

Caracterización citogenética e isoenzimática en clones de plátano burro (*Musa* spp.)

Maria Isabel Román*, Clara González Arencibia*, Xonia Xiqués**, R. Acosta** y I. Sánchez*

*Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales, Cuba.

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

RESUMEN

Se realizó la caracterización citogenética y genético-bioquímica, de 10 clones de plátano burro (*Musa* spp.), pertenecientes a la colección del Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT) de Santo Domingo, Villa Clara. Se determinó la condición triploide de estos clones, con la presencia de $2n=3x=33$ cromosomas. El estudio electroforético demostró que la variabilidad genética entre los clones es baja, ya que del total de bandas analizadas el 61% son monomórficas y el 39% de las polimórficas, están sólo representadas por el sistema isoenzimático esterasas y las proteínas totales.

Palabras clave: citogenética, cromosomas, isoenzimas, *Musa*.

ABSTRACT

Cytogenetic and genetic-biochemical characterization were made on 10 clons of burro plattains (*Musa* spp.) from Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT) genebank in Santo Domingo, Villa Clara, Cuba. Triploid condition was determined in these clons with $2n=3x=33$ chromosomes. Isozymic study demonstrated that the genetic variability within clons is low, because the 61% of the total bands were monomorphic and the 39% of the polymorphic bands were related with esterase isozymes and total proteins.

Key words: cytogenetic, chromosomes, isozymes, *Musa*.

INTRODUCCIÓN

Los países productores del género *Musa*, han buscado reforzar la investigación y transmisión del conocimiento básico en el cultivo, enfocando el trabajo principalmente en el mantenimiento de los bancos de germoplasma y en el mejoramiento genético mediante el cruzamiento convencional o por métodos biotecnológicos (De Langhe, 1990).

Actualmente, se están aplicando técnicas modernas para los estudios taxonómicos y evolutivos, que complementan los métodos tradicionales, donde se utilizan los marcadores bioquímicos, entre los cuales se encuentran los estudios isoenzimáticos y los estudios citogenéticos (Ganry, 1993).

El estudio combinado de las técnicas citogenéticas y genético-bioquímicas ofrecen nuevas posibilidades para el manejo de una colección, es decir, una mejor caracterización de las accesiones, la identificación de duplicados, la determinación de la estabilidad genética durante el mantenimiento y la obtención de variantes somaclonales *in vitro* (Engelborghs & al., 1998).

De ahí que el objetivo de este trabajo sea conocer el número cromosómico de los clones de la colección cubana de plátano burro (*Musa* spp.) y determinar las afinidades genéticas entre los clones a través de los estudios genético-bioquímicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron como material vegetal muestras de tejido foliar colectadas al azar de plantas individuales en un

estadio particular del desarrollo en cigarro, de los clones Burro CEMSA (CE), Burro cenizo (Cen), Burro criollo (Cri), Burro enano (En), Burro vietnamita (Vie), Saba (Sa), Somaclón de Saba (SS), Pelipita (P), Siguatepeque (Si), y Dubao (Du). Los extractos se prepararon macerando 5 gr de hojas en nitrógeno líquido y añadiendo buffer fosfato 0.1 M de pH 7.0.

Las corridas electroforéticas se realizaron en gel de poliacrilamida (PAGE) en sistema de buffer discontinuo según Ornstein (1964) y Davis (1964) con buffer de corrida Tris-Glicina 0.04 M de pH 8.3.

La tinción de las isoenzimas peroxidadas (Px) se realizó según Iglesias & al. (1974), polifenoloxidasas (PPO) (Guedes & Rodríguez, 1974), esterasas (Est) (González & González, 1981), ascorbato oxidasas (AO) (Vallejos, 1983), fosfatasa ácida (Aps) (Brewer & Singh, 1970), anhidrasa carbónica (AC) (Brewer & Singh, 1970) y proteínas totales (Laemmli, 1970).

La matriz de similitud fue procesada por un análisis de agrupamiento (Daviers, 1973) para representar mediante un dendrograma las relaciones fenéticas (por inferencias genéticas) entre el material estudiado.

A partir de los resultados obtenidos en los zimogramas de los sistemas isoenzimáticos, se midieron las semejanzas entre los clones con empleo del programa MATGEN (Sigarra & Cornide, 1995), para obtener la

matriz de similitud por el índice de Apóstol o Simple Matching (Apóstol, 1993).

Se determinó el número de loci para los tres sistemas isoenzimáticos, el número de alelos de cada locus, el total de alelos de cada locus y el total de ellos, así como el porcentaje de loci polimórficos y el número de alelos por locus polimórfico (Arias, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización citogenética

Al realizar el estudio de los ápices radiculares de los clones analizados, se observó la presencia de 33 cromosomas (Fig.1.), lo que demuestra su condición triploide, valor que se corresponde con lo reportado por Simmonds (1966) y Osuji & al.(1996), de acuerdo a su número básico.

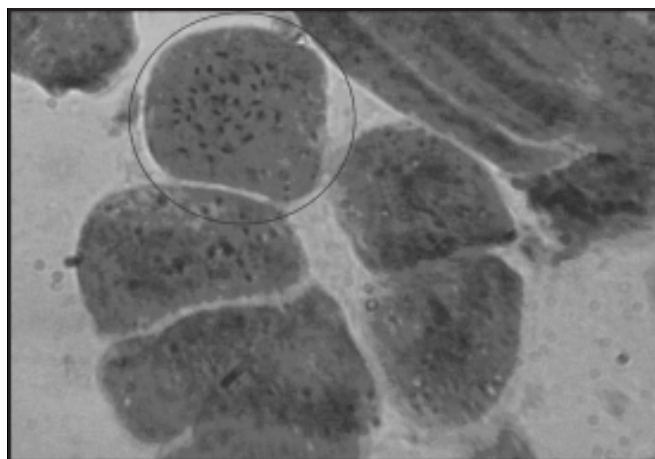


Fig. 1. Célula con $2n=3x=33$ cromosomas.

Los cromosomas observados presentaban pequeño tamaño. Autores como Sandoval & Escoute (1996) plantean, que el tamaño de los cromosomas no excede de 1.2 a 3.9 μ m de largo, lo que conjuntamente con la poca frecuencia de células en metafase y la dificultad para observar la morfología de los mismos al microscopio óptico, hacen que el estudio del cariotipo de *Musa*, sea una tarea difícil.

El genoma de los clones analizados está formado según Simmonds & Weatherub (1990), por contribuciones de las especies diploides silvestres *Musa acuminata* Colla (AA) y *Musa balbisiana* Colla (BB), la segunda aporta gametos no reducidos, que al unirse con los gametos haploides de la primera, da origen al grupo triploide ABB, dentro del cual se encuentran los clones del grupo Burro.

Caracterización genético-bioquímica.

Isoenzimas anhidrasa carbónica.

Para este sistema se presentan un total de tres bandas, agrupadas en los sistemas genéticos, cada uno de los cuales posee una sola banda, que aparece en todo el

material estudiado (Fig. 2.). Trabajos realizados en el género *Citrus* (González, 1989) y en tomate (Florida, 1999), muestran también muy poca variabilidad genética para estas isoenzimas.

Isoenzimas peroxidasas.

En la figura 3 se muestra el zimograma para las isoenzimas peroxidasas, donde se observan seis bandas. En el sistema de mayor migración anódica aparecen cuatro bandas y en los otros sistemas una sola. No se presentan diferencias entre los clones estudiados para este zimograma, por lo que estas isoenzimas, no permiten caracterizar de forma particular los clones del grupo Burro en este estudio, pero sí comprobar las afinidades genéticas de los subgrupos Bluggoe, Pelipita y Saba.

Román & al. (1997), al estudiar 17 clones diploides de plátano fruta (*Musa* spp.) encontraron un número mayor de bandas con un patrón enzimático característico para los cultivares del grupo Balbisiana (BB) y del grupo genómico Acuminata (AA), lo que parece indicar que este sistema enzimático es característico y uniforme dentro de cada grupo del género *Musa*; esto coincide con trabajos precedentes realizados por Román & Manzano (1991), para este cultivo.

Las isoenzimas peroxidasas son muy empleadas en los estudios genético-bioquímicos en plantas, por ser uno de los más polimórficos en cuanto a número de isoformas y para la estabilidad y reproducibilidad de sus bandas, así como por el papel que juegan estas isoenzimas en la formación de la pared celular, regulación del crecimiento, diferenciación celular y respuesta a factores adversos bióticos y abióticos (Alcázar, 1995).

Isoenzimas fosfatasa ácida.

El zimograma de este sistema (Fig. 4.) muestra un total de cuatro bandas, de las cuales tres conforman tres sistemas genéticos, cada uno con una banda y sin diferencias para los 10 clones estudiados. Sin embargo, los cultivares Pelipita y Burro Vietnamita poseen una banda propia de idéntica migración, lo que hace que sus zimogramas sean idénticos. El resto de los clones presenta idénticos zimogramas con tres bandas, este sistema isoenzimático no permite diferenciar los clones y no brinda información suficiente para diferenciar clones que pertenezcan a un mismo grupo genómico.

Isoenzimas ascorbato oxidasa.

Se encuentra un total de seis bandas de las cuales cinco de ellas están presentes en todos los cultivares y solamente una de ellas no se observa: en el clon Burro Enano. Aparecen tres sistemas genéticos el de mayor migración anódica con tres bandas, la banda que continúa (no presente en el clon Burro Enano) y el sistema de menor migración anódica con dos bandas (Fig. 5.).

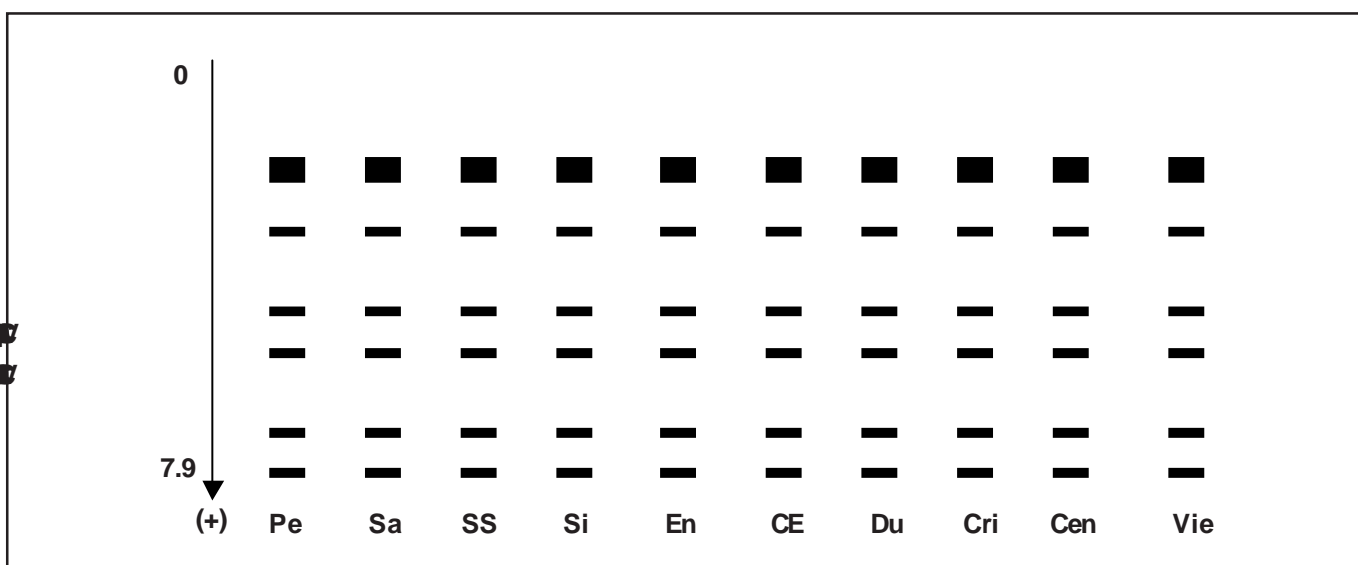
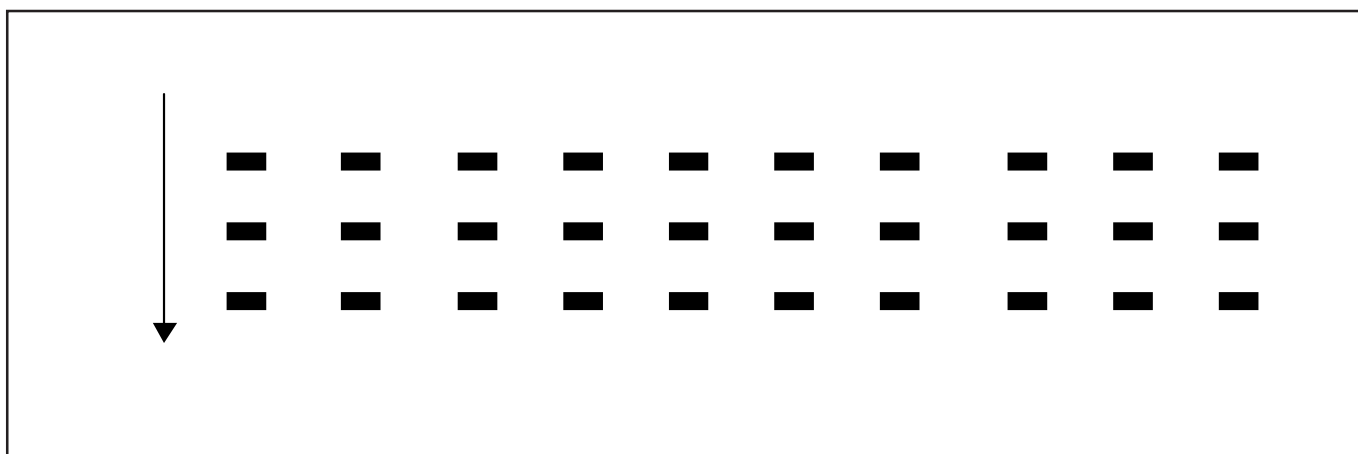


Fig. 3. Zimograma obtenido para las isoenzimas peroxidadas en los clones de plátanos burros.

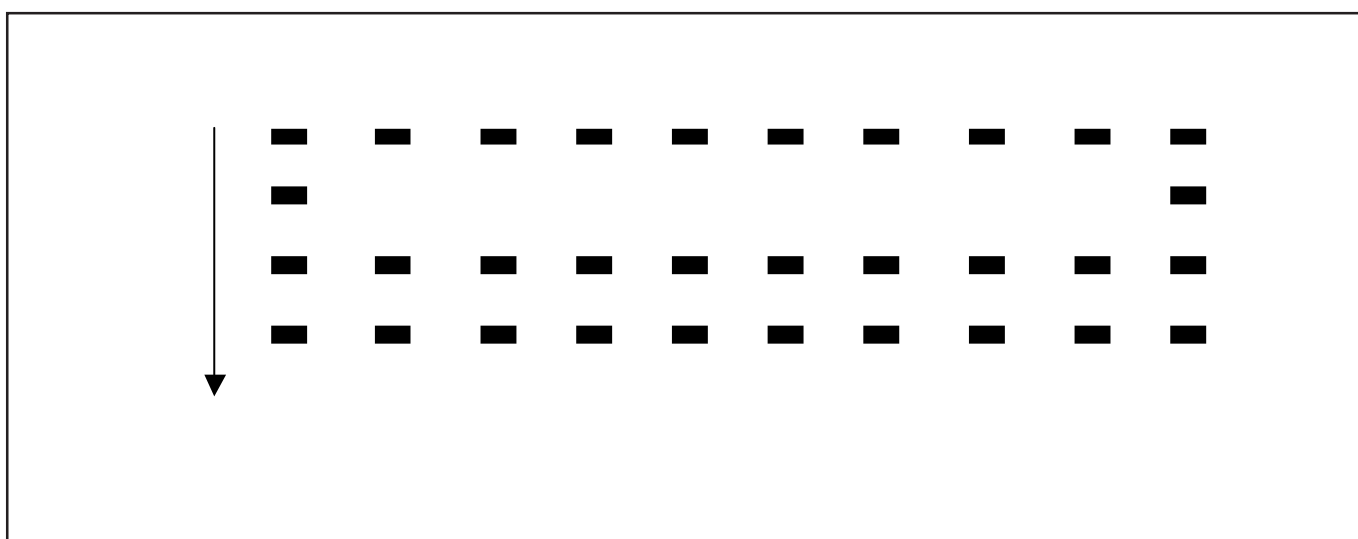
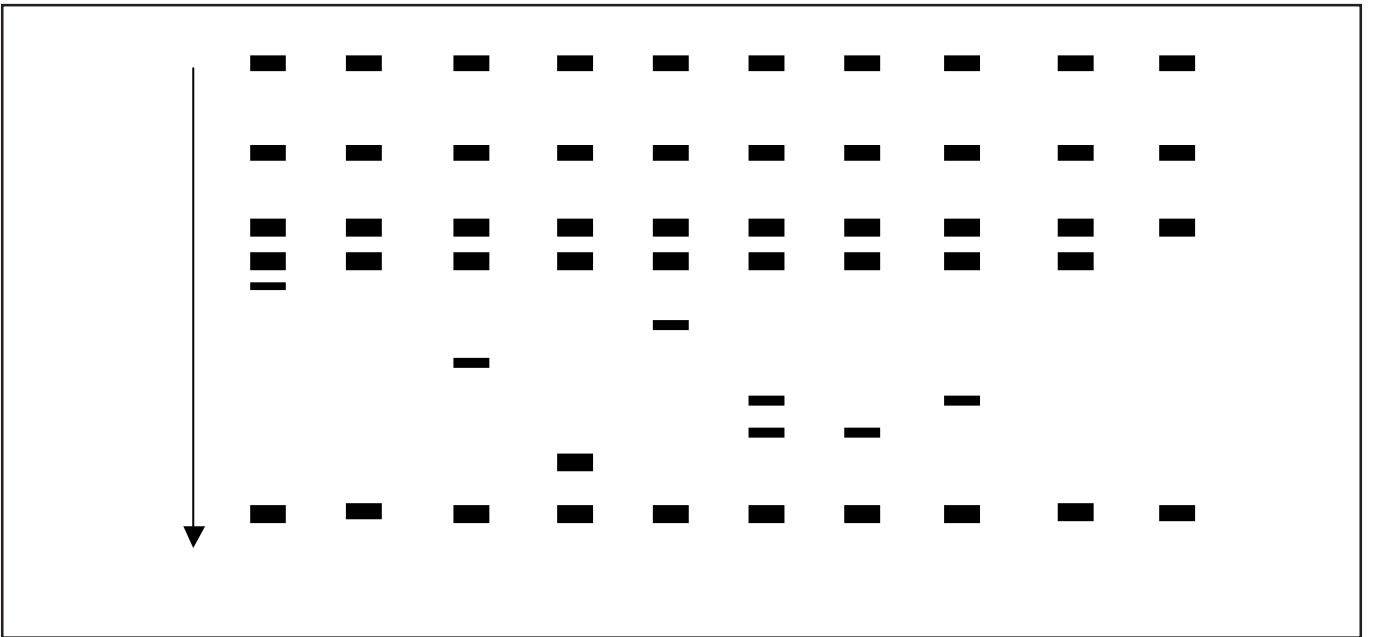
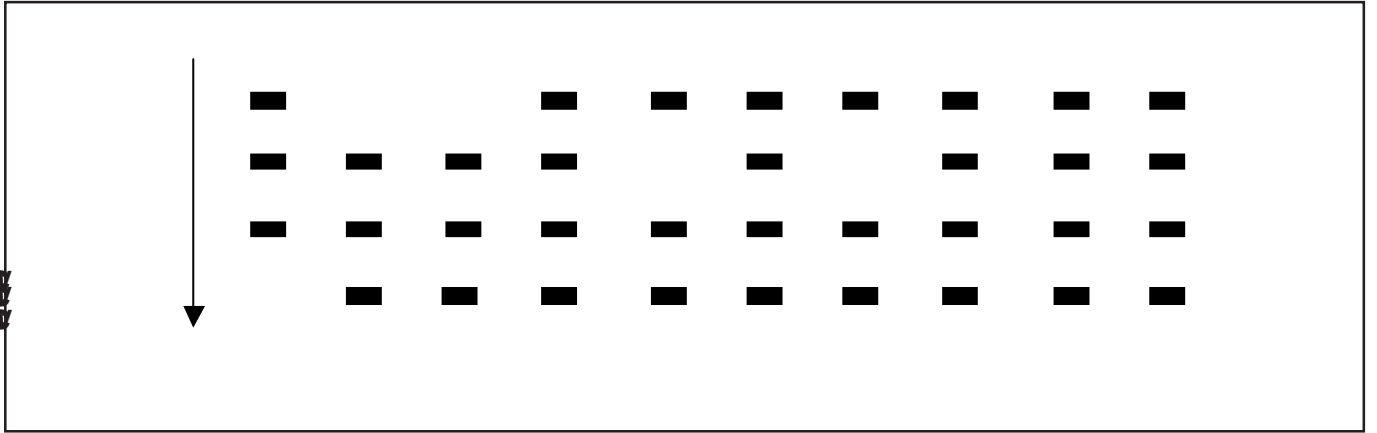
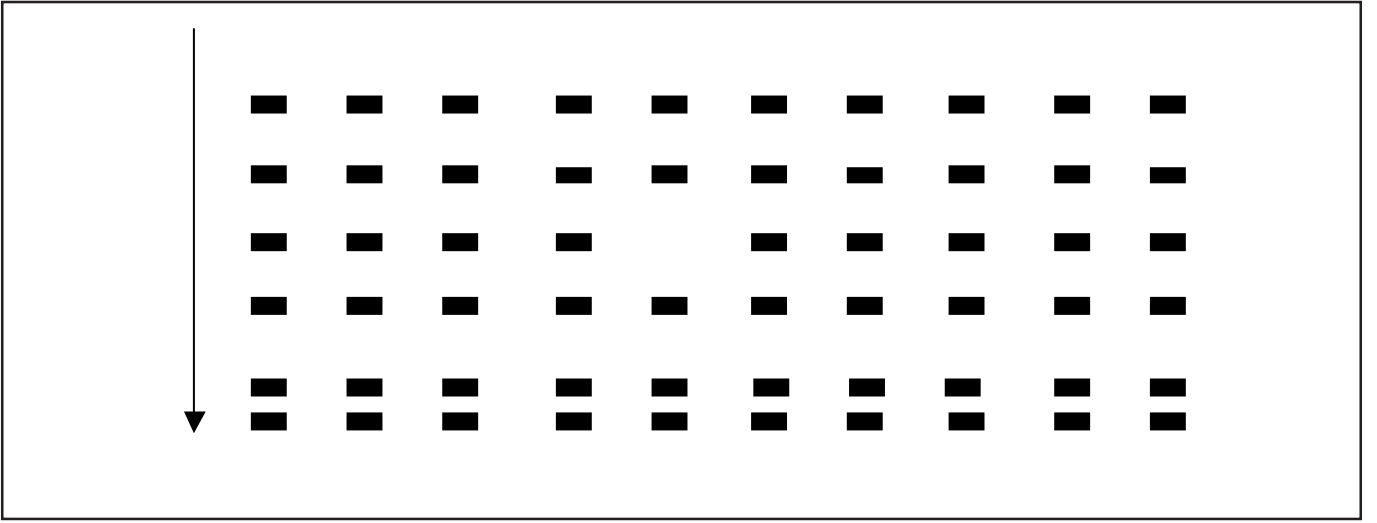
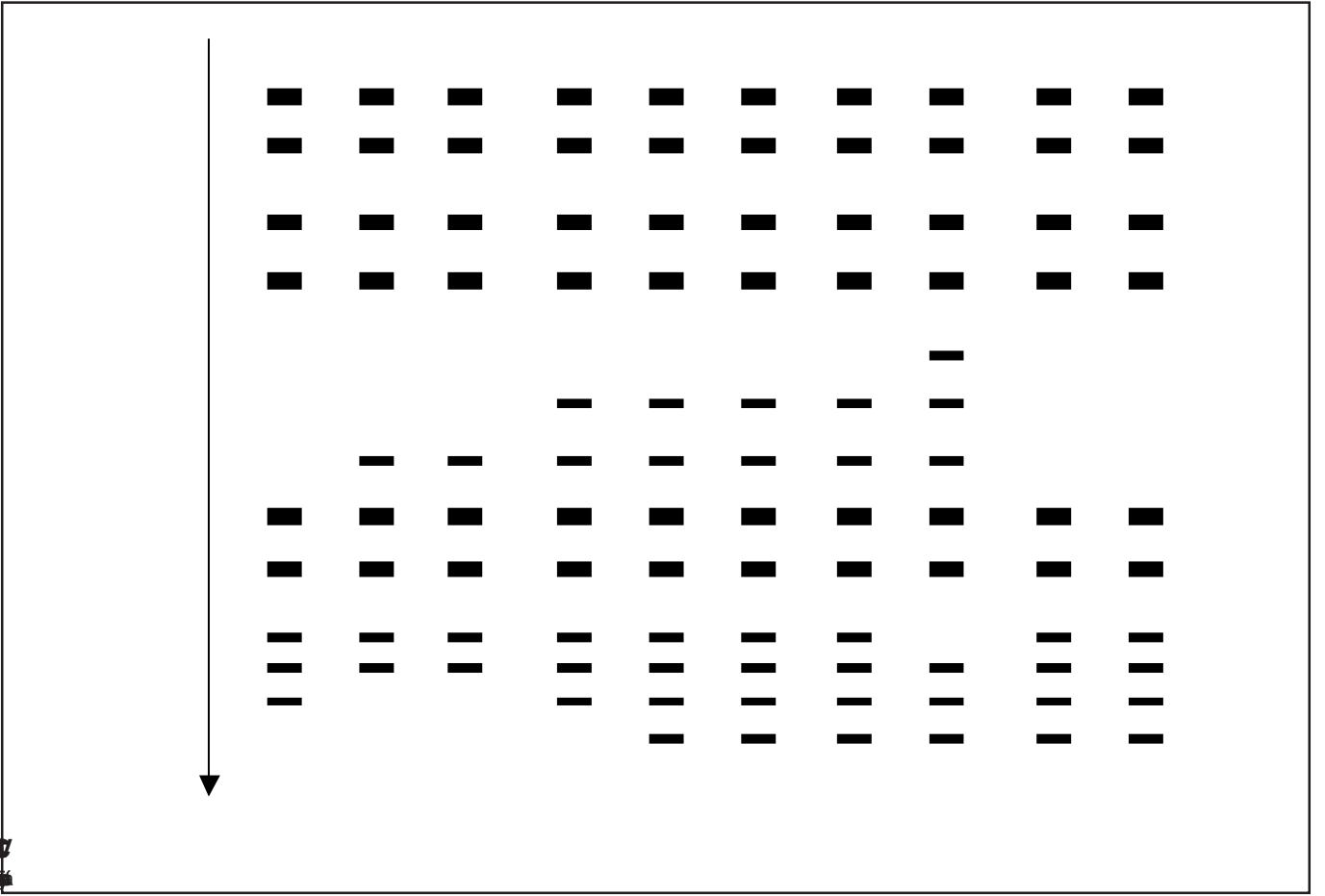


Fig. 4. Zimograma obtenido para las isoenzimas fosfatasas ácidas en los clones de plátanos burros.



--	--	--



CONCLUSIONES

Los clones de plátanos estudiados poseen un número de $2n=3x=33$, por lo que se demuestra la condición triploide de estos clones.

Se comprueba con el sistema isoenzimático peroxidasa que el patrón de bandas mantiene el predominio del grupo genómico Balbisiana.

El sistema isoenzimático esterasas al presentar un alto polimorfismo permitió detectar que no existen duplicados en este grupo.

El estudio electroforético pone de manifiesto una baja variabilidad genética entre los clones estudiados pertenecientes al grupo Burro. Solamente en las isoenzimas esterasas y en las proteínas totales, se detectó un mayor polimorfismo en los patrones de bandas. Con el programa MAT-GEN se pudo conocer las afinidades genéticas entre los clones analizados.

BIBLIOGRAFÍA

Alcázar, M. D. 1995. Peroxidase isozymes in the defence response of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*. – *Physiol. Plantarum*. 94: 736-742.

Apóstol, B. L. 1993. Estimation of the number of full sibling families at an oviposition site using RAPD-PCR markers: applications to mosquito *Aedes aegypti*. – *Theor. Appl. Genet.* 86: 991-1000.

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

Brewer, G. J. & Singh, C. F. 1970. Acid phosphatases. – Pp. 127-129 en: *Introduction to isozymes techniques*.

Daviers, J. C. 1973. *Statistics and data analysis in geology*. I. Wiley. Sans Inc.

Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis II. Methods and application to human serum proteins. – *Ann. N.Y. Acad. Sci.* N° 121:404-427.

De Langhe, E. A. L. 1990. Identification of genetic diversity in the genus *Musa*: a general introduction. – Pp. 8-16 en: *Identification of diversity in the genus Musa* R. L. Jarret. (ed.) INIBAP, France.

Engelborgh, I., Swennen, R. & Van Campenhout, S. 1998. Capacidad del AFLP para detectar diferencias genéticas y variantes somaclonales en *Musa* spp. – *INFOMUSA*.7(2): 3-6.

Florido, M. 1999. Caracterización de variedades y especies silvestres de tomate atendiendo a características morfoquímicas y tolerantes al calor. Tesis de Master 87pp.

Foyer, C. H. 1993. Ascorbic acid. – Pp. 31-58 en: Foyer, C.H. (ed.). *Antioxidants in higher plants*. CRC. Press. Boca Ratón. London. Tokio.

Ganry, J. 1993. Taxonomy and genetics diversity of diploid bananas. – Pp. 35-42 en: *International Symposium in Genetic Improvement of Bananas for Resistance to diseases and Pest*. CIRAD-FHLOR, Montpellier.

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.

González, C. & González, J. A. 1981. Estudio de patrones para la Lima persa III. Caracterización isoenzimática. – *Cienc. Tec. Agric.* Vol.4, No.2:102-108.

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., Lima, H. & Simon, I. P. 1974. Isozymes identification of nucellar seedlings in citrus. – *J. Heredity*. 65:81-84.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T₄. – *Nature*. 227: 680-685.

Maleau, N. & Coleman, J. R. 1991. Isolation and characterization of DNA_c coding for pea chloroplast cfrabnic anhydrase. – *Theor. Appl. Genet.* 89: 96-104.

Ornstein, L. 1964. Disc electrophoresis 1. Background and theory. – *Ann. N. Y. Acad. Sci.* N° 121: 321-349.

Osuji, J. O., Okoli, B. E. & Ortiz, R. 1996. Procedimiento mejorado para estudios mitóticos de la sección Eumussadel género *Musa* (Musaceas). – *Infomusa*. 5 (1):12-14.

Rodríguez Nodals, A. 1986. Características generales del clon de plátano 'Burro CEMSA' *Musa* spp Grupo ABB. – *Agrotecnia de Cuba*. 18:(2) 93-97.

Román, M. I. & Manzano, M. J. 1991. Estudio bioquímico en 10 clones del subgrupo Cavendish. – *Agrotecnia de Cuba*. 23 (3-4), 13-18.

Román, M. I., Xiqués, X., Rodríguez, A., González, C., Rayas, A. & Manzano, M. J. 1997. Caracterización isoenzimática de 17 clones de plátano fruta *Musa* spp. – *Biología*. 11(1): 61-70.

Sandoval, J. A. & Escoute, J. 1996. Aspectos citológicos y descripción de una metodología para el conteo de los cromosomas en el género *Musa*. – *Corbana*. 21(45): 51-56.

Sigarroa, A. & Cornide, M. T. 1995. Marcadores moleculares para la selección de variedades vegetales. – *Avances en Biotecnología Moderna*. Vol.3: 17-47.

Simmonds, N. W. 1966. *Los plátanos*. Barcelona. (ed.) Blume 537 pp.

Simmonds, N. W. N. Weatherup. 1990. Numerical taxonomic of the cultivated bananas. – *Tropical Agricultur*. Vol 67, 1:90-92.

Vallejos, C. E. 1983. Enzyme activity staining. – Pp. 257-287 en: Tansley, S. D., Orton (ed.). *Isozymes in Plants Genetics and Breeding*. Eisevier. Amsterdam.

Recibido: 2 de junio del 2003.

Direcc. de los autores: *Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales. ** Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de La Habana. Calle 25 # 455 e/ J e I Vedado. Plaza 10400. Ciudad de La Habana, Cuba.