

## Efecto de la trisomía primaria en la anatomía foliar de remolacha azucarera, *Beta vulgaris* L.(1)

por P. GRACIA, J.M. LASA y R.J. HECKER\*

Estación Experimental de Aula Dei. ZARAGOZA

\* Crops Research Laboratory, Fort Collins, Colorado USA

---

Recibido el 31-XII-84

---

### A B S T R A C T

GRACIA, P., J.M. LASA and R.J. HECKER, 1984. Effects of the primary trisomy on the leaf anatomy of sugar beet, *Beta vulgaris* L. *An. Aula Dei*, 17: (1/2). 164-171.

The effects of the extra-chromosomes on the leaf anatomy of primary trisomics of sugar beet have been studied. Differences are observed within the trisomic types and with the diploid in relation with some parameters, mainly the thickness of palisade and spongy mesophylls. Nevertheless, these anatomic variations produced by the presence of an extra chromosome, don't follow a single model, presenting different answers related with the specific extra-chromosome involved. Size and number of cells are not necessarily related and look to be controlled quite independently.

### I N T R O D U C C I O N

Los cromosomas individuales, cuando están presentes en condición trisómica, producen distintos efectos sobre los procesos celulares y de desarrollo de un organismo. Estos efectos se traducen en alteraciones a nivel morfológico, anatómico y fisiológico que permiten distinguir plantas trisómicas entre si y de sus correspondientes diploides. A nivel morfológico el efecto del

---

(1) Financiado en parte por el Comité Conjunto Hispano-Norteamericano de Cooperación en Ciencia y Tecnología. Proyecto IIP-3040.

cromosoma extra ha sido ampliamente estudiado en la mayor parte de las especies diploides en las que se han aislado series trisómicas (Khush, 1973). Sin embargo, la anatomía comparada de los trisómicos ha sido analizada únicamente en *Datura stramonium* (Avery et al., 1959). En esta especie se ha comprobado que las variaciones anatómicas que presentaban los individuos trisómicos primarios y secundarios, frente a individuos normales, eran debidas a cambios en el tamaño celular, número de células y "modelo anatómico" y su localización dentro del órgano.

En remolacha, la diferente dosis génica presente en plantas trisómicas, se traduce también, en cambios a nivel morfológico que se mantienen de forma constante, independientemente del componente genético en que aparece la trisomía (Gracia et al., 1984). El objetivo del presente trabajo, ha sido realizar un estudio de la anatomía de los trisómicos primarios, que permita establecer, a este nivel, algunas de las posibles causas de dichos cambios.

## MATERIAL Y METODOS

El material vegetal utilizado, ha estado constituido por los componentes de una serie trisómica de remolacha azucarera, obtenida (Romagosa, 1982) en condición homocigótica, ya que proviene del cruce entre plantas 3X x 2X, derivadas de una planta haploide (Hammond, 1966). Este material es autofértil, multigérmén y de crecimiento anual.

Las plantas trisómicas sobre las que se realizó el presente trabajo, se aislaron en la descendencia del cruce (2X + 1) x 2X, en cada uno de los grupos trisómicos. Identificadas por conteo cromosómico sobre primordio foliar, fueron cultivadas en invernadero con temperatura de  $20 \pm 2$  °C.

El estudio de la anatomía foliar se centró en los siguientes parámetros: anchura total del corte (TOTAL), anchura de la epidermis superior (EPSUP), anchura de la epidermis inferior (EPINF), anchura (EMPAL) y número de capas (EMPCAP) del parénquima en empalizada, y anchura (LAGUN) y número de capas (LAGCAP) del parénquima lagunar. Para ello se utilizaron hojas adultas en plantas de 3-4 meses de edad, tomando en cada hoja porciones de 1 x 0.5 cm en dos zonas diferentes, a 1/3 y 2/3 de la anchura del limbo, en el punto medio de su longitud. Dichas porciones fueron fijadas en CRAF (Randolph, 1935) e incluidas en parafina según el método de Johansen (1940). Se cortaron secciones a 6 µm, con microtomo de rotación, que fueron teñidas con safranina, violeta cristal y verde luz (Gerlach, 1969), y montadas en bálsamo del Canadá.

Las observaciones se realizaron en cinco plantas trisómicas de cada uno de los tipos trisómicos analizados, y en tres plantas diploides, dependiendo el número de tipos estudiados, del material disponible. En cada planta se midieron, aproximadamente, cuarenta cortes, presentándose los datos en unidades de medida, con la equivalencia de 1 Ud = 0.03 mm.

## R E S U L T A D O S

En el Cuadro 1, se presentan los análisis de varianza correspondientes a las variables estudiadas. Los resultados obtenidos permitieron comprobar, que no existían diferencias significativas entre zonas de la hoja, y que la interacción tipo x zona, solo era significativa para la variable anchura de la epi-

CUADRO 1.— *Análisis de la varianza.*

	G.L.	TOTAL	Epsup	Epinf	Empal	Empcap	Lagun	Lagcap
a. Conjunto								
Tipos	5	535.63*	1.37*	0.48*	147.03*	18.29*	89.05*	28.36*
Zonas	1	2.01	0.07	0.02	0.51	0.16	0.04	0.97
Tipo x Zona	5	5.91	0.02	0.08*	1.26	0.23	1.85	0.94
Error	1047	2.48	0.03	0.02	0.60	0.29	0.72	0.46
CV (%)		14.52	19.78	20.38	17.91	16.64	17.42	14.40
b. Zona 1								
Tipos	5	293.73*	0.63*	0.41*	75.47*	9.47*	50.78*	16.12*
Error	514	2.78	0.03	0.02	0.65	0.28	0.82	0.45
CV (%)		15.38	19.60	19.60	18.67	16.25	18.45	14.03
c. Zona 2								
Tipos	5	247.81*	0.76*	0.15*	72.82*	9.05*	40.12*	13.18*
Error	533	2.18	0.03	0.03	0.54	0.30	0.63	0.48
CV (%)		13.65	19.76	20.98	17.16	17.05	16.35	14.78

dermis inferior. Dada la escasa importancia diferenciadora, que posteriormente demostró tener dicha variable, no se consideró necesario el análisis independiente de los datos de cada zona, y se trabajó con el conjunto de los mismos, ignorando la zona de pertenencia.

En el Cuadro 2, se presentan los valores estadísticos descriptivos de las variables estudiadas, y en el Cuadro 3, se representan los caracteres anatómicos que muestran diferencias significativas entre grupos, basadas en la prueba de Duncan (1951), para un nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .

CUADRO 2.— Valores estadísticos descriptivos de las variables anatómicas estudiadas.

TIPO	N	ANCHURA TOTAL - TOTAL					EPIDERMIS SUPERIOR - EPSUP				
		Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan	Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan
2x	120	11,92	1,84	9,00	16,60	d	0,92	0,16	0,60	1,40	b,c
1	200	10,97	1,27	9,00	15,00	c	0,88	0,19	0,50	1,50	b
2	199	8,41	0,84	7,00	10,80	a	0,79	0,16	0,50	1,20	a
3	180	9,51	2,57	5,10	13,90	b	0,80	0,18	0,40	1,20	a
4	180	13,08	1,49	10,00	17,00	e	0,96	0,17	0,60	1,50	c
8	180	11,72	1,00	10,00	14,10	d	1,01	0,18	0,60	1,60	d

TIPO	N	EPIDERMIS INFERIOR - EPINF					EMPALIZADA - EMPAL				
		Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan	Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan
2x	120	0,79	0,16	0,50	1,20	b	4,86	0,98	3,10	6,70	d
1	200	0,71	0,14	0,50	1,20	a	4,42	0,58	3,20	6,40	c
2	199	0,72	0,15	0,40	1,20	a	3,00	0,51	2,10	4,20	a
3	180	0,71	0,17	0,40	1,20	a	3,66	1,17	1,40	6,10	b
4	180	0,83	0,15	0,50	1,20	c	5,48	0,75	3,70	7,40	e
8	180	0,80	0,17	0,50	1,50	b	4,73	0,55	3,10	6,10	d

TIPO	N	Nº CAPAS EMPALIZADA - EMPCAP					LAGUNAR - LAGUN				
		Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan	Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan
2x	120	3,24	0,45	2,00	4,00	c	5,36	0,87	3,80	8,00	d
1	200	3,59	0,63	3,00	5,00	d	4,95	0,70	3,80	7,00	c
2	199	3,05	0,59	2,00	5,00	b	3,89	0,53	2,90	5,60	a
3	180	2,79	0,52	2,00	4,00	a	4,35	1,30	1,80	7,20	b
4	180	3,57	0,62	3,00	5,00	d	5,81	0,92	4,00	8,50	e
8	180	3,10	0,30	3,00	4,00	b	5,17	0,61	4,00	6,60	d

TIPO	N	Nº CAPAS LAGUNAS - LAGCAP				
		Media	Sd	Mínimo	Máximo	Duncan
2x	120	4,67	0,65	4,00	6,00	b,c
1	200	5,15	0,78	4,00	7,00	d
2	199	4,68	0,66	4,00	7,00	c
3	180	4,14	0,46	2,00	5,00	a
4	180	5,18	0,82	4,00	8,00	d
8	180	4,52	0,66	4,00	8,00	b

CUADRO 3.— *Caracteres anatómicos que muestran diferencias significativas entre tipos trisómicos y diploide, basadas en Duncan 0.05.*

1	2	3	4	8	
TOTAL EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	EPSUP  EMPCAP	Dip
	TOTAL EPSUP EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPSUP EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL LAGUN	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	1
		TOTAL EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL LAGUN LAGCAP	2
			TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	3
				TOTAL EPSUP EPINF EMPAL EMPCAP LAGUN LAGCAP	4

En la Figura 1, se representan los intervalos de confianza de la media al 95%, para cada variable y grupo, lo que permite una fácil observación de los efectos de la trisomía en relación a las variables estudiadas.

## DISCUSION

A partir del estudio de separación de medias, basado en la prueba de Duncan (Cuadro 3), se comprueba que todos los tipos analizados muestran diferencias significativas en alguna de las variables empleadas, con los casos extremos de los tipos 3, 4 y 8 que se diferencian significativamente en la totalidad de las mismas.

De las 15 combinaciones, 2 a 2, observadas entre tipos trisómicos y diploide, las variables anchura total, anchura del parénquima en empalizada y del lagunar, presentan variaciones estadísticamente significativas en un 93% de ellas, el número de capas del parénquima lagunar, en un 87%, la anchura de la epidermis superior y el número de capas del parénquima en empalizada, en un 80%, y la anchura de la epidermis inferior en un 73%.

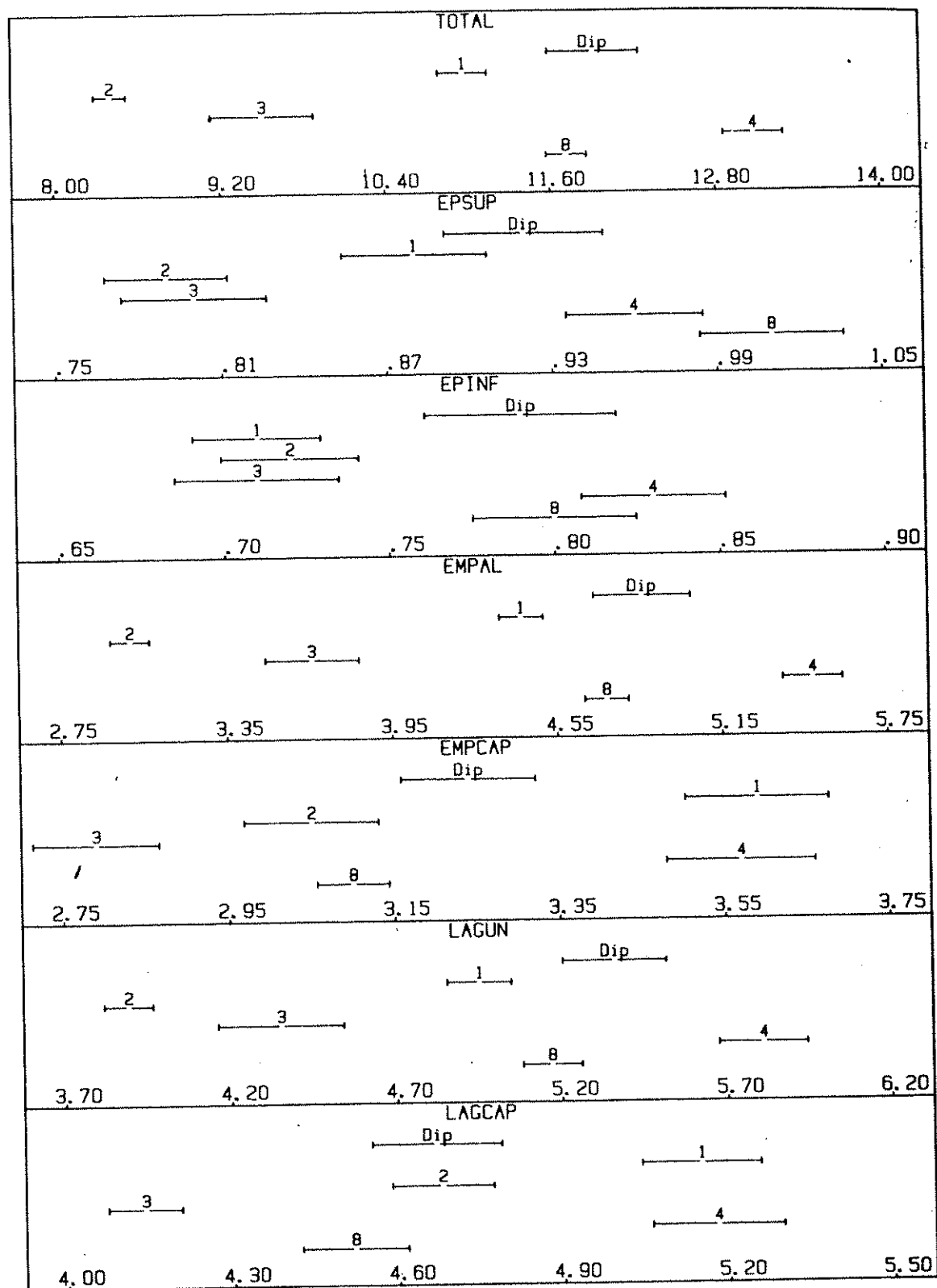


FIG. 1. — Intervalos de confianza de la media al 95 % para cada variable y grupo.

De cara a una posible diferenciación de tipos trisómicos, es interesante señalar que dos variables, la anchura de la epidermis superior y el número de capas del parénquima en empalizada, permitirían, por sí solas, separar los tipos trisómicos estudiados, entre sí y del diploide.

Analizando conjuntamente el comportamiento de cada variable (Figura 1), se aprecia que las variaciones en la anchura de ambos parénquimas se producen en la misma dirección, y se mantiene, además, la ordenación relativa entre grupos trisómicos y con el diploide. Se observa, asimismo, que las variaciones en el tejido epidérmico pueden quedar enmascaradas por las del tejido fundamental, debido a la relación de tamaño entre ambos tejidos respecto a la anchura total de la hoja. Así, en el tipo 8, aunque la anchura de la epidermis superior se incrementa en casi un 10% en relación al diploide, la disminución del tejido fundamental en un 3%, no significativo, da como resultado final que la anchura total de la hoja sea algo menor que en el diploide.

En cuanto a la relación entre el tamaño y el número de células en ambos parénquimas, nuestros resultados concuerdan con los de Sinnott y Blakeslee (1922) y Sinnott et al., (1934), en el sentido de que en los individuos trisómicos, estas dos variables no parecen estar relacionadas, y pueden ser controladas independientemente. Así, en el tipo 2, la anchura del parénquima lagunar disminuye, mientras que el número de capas permanece prácticamente igual que en el diploide. En los tipos 3, 4 y 8, los cambios en anchura van acompañados por cambios en el número de capas, en la misma dirección, en los tipos 3 y 8 ambos parámetros disminuyen, respecto al diploide, y en el tipo 4 aumentan. Por último en el tipo 1, también se producen alteraciones en las dos variables, si bien en este caso, en direcciones opuestas, aumentando el número de capas en ambos parénquimas y disminuyendo la anchura de los mismos.

Se confirma visualmente la mayor importancia de la anchura de ambos parénquimas que condiciona, lógicamente, la anchura total del corte.

Parece que puede concluirse que las variaciones anatómicas producidas por la presencia de un cromosoma extra no siguen un patrón generalizado, presentando gran diversidad de respuestas, dependiendo de la especificidad del cromosoma.

## RESUMEN

Se analiza el efecto de la dosis génica sobre la anatomía foliar en trisómicos primarios de remolacha azucarera, en condición homocigótica. Se observan claras diferencias entre los tipos trisómicos y con el diploide, en relación a las variables estudiadas, especialmente la anchura del parénquima en empalizada y del lagunar. Sin embargo, estas variaciones anatómicas producidas por la presencia de un cromosoma en exceso, no siguen un modelo único, presentando diferentes respuestas en función del cromosoma extra de que se

trate. Se comprueba, además, que el tamaño y número celular no están necesariamente relacionados, ya que responden independientemente a la influencia del cromosoma específico.

## REFERENCIAS

- Avery, A.G., S. Satina and J. Rietsema. (1959). Blakeslee: The genus *Datura*. *The Ronald Press, New York*. 289 pp.
- Duncan, D.B. (1951). A significance test for differences between ranked treatments in an analysis of variance. *Va. J. Sci.* 2: 171-189.
- Gerlach, D. (1969). A rapid safranin-crystal violet-light green staining sequence for paraffin sections of plants materials. *Stain Tech.* 44: 210-211.
- Gracia, P., J.M. Lasa, I. Romagosa y R.J. Hecker. (1984). Caracterización de una serie trisómica heterocigótica en remolacha azucarera: Comparación con una serie homocigótica. *An. Aula Dei*, 17 (1-2): 150-163.
- Hammond, B.L. (1966). Homocigous diploid sugar beets. *J. Am. Soc. Sugar Beet Tech.* 14 (1): 75-78.
- Johansen, D.A. (1940). Plant microtechnique. *McGraw-Hill, New York*.
- Khush, G.S. (1973). Cytogenetics of aneuploids. *Academic Press, New York*.
- Randolph, L.F. (1935). A new fixing fluid and a revised schedule for the paraffin method in plant cytology. *Stain Tech.* 10 (3). 95-96.
- Romagosa, I. (1982). Primary trisomics in sugar beet. *Ph. D. Dissertation, Colorado State Univ., Fort Collins*.
- Sinnott, E.W. and A.F. Blakeslee. (1922). Structural changes associated with factor mutations and with chromosome mutations in *Datura*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 8. 17-19.
- Sinnott, E.W., H. Houghtaling and A.F. Blakeslee. (1934). The comparative anatomy of extra-chromosomal types in *Datura stramonium*. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* 451.