

Identificación de los cromosomas de trigo del triticale "Cachirulo" por homología con los de *Triticum aestivum*

por T. NARANJO

Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo
33071 Oviedo, Spain

Palabras Clave: Triticale Cachirulo, Trigo, Apareamiento homólogo, Bando-C.

ABSTRACT

T. Naranjo. 1988. Identification of wheat chromosomes of triticale "Cachirulo" by their homologous relationships to *Triticum aestivum*. *An. Aula Dei* 19 (1-2): 55-62.

The C-banding pattern of *Triticum durum* chromosomes that are present in hexaploid triticale "Cachirulo" (AABBRR) was established. These chromosomes were identified by pairing with *T. aestivum* chromosomes in triticale "Cachirulo" x *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" hybrids (AABBDR). In such hybrids, pairing was almost restricted to homologues. Chromosomes 2A, 6A, 7A, 2B, 3B, 5B, 6B, and 7B, showed variation between "Cachirulo" and "Chinese Spring" in the amount and distribution of C-heterochromatin. A random distribution of centromeres of chromosome pairs 2A, 6A, 3B, 5B and 6B was observed at metaphase I in AABBDR hybrids.

INTRODUCCION

El triticale "Cachirulo" es un triticale hexaploide ($2n = 6x = 42$) de fórmula genómica AABBRR que fue obtenido por Sánchez-Monge (1969) a partir de *Triticum durum* cv. "Enano de Andujar" y *Secale cereale* cv. "Petkus". Los siete cromosomas de centeno presentes en el triticale "Cachirulo" fueron identificados por Naranjo y Lacadena (1982) utilizando la técnica de bando-C. Los cromosomas de trigo mostraban diferencias patentes en su patrón de bando-C, pero la asignación de cada cromosoma a su genomio (A o B) y grupo de homeología correspondiente no pudo efectuarse. Aunque ya se conocía el patrón de bando de los 21 cromosomas de *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" (Gill and Kimber, 1974; Gerlach, 1977; Jewell, 1979), éste no se correspondía en varios casos con el que presentaban los cromosomas de trigo del triticale "Cachirulo".

Evidentemente, cuando el patrón de bando no resulta concluyente la identificación de los cromosomas de cualquier procedencia puede realizarse estableciendo su homología con cromosomas de patrón de bando conocido que hayan sido previamente identificados.

Recientemente, la mayor parte de los cromosomas de *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" y sus brazos han podido ser identificados en metafase I en diferentes híbridos trigo-centeno cuando se encontraban apareados entre sí o con cromosomas de centeno (Naranjo et al., 1987).

En el presente trabajo se lleva a cabo la identificación de los cromosomas de trigo del triticale "Cachirulo" mediante el establecimiento de sus relaciones de homología con los cromosomas de *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" por análisis del apareamiento cromosómico en la meiosis de híbridos entre "Cachirulo" y "Chinese Spring".

MATERIAL Y METODOS

Los materiales utilizados fueron los siguientes:

Híbridos triticale-centeno. Plantas de constitución genómica ABRR ($2n = 28$) descendientes del cruzamiento entre Triticale "Cachirulo" (AABBRR) y *Secale cereale* (RR).

Híbridos triticale-trigo. Plantas de constitución genómica AABBDR ($2n = 42$) obtenidas en el cruzamiento entre Triticale "Cachirulo" (AABBRR) y *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" (AABBDD).

Las semillas se hicieron germinar en placas Petri con papel de filtro humedecido. En los híbridos triticale-centeno (ABRR), se cortaron las raíces cuando alcanzaron un tamaño entre 1 y 2 cm. y se introdujeron en hielo fundente durante 48 horas para contraer los cromosomas; seguidamente, se fijaron en alcohol-acético 3:1. Todas las plantas crecieron en una cámara climática a 16-18 °C después de vernalizarlas durante 8 semanas a una temperatura entre 6 y 8 °C. Las anteras en metafase I se fijaron en alcohol-acético 3:1 y se mantuvieron en el refrigerador dos meses como mínimo, y lo mismo las raíces fijadas. Las preparaciones de raíces y anteras hechas por aplastamiento se tiñeron empleando la técnica de bandeó-C descrita por Giráldez et al. (1979).

El método utilizado para identificar los cromosomas de trigo del triticale "Cachirulo" fue como sigue. En los híbridos triticale-centeno (ABRR) se estableció el patrón de bandeó-C de los cromosomas de trigo en las células meristemáticas de la raíz. Dichos cromosomas fueron posteriormente reconocidos en las células en metafase I de esas plantas. Los cromosomas fueron finalmente identificados al determinar con qué cromosoma de *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" apareaban en los híbridos triticale-trigo (AABBDR). La frecuencia de este apareamiento se estimó a partir de dos muestras de 95 y 55 células madres de polen en metafase I tomadas de dos plantas diferentes. La nomenclatura utilizada para designar los cromosomas 4A y 4B es la original, a pesar de que existen evidencias a favor de que el cromosoma 4A pertenece al genomio B y posiblemente el 4B pertenece al genomio A (para referencias, ver Naranjo et al., 1987).

RESULTADOS

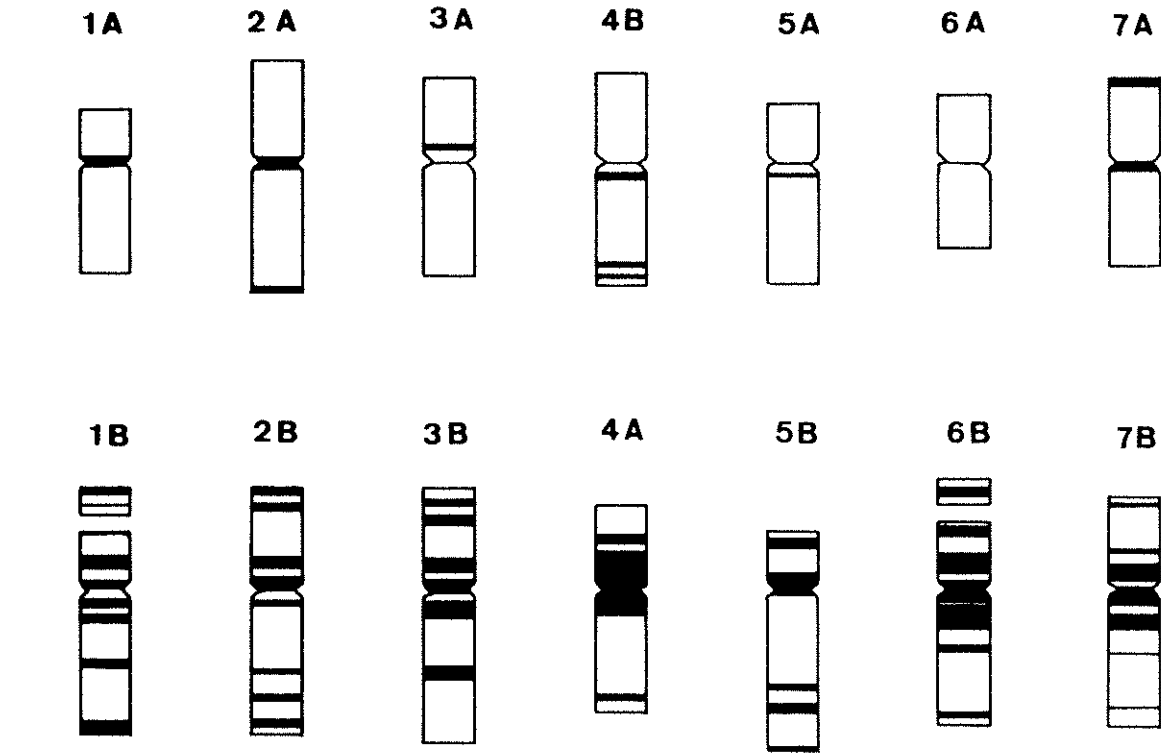
El patrón de bandeó-C correspondiente a los cromosomas del triticale "Cachirulo" observado en la mitosis y en la meiosis de los híbridos ABRR aparece en la Figura 1. La Figura 2 muestra 14 bivalentes formados por los cromosomas homólogos de los genomios A y B del triticale "Cachirulo" y de "Chinese Spring". Las características morfológicas que permitieron identificar estos 14 pares de cromosomas se describen a continuación.

Cromosoma 1A. Es un cromosoma submetacéntrico corto que presenta una banda-C fina en el centrómero tanto en "Cachirulo" como en "Chinese Spring" aunque no siempre es detectable.

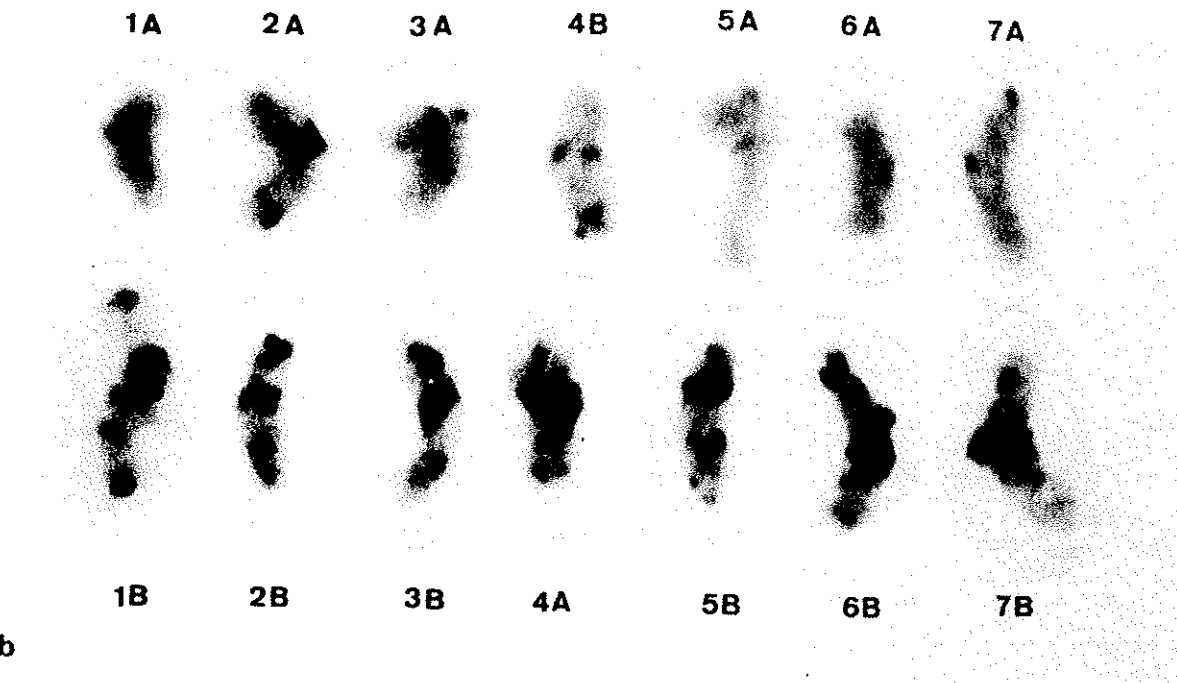
Cromosoma 2A. Cromosoma metacéntrico que en "Chinese Spring" presenta bandas-C finas muy próximas al centrómero. En el triticale "Cachirulo", el cromosoma 2A lleva una banda-C de tamaño intermedio sobre el centrómero y otra más fina en un telómero, muy probablemente del brazo largo.

Cromosoma 3A. Cromosoma casi metacéntrico que presenta en "Cachirulo" y en "Chinese Spring" una banda-C fina en posición proximal en el brazo corto.

Cromosoma 4B. Cromosoma casi metacéntrico con una banda-C fina proximal y otras dos distales muy próximas, también finas, en el brazo largo tanto en "Cachirulo" como en "Chinese Spring".



a



b

Figura 1.- Patrón de bandeo-C de los 14 cromosomas de trigo del triticales "Cachirulo" presentes en híbridos triticales-centeno ABRR. a) Idiograma correspondiente a los cromosomas mitóticos. b) Univalentes observados en metafase I.

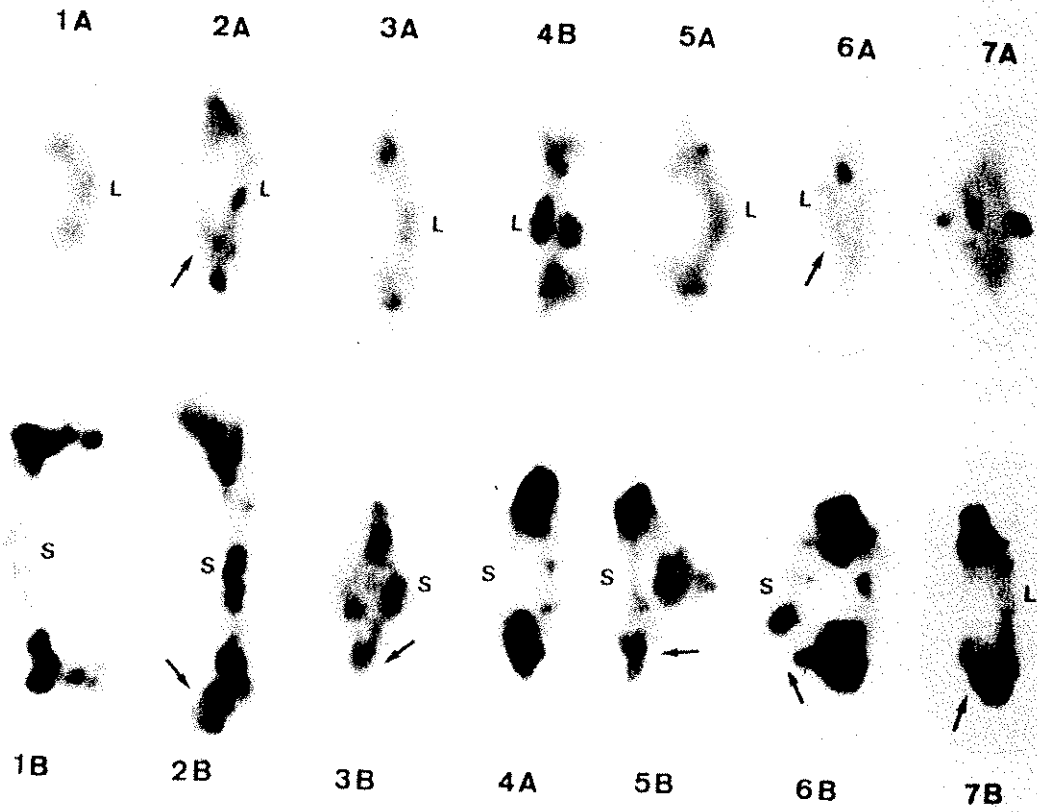


Figura 2.- Catorce bivalentes observados en la metafase I de híbridos AABBDR entre triticale "Cachirulo" y *T. aestivum* cv. "Chinese Spring". Las flechas indican cromosomas de "Cachirulo". L es brazo largo y S brazo corto.

Spring". Con bastante frecuencia, en los híbridos AABBDR, uno de los cromosomas de este par, probablemente el de "Chinese Spring", aparecía más intensamente teñido que el otro.

Cromosoma 5A. Cromosoma submetacéntrico que tanto en "Cachirulo" como en "Chinese Spring" lleva en el brazo largo una banda fina próxima al centrómero.

Cromosoma 6A. Cromosoma metacéntrico corto. En "Cachirulo", aparentemente no presenta ninguna banda-C mientras que, en "Chinese Spring", presenta una banda fina en posición intermedia en el brazo largo.

Cromosoma 7A. Es metacéntrico. En "Chinese Spring", lleva bandas teloméricas finas en ambos brazos. En el triticales "Cachirulo", el centrómero y un telómero, probablemente el del brazo largo, aparecen finamente marcados.

Cromosoma 1B. Es casi metacéntrico y tiene satélite. Al igual que los restantes cromosomas del genomio B tiene más heterocromatina que los del A. La distribución de las bandas-C es muy similar en "Cachirulo" y en "Chinese Spring". Se identifica por la presencia de bandas en sus dos extremos, siendo la del brazo largo más gruesa, y por una banda fina situada hacia la mitad del brazo largo.

Cromosoma 2B. Es casi metacéntrico. En "Chinese Spring", es el cromosoma del genomio B que tiene menor cantidad de heterocromatina-C, la cual se localiza preferentemente en las proximidades del centrómero y en el extremo del brazo corto, aunque también muestra una banda fina hacia la mitad del brazo largo. En el triticales "Cachirulo", lleva tres bandas en la mitad distal del brazo largo.

Cromosoma 3B. Es casi metacéntrico. Muy similar al 2B, se diferencia de él en que el marcado de la región pericentromérica es más prominente. En "Chinese Spring", el brazo largo no muestra ninguna banda intermedia ni distal. En el triticales "Cachirulo", el brazo largo lleva una banda de tamaño intermedio en su zona media. Además, la región pericentromérica del cromosoma de "Chinese Spring" aparecía generalmente más intensamente teñida que la del cromosoma de "Cachirulo".

Cromosoma 4A. Es metacéntrico y es el que presenta la mayor cantidad de heterocromatina-C alrededor del centrómero; tiene además una banda fina distal en el brazo largo. No se apreciaron diferencias entre "Cachirulo" y "Chinese Spring" para este cromosoma.

Cromosoma 5B. Es submetacéntrico. El marcado de la región pericentromérica y las dos bandas-C subterminales finas del brazo largo, que identifican a este cromosoma, se manifiestan en "Cachirulo" y "Chinese Spring". Sin embargo, la región pericentromérica aparece teñida con mucha menor intensidad en el triticales "Cachirulo" que, por otra parte, lleva una banda-C distal fina en el brazo corto y otra también fina en el telómero del brazo largo, que no se observan en "Chinese Spring".

Cromosoma 6B. Cromosoma metacéntrico con satélite. Tiene bandas-C muy intensas en la región pericentromérica. En "Chinese Spring", se identifica por la presencia de una banda-C algo difusa adyacente a la zona del organizador nucleolar (NOR) en el brazo corto y de una banda-C fina distal en el brazo largo. En el triticales "Cachirulo", la banda-C adyacente al NOR es más intensa y aparece otra de igual intensidad en el satélite.

Cromosoma 7B. Es metacéntrico. La heterocromatina-C se localiza fundamentalmente en la región pericentromérica. El marcado de esta región es menos intenso que en los cromosomas 4A y 6B lo cual le identifica. En "Chinese Spring", aparece una banda fina hacia la mitad del brazo largo que no está presente en "Cachirulo".

Las frecuencias de apareamiento cromosómico en metafase I en los híbridos AABBDR se indican en la Tabla 1. Este apareamiento se producía casi exclusivamente entre los cromosomas homólogos de los genomios A y B. Los escasos multivalentes observados eran el resultado de apareamiento homeólogo de los tipos A-D, B-D y A-B. No se observó ninguna asociación trigo-centeno.

En 112 de las 150 células analizadas en metafase I en los híbridos AABBDR, se pudo determinar la orientación en el uso de los centrómeros de los cromosomas de "Cachirulo" y "Chinese Spring" de los pares 2A, 6A, 3B, 5B y 6B. En las células restantes, la orientación de alguna

Tabla 1.— Frecuencia (%) de apareamiento entre cromosomas de trigo en híbridos AABBDR entre triticale “Cachirulo” y *T. aestivum* cv. “Chinese Spring”. Se analizaron 150 células.

Cromosoma	Apareamiento homólogo ^a				Apareamiento homeólogo, multivalentes
	C	Al	Ac	U	
1A	87,3	9,3	2,0	0,7	0,7
2A	85,3	6,7	6,0	0,0	2,0
3A	94,0	0,0	4,0	0,7	1,3
4B	88,0	4,0	7,3	0,7	0,0
5A	86,7	12,0	0,7	0,7	0,0
6A	84,0	9,3	4,7	1,3	0,7
7A	98,7	0,7	0,7	0,0	0,0
1B	86,7	12,0	0,7	0,0	0,7
2B	70,7	10,0	12,7	5,3	1,3
3B	87,3	10,0	1,3	1,3	0,0
4A	90,0	7,3	2,0	0,7	0,0
5B	69,3	26,7	1,3	2,0	0,7
6B	73,3	12,0	9,3	5,3	0,0
7B	92,7	6,7	0,0	0,7	0,0

a: C = bivalente cerrado, Al = bivalente abierto con el brazo largo apareado, Ac = bivalente abierto con el brazo corto apareado, U = par de univalentes.

de estas parejas no se pudo conocer, bien porque sus miembros aparecían como univalentes o porque la posición de los quiasmas en el bivalente impedía distinguir los dos miembros del par. Los pares 7A, 2B y 7B presentaban bastantes más problemas para identificar sus dos miembros, especialmente en los bivalentes cerrados, por lo que no se han considerado en este análisis. Los distintos tipos de orientación observados y sus frecuencias aparecen en la Tabla 2. Los valores observados se ajustan a los esperados, $(1/16) \times 112$, en el supuesto de orientación al azar.

DISCUSION

La aplicación de la técnica de bandeado-C ha puesto de manifiesto la existencia de diferencias en el contenido y distribución de la heterocromatina entre los cromosomas 2A, 6A, 7A, 2B, 3B, 5B, 6B y 7B de *T. durum* presentes en el triticale “Cachirulo” y sus homólogos de *T. aestivum* cv. “Chinese Spring”. La variación observada es, sin embargo, más limitada que la que se detecta entre cromosomas no homólogos, especialmente en el genomio B. Este tipo de diferenciación cromosómica ha sido también detectado entre diferentes cultivares de *T. aestivum* (Endo and Gill, 1984; Ferrer et al., 1984).

Los resultados del apareamiento en los híbridos AABBDR evidencian, en general, el mantenimiento de la homología de los cromosomas de los genomios A y B de *T. durum* y *T. aestivum*. Resulta también evidente que existen más fallos en el apareamiento entre los cromosomas del genomio B que entre los del genomio A. Por otra parte cromosomas que son claramente submetacéntricos, como el 1A, el 5A y el 5B, tienen bastantes más fallos en el apareamiento

Tabla 2.- Distribución de los centrómeros de los cromosomas 2A, 6A, 3B, 5B y 6B de "Chinese Spring" (+) y del triticales "Cachirulo" (-) en la metafase I de los híbridos entre ambos. Comparación con la distribución al azar.

Orientación					Obs.	Esp.	Orientación					Obs.	Esp.
2A	6A	3B	5B	6B			2A	6A	3B	5B	6B		
+	+	+	+	+			+	+	-	-	+		
-	-	-	-	-	4	7	-	-	+	+	-	6	7
+	+	+	+	-			+	-	+	+	-		
-	-	-	-	+	9	7	-	+	-	-	+	11	7
+	+	+	-	+			+	-	+	-	+		
-	-	-	+	-	7	7	-	+	-	+	-	8	7
+	+	-	+	+			+	-	-	+	+		
-	-	+	-	-	8	7	-	+	+	-	-	11	7
+	-	+	+	+			-	+	+	+	-		
-	+	-	-	-	4	7	+	-	-	-	+	3	7
-	+	+	+	+			-	+	-	+	+		
+	-	-	-	-	8	7	+	-	+	-	-	3	7
+	+	+	-	-			-	+	+	-	+		
-	-	-	+	+	10	7	+	-	-	+	-	8	7
+	+	-	+	-			-	-	+	+	+		
-	-	+	-	+	8	7	+	+	-	-	-	4	7

$\chi^2 = 15.71$; grados de libertad = 15; $0,50 > p > 0,30$.

del brazo corto que en el del brazo largo; en cambio, los brazos de los restantes cromosomas, que difieren menos en longitud, presentan mayor similitud en los valores de apareamiento, excepto el 1B y el 3B. Tal como sugieren Ferrer et al. (1984) la variación en el apareamiento entre distintos pares de cromosomas homólogos podría resultar del efecto combinado de las diferencias en la longitud de sus brazos cromosómicos y de la diferenciación cromosómica por heterocromatinización, aparte, por supuesto, de una diferente diversificación génica.

A partir del establecimiento de las relaciones de homeología entre brazos cromosómicos de *T. aestivum* cv. "Chinese Spring" mediante el análisis del apareamiento homeólogo en híbridos trigo-centeno, Naranjo et al. (1987) proponen que durante la evolución del trigo se produjeron dos translocaciones. La primera de ellas se habría producido entre los brazos 5AL y 4BL (que derivaría del genomio A) durante la evolución de *T. monococcum* y la segunda entre los brazos 4BL (ya modificado) y 7BS en el trigo tetraploide (AABB) primitivo. Esta hipótesis está de acuerdo con los resultados aquí obtenidos que indican que los cromosomas 4B, 5A y 7B de *T. durum* y *T. aestivum* no difieren estructuralmente. Además, Naranjo y colaboradores sugieren que el cromosoma 4B de *T. aestivum* difiere en una inversión pericéntrica del correspondiente cromosoma 4 de *T. monococcum*. La regularidad en el apareamiento del par de cromosomas 4B en los híbridos AABBDR permite precisar más esta sugerencia: tal inversión habría ocurrido en el tetraploide (AABB) primitivo.

En la mayor parte de los organismos eucariotas los resultados del análisis genético coinciden con una segregación independiente de los cromosomas que no están físicamente unidos en la primera división de la meiosis. La observación directa de este fenómeno requiere la utilización de marcadores citológicos que permitan distinguir los centrómeros de origen paterno y materno, pero no es fácil disponer de tales marcadores. La existencia de polimorfismo para la heterocromatina-C permitió observar la orientación de cuatro pares de cromosomas de centeno (Naranjo and Lacadena, 1979) y de tres pares (1B, 4B y 5B) de trigo (Fominaya and Jouve, 1985). Mientras que los cromosomas de centeno se orientaban al azar los de cada par del trigo con mayor cantidad de heterocromatina se orientaban preferentemente hacia un polo y sus homólogos al opuesto. Esta segregación anormal ocurría independientemente del origen paterno o materno de estos cromosomas. Fominaya y Jouve lo atribuyeron a un efecto de la heterocromatina. Los resultados de la Tabla 2 demuestran que las diferencias en la cantidad de heterocromatina de los cromosomas 2A, 6A, 3B, 5B y 6B en los híbridos AABBDR no afectan a su orientación centromérica que es al azar.

RESUMEN

Se ha establecido el patrón de bandeo-C de los cromosomas de *Triticum durum* presentes en el triticale hexaploide "Cachirulo". Estos cromosomas se identificaron por apareamiento con los de *T. aestivum* en híbridos AABBDR entre triticale "Cachirulo" y *T. aestivum* cv. "Chinese Spring". En estos híbridos, el apareamiento quedaba casi exclusivamente restringido a los homólogos. Los cromosomas 2A, 6A, 7A, 2B, 3B, 5B, 6B y 7B presentan variación entre "Cachirulo" y "Chinese Spring" en el contenido y distribución de la heterocromatina. La orientación de los centrómeros de los pares de cromosomas 2A, 6A, 3B, 5B y 6B en metafase I de los híbridos AABBDR era al azar.

REFERENCIAS

- Endo, T.R.; B.S. Gill. (1984). Somatic karyotype, heterochromatin distribution, and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em Thell, **Chromosoma** 89: 361-369.
- Ferrer, E.; J.M. González; N. Jouve. (1984). Identification of C-banded chromosomes in meiosis of common wheat, *Triticum aestivum* L., **Theor. Appl. Genet.** 67: 257-261.
- Fominaya, A.; N. Jouve. (1985). Analysis of centromere co-orientation in intervarietal hybrids of common wheat (*Triticum aestivum* L.) by means of C-banding. **Heredity** 54: 367-371.
- Gerlach, W.L. (1977). N-banded karyotypes of wheat species, **Chromosoma** 62: 49-56.
- Gill, B.S.; G. Kimber. (1974). Giemsa C-banding and the evolution of wheat, **Proc. Nat. Acad. Sci. USA** 71: 4086-4090.
- Giraldez, R.; M.C. Cermeño; J. Orellana. (1979). Comparison of C-banding pattern in the chromosomes of inbred lines and open pollinated varieties of rye, **Z. Pflanzenzücht.** 83: 40-48.
- Jewell, D.C. (1979) chromosome banding in *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring and *Aegilops variabilis*, **Chromosoma** 71: 129-134.
- Naranjo, T.; J.R. Lacadena. (1979). Analysis of centromere co-orientation in a rye-wheat derivative by means of C-banding, **Chromosoma** 73: 227-235.
- Naranjo, T.; J.R. Lacadena. (1982). C-banding pattern and meiotic pairing in five rye chromosomes of hexaploid triticale, **Theor. Appl. Genet.** 61: 233-237.
- Naranjo, T.; A. Roca; P.G. Goicoechea; R. Giraldez. (1987) Arm homoeology of wheat and rye chromosomes, **Genome** 29: 873-882.
- Sánchez-Monge, E. (1969). La saga del Cachirulo. **An Aula Dei** 10: 795-799.