entre los dos polos anafásicos.

TABLA II

Comparación entre los resultados observados para la distribución de cromosomas en la anafase I de un triploide de centeno y los esperados según una distribución al azar de los 7 cromosomas extra, tanto si los univalentes dividen ecuacionalmente como reduccionalmente

Ecuacional X	Distribución		Valores esperados	Valores observados
	Polo 1 14-X-Z	Polo 2 7 + Z		
0	14	7	0,74	3
0	13	8	5,17	4
0	12	9	15,53	16
0	11	10	25,88	31
1	13	7	2,23	3
1	12	8	13,39	11
1	11	9	33,47	22
1	10	10	22,32	26
2	12	7	3,40	2
2	11	8	16,98	21
2	10	9	33,97	32
3	11	7	2,68	4
3	10	8	10,72	8
3	9	9	8,04	9
4	10	7	1,21	2
4	9	8	3,63	6
5	-	-	0,64	0
Total			200,00	200
$\chi^2 = 7,43$			g.l. = 8	$0,30 < p < 0,50$

DISCUSION

Apareamiento

Según DAWSON (1962), la frecuencia media de trivalentes por célula en los triploides puede ser influida por tres factores: a) La longitud de los cromosomas: a mayor longitud corresponde una mayor probabilidad de que se asocien los tres homólogos. b) El número haploide de cromosomas, la elevación del número

haploide disminuiría la frecuencia de trivalentes. c) La frecuencia de quiasmas, ésta guarda una relación directa con la probabilidad de que una asociación trivalente se mantenga como tal en metafase I.

El primer punto queda reflejado al comparar las frecuencias medias de trivalentes por célula observadas en *Lycopersicum esculentum*, 4,9 III por célula ($2n = 3x = 24$, cromosomas relativamente cortos) (UPCOTT, 1935) y *Lilium tigrinum*, 9,7 III por célula ($2n = 3x = 24$, cromosomas relativamente largos) (CHANDLER *et al.*, 1937). El efecto de la longitud se puede observar también en el comportamiento de un triploide de maíz en el que los cromosomas más largos forman más trivalentes que los más cortos (MCCLINTOCK, 1929). Por el contrario, en el centeno, que tiene cromosomas de longitud muy similar (GIRALDEZ *et al.*, 1979), todos los cromosomas presentan la misma probabilidad de formar trivalente en metafase I en el triploide analizado.

El efecto de la frecuencia de quiasmas puede ser responsable, al menos en parte, de que en un trisómico primario de centeno con 13,01 quiasmas por célula apareciera un trivalente en metafase I con una probabilidad de 0,39 (SYBENGA, 1965), mientras que en el triploide aquí estudiado con una media de 15,77 quiasmas por célula (Tabla I) se obtenga una probabilidad de formación de un trivalente de 0,7. Es decir, que la mayor frecuencia de quiasmas del triploide podría haber determinado el aumento de la probabilidad de aparición de trivalentes en metafase I con respecto al trisómico.

Por otro lado, el número (mínimo) de quiasmas estimado en el triploide es mayor que el que se observa en los diploides normales (NARANJO and LACADENA, 1980). Este resultado está en consonancia con los obtenidos por MATHER (1939) en maíz y que sugieren que el aumento en el número de genomiós produce una elevación en la capacidad bioquímica de la célula que afecta a la formación de quiasmas. Esta interpretación podría explicar también las diferencias en el número de quiasmas entre el triploide y el trisómico señalado anteriormente.

Las diferentes configuraciones aparecidas en metafase I son consecuencia de los diferentes tipos de asociaciones que se producen entre los tres cromosomas que compiten en el apareamiento. A su vez, las posibilidades de apareamiento entre los cromosomas homólogos están condicionadas por el número de puntos de iniciación de dicho apareamiento. Con sólo dos puntos de iniciación se pueden obtener asociaciones de dos cromosomas o de tres cromosomas homólogos, con una frecuencia de $1/3$ y $2/3$ respectivamente, si no existen preferencias en el apareamiento (SYBENGA, 1975). Esto daría lugar a que en el triploide los trivalentes se distribuyeran según la binomial $(2/3 + 1/3)^7$. Sin embargo, los valores encontrados no siguen esta distribución ($\chi^2 = 11,06$, g.l. = 5, $p = 0,05$) sino la distribución $(0,7 + 0,3)^7$, en la que 0,7 que es la probabilidad de que aparezca un trivalente en metafase I, es mayor de $2/3$. Pero mayor aún es la probabilidad de que se forme un trivalente en paquitena $f = 0,71$, y por lo tanto se puede concluir que en

algunos o en todos los cromosomas del triploide hay más de dos puntos de iniciación del apareamiento, o que dos cromosomas tienen preferencia para iniciar el apareamiento en un punto y otros dos en el otro.

Distribución cromosómica

Los resultados observados en la distribución cromosómica en anafase I ponen de manifiesto los siguientes hechos:

1) Los univalentes de centeno dividen ecuacionalmente con la misma probabilidad, $e = 0,64$, e independientemente los unos de los otros. Este hecho había sido observado también por GIRÁLDEZ y LACADENA (1976) en ciertos pares de univalentes producidos en centeno consanguíneo desinápico. Encontraban dos tipos de pares de univalentes: unos que dividían siempre reduccionalmente emigrando un cromosoma a cada polo y otros en que cada miembro del par dividía ecuacional o reduccionalmente e independientemente del otro miembro. Sugieren que la diferencia entre ambos tipos pueda ser achacada a que se originan en distinto momento durante la metafase I. En nuestro caso los univalentes derivarían prácticamente en su totalidad de cromosomas no apareados, como parecen indicar las probabilidades obtenidas para asociaciones trivalentes en paquitenia (0,71) y en metafase I (0,70). Por tanto no cabe esperar ningún comportamiento diferencial.

2) Los univalentes de centeno que dividen reduccionalmente ($r = 0,36$) se distribuyen al azar entre los dos polos anafásicos.

3) Los cromosomas integrados en un trivalente se separan dos a un polo y el tercero al opuesto. Las diferentes asociaciones son independientes entre sí en su orientación en el huso y esto determina una distribución al azar de los cromosomas.

Estos resultados son contradictorios con los encontrados en *Datura stramonium* (SATINA and BLACKESLEE, 1937 a y b) donde aparece una fuerte tendencia a que los cromosomas del grupo extra emigren juntos al mismo polo. Del mismo modo, dos triploides de *Endymion nonscriptus* y *E. hispanicus* (WILSON, 1959), con el mismo número cromosómico ($2n = 3x = 24$) y frecuencias de apareamiento similares, presentan sin embargo, una diferente distribución cromosómica: al azar *E. nonscriptus*, no al azar *E. hispanicus*. Estos resultados contrapuestos no permiten generalizar sobre los mecanismos que regulan la distribución cromosómica en los triploides.

BIBLIOGRAFIA

- CHANDLER, C., W. M. PORTERFIELD and A. B. STOUT (1937).—Microsporogenesis in diploid and triploid types of *Lilium tigrinum* with special reference to abortions Cytologia Fujii Jub. vol., 756-784.
- DAWSON, G. W. (1962).—An introduction to the cytogenetics of polyploids. Blackwell Scient. Publ., Oxford, 96 pp.

- GIRÁLDEZ, R., M. C. CERMEÑO and J. ORELLANA (1979).—Comparison of C-banding pattern in the chromosomes of inbred lines and open pollinated varieties of rye, *Secale cereale* L. *Z Pflanzenzüchtg.* **83**: 40-48.
- GIRÁLDEZ, R. and J. R. LACADENA (1976).—Univalent behaviour at anaphase I in desynaptic rye. *Chromosoma*, **59**: 63-72.
- JOHN, B. and K. R. LEWIS (1965).—*The meiotic system. Protoplasmatologia*, VI/F/1, Springer-Verlag, Wien, IV + 335 pp.
- MATHER, K. (1939).—Competition for chiasmata in diploid and trisomic maize. *Chromosoma*, **1**: 119-129.
- MACCLINTOCK, B. (1929).—A cytological and genetical study of triploid maize. *Genetics*, **14**: 180-222.
- NARANJO, T. and J. R. LACADENA (1980).—Interaction between wheat chromosomes and rye telomeric heterochromatin on meiotic pairing of chromosome pair 1 R of rye in wheat rye derivatives. *Chromosoma*, **81**: 249-261.
- NARANJO, T., J. R. LACADENA and R. GIRÁLDEZ (1979).—Interaction between wheat and rye genomes on homologous and homoeologous pairing. *Z. Pflanzenzüchtg.*, **82**: 289-305.
- SATINA, S. and A. F. BLAKESLEE (1937a).—Chromosome behaviour in triploid *Datura stramonium*. I. The male gametophyte. *Amer. J. Bot.*, **24**: 518-527.
- (1937b).—Chromosome behaviour in triploid *Datura*. II. The female gametophyte. *Amer. J. Bot.*, **24**: 621-627.
- SFICAS, A. G. (1963).—Statistical analysis of chromosome distribution to the poles in interspecific hybrids with variable chromosome pairing. *Genet. Res.*, **4**: 266-276.
- SYBENGA, J. (1965).—The quantitative analysis of chromosome pairing and chiasma formation based on the relative frequencies of MI configurations. II. Primary trisomics. *Genetica*, **36**: 339-350.
- (1975).—*Meiotic Configurations. Monographs on Theoretical and Applied Genetics*, 1, Springer Verlag, Berlin, X + 251 pp.
- TJIO, J. K., E. SANCHEZ-MONGE y M. ALVAREZ-PEÑA (1953).—Centenos tetraploides españoles. *Agricultura*, **251**: 138-140.
- UPCOTT, M. B. (1935).—The cytology of triploid and tetraploid *Lycopersicum esculentum*. *J. Genetics*, **31**: 1-19.
- WILSON, J. Y. (1959).—Cytogenetics of triploid bluebells, *Endymion nonscriptus* (L.) Garcke and *E. hispanicus* (M. U.) Choward. *Cytologia*, **23**: 435-446.