

Análisis citogenético y genético-bioquímico de los clones incluidos en el grupo Morado del género *Xanthosoma*

Xonia Xiqués*, Marilys Milián**, María Isabel Román**, Clara González* y Margarita Nadal**

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

** Instituto Nacional en Viandas Tropicales (INIVIT), Cuba.

RESUMEN

Se realizó el análisis citogenético y genético-bioquímico de 32 clones del género *Xanthosoma*, incluidos en el grupo Morado, pertenecientes al Banco de Germoplasma del Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT). Se determinó la presencia de $2n=2x=24$ cromosomas y la caracterización isoenzimática mostró las afinidades genéticas entre las accesiones.

Palabras claves: citogenética, electroforesis, isoenzimas, Malanga.

ABSTRACT

The cytogenetical and genetic-biochemical analysis were made in 32 clones of *Xanthosoma* genus belongs to purple group from Germplasm Collection of Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT). The chromosome number was $2n=2x=24$ and isozymatical characterization showed genetical affinity between accessions.

Key words: cytogenetics, electrophoresis, isozymes, malanga.

INTRODUCCIÓN

Los bancos de germoplasma son las fuentes más importantes de intercambio de los materiales a emplear para las pruebas de variedades locales y regionales y constituyen un punto de partida de los programas de mejoramiento genético (Goedert, 1996). La estrategia de conservación depende de la naturaleza del material y el método a emplear, el cual será aquel que minimice la pérdida de genes y maximice su disponibilidad y utilización a un costo aceptable (Castillo, 1991).

En las especies del género *Xanthosoma* existe una necesidad urgente de establecer colecciones vivas e "in vitro" a nivel mundial, que permitan que el potencial genético sea evaluado con relación a los problemas y necesidades actuales (Giacometti & León, 1994).

La colección cubana de este género está formada por 71 clones, los que según Rodríguez & al. (1999) están incluidos en varias especies: *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott, *Xanthosoma violaceum* Schott, *Xanthosoma atrovirens* Koch & Bouche y *Xanthosoma caracu* Koch & Bouche. Para la caracterización de los clones, estos se pueden dividir, atendiendo al color de la masa de cormos y cormelos, en tres grupos Blanco, Amarillo y Morado.

Para estudiar la variabilidad presente en esta colección es necesario realizar análisis citogenéticos y genéticos-bioquímicos, los que ayudarán a dilucidar la clasificación de los clones y caracterizar la variabilidad del género *Xanthosoma*.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

Determinar el número de cromosomas de los clones pertenecientes al grupo morado del género *Xanthosoma*. Establecer las afinidades genéticas entre los clones mediante los análisis isoenzimáticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Banco de Germoplasma de Aráceas del INIVIT, ubicado en el municipio de Santo Domingo, provincia de Villa Clara, Cuba.

La colección se plantó, de acuerdo a un Diseño Completamente Aleatorizado, en el mes de abril de 1993 y se aplicaron las normas de cultivo recomendadas en el Instructivo Técnico para la Malanga (Ministerio de la Agricultura, 1990).

Se analizaron 32 clones pertenecientes al grupo Morado de la colección nacional de malanga del género *Xanthosoma* (Tabla I).

Para realizar el análisis del cariotipo se colocaron cinco cormos de cada clon en bolsas de polietileno en condiciones de humedad. Cuando brotaron las raíces se tomaron aquellas que tenían aproximadamente 1 cm de longitud. Dichas raíces se sometieron a un pretratamiento con 8 hidroxiquinolina (0.02%) durante 3 horas. Posteriormente se procedió a la fijación del material (siete días) usando una mezcla de etanol absoluto y ácido acético glacial a la proporción 3:1. Seguido a esto se lavaron con agua destilada y se procedió a la hidrólisis, la cual se realizó con HCl 1N a 60°C por 15 minutos, a continuación se

volvió a lavar con agua y se sometió a la tinción con hematoxilina de Gomory a 60°C durante 2 horas.

Una vez culminada la tinción se colocaron los ápices en porta objetos, añadiéndoles una gota de ácido acético al 45%, se colocó el cubre objeto y se flameó la preparación sobre un mechero de alcohol. Posteriormente se realizó el *squash*.

Se observaron y contaron los cromosomas de 20 células por clon en un microscopio óptico, marca Leitz, modelo Ortholux con cámara fotográfica acoplada modelo Orthomat. Los cariotipos fueron fotografiados con un objetivo 100x y la lente de la cámara con un ocular de 10x.

Para realizar los análisis electroforéticos de isoenzimas se prepararon las muestras, seleccionando al azar hojas

jóvenes de plantas adultas provenientes del campo en el estadio particular de desarrollo ontogenético de cigarro. Los extractos crudos se obtuvieron macerando 5 gr de hojas frescas y sanas en mortero, a los cuales se les añadieron diez gotas de una solución de Sacarosa al 20%. Los extractos fueron filtrados en tela de gasa, envasados en viales plásticos y mantenidos a -15° C hasta su utilización (González & al., 1984).

Las corridas electroforéticas se realizaron en gel de poliacrilamida (PAGE) y un sistema de buffer discontinuos según Orstein (1964) y Davis (1964), con Buffer de corrida de Tris- Glicina 0,04 M, pH 8,3 en un aparato de corrida en lámina vertical según Raymond (1964). Se aplicaron tinciones específicas (Tabla II) para visualizar las bandas de los sistemas, esterasas, peroxidasa y polifenoloxidasas.

TABLA I

Clones del grupo Morado pertenecientes a la colección nacional de malanga del género *Xanthosoma*

No.	Número de introducción	Clones	Color de la masa (Grupo – Número)*	Nomenclatura	Procedencia
1	1481	Morada –6	Morado claro (M-1)	M-6	Cuba
2	1428	Ceniza	Morado (M-2)	Cz	Cuba
3	1435	Morada –3	Morado (M-3)	M-3	Cuba
4	1470	Morada –5	Morado claro (M-4)	M-5	Cuba
5	1421	Morada –2	Morado (M-5)	M-2	Cuba
6	1450	Morada –4	Morado (M-6)	M-4	Cuba
7	1446	Sergio Cuarentena	Blanco rosado (M-7)	SC	Cuba
8	1485	Morada –7	Morado claro (M-8)	M-7	Cuba
9	1249	Morada1727	Rosado (M-9)	M1727	Cuba
10	1250	México-1	Blanco rosado (M-10)	Mj-1	México
11	1251	México-27	Morado claro (M-11)	Mj -27	México
12	1252	México-16	Morado claro (M-12)	Mj -16	México
13	1236	Jardín	Morado claro (M-13)	Jd	Cuba
14	1253	México-2	Morado claro (M-14)	Mj-2	México
15	1265	Cuarentena	Morado claro (M-15)	Cuarent	Sao Tomé y Príncipe
16	1263	México 8	Rosado (M-16)	Mj-8	México
17	1264	Morada de México	Morado claro (M-17)	MMj	México
18	1237	Macal	Morado (M-18)	Macal	México
19	1233	Morada	Morado claro (M-19)	M	Cuba
20	1257	Morada-1	Morado (M-20)	M-1	Cuba
21	1254	México-3	Morado claro (M-21)	M-3	México
22	1234	Japonesa	Rosado (M-22)	Jp	Indonesia
23	1235	Rosada	Blanco rosado (M-23)	Ros	Cuba
24	1266	Cuarentena –1	Blanco rosado (M-24)	Cuar.1	Sao Tomé y Príncipe
25	1258	Morada 1726	Morado claro (M-25)	M-1726	Cuba
26	1610	Morada –8	Morado claro (M-26)	M-8	Cuba
27	904	INIVIT-84	Morado claro (M-27)	INV-84	Cuba
28	905	Morada Cabaiguan	Morado claro (M-28)	MCab	Cuba
29	1593	Morada Jibacoa	Morado claro (M-29)	MJib	Cuba
30	1256	Blanqui-Morada	Blanco rosado (M-30)	BqM	Cuba
31	1474	Blanca Morada	Blanco rosado (M-31)	ADA	Cuba
32	1460	Morada Ceniza	Blanco cremoso(M-32)	MCz	Cuba

TABLA II

Sistemas isoenzimáticos empleados y tinciones utilizadas para el género *Xanthosoma*.

Tipo de enzima	Sistema enzimático	Nomenclatura	Método de Tinción
Oxidorreductasas	Peroxidasas E.C.1.11.1.7	Prx	Iglesias & al. (1974)
	Polifenoloxidasas E.C.1.10.3.1	PPO	Guedes & Rodríguez (1974)
Hidrolasas	Esterasas E.C.3.1.1	Est	González & González (1981)

A partir de los resultados obtenidos en los zimogramas para los sistemas isoenzimáticos se midieron las semejanzas entre los clones y especies con el empleo del software MAT-GEN, con el objetivo de obtener la matriz de similitud a partir del índice de Jaccard, la cual se procesó a través de un análisis de Conglomerados empleando el Programa CLUSTER (Sigarroa & Cornide, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos las accesiones analizadas presentaron $2n=2x=24$ cromosomas (Fig. 1), lo cual coincide con lo reportado por Darlington (1951) y Cordero (1986) para algunos clones de *Xanthosoma*. García (1990) encontró el mismo número cromosómico en un grupo de clones de la colección cubana de *Xanthosoma*, los que mostraron correspondencia con el color morado o rosado de la pulpa de los cormos y cormelos.

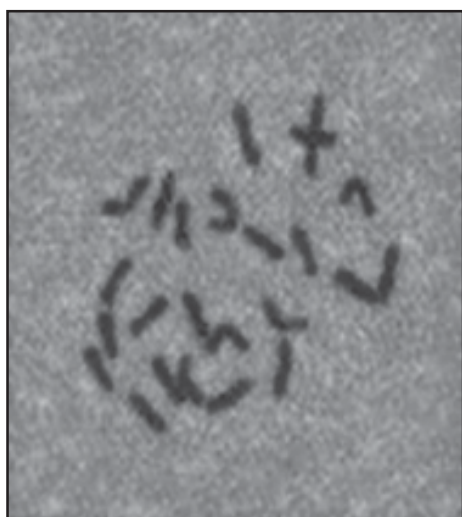


Fig. 1. Células de clones de malanga del grupo Morado del género *Xanthosoma* en metafase mitótica con $2n=24$ cromosomas (100X).

Es importante destacar que los clones Blanqui morada, Blanca morada y Morada ceniza presentaron $2n=24$ cromosomas y, sin embargo, presentan coloración blanca rosada de la pulpa de sus cormos y cormelos; por lo que hasta el presente estudio habían sido ubicados en el grupo

Blanco, lo cual debe reanalizarse a partir de este resultado y los obtenidos del estudio morfoagronómico.

Ningún trabajo anterior de los consultados evaluó el cariotipo de todos los clones de masa morada, que conforman la colección existente en Cuba, lo cual es de gran importancia para poder dilucidar la situación taxonómica del género y continuar los trabajos de mejoramiento genético.

El sistema Esterasas (Fig. 2) muestra un total de siete bandas. La banda en 0,3 unidades, que se corresponde con la de menor migración anódica, es propia de los clones Morada Cabaiguán, Ceniza y Japonesa. La banda de 0,9 unidades es común a la mayoría de los clones.

En el zimograma de la Figura 3, se observó un total de diez bandas para el sistema isoenzimático Peroxidasas. La zona de mayor migración anódica presenta las mayores diferencias, debido a la ausencia de bandas en muchos de los clones. La banda de 1,2 unidades está en la mayoría de los clones excepto Cuarentena, Cuarentena-1, Blanca Morada y Morada-6; este último clon tiene también ausente la banda de 0,8 unidades al igual que México-2 y Rosada. Además, Blanqui morada presenta una banda propia en 4,3 unidades. Este sistema isoenzimático resultó polimórfico, dado el número de bandas y las diferencias encontradas en cuanto a los patrones de los clones.

El sistema correspondiente a las isoenzimas Polifenoloxidasas se observa en la Figura 4, con un total de siete bandas; la banda de 2,9 unidades sólo está ausente en el clon Blanqui Morada, la de 1,4 unidades es propia de Cuarentena-1, Japonesa y Rosada. La de mayor migración anódica, situada a 4,8 unidades, aparece en 11 de los 32 clones. Este sistema isoenzimático, al igual que las Peroxidasas, mostró un alto polimorfismo de bandas, lo que permitió diferenciar a un gran número de clones.

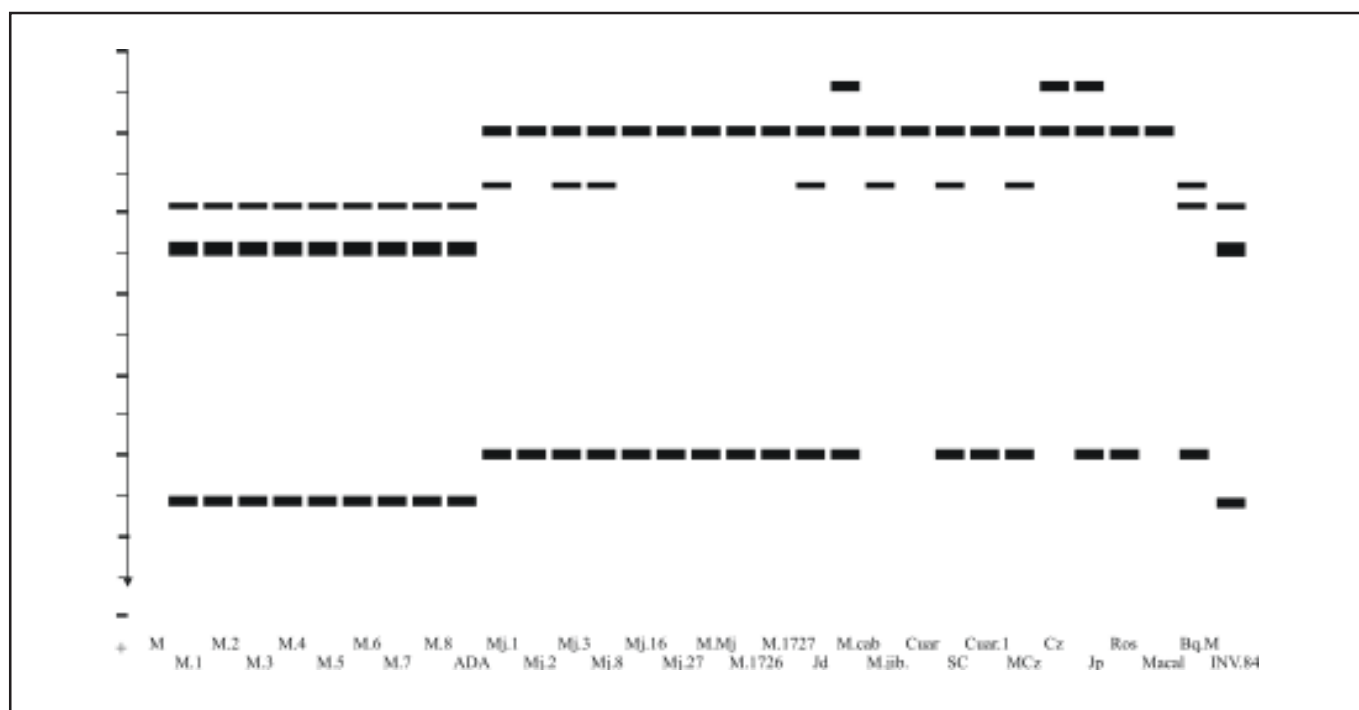


Fig. 2. Zimograma correspondiente al sistema isoenzimático Esterasas.

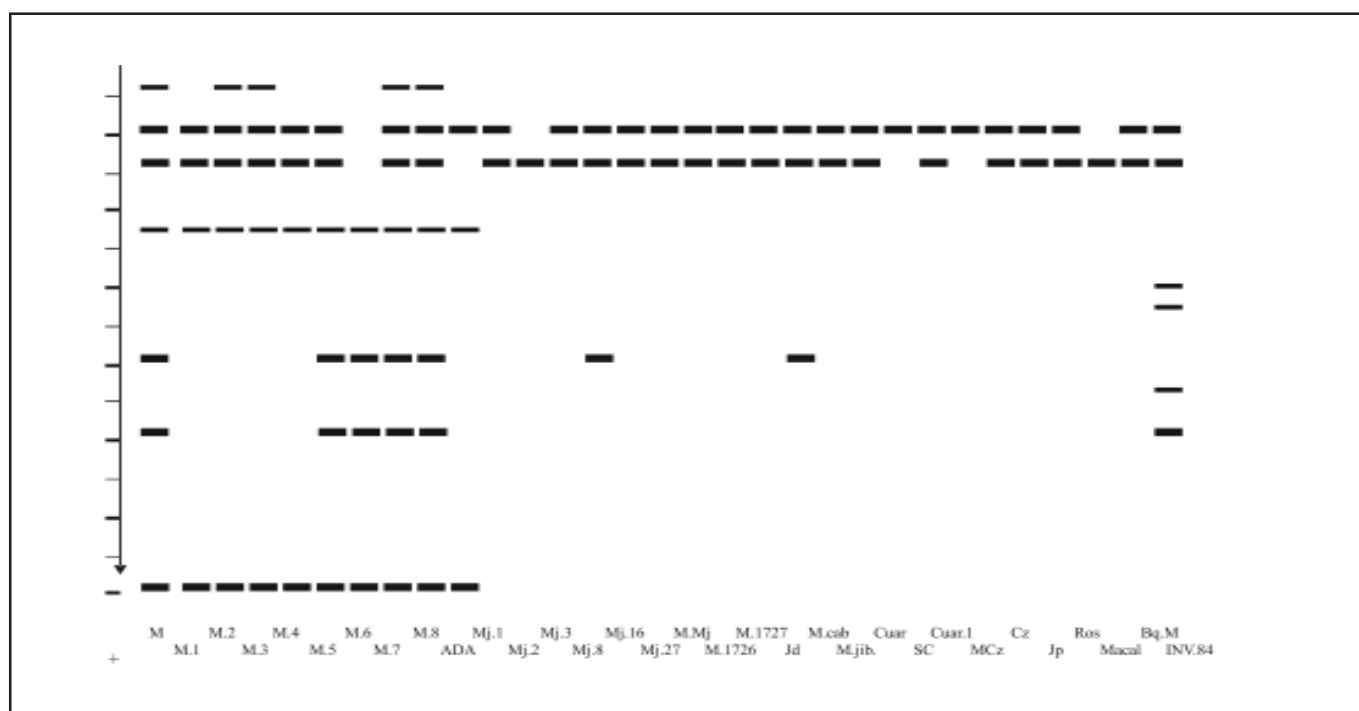


Fig. 3. Zimograma correspondiente al sistema isoenzimático Peroxidadas.

Para los tres sistemas isoenzimáticos se encontraron cuatro grupos de clones con zimogramas idénticos:

- Morada-2 y Morada-3, presentan en común caracteres como la inserción del pecíolo, la orientación de la lámina, la forma y el margen de la hoja, el color de sus nervaduras por la haz y por el envés, el color del pecíolo y de su arista, la presencia de cera, el color de la epidermis y de la masa de los cormos y los cormelos y

el color de las yemas lo que indica una gran afinidad morfoagronómica.

- Morada-7, Morada-8, coinciden en la forma de la hoja, color de la arista del pecíolo, color de la epidermis y de la masa de los cormos y cormelos, color de las nervaduras de las hojas por la haz y el envés, lo cual complementa los resultados encontrados en el análisis isoenzimático.

