

RAICES ANDINAS

Contribuciones al conocimiento y a la capacitación

I. Aspectos generales y recursos genéticos de las raíces andinas

5

Genética de las células somáticas de raíces y tuberosas andinas

David Talledo¹, Carola Escobar¹

El ciclo celular: Generalidades

El número y morfología de los cromosomas de los organismos eucariontes se estudian con mayor facilidad durante la metafase mitótica. Sin embargo, esta es sólo una etapa, por lo general bastante breve, del ciclo celular. Para desarrollar un análisis cariotípico a nivel de contaje y de evidenciación cromosómica es indispensable ubicar el preciso momento en el cual los cromosomas presentan su mayor grado de condensación. Este período suele durar sólo algunos minutos y depende de factores genéticos y ambientales.

¹Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.

El ciclo celular es el mecanismo universal de reproducción de las células eucariontes, cuyo evento principal es la reproducción del número de cromosomas, siendo la mitosis el mecanismo de división de los cromosomas, del núcleo y de toda la célula.

El ciclo celular completo (regular) del organismo en crecimiento comprende dos etapas: la interfase (prolongada) y la mitosis (más breve: de 1/7 a 1/10 de todo el ciclo celular), que consta de cuatro fases – profase, metafase, anafase y telofase.

Durante la interfase es posible observar un período S (síntesis) y dos periodos G, G1 (anterior a S) y G2 (posterior a S). Durante el periodo comprendido entre la telofase y la fase S, los núcleos presentan la cantidad de material genético propio de la especie ($2n$). Durante la fase S esta cantidad aumenta paulatinamente y a partir del período G2 hasta la siguiente telofase es el doble. Sin embargo, el ciclo celular no siempre termina con la división celular (Figura 1). Los periodos G1 y G2 no son sólo espacios de transición al período S y a la mitosis, sino también son espacios de decisión sobre si la célula continúa o no en el ciclo de la división o si se separa temporalmente o definitivamente de él.

Los ciclos celulares incompletos pueden ser de dos tipos:

1. Cuando se reducen las fases finales de la mitosis y como resultado (de esta mitosis poliploidizante) se forma una célula con un complemento cromosómico duplicado y separado.
2. Cuando se reducen toda las fases de la mitosis (las células se bloquean en G2) y como resultado se forma una célula con cromosomas (cromátides) duplicados pero que no se separan; en el siguiente ciclo, con diplocromosomas y, luego de varias endoreproducciones, con cromosomas politénicos.

Materiales y métodos

El ciclo celular, número y morfología cromosómica se estudian en las células en división de los tejidos meristemáticos, el endosperma de las semillas o en el polen. Los tejidos meristemáticos se dividen en apicales, remanentes, secundarios y meristemoides. Los cromosomas se ven mejor en células de tejidos que no contengan sustancias almacenadas. Por ello, el estudio de los cromosomas se realiza principalmente en láminas preparadas a partir del meristema radicular, la base de hojas jóvenes, los conos de crecimiento del tallo, así como en láminas de polen.

El estudio del ciclo celular consta de las siguientes etapas experimentales: selección de la muestra (meristemas radicales): fijación coloración; squash (aplastado), análisis al microscopio; obtención de microfotografías (documentación de los resultados), evaluación de los índices mitóticos parciales y totales y cálculo de la duración en horas del ciclo celular asumiendo un valor medio para un ciclo completo e interpretación de los mismos (Talledo *et al.*, 1995).

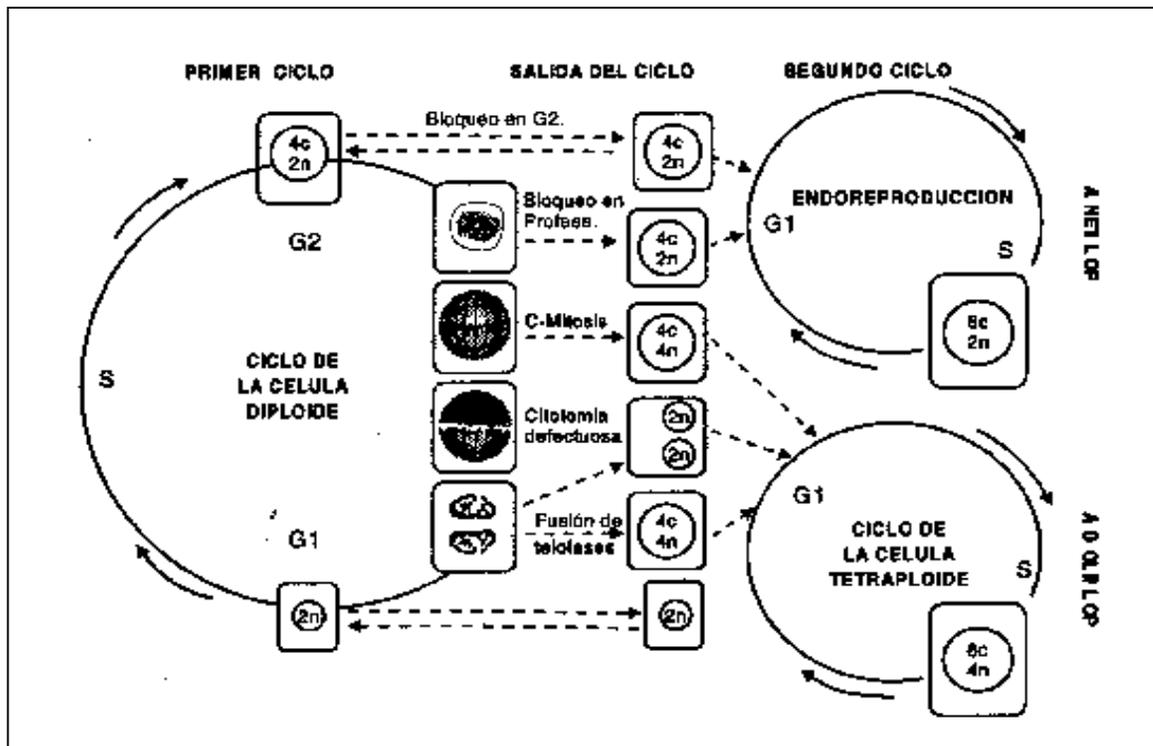


Figura 1. Mecanismos de multiplicación del genoma durante el ciclo celular.

Para el análisis del número y morfología cromosómica es necesario establecer el período en el cual se dividen intensamente las células meristemáticas. Los resultados obtenidos en el estudio del ciclo celular permitirán determinar este período estableciendo la mejor hora del día para la prefijación, en función del número de células en división y de los componentes del índice mitótico. Luego de la prefijación con colchicina o alfa-bromonaftaleno (ABN) se procede a: la fijación; maceración y coloración de las raíces fijadas; prensado o squash; observación al microscopio de las láminas montadas y selección de las mejores células; toma de microfotografías; análisis de las fotografías (conteo cromosómico, mediciones, estudios de la estructura y parámetros morfológicos entre ellos (Talledo *et al.*, 1995; Escobar y Talledo, 1995) (Figura 2).

Importancia de los estudios citológicos y genéticos en tuberosas andinas

Debido a las consideraciones, observadas y reportadas por muchos investigadores (Gibbs. *et al.*, 1978; Naranjo *et al.*, 1983; Turkov *et al.*, 1984; Pijnacker *et al.*, 1989; Talledo *et al.*, 1993) como:

- La gran variabilidad de reportes respecto al número, tamaño y forma de los cromosomas de las especies de este grupo
- La dificultad para evidenciar cromosomas mitóticos, especialmente metafásicos

- La alteración de las características de las muestras originales del germoplasma (oca) introducido para su reproducción *in vitro* y
- La insuficiencia de los métodos utilizados en la evaluación de su estabilidad genética.

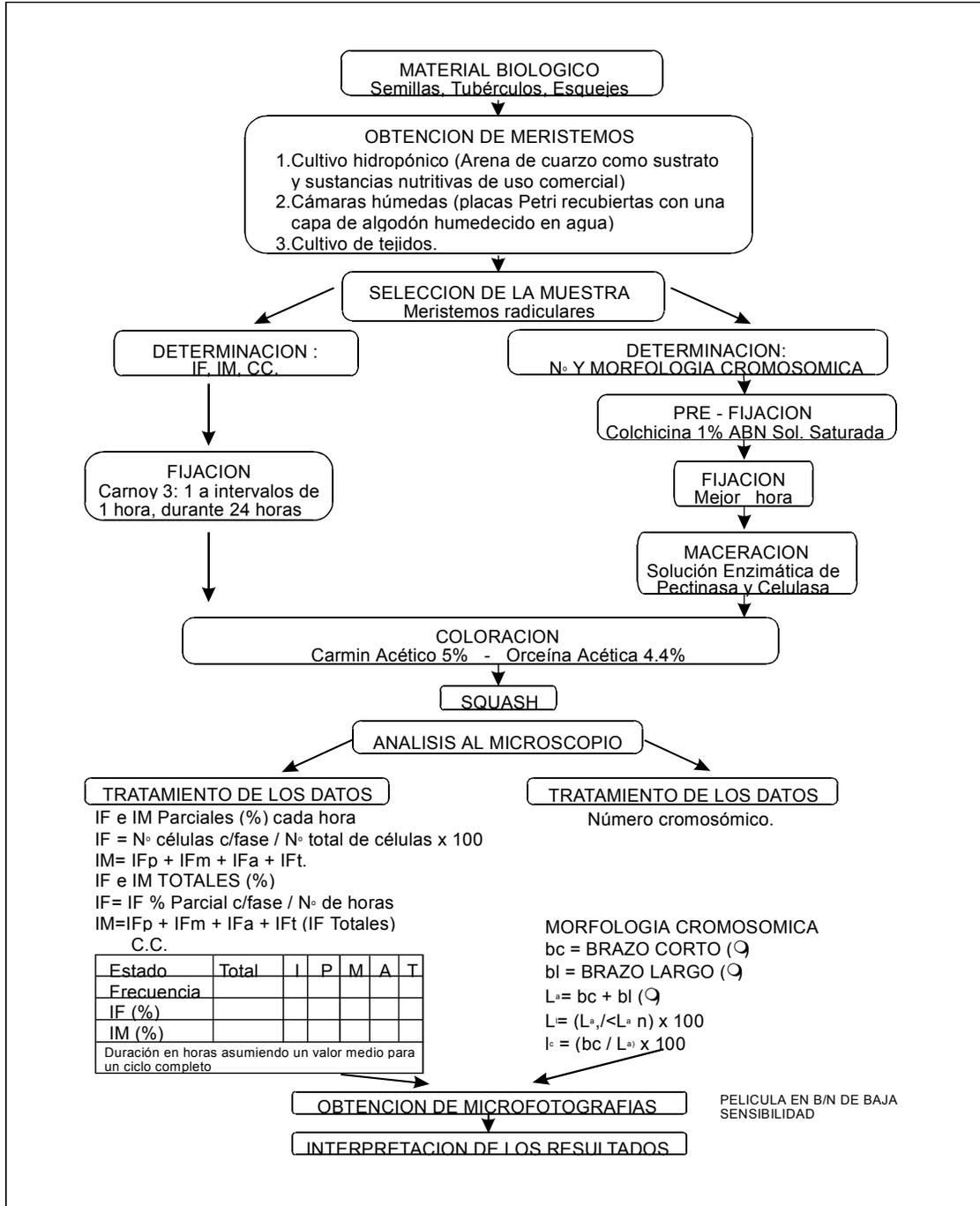


Figura 2. Protocolo de trabajo.

Hemos considerado conveniente iniciar nuestros estudios a partir de la secuencia del ciclo celular, lo cual nos permitirá responder parcialmente a alguno de los problemas planteados en tuberosas andinas.

Aplicaciones del estudio del ciclo celular

El estudio del ciclo celular nos permite (del Campo, 1988; Talledo y Escobar 1995):

- Eliminar el factor del azar y utilizar criterios objetivos para la toma de las muestras.
- Esclarecer las causas que determinan el importante rol de la poliploidia en el proceso de diversificación de las especies propias de zonas montañosas.
- Determinar las causas de la divergencia de reportes en cuanto a números cromosómicos en algunas especies; y,
- Esclarecer las causas de la variación somoclonal observada en algunos cultivos reproducidos *in vitro*.

Ciclo celular regular o completo, ejemplo: ashipa (*Pachyrhizus tuberosus*) y ahipa (*Pachyrhizus ahipa*)

Pachyrhizus tuberosus y *P. ahipa* son dos raíces andinas pertenecientes a la familia Fabaceae, ricas en potasio y vitamina C. Estas raíces, de sabor dulce y pulpa blanca son consumidas generalmente crudas acompañando las ensaladas de verduras o frutas, aunque a veces son cocidas al vapor y fritas a fuego lento. Por su agradable y refrescante sabor son muy apreciadas y populares en los meses de verano (National Research Council, 1989).

Estas especies presentan dos peculiaridades importantes (Kjaer y Sorensen, 1994):

- La capacidad, única entre las leguminosas, de formar raíces reservantes.
- A diferencia de las demás raíces andinas, presentan simbiosis con las bacterias del género *Bradyrhizobium*, fijadora del nitrógeno libre de la atmósfera.

Con base en la evaluación cíclica para un período de 24 horas del Índice de Fase (IF) e Índice Mitótico (IM) parciales y totales se estableció que la mejor hora para la prefijación con inhibidores es a las 14:00 horas (IM= 16 %), presentándose un pico secundario bastante breve a las 19:00 horas. Durante las demás horas los IM fueron bajos, fluctuando entre 2 % de la población celular. Al analizar el ciclo celular en su conjunto encontramos que sólo entre las 13:40 y 14:20 aprox. parece desarrollarse francamente la mitosis (Figura 3).

La curva del gráfico nos permite asumir un valor medio de 7 horas para un ciclo completo por lo que la duración del ciclo mitótico en base a la evaluación de los IF e IM totales, es de 43 minutos, de los cuales 24 minutos son ocupados por la Profase; 7 minutos por la Metafase, 5 minutos por la Anafase y 7 minutos por la Telofase (Tabla 1).

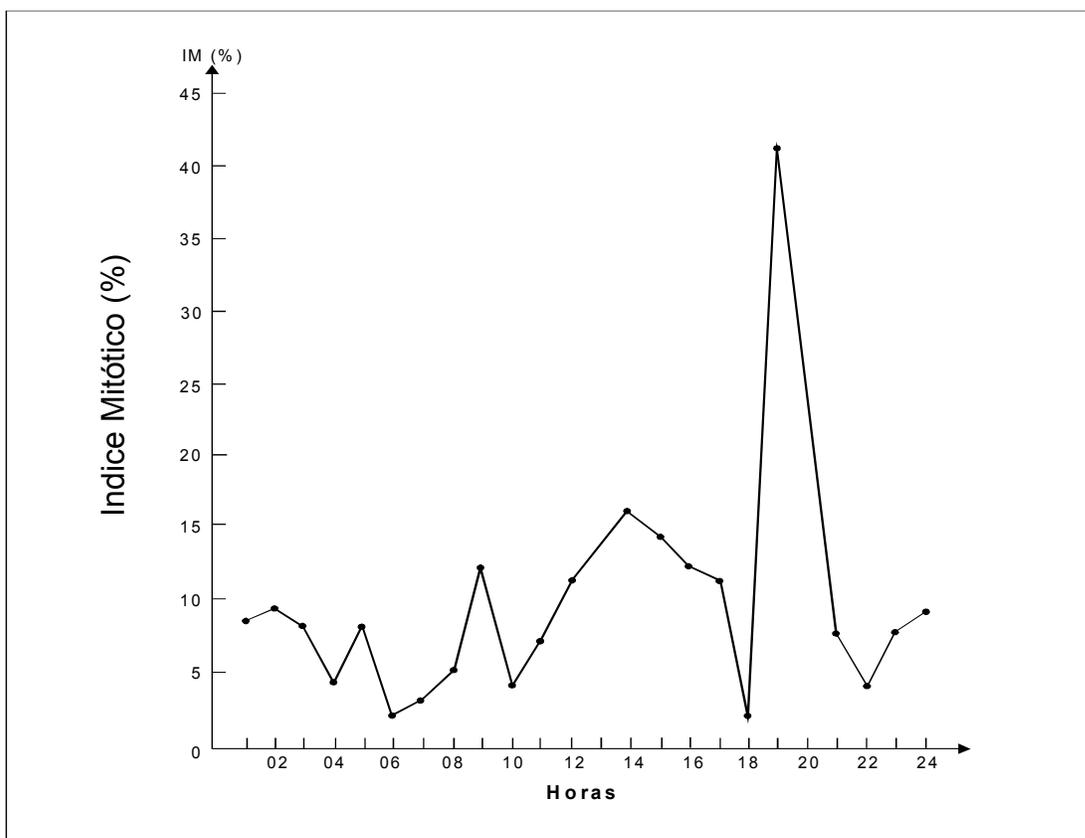


Figura 3. Secuencia del ciclo celular en Pachyrhizus.

Ciclo celular irregular o incompleto, ejemplo: Oca (*Oxalis tuberosa*)

El género *Oxalis* está formado por 800 especies, distribuidas en casi todo los hábitat de América del Sur y de África del Sur (Marks, 1956). No esta citado.

La oca (*O. tuberosa*) es conocida como la de mayor importancia económica entre las especies de este género, debido a su alto contenido proteico y lipídico, así como su capacidad de tuberizar, singular entre las especies de *Oxalis*.

Aunque el origen de la oca es poco conocido, los contajes cromosómicos demuestran que éstas son poliploides en la mayoría de los casos, lo que refleja su capacidad de adaptación a condiciones climáticas severas y altas elevaciones (De Azhue y Martínez, 1990).

Tabla 1. Determinación de los Índices de Fase (IF) e Índice Mitótico (IM) totales y de la duración del ciclo celular en *Pachyrhizus*.

Estado	Total	Interf.	Prof.	Metaf.	Anaf.	Telof.
Frecuencia	25 976	23 337	1 ,478	414	298	449
IF (%)	100	89.84	5.69	1.59	1.15	1.73
IM (%)	10.76	=	(5.69 +	1.59 +	1.15	1.73)
Duración hr	7:00	(6.29)	(0.40)	(0.11)	(0.08)	(0.12)
Asumiendo un valor medio para un ciclo completo = 7:00 hr	7:00	6:17	0:24'	0:07'	0:05'	0:07'

Con base en la evaluación cíclica para un período de 24 horas de los Índice de Fase e Índice Mitótico parciales y totales, se estableció que la mejor hora para la prefijación está comprendida entre las 07:30 y las 08:30 horas (IM=92.17 %). Durante las demás horas los IM fueron bajos, fluctuando entre 2 % (21:00) y 23 % (24:00). Sin embargo, los valores del IM registrados para las 23 horas fueron extrañamente elevados, alcanzando el 89.19 %. En estas condiciones el ciclo celular parece durar seis horas, sin embargo esto se debe a la alteración de su flujo normal (Figura 4).

Es posible observar que entre las 06:00 y las 08:00 horas y luego a las 23:00, el porcentaje de profases ocupa la mayor parte de la población celular en división. Durante las demás horas, excepto las 23:00, se acumularon telofases. Las fases restantes (metafases y anafases) parecen presentarse en pequeña proporción, o no presentarse. Esto nos indicaría la irregularidad del ciclo celular. La permanencia de las células en fase anterior, por lo que el material genético, luego de duplicarse en la interfase, no necesariamente se va a distribuir entre las células hijas. La aparente duración de seis horas de amitosis no corresponde a la de un ciclo normal (que suele ocupar entre 45' y 75') (Figura 5).

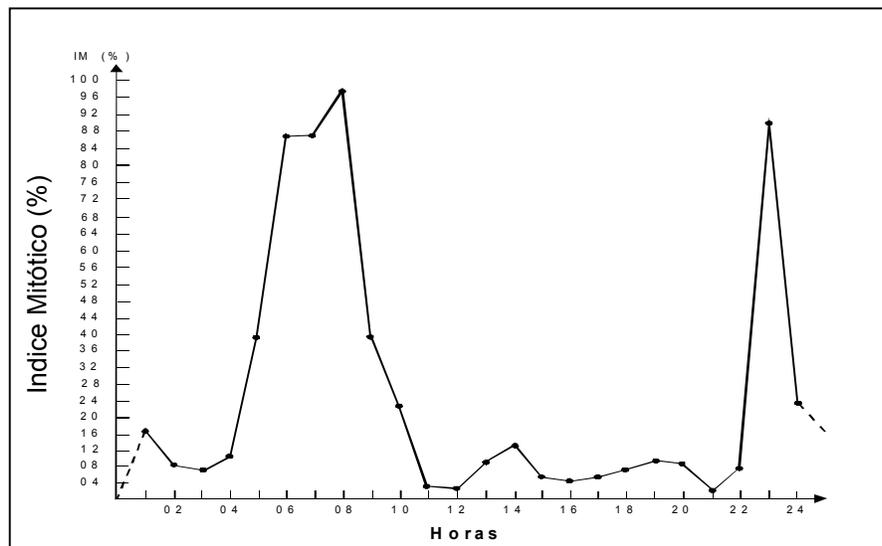


Figura 4. Secuencia del ciclo celular en *Oxalis*.

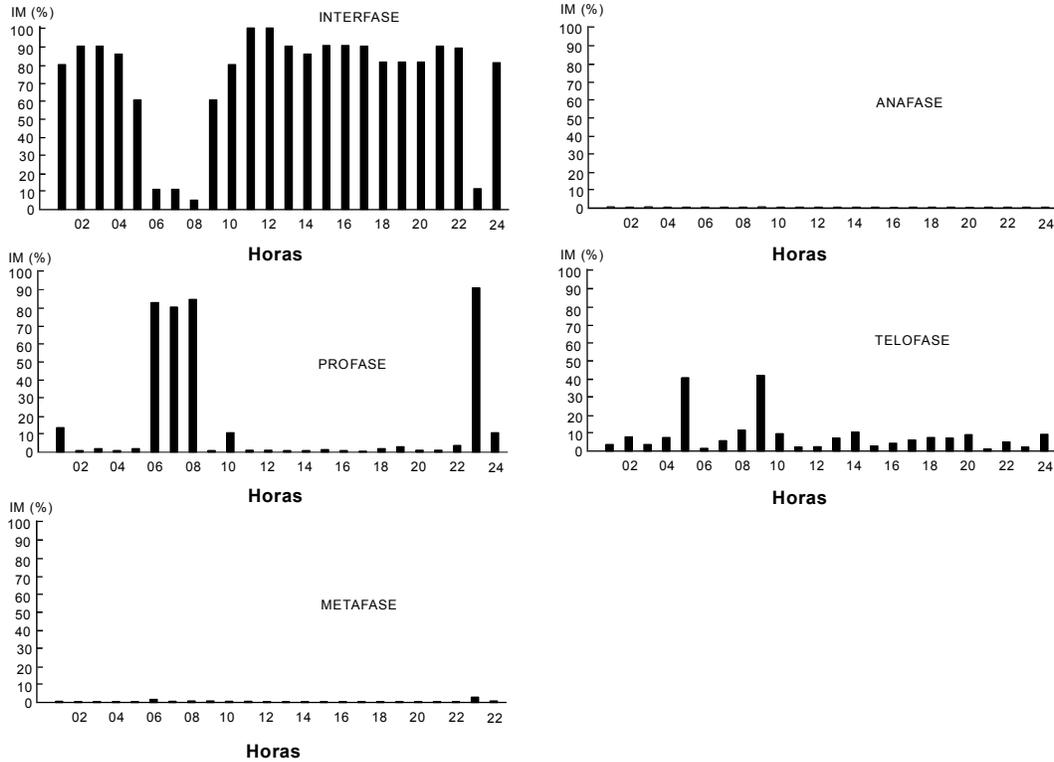


Figura 5. Secuencia de los Indices de Fases en *Oxalis tuberosa*.

Al analizar el ciclo celular en su conjunto encontramos que sólo entre las 07:00 y 08:00 horas parece desarrollarse francamente la mitosis, aunque a través de la acumulación de profases. Como se observa en la Tabla 2, el ciclo normal de división se estaría produciendo sólo en parte de esta población y su duración sería de 75 minutos.

Tabla 2. Determinación de los Indices de Fase (IF) e Índice Mitótico (IM) totales y de la duración del ciclo celular en *Oxalis*.

Estado	Total	Interf.	Prof.	Metaf.	Anaf.	Telof.
Frecuencia	24,597	18,442	3,828	93	21	2,213
IF (%)	100	74.98	15.56	0.38	0.308	9.00
IM (%)	25.02	=	(15.56 +	0.38 +	0.08	9.00)
Duración hr	5:00	(3.75)	(0.78)	(0.02)	(0.01)	(0.45)
Asumiendo un valor medio para un ciclo completo = 5:00 hr	5:00	3:45'	0:47'	0:01'	0:0'06''	0:27'

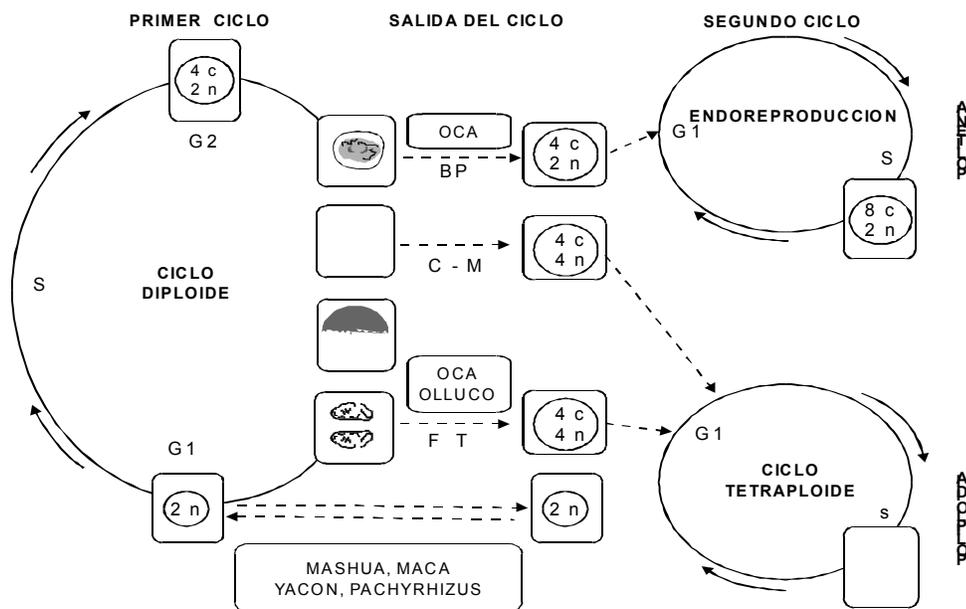
El ciclo celular en raíces y tuberosas andinas

Sobre la base de nuestras observaciones en raíces y tubérculos andinos (RTAs) ha sido posible establecer:

En maca, mashua, pachyrhizus y yacón, no se registraron alteraciones; la mitosis presenta una duración aproximada de 60 minutos, lo que corresponde a la duración de un ciclo de división normal (que suele ocupar entre 45 y 75 minutos), así como ciclos regulares. Esto condiciona la estabilidad de sus números cromosómicos ($2n$).

El flujo normal del ciclo celular nos indica que la variabilidad fenotípica de estas especies puede producirse en función de la variabilidad a nivel génico y cromosómico (aberraciones estructurales) y que la influencia de las alteraciones genómicas/numéricas no es significativa (Figura 6).

En oca y olluco, se registraron alteraciones en el curso del ciclo celular, particularmente ciclos incompletos, con una notable incidencia de ciclos irregulares (bloqueo parcial en profase para la oca y bloqueo en telofase para ambas). Así mismo, en oca se observa una prolongación del ciclo celular hasta aproximadamente seis horas. La alternancia de interfases normales con mitosis irregulares podría condicionar en estas especies la diversidad de reportes para el número cromosómico y constituir uno de sus probables mecanismos de poliploidización (Figura 6).



N: Complemento Haploide,
BP: Bloqueo en Profase
Ft: Fusión de telofases

c: Nivel haploide de ADN
C-M:C- mitosis

Figura 6. Mecanismos de multiplicación del genoma de las RTAs durante el ciclo celular.

En conclusión, los ciclos celulares incompletos (irregulares) condicionan una alteración de la división celular, incrementando la duración del ciclo y facilitan un mecanismo para la multiplicación del genoma.

- Parece claro que la circunscripción de las formas poliploides a las regiones montañosas no constituyen una regla general para todo los grupos sistemáticos.
- Es evidente que las diferentes especies presentan distinta plasticidad, por lo tanto, su reacción a la acción de factores ambientales es diferente.

El número cromosómico en raíces y tuberosas andinas

Los números cromosómicos contados en microfotografía de 10 metafases por especies fueron los siguientes (Tabla 3):

Tabla 3. Números cromosómicos en raíces y tubérculos andinos.

Nombre común	Especie	Nº Cromosómico
Yacón	<i>Polymnia sonchifolius</i>	2n = 60
Ulluco	<i>Ullucus tuberosus</i>	2n = 2x = 24
Oca	<i>Oxalis tuberosa</i>	2n = 14
Mashua	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	2n = 28
Maca	<i>Lepidium meyenii</i>	2n = 24
Ashipa	<i>Pachyrhizus tuberosus</i>	2n = 22
Ahipa	<i>Pachyrhizus ahipa</i>	2n = 22

Asimismo, nuestras observaciones revelan que en función del tamaño de los cromosomas de estas especies es conveniente utilizar en calidad de prefijadores (Tabla 4):

- Una solución de alfabromo-naftaleno (ABN) a 4 °C durante 4-5 horas para las especies cuyos cromosomas están comprendidos entre 2 y 4 micras (mashua, oca, ulluco, ashipa y ahipa) y
- Una solución de Colchicina a 4 °C durante 4-5 horas para maca y yacón, ya que presentan cromosomas mayores de 4 micras.

Tabla 4. Prefijadores apropiados según las especies de raíces y tubérculos andinos

Especie	Tamaño de los cromosomas (micras)	Prefijador
Ulluco Oca Mashua Ashipa Ahipa	2-4	Solución de ABN a 4 °C durante 4-5 horas
Maca Yacón	+ 4	Solución de Colchicina a 4 °C durante 4-5 horas

Aplicaciones de los estudios citogenéticos

Las investigaciones citológicas no sólo dan a conocer las peculiaridades citogenéticas de los organismos (ciclo celular, número y morfología cromosómica), sino que gracias a la particular condición de los cromosomas como portadores de la herencia también nos permiten (Talledo *et al.*, 1993):

- Utilizar criterios adicionales para la clasificación taxonómica y filogenética de las especies.
- Aclarar una serie de problemas evolutivos (tanto generales como referidos al origen de determinados grupos).
- Predecir el comportamiento de las muestras en los bancos de cultivos *in vitro*
- Asimismo constituyen un requisito indispensable para la caracterización a nivel molecular.

En taxonomía y evolución

La citología es una de las ciencias que ha influido de manera significativa sobre la taxonomía y la evolución durante las últimas décadas, ya sea sola (Citotaxonomía) o combinada con la genética (Citogenética). Los caracteres citológicos (ciclo celular, número y morfología cromosómica) son usados en forma similar a cualquier otra clase de datos comparativos (Heywood, 1968).

Evolución mediante la variación del número base y de la morfología cromosómica

A continuación describiremos brevemente cómo los estudios citogenéticos realizados a la fecha pueden contribuir a aclarar una serie de problemas evolutivos en las especies de la familia Fabaceae (Figura 7).

La familia fabaceae, que integra al orden Fabales, está constituida por Tribus, las que están conformadas por géneros. En las Tribus de esta familia los números base (x) permanecen constantes, aunque se presentan algunas excepciones.

En la Tribu VICIEAE se presenta un fenómeno bastante interesante. El número haploide predominante entre las especies que la integran es de $x=7$. Sin embargo, también se presentan números diferentes de 7 ($n=5$ y 6).

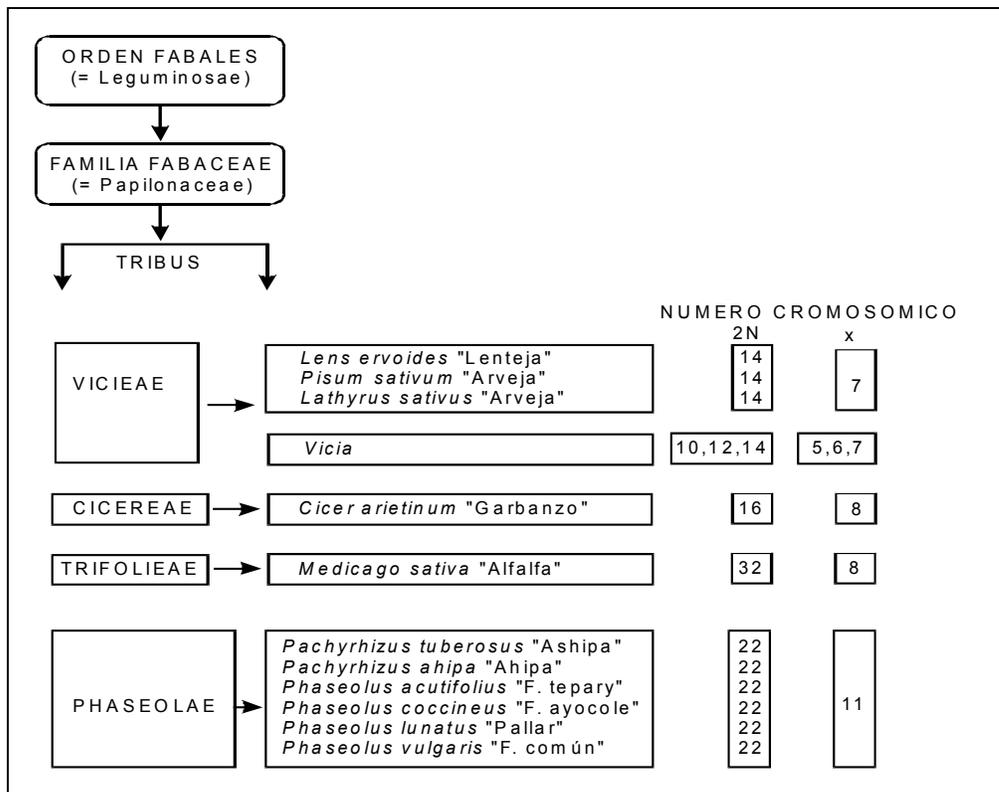


Figura 7. Aplicaciones: Cromosomas – taxonomía y evolución.

Además de la aparente poliploidización encontramos en el género *Vicia* una variación del número base de cromosomas, que se incrementa de $x = 5$ a $x = 6$ y 7 .

Esto nos indica que además de la variación de los niveles de ploidía, observables en determinadas unidades sistemáticas y poco frecuentes en la familia Fabaceae, es posible encontrar variación de los propios números base (x). Este último parece tener mayor importancia evolutiva debido a que está ligada a las líneas principales de desarrollo de la familia.

En la tribu CICEREAE encontramos a *Cicer arietinum* (garbanzo) con un número básico de $x = 8$ y un número diploide de $2n = 16$.

Sin embargo, en la Tribu TRIFOLIEAE con *Medicago sativa* (alfalfa) el número haploide es igual al de las especies de la Tribu CICEREAE con la diferencia que aquí el número diploide se incrementó a $2n = 32$ a través de un proceso de poliploidización. En este caso nos encontramos frente a un tetraploide con $2n = 4x = 32$, donde $n = 8$.

En el caso de la Tribu PHASEOLAE el número cromosómico $x = 11$ es uniforme en todas las especies que la integran.

Nuestros resultados en cuanto a *Pachyrhizus tuberosus* y *P. ahipa*, corroboran lo señalado por otros autores en cuanto que el número base de cromosomas es de $x = 11$ en toda las

especies de *Pachyrhizus*, al igual que en la mayoría de las de los géneros de la Tribu PHASEOLAE.

Como se observa en la Figura 8. Los números base menores ($x=7,8$) caracterizan a las formas originales y menos evolucionadas. Las formas cultivadas y más evolucionadas se caracterizan por presentar números bases mayores ($x=11$) como es el caso de la Tribu PHASEOLAE; cuyos cromosomas – por ejemplo, en la Tribu VICIEAE llegan a presentar una L^a igual a 8-9 micras (Figura 8b).

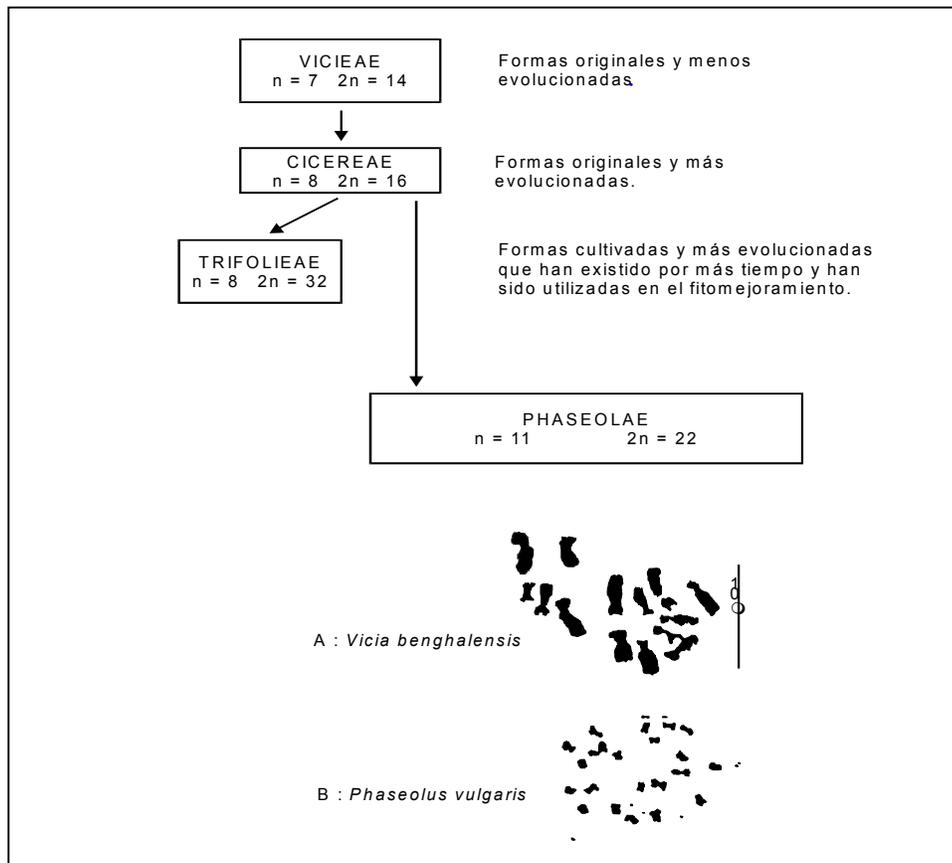


Figura 8. Grado evolutivo: a. Grado evolutivo y números base; b. Metafases de *Vicia* y *Phaseolus*.

Cuando la evolución cariotípica al interior del género se ha producido sin que se modifique el número cromosómico, como en las especies que conforman la Tribu PHASEOLAE, la diferenciación de las especies se puede establecer en base a la morfología de cromosomas.

Para graficarlo podemos señalar los trabajos realizados en especies del género *Phaseolus* en el laboratorio desde 1987 (Figura 9).

<i>Ph. acutifolius</i>	<i>Ph. aureus</i>	<i>Ph. coccineus</i>	<i>Ph. lunatus</i>

ESPECIE	FORMULAS	SIMETRIA	GRADO EVOLUTIVO
<i>Ph. acutifolius</i>	K(n=11)=7M + 4SM	+ +	Formas originales y morfológicamente menos primitiva.
<i>Ph. aureus</i>	K(n=11) =6M + 4SM + 1SA	+ -	Tipos cultivados y más diferenciados.
<i>Ph. coccineus</i>	K(n=11) = 7M + 4SM	+ +	Formas originales y morfológicamente menos primitivas.
<i>Ph. lunatus</i>	K(n=11)=9M + 2SM	+ + +	Formas originales y morfológicamente más primitivas.

Figura 9. Análisis comparativo de la morfología cromosómica en las especies del género Phaseolus.

En base a la morfología de los cromosomas es posible apreciar algunos cromosomas similares como en el caso de *P. acutifolius* y *P. coccineus* (con 7 metacéntricos y 4 submetacéntricos) y a otros con diferencias notables como en el caso de *P. aureus* con un par de cromosomas acrocéntricos, lo que permite utilizar este par de cromosomas en calidad de marcadores.

Las características cariomorfológicas evidenciadas para cada especie permitieron:

- El determinar el grado de simetría de las especies estudiadas
- El contar con criterios taxonómicos adicionales para la clasificación de las mismas
- El esclarecer su estrategia evolutiva y ubicación filogenética.

Evolución mediante poliploidización

El gran número de reportes de poliploidía para RTAs, especialmente en lo que se refiere a tuberosas, da lugar a una serie de interrogantes. La más importante de ellas parecer ser la explicación de su origen. La poliploidía puede producirse por dos mecanismos principales: en forma vegetativa, frecuentemente mediante la formación de quimeras (Winkler, 1919; Talledo, 1991), o en forma generativa (Gates, 1924; Navashin, 1931; Peloquin, 1983). Se ha demostrado que la formación de gametos diploides es un fenómeno bastante frecuente y que puede producirse como consecuencia de la esporogénesis "normal", en individuos tetraploides, así como por los mecanismos de FDR

(First Division Restitution) o SDR (Second Division Restitution), en diploides (Ramanna, 1979).

La posibilidad de combinación de un gameto $2n$ con uno normal será mayor que la de dos gametos $2n$ y, por lo tanto, la formación de organismos triploides puede ser fácilmente explicada. Sin embargo, el origen de los pentaploides, hexaploides y organismos de mayores niveles de ploidía es bastante más difícil de explicar. Su aparición por la vía generativa podría ser consecuencia sólo del poco probable desarrollo consecutivo de una FDR y una SDR en una sola meiosis.

Aquí mencionaremos algunas consideraciones. La formación del complemento diploide ($2n$) de cromosomas puede ser enfocada como un proceso de poliploidización y, por lo tanto, los núcleos normales representarían el tipo más común de poliplodía. Si consideramos que la poliploidía es consecuencia de la formación de gametos $2n$, la formación de organismos triploides debe ser consecuencia de la fusión de un gameto diploide ($2n$) con uno normal (n). La fusión de dos gametos $2n$ dará lugar a la formación de un cigote $4n$. Por cuanto la fusión de los gametos $2n$ se produce según la Ley de las Probabilidades, la frecuencia de formación de triploides debe reflejar la frecuencia de formación de gametos $2n$. Por cuanto la fusión de los gametos de gametos se produce según la Ley de Probabilidades, los cigotes $4n$ deben formarse con menor frecuencia que los $3n$, concretamente, tanto menos frecuentemente como menor es la frecuencia de formación de gametos $2n$ con respecto a la formación de gametos normales (n).

Estas simples consideraciones no se corroboran cuando observamos la frecuencia de niveles de ploidía para algunas raíces y tubérculos. Si asumimos que el porcentaje de polen $2n$ es igual a 2 óvulos $2n$, la posibilidad de fusión de dos gametos $2n$ será igual al cuadrado de la posibilidad de fusión de dos gametos $2n$ con uno normal (n) y viceversa; es decir, la posibilidad de la unión de un gameto $2n$ con uno normal será la raíz cuadrada de la posibilidad de fusión de dos gametos $2n$. Por ejemplo, si se formara 1% de gametos $2n$, en la progenie se tendrá una cantidad similar de individuos triploides (1/100); la posibilidad de combinación de dos gametos $2n$ será igual al cuadrado de esta cifra y se debe obtener 0.1% de tetraploides (1/100 x 1/100).

En algunas RTAs observamos con mayor frecuencia individuos tetraploides y con mayores niveles de ploidía que triploides de donde se desprende que la poliploidización en estos cultivos no se produce según la Ley de Probabilidades y que la ausencia de la división reduccional no explica suficientemente el aumento de la frecuencia de individuos con mayores niveles de ploidía. Esto sugiere fuertemente que el origen de la mayoría de los mismos es de otra naturaleza; es decir a partir de tejidos poliploidizados o de la poliploidización del cigote inmediatamente después de la fecundación. Por lo tanto, parece claro que existe algún factor (o varios factores) que influye (n) sobre el incremento de la formación de tetraploides ($4n$) y de individuos con niveles aún mayores de ploidía (Vb.: $8n$). Sobre la naturaleza de estos factores se trata a continuación.

Las alteraciones del ciclo de división celular resultan de la interacción de procesos determinados genéticamente con la influencia del medio ambiente en la misma medida que los demás aspectos del fenómeno viviente. Sobre la cariocinesis, la separación (disyunción de los cromosomas, puede influir una serie de factores tales como la

temperatura, las radiaciones, agentes químicos, etc). Por otro lado, parece probable que determinadas condiciones de desarrollo influyan sobre la labilidad del aparato de división celular.

Durante las etapas iniciales del desarrollo es posible observar diferentes alteraciones del aparato cromosómico en algunas células de los tejidos meristemáticos. La mayor parte de las mismas es eliminada durante la ontogénesis (como resultado de deficiencias durante su reproducción, degeneración o selección). Si el tejido continúa su desarrollo se conservarán sólo algunas de estas alteraciones y la planta se convertirá en una quimera.

La alteración de los niveles de ploidía en el tejido saprofítico indiferenciado presenta una serie de ventajas evolutivas con respecto a las que se producen durante la gametogénesis. El tejido saprofítico da lugar a los órganos generativos y el incremento del nivel de ploidía de sus células dará origen a la formación de una gran cantidad de gametos $2n$ funcionales y de ambos sexos, por lo que la posibilidad de transmitir la nueva organización cromosómica a la siguiente generación será mayor que si el aumento del nivel de ploidía se produjera durante la esporogénesis. Asimismo, es posible que los niveles de ploidía se incrementen varias veces en las células somáticas, mientras que esta posibilidad es casi nula durante la breve vida de los gametos.

En citogenética y cultivo de tejidos

A continuación describiremos brevemente cómo los estudios citológicos realizados a la fecha en *Oxalis tuberosa* pueden contribuir a aclarar:

En citogenética

La gran variabilidad de reportes respecto al número, tamaño y forma de los cromosomas de la especie de *Oxalis*.

La dificultad de evidenciar cromosomas mitóticos, especialmente metafásicos.

En el cultivo de tejidos

La importancia del cultivo de tejidos radica principalmente en la propagación, conservación y exportación del germoplasma nativo. En un principio el objetivo principal fue la propagación clonal rápida de un gran número de plántulas, así como la conservación de germoplasma en condiciones controladas en un espacio y tiempo reducidos.

Sin embargo, poco a poco fueron presentándose una serie de inconvenientes especialmente en especies nativas (oca) lo que llevó a enfrentarse con:

- Dificultades en estandarizar los medios de cultivo para la propagación y conservación.
- Dificultades en la micropropagación
- Dificultades en el almacenamiento del germoplasma

- Alteraciones en las características de las muestras originales del germoplasma y
- Aparente insuficiencia de los métodos utilizados para la evaluación de su estabilidad.

Los resultados de nuestros estudios en oca (ciclo celular y número cromosómico) pueden contribuir a comprender e interpretar los problemas mencionados anteriormente.

El bloqueo de la mitosis o parte de ella no impide la reproducción de los cromosomas, a su vez, la separación de los cromosomas y la formación de sus núcleos hijos no son predeterminantes para la citotomía. Como consecuencia, en los ciclos siguientes a partir de estas mitosis incompletas (es decir que no presentan alguna de sus fases normales), será posible observar metafases con complementos cromosómicos duplicados o con diplocromosomas. Esto podría explicar la diversidad de reportes con respecto al número de cromosomas, así como la dificultad, señalada por muchos autores, para evidenciar cariotipos en cromosomas mitóticos (Gibbs *et al.*, 1978)

La inhibición parcial de los procesos mitóticos en estas células puede reflejar su desarrollo normal o haberse desencadenado por el traslado de los mismos a un hábitat diferente. En cualquier caso es preciso tomarla en cuenta tanto para los trabajos en campo, como para la conservación y propagación *in vitro*. Entre las plantas de oca obtenidas por cultivo de tejidos se observa una gran variabilidad fenotípica, la misma que es inherente a todo los regenerantes obtenidos por cultivos de tejidos. Parecer ser que parte de esta variabilidad puede deberse a variaciones del número y estructuras cromosómicas y que las mismas son el resultado de manifestaciones de selectividad del medio respecto a las células del explante primario. Es evidente que una población como la descrita presentara inevitablemente varias líneas celulares diferentes, por lo que la variabilidad somoclonal puede ser inherente a la muestra o, en el mejor de los casos, a algún tipo de muestra tomado fuera de su entorno natural.

En los híbridos somáticos, obtenidos a partir de la fusión celular *in vitro*, la direccionalidad de la eliminación de cromosomas parece depender principalmente de las características de las células utilizadas. Los cromosomas de las células con menor actividad mitóticas presentarán la mayor posibilidad de ser eliminadas (De Vries, 1987). La etapa del ciclo celular es otro factor importante para la eliminación cromosómica. Tanto en híbridos somáticos vegetales como animales se ha demostrado que la fusión de células interfásicas con células en otras fases del ciclo de división da lugar a la condensación prematura de los cromosomas interfásicos (Rao and Jhonson, 1970); Szabados and Dudits, 1980; cit. De Vries, 1987). La condensación prematura de los cromosomas puede llevar a su fragmentación o eliminación.

Referencias bibliográficas

- De Azhue, D; A. Martínez. 1990. Chromosome number of the *Oxalis tuberosa* alliance (oxalidaceae). Pl. Syst. Evol. 169: 25-29.
- Del Campo, A. 1988. Biología del Centro de División Maracaibo, Venezuela, Univ. De Zulia, Fac. Experimental de Ciencias. 151 p.

- De Vries, S. 1987. Somatic cell genetics of the potato (*Solanum tuberosum* L.). Intra-and interspecific somatic hybridization. Thesis to Ph.D. in Natural Sciences. Groningen, The Neederlands. Royal University of Groningen. 105 p.
- Gates, R. 1924. Polyploidy. Brit. J. Exp. Biol. XX: 153-182.
- Gibbs, P.E.; D. Marshall; D. Brunton. 1978. Studies on the citology of *Oxalis tuberosa* and *Tropaeolum tuberosum*. Edimburgh. Not. Roy. Gard. 37: 215-220.
- Heywood, V.H. 1968. Cromosomas, Taxonomía y evolución. En: Taxonomía Vegetal. Madrid. ed. Alhambra, S.A. p. 82-89.
- Kjaer, S.; M. Soresen. 1994 Symbiotic nitrogen fixation in *Pachyrhizus ahipa* (Weed), Parodi. Technical Centre for Agricultural and rural cooperation (CTA); Royal Veterinary and Agricultural University (KVL); INRA. p. 227-235
- Naranjo, C.; L. Poggio; P. Brandham. 1983. A practical method of chromosome classification on the basis of centromere position. Genet. 62: 51-53.
- National Research Council, 1989. Lost crops of the Incas: Little-know plant of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press, Washington, D.C. 415 p.
- Navashin, M.S. 1931. Alteraciones cromosómicas espontáneas en *Crepis tectorum* L. Univ. of California Public. Agricult. Sci. 6,7: 201-206.
- Peloquin, S.J. 1983. Genetic engineering with meiotic mutants, Polien. Biological implications for Plant Breeding. NY p. 151-155.
- Pijnacker, L.P.; K. Sree Ramulu; P. Dijkhuis.; M. Ferwerda. 1989. Flow cytometric and Kariological analysis of polusomaty and poliploidization during callus formation from leaf segments of various potato genotypes. Theor. Appl. Genet. 77:102-110.
- Ramanna, M.S. 1979. A re-examination of the mechanisms of 2n gamete formation in potato and its implication for breeding. Euphytica 28: 537-561.
- Rea, J. 1996. Comunicación personal.
- Talledo, D.; C. Escobar; V. Alleman. 1993. Introducción al análisis cromosómico en vegetales. Lima, Universidad Ricardo Palma. 141 p.
- Talledo, D.; C. Escobar; V. Alleman. 1995. El ciclo celular en vegetales; su estudio, importancia y aplicaciones. Biotempo V:2 (2): 13-31.
- Talledo D. 1991. Caracterización cariotípica comparativa en 9 especies del género *Solanum* L. Tesis para optar el grado de Ph. D. en Biología. Universidad de la Amistad de los Pueblos. Moscú, Unión Soviética. 152 p.
- Turkov, V. ;Y.L. Guzhov; G. Shelepina; S. Yliyanarashi. 1984. Cromosomas de las plantas cultivada y de sus predecesores silvestres. Universidad de la Amistad de los Pueblos Patricio Lumumba. Edit. UDN. Moscú, 70 p.
- Vavilov, N.I. 1987 Métodos para identificar los centros de origen de las plantas. En: Origen y geografía de las plantas cultivadas; Leningrado, Nauka, p. 32-45 (En ruso).
- Winkler, H. 1910. Uber die Nachkommenschaft der Solamum Pfropbastarde und die chromosomenzahlen ihrer Keimzellen. Ztschr. Bot. S. 1-38