

Relación filogenética entre dos especies del género *Swietenia* y su híbrido mediante estudios isoenzimáticos

Clara González*, Déborah Geada*, Marlyn Valdés*, María Isabel Román**, Xonia Xiqués* y Maurilio García***

* Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

** Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), Cuba.

*** Universidad de Pinar del Río, Cuba.

RESUMEN

En Cuba actualmente, muchas investigaciones en árboles forestales están dirigidas a la propagación mediante las técnicas tradicionales y de cultivo "in vitro" y en este sentido, el género *Swietenia* (caobas) se encuentra entre los principales. El estudio de la variabilidad genética y de las relaciones entre diferentes especies de caobas, es un paso fundamental en el mejoramiento y extensión de estas especies, más aun cuando se incluye un posible híbrido natural. El empleo de la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida para diferentes sistemas isoenzimáticos, es una herramienta muy útil para la caracterización y determinación de la condición híbrida en las plantas. En este trabajo se establecieron los zimotipos de ambas especies de caoba y del híbrido, comprobándose esta condición (*Swietenia mahagoni* X *Swietenia macrophylla*) mediante los sistemas isoenzimáticos peroxidases, polifenoloxidasas, fosfatases ácidas, catalasas y ascorbato oxidasas.

Palabras claves: electroforesis, isoenzimas, *Swietenia*.

ABSTRACT

In Cuba many investigations in forestal trees are directed at the moment to the propagation using the traditional techniques and cultivation "in vitro" and in this sense, the genus *Swietenia* (mahoganies) it is among the main ones. The study of the genetic variability and the relationships among different species of mahoganies, it is a fundamental step in the improvement and spread of these species, more even when it is included a proposed natural hybrid. The employment of the electrophoresis technique in polyacrilamide gel for different isozymic systems it is a very useful tool for the characterization and determination of the hybrid condition in the plants. In this work the zymotips of both mahogany species settled down and the hybrid one, being proven this condition (*Swietenia mahagoni* X *Swietenia macrophylla*) by means of the isozymic systems peroxidases, polyphenoloxidases, acid fosfatases, catalases and ascorbato oxidasas.

Key words: electrophoresis, isozymes, *Swietenia*.

INTRODUCCIÓN

Con el incremento de la demanda global de productos de la madera, los recursos forestales en el mundo están decreciendo, debido a la sobreexplotación y degradación de los bosques en los trópicos, por lo que la siembra de especies endémicas e introducidas, permitirá reducir potencialmente el nivel de erosión genética en los bosques naturales y constituirán una fuente importante de madera industrial, manteniendo el equilibrio ecológico (Ball, 1993; FAO, 1999).

Entre las introducciones y árboles endémicos que forman parte de ese potencial productivo, se encuentra el género *Swietenia* perteneciente a la familia Meliaceae y representado en nuestro país fundamentalmente por las especies *Swietenia mahagoni* (L) Jacq (caoba del país) y *Swietenia macrophylla* King (caoba de Honduras) introducida en nuestro país. Esta familia está considerada como una de las más valiosas desde el punto de vista económico, debido a la calidad de su madera y propiedades medicinales (Nápoles & al., 1995 Albert & Zavaró, 2000).

En Cuba, la proximidad en el campo de ambas especies de caobas ha hecho suponer la existencia de híbridos desde 1961, los cuales presentan un

tamaño intermedio de sus hojas y frutos, un crecimiento más acelerado que sus progenitores, su madera es de excelente calidad, son resistentes a la sequía y escapan al ataque de *Hypsipylla grandella*, el más devastador insecto de las meliáceas (Betancourt, 2000).

Los estudios de marcadores moleculares como las isoenzimas, son de gran utilidad por su relación directa con el material genético y la rapidez con la que se pueden obtener resultados interesantes, como por ejemplo, acerca de la variabilidad genética y la demostración del carácter híbrido de un material vegetal (González & al. 2002).

El objetivo de este trabajo fue determinar los zimotipos de estas dos especies y el híbrido, así como conocer la relación filogenética entre ellos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los extractos foliares se obtuvieron macerando 5 gr de hojas adultas y sanas de cuatro árboles de *S. mahagoni* *S. macrophylla* y del híbrido, procedentes del área de adaptación del Laboratorio de Biotecnología de las

Plantas de la Universidad de Pinar del Río, a los que se les agrego 10 gotas de una solución de sacarosa al 20%. Los extractos fueron filtrados en tela de gasa y conservados a -15° C hasta su utilización.

Las corridas electroforéticas se llevaron a cabo en gel de poliacrilamida (PAGE) al 10%, en un sistema de buffers discontinuos, con buffer de corrida Tris glicina 0,04 M pH 8,3 en un aparato de corrida en lámina vertical, para las isoenzimas peroxidasas, polifenoloxidasas, fosfatasas ácidas, catalasas y ascorbato oxidasas (González & al. 2002). En la tabla I se presentan las metodologías de tinción de las isoenzimas.

TABLA I

Tinciones empleadas para cada sistema isoenzimático.

Sistema Isoenzimático	Nomenclatura	Método de Tinción
Peroxidasas	Px	Iglesias, 1985
Polifenoloxidasas	PPO	Guedes & Rodríguez, 1974
Fosfatasas ácidas	PhA	Iglesias, 1986
Catalasas	CAT	González, 1989
Ascorbato oxidasas	AO	González, 1989

Después de las tinciones los geles fueron lavados con agua destilada y mantenidos en una solución de ácido acético glacial al 10%. Las movilidades electroforéticas fueron medidas en centímetros, tomando como punto cero u origen el comienzo del gel de separación.

La nomenclatura empleada para identificar las especies de caoba y el híbrido es:

- Swietenia macrophylla* King — CH (caoba de Honduras)
- Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. — CP (caoba del país)
- Híbrido — H

Análisis estadístico

A partir de los resultados isoenzimáticos, se realizó el análisis cuantitativo de los zimogramas sobre la base del número y presencia o ausencia de las bandas (Arias, 1998). Se calculó el índice de similitud electroforético de Vaughan & Denford (Fernández & González, 1982) para comparar las especies de caoba y ellas con el híbrido. A los resultados se les aplicó la prueba “t” de porcentajes ($p < 0.05$) (Sigarroa, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para las isoenzimas peroxidasas (Fig. 1) se presentan un total de 8 bandas de las cuales solamente dos son comunes a todo el material. Las mayores similitudes se presentan entre *S. macrophylla* y el híbrido dentro de este sistema.

En el caso de las isoenzimas polifenoloxidasas (Fig. 2), se observan 10 bandas en total y tres de ellas son

comunes a las entidades en estudio. *S. mahagoni* posee además de las tres bandas comunes, una banda propia en la zona de menor migración anódica. De nuevo en este sistema, las mayores similitudes se establecen entre el híbrido y la caoba de Honduras.

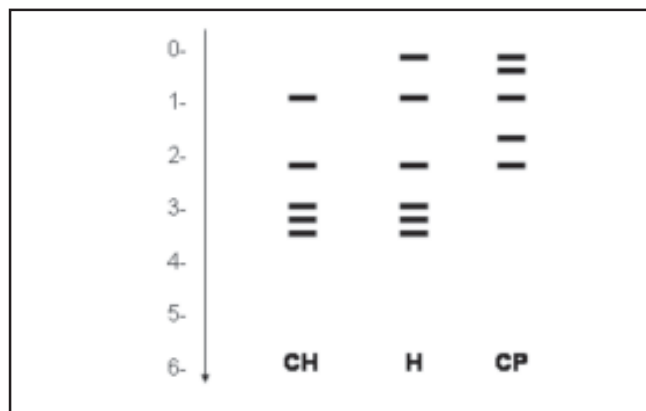


Fig. 1. Zimograma de peroxidasas

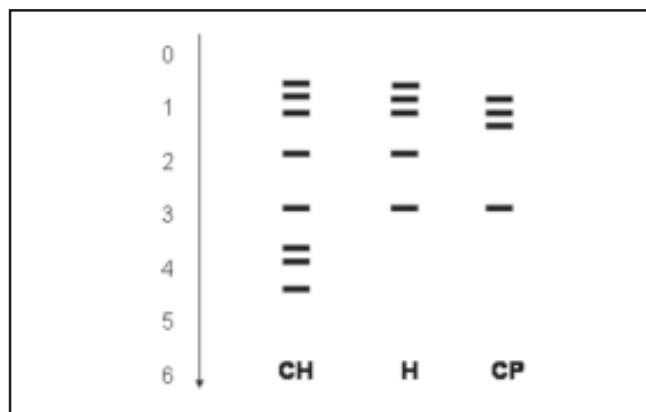


Fig. 2. Zimograma de polifenoloxidasas

En el sistema isoenzimático de las fosfatasas ácidas aparecen un total de nueve bandas y tres de ellas son comunes a todo el material (Fig. 3). También en este caso la caoba del país presenta una banda propia en la zona de menor migración anódica.

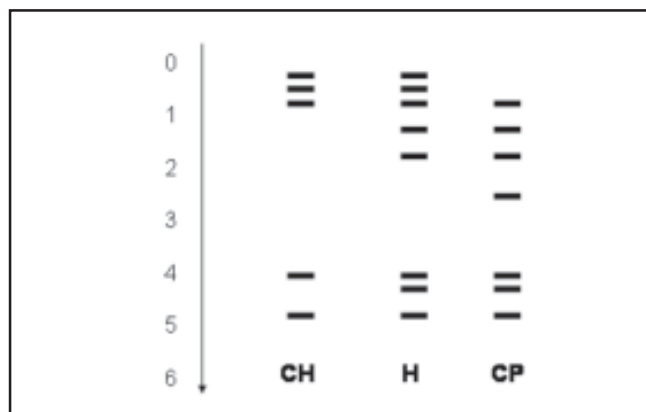


Fig. 3. Zimograma de fosfatasas ácidas

Las isoenzimas catalasas (Figura 4) poseen 12 bandas y siete bandas son comunes a todo el material. En este sistema hay un mayor número de bandas en común entre el híbrido y la caoba del país.

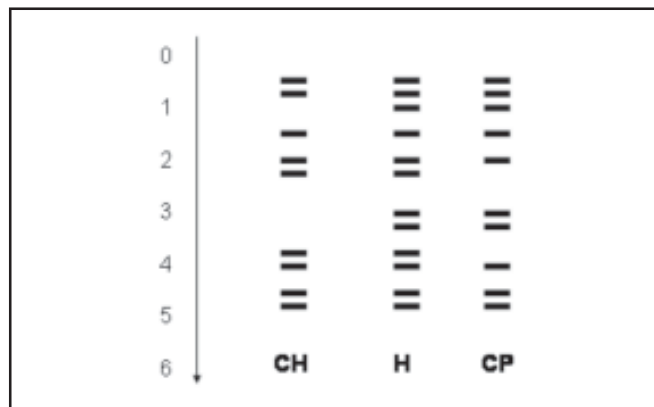


Fig. 4. Zimograma de catalasas

Para las isoenzimas ascorbato oxidasas se observan 11 bandas y existen cinco bandas en común para todo el material (Fig. 5). Para estas isoenzimas las dos especies de caoba poseen bandas propias en la zona de menor migración anódica.

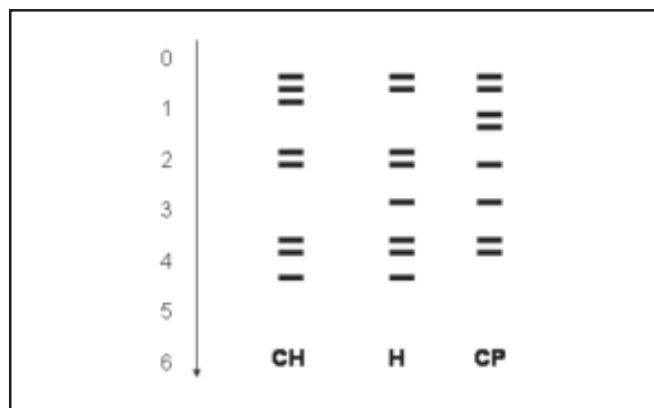


Fig. 5. Zimograma de ascorbato oxidasas

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto diferencias isoenzimáticas entre las dos especies de caoba, ya que en todos los casos se observan zimotipos particulares para ellas, lo que indica que los sistemas enzimáticos estudiados han permitido una caracterización de las mismas. Además con relación al híbrido, aunque el mayor valor del índice de similitud se corresponde entre éste y la caoba de Honduras (*S. macrophylla*), el resultado del test “t” de porcentaje, arrojó diferencias no significativas entre este valor y el porcentaje del híbrido y la caoba del país (*S. mahagoni*), lo que demuestra que posee un comportamiento intermedio entre ambos progenitores para estos sistemas isoenzimáticos (Tabla II).

Las mayores diferencias entre el híbrido y la caoba del país están dadas principalmente por los zimotipos de

éstos para los sistemas isoenzimáticos peroxidases, polifenoloxidasas y ascorbato oxidasas. Es importante destacar, que los sistemas isoenzimáticos estudiados constituyeron marcadores moleculares adecuados, para la identificación y diferenciación de las especies de caoba analizadas, así como de la condición híbrida. Además este trabajo constituye el primero de su tipo realizado en nuestro país, para estas especies de caoba y el híbrido y no se encontraron publicaciones sobre este tema en la literatura internacional.

TABLA II

Total de bandas comunes y valores del Índice de Similitud en porcentaje.

Material comparado	Total de bandas comunes	Índice de Similitud en %
CH-CP	20	40,81
CH-H	31	72,09
CP-H	28	62,22

CONCLUSIONES

Los sistemas isoenzimáticos utilizados fueron capaces de caracterizar y diferenciar las especies de caobas estudiadas, siendo los más polimórficos el de peroxidases, fosfatasas ácidas y el de las catalasas.

Se demostró la condición híbrida del material propuesto de un cruce natural entre *Swietenia mahagoni* X *Swietenia macrophylla*.

No existen diferencias significativas entre los valores del índice de similitud del híbrido y sus progenitores, lo que demuestra un comportamiento intermedio entre ambos, por poseer bandas propias de cada especie.

BIBLIOGRAFÍA

Albert, P. D. & Zavaro, C. 2000. La familia *Meliaceae* en Cuba. – Fontqueria 54 (3): 11-46

Arias, E. 1998. Utilización de las isoenzimas en la caracterización de plantas de piña (*Ananas* spp.) de interés para el mejoramiento. Tesis de Master en Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de La Habana:51p.

Ball, J. B. 1993. Development of *Eucalyptus* plantations an overview. In: Proc. Regional Expert Consultation on Eucalyptus FAO/RAPA Bangkok, Thailand.

Betancourt, A. B. 2000. Silvicultura especial de árboles maderables tropicales. Ed. Científico Técnica. La Habana.

FAO. 1999. Situación de los bosques en el mundo. Roma, Italia. 154p.

Fernández, A. M. & González, J. J. 1982. Cytogenetic and evolutionary studies on the spanish species of Reseda: Section *Luteola* Dumort (Resedaceae). – Taxon, 31,(1) :1-8.

González, C. 1989. Comportamiento genético-bioquímico de la lima Persa SRA-58 (*Citrus latifolia* Tan) sobre diferentes patrones en Cuba. Tesis de Doctor en Ciencias Biológicas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana. 100p.

González, C., Beovides, Y., Román, M. I., Xiqués, X., Florido, M., Lara, M. & Acosta, R. 2002. Detección de la variabilidad genética en el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) mediante estudios isoenzimáticos y de proteínas totales. – Revista Biología, 16, (1):42-48.

Guedes, M. & Rodríguez, C. I. 1974. Disc electrophoretic pattern of phenoloxidase from leaves of coffee cultivars. Sep. De Portugal. – Acta Biologica. Serie A, vol XIII:169-177.

Iglesias, L. 1985. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya (*Glycine max* L. Merrill). Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA. 185p.

Ricardo, N.; Pouyú, N. E. & Herrera, P. P. 1995. The synanthropic flora of Cuba. – Fontqueria 42: 367-429.

Sigarroa, A. 1985. Biometría y Diseño Experimental. Ed. Pueblo y Educación. La Habana.

Recibido: 4 de noviembre del 2003

Direcc. de los autores: Facultad de Biología, Calle 25 entre J e I #455 Vedado, Plaza, C. Habana. E-mail: lfcg@fbio.uh.cu

** Instituto Nacional en Viandas Tropicales (INIVIT). Apto. 6 Santo Domingo, CP. 53000, Cuba.

*** Universidad de Pinar del Río, Cuba.