



ESTUDIO CARIOLÓGICO DE *Chrysobalanus icaco* (CHRYSOBALANACEA) EN PARAÍSO, TABASCO, MÉXICO

CARYOLOGICAL STUDY OF *Chrysobalanus icaco* (CHRYSOBALANACEA) IN PARAÍSO, TABASCO, MÉXICO

Méndez-Badal E.S.^{1*}, Molina-Martínez R.F.¹, Hernández-Martínez R.¹, Leshner-Gordillo J.M.¹

¹ Laboratorio de Genómica, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas, Carretera Villahermosa-Cárdenas, Km 0,5 entronque con Bosques de Saloya, C.P. 86000, Villahermosa, Tabasco, México.

* Autor correspondiente: refermol@gmail.com

ABSTRACT

Chrysobalanus icaco is a plant that belongs to the Chrysobalanaceae family. In Tabasco, Mexico, this plant is distributed in the municipalities of the coastline. The main purpose of this research was to characterize the chromosomal structure of phenotypes with pink and purple fruits by the use of conventional staining. To this end, mature fruits were collected in the community of Pénjamo, Paraíso, Tabasco. Seeds were allowed to germinate for 30 days at a constant temperature of 30° C. Roots of 1.00 cm in length were subjected to acid hydrolysis and subsequent staining with orcein. A total of 295 metaphases were photographed and chromosomes of 35 metaphases of the purple phenotype and 30 of the pink phenotype were measured. Both phenotypes presented 18 small chromosomes, which were ordered in nine homologous pairs according to their relative size. No morphological or numerical differences were observed between the karyotypes of both phenotypes. In addition, the t-Student ($\alpha=0.05$) test did not reveal significant differences between the chromosomes complements of both phenotypes.

Key words: karyotype, tropical shrubs

RESUMEN

Chrysobalanus icaco es una planta que pertenece a la familia Chrysobalanaceae. En Tabasco, México, esta planta se distribuye en los municipios de la costa. La finalidad de esta investigación fue la caracterización cromosómica de dos fenotipos con color de fruto rosa y púrpura mediante tinción convencional. Con tal fin, se recolectaron frutos maduros en la comunidad de Pénjamo, Paraíso, Tabasco. Las semillas se dejaron germinar por 30 días a una temperatura constante de 30 °C. Se utilizaron raicillas de 1,00 cm de longitud, las cuales fueron sometidas a hidrólisis ácida y posterior tinción con orceína. Se fotografiaron 295 metafases y se midieron los cromosomas de 35 placas metafásicas del fenotipo púrpura y 30 del fenotipo rosado. Ambos fenotipos presentaron 18 cromosomas pequeños, los cuales se ordenaron en nueve pares homólogos según su tamaño relativo. No se observaron diferencias morfológicas ni numéricas entre los cariotipos de ambos fenotipos. Además la prueba de t-Student ($\alpha=0,05$) reveló que no se encuentran diferencias significativas entre los complementos cromosómicos de ambos fenotipos.

Palabras clave: cariotipo, arbustos tropicales

Fecha de recepción: 29/03/2018
Fecha de aceptación de versión final: 17/08/2018

INTRODUCCIÓN

Chrysobalanus icaco (L.) L. (icaco) es un integrante de la familia Chrysobalanaceae (Prance, 1972), que forma parte de la vegetación de playa o asociada a manglares, aunque, también se le encuentra en huertos familiares (Maldonado *et al.*, 2004). Los estudios realizados sobre esta especie son escasos y están focalizados en caracterizaciones morfológicas y análisis fitoquímicos (Vargas *et al.*, 2000). El conocimiento de la estructura genética de las especies es de suma importancia para elaborar estrategias para su conservación, además de permitir la distinción genética y fenotípica (Wen y Hsiao, 2001). La estabilidad genética en plantas puede evaluarse mediante métodos citogenéticos, isoenzimáticos y moleculares (González *et al.*, 2007). En particular, los estudios citogenéticos brindan valiosos aportes para la resolución de problemas taxonómicos, evolutivos y aplicados, contribuyendo al conocimiento del origen y evolución de distintos grupos. Asimismo los estudios cromosómicos permiten realizar valiosos aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en plantas (Poggio *et al.*, 2008). Cabe indicar que la mayor cantidad de datos cariológicos provienen del análisis de metafases somáticas (Guevara *et al.*, 2000). En la metafase, los cromosomas alcanzan su máximo grado de condensación, se encuentran individualizados y presentan una forma característica que permite diferenciarlos y clasificarlos morfológicamente (Valladolid *et al.*, 2004). La aplicación de algunas técnicas de fijación, tinción e inhibidores mitóticos ha permitido estudiar aspectos más detallados como la forma, tamaño, número y presencia de constricciones secundarias en cromosomas de organismos eucariontes (Avisé, 2004).

Debido a que la escasa información cariológica de la familia Chrysobalanaceae, el objetivo de este trabajo es contribuir a los estudios cromosómicos de la misma a partir de la caracterización citogenética de dos fenotipos para color del fruto: rosado y púrpura de *Chrysobalanus icaco*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron frutos maduros de icaco en la comunidad de Pénjamo, ubicada cerca de la costa en el municipio de Paraíso, Tabasco, México. Las semillas fueron puestas a germinar durante 30 días a 30 °C en cajas húmedas de

Petri previamente esterilizadas. El proceso citológico fue una modificación de la técnica utilizada por García (1988).

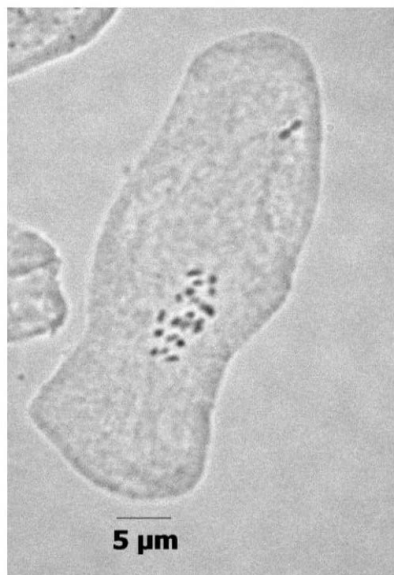
Se procedió al pre-tratamiento de las raicillas de 1,00 cm de longitud en una solución de colquicina al 0,1% diluida en citrato de sodio al 0,1% por 3,5 hs. Posteriormente, los meristemas de las raicillas fueron fijadas en Carnoy por 2 horas a 4 °C. Se realizó una hidrólisis ácida en HCl 10 N a temperatura ambiente por un lapso de 12 min. La tinción de los cromosomas se realizó en orceína FLP al 2%, y aplastado (*squash*) en ácido acético al 45%. El conteo se realizó con la ayuda del software ADOBE® PHOTOSHOP® CS4 versión 11.0. Se obtuvieron las medidas relativas de los cromosomas utilizando el software Axion Vision Rel. 4.7. Los cromosomas fueron clasificados por su longitud total siguiendo los criterios establecidos por Stebbins (1938). Se aplicó una prueba de t-Student ($\alpha=0,05$) para comparar el complemento cromosómico de ambos fenotipos.

RESULTADOS

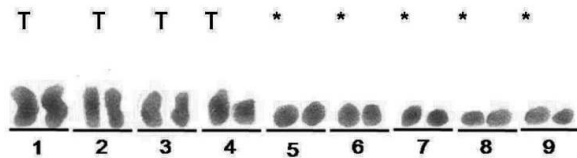
Se determinó que el horario óptimo para realizar el pre-tratamiento fue alrededor de las 10:00 a.m., debido a que se encontraron un mayor número de células en metafase. Conforme transcurrían las horas del día se presentaba un decremento considerable en el índice mitótico. En total se contabilizaron 295 metafases, 180 del fenotipo púrpura y 115 del fenotipo rosado. Se analizaron 65 placas metafásicas, 35 del fenotipo púrpura y 30 del fenotipo rosado. El número más frecuente en los conteos fue de $2n=18$ cromosomas independientemente de cuál fuera el color del fruto de las plantas analizadas. Los datos cariomorfológicos se detallan en la Tabla 1, en la que se reflejan las medidas de los cromosomas en pares y su clasificación de acuerdo al tamaño relativo. Ambos complementos presentan nueve pares de cromosomas pequeños (Figura 1) que varían entre 1,87 μm a 0,95 μm con una longitud cromosómica media de 1,38 μm para el fenotipo púrpura y un rango de 2,06 μm a 0,97 μm con una longitud cromosómica media de 1,34 μm para el fenotipo rosado. La longitud total de complemento fue de 12,45 μm y 12,07 μm para los fenotipos púrpura y rosado, respectivamente. Los complementos cromosómicos de ambos fenotipos no presentaron diferencias significativas ($\alpha=0,05$) en tamaño.

Tabla 1. Datos cromosómicos para dos fenotipos para color de fruto de *Chrysobalanus icaco*

Fenotipo rosado			Fenotipo púrpura		
PAR CROMOSÓMICO	C	D. E.	PAR CROMOSÓMICO	C	D. E.
1	1.87	±0.26	1	2.06	±0.57
2	1.72	±0.18	2	1.81	±0.49
3	1.57	±0.23	3	1.64	±0.41
4	1.44	±0.23	4	1.53	±0.39
5	1.36	±0.22	5	1.4	±0.28
6	1.28	±0.21	6	1.31	±0.25
7	1.18	±0.21	7	1.22	±0.23
8	1.08	±0.21	8	1.13	±0.28
9	0.95	±0.19	9	0.97	±0.2



a) Célula en metafase



b) Ordenamiento y morfología de los cromosomas

Figura 1. Célula en metafase y morfología de los cromosomas ordenados en pares homólogos encontrados en *Chrysobalanus icaco*

DISCUSIÓN

Los estudios de cromosomas en plantas son de gran valor ya que proporcionan información acerca de la relación filogenética en diferentes familias de plantas e incluso a nivel de poblaciones, y ayudan a entender procesos de especiación y comportamientos de posibles híbridos (Stebbins, 1966; Harrison y Schwarzacher, 2011). En el presente estudio se encontró que el icaco presenta 18 cromosomas pequeños en fenotipos de frutos rosados y púrpura. Estos cromosomas pudieron ordenarse en nueve pares homólogos, lo que sugiere que se trata de una especie diploide con un número básico de $x=9$ (Figura 1). Este número ya ha sido reportado por García *et al.* (2014). Sin embargo, Prance y White (1988) reportan recuentos cromosómicos de algunas especies de la familia Chrysobalanaceae (como *Maranthes* sp., *Parinari* sp., *Dactyladenia* sp., *Licania* sp.) con rangos cromosómicos de $2n=20-22$, lo que sugiere que se debería proponer un nuevo número básico para la familia. En esta caracterización cariológica no se observaron diferencias morfológicas ni numéricas en los cariotipos de ambos fenotipos evaluados. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Jiménez (2011), quien, utilizando marcadores moleculares del tipo “RAPD” concluyó que no existen diferencias en la constitución génica de los dos fenotipos del icaco analizados y que la variación de los colores de los frutos se debía a la acción que ejerce el ambiente en el genoma de la especie. Los criterios establecidos por Levan *et al.* (1964) como: longitud de brazos largo y corto (p y q), proporción de brazos, índice centromérico, diferencia entre brazos, no se utilizaron en este estudio debido a la talla tan pequeña de los cromosomas por lo que se optó por seguir los criterios establecidos por Stebbins (1938). La talla tan pequeña de los cromosomas posiblemente se debe a rearrreglos cromosómicos que se pudieran estar presentando a nivel de la familia e incluso del género. Según Stebbins (1966), es común encontrar cromosomas pequeños en plantas superiores. Cabe destacar que los cromosomas pequeños en plantas son difíciles de identificar, ya que a veces presentan cierta similitud en el tamaño (Fukui y Mukia, 1988).

CONCLUSIÓN

Se da a conocer por primera vez el cariotipo para *Chrysobalanus icaco*. Los dos fenotipos para el color del fruto (púrpura y rosado) evaluados presentaron el mismo complemento cromosómico con $2n=18$.

BIBLIOGRAFÍA

- Awise J.C. (2004) Molecular Markers, Natural History and Evolution. Sinauer Assoc. Sunderland, Massachusetts.
- Fukui K., Mukai Y. (1988) Condensation pattern as a new image parameter for identification of small chromosomes in plants. *Jpn. J. Genet.* 63: 359-366.
- García V.A. (1988) Técnicas y Procedimientos de Citogenética Vegetal. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- García M.E.J., Badal E.S.M., Gordillo J.M.L., Martínez R.F.M., Martínez R.H. (2014) Una ventana al estudio del genoma del *Chrysobalanus icaco* L. *Kuxulkab'*, 17:33.
- González O., Fernández A., Fraga Y., Pino B., Hernández M.M., Silva J.J. (2007) Evaluación de la Estabilidad Genética Mediante Marcadores RAPD en plantas de *Ipomoea batatas*. *Cult. Trop.* 28: 39-43.
- Guevara M., Siles M., Bracamonte O. (2000) Análisis Cariotípico de *Capsicum pubescens* (SOLANACEAE) “Rocoto”. *Revis. Peru. Biol.* 7: 2-7.
- Harrison-Heslop J.S., Schwarzacher T. (2011) The plant genome: an evolutionary view on structure and function. Organization of the plant genome in chromosomes. *The Plant J.* 66: 18-33.
- Jiménez G.M.E. (2011) Determinación de la diversidad genética de *Chrysobalanus icaco* L; mediante la técnica de RAPD'S. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Biológicas. Villahermosa, Tabasco.

- Levan A., Fredga K., Sandberg A. (1964) Nomenclature for Centromeric Position on Chrom. Hered. 53: 201-220.
- Maldonado M.F, Vargas S.G., Molina M.R.F, Sánchez S.A. (2004) Frutales Tropicales de Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Prance G.T. (1972) Chrysobalanaceae. Flora Neotropica Monogr. 9: 1-409.
- Prance G.T., White F. (1988) The Genera of Chrysobalanaceae: A study in Practical and Theoretical Taxonomy and its Relevance to Evolutionary Biology. Philosophical Transactions of Royal Society. Biol. Sci. 320: 1-184.
- Poggio L., Espert S.M., Fortunato H. (2008) Citogenética Evolutiva en Leguminosas Americanas. Rodri. 59: 423-433.
- Stebbins G.L. (1938) Cytological characteristics associated with the different. American J. Bot. 25: 189-198.
- Stebbins G.L. (1966) Polyploidy and chromosome size and number shed light on evolutionary processes in higher plants. Science 152: 1463-1467.
- Vargas S.G., Soto H.R., Rodríguez G.M.T., Escalante E.J. (2000) Análisis Fitoquímico Preliminar del Fruto de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.): flavonoles y flavonas. Revista Chapingo, Ser. Horti. 6: 195-202.
- Valladolid A., Blas R., González R. (2004) Introducción al recuento de cromosomas somáticos en raíces andinas. En: Seminario J. (Ed.) Raíces Andinas. Contribuciones al conocimiento y la Capacitación. Serie: Conservación y Uso de la Biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigaciones para el desarrollo (1993-2003). N° 6. C.I.P. agencia suiza para el desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú.
- Wen C.S., Hsiao J. (2001) Altitudinal genetic differentiation and diversity of Taiwan lily (*Lilium longiflorum* var. Formosanum; Liliaceae) using RAPD markers and morphological characters. Int. J. Plant Sci. 162: 287-295.

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Edmundo Rosique y Silvia Capello del Laboratorio de Micología de la División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por el apoyo en la toma de las microfotografías.