



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

Microsporogénesis de cinco especies de Aloe L. (Aloaceae) (Modalidad:
Investigación)

JESÚS ENRIQUE GONZÁLEZ RUIZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CUMANÁ, DICIEMBRE DE 2008

Microsporogénesis de cinco especies de Aloe L. (Aloaceae)

APROBADO POR:

Dr. José Imery Buiza

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	7
Material vegetal.....	7
Hora meiótica.....	7
Tamaño y color de los botones florales con respecto a la microsporogénesis	8
Preparación de láminas	8
Viabilidad del grano de polen	8
Para determinar la viabilidad de los granos de polen se colectaron al menos 20 flores, provenientes de 10 plantas, próximas a la antesis (6:00-7:00 a.m.). Una vez en laboratorio, se esperó por la dehiscencia de las anteras. Seguidamente los granos de polen de las anteras recién abiertas se dispersaron sobre portaobjetos a los cuales previamente se les agregó 5 gotas de una mezcla homogénea de agua de grifo, agar-agar (4 g.l ⁻¹) y sacarosa (0,06 mol. l ⁻¹) (Sunderland y Roberts, 1977). Esta preparación se monitoreo a través de un microcopio óptico. Se contabilizaron 5 000 granos de polen por cada especie. Se consideró un grano de polen como viable cuando su eje polar resultaba menor o igual a la longitud del tubo polínico emitido (Kalinganire y cols., 2000).	8
Microscopia y fotografía.....	9
RESULTADOS	10
Hora meiótica.....	10
Morfometría de los botones florales con respecto al desarrollo de la	

microsporogénesis.....	12
Configuración de células meióticas	14
Estadios de profase I y el resto de las fases meióticas que comprenden la microsporogénesis.....	21
Viabilidad de los granos de polen	32
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES	54
RECOMENDACIONES	55
BIBLIOGRAFÍA	¡Error! Marcador no definido.

DEDICATORIA

A mis familiares y demás seres queridos.

AGRADECIMIENTO

Principalmente a mis padres y a mi tía Emilia por ayudarme, motivarme y apoyarme desde todo punto de vista a lo largo del tiempo que estuve desarrollando mi carrera universitaria. A mis hermanos que con alguna ayuda o consejo también me permiten hoy alcanzar este logro.

Al profesor José Imery, por asesorarme durante el desarrollo de mi trabajo de grado y por transmitirme muchos de los conocimientos que ha adquirido en su vida profesional.

Al personal del herbario I.R.B.R. de la Universidad de Oriente núcleo Sucre por ofrecernos, entre otras cosas, un espacio físico para terminar el desarrollo del trabajo de grado, gracias Profesora Ivelise, gracias Profesor Cumana.

A todos los profesores que impartieron las materias que curse durante la carrera, que de alguna manera se esforzaron para formarme como Biólogo.

Al Ing. Franklin Marcano, mi primo hermano, por toda la ayuda que me ofreció en momentos claves de mi carrera, además de los conocimientos que me aportó, los cuales resultaron ser muy útiles durante mi carrera en la universidad.

Finalmente a todos los compañeros con los que hice vida en departamento de Biología, de mis vivencias con ellos, y de las suyas propias, aprendí mucho.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de <i>Aloe saponaria</i>	13
Tabla 2. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de <i>Aloe saponaria</i>	15
Tabla 3. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de <i>Aloe zebrina</i>	15
Tabla 4. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de <i>Aloe zebrina</i>	16
Tabla 5. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de <i>Aloe ammophila</i>	17
Tabla 6. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de <i>Aloe ammophila</i>	18
Tabla 7. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de <i>Aloe littoralis</i>	19
Tabla 8. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de <i>Aloe littoralis</i>	19
Tabla 9. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de <i>Aloe jacksonii</i>	19
Tabla 10. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de <i>Aloe jacksonii</i>	21
Tabla 11. Porcentaje de viabilidad de los granos de polen de las especies de <i>Aloe</i> estudiadas.	33
Tabla 12. Variación del tamaño de los fragmentos cromosómicos observados durante la microsporogénesis de las especies analizadas.....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de células durante la microsporogénesis de <i>Aloe saponaria</i> , observadas a diferentes horas diurnas.....	10
Figura 2. Número de células durante la microsporogénesis de <i>Aloe ammophila</i> , observadas a diferentes horas diurnas.....	11
Figura 3. Número de células durante la microsporogénesis de <i>Aloe littoralis</i> , observadas a diferentes horas diurnas.....	12
Figura 4. Microsporogénesis aparentemente normal en <i>Aloe saponaria</i> . A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tetrada.....	22
Figura 5. Microsporogénesis aparentemente normal en <i>Aloe zebrina</i> . A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II.....	23
Figura 6. Microsporogénesis aparentemente normal en <i>Aloe ammophila</i> . A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.....	24
Figura 7. Microsporogénesis aparentemente normal en <i>Aloe littoralis</i> . A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.....	25
Figura 8. Microsporogénesis aparentemente normal en <i>Aloe jacksonii</i> . A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.....	26
Figura 9. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en <i>Aloe saponaria</i> . A) Migración precoz de cromosomas en metafase I. B) Puente más fragmento acéntrico. C) Fragmento en telofase I. D) Anafase I mostrando puente más fragmento. E) Telofase I con puente más fragmento. F) Doble fragmento acéntrico. G) Profase II con doble puente más fragmento. H) Péntada.	27
Fig. 10. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en <i>Aloe zebrina</i> . A) Metafase I mostrando migración precoz de cromosomas. B) Fragmento acéntrico. C) Puente dicéntrico en telofase I. D-E) Profase II mostrando puente dicéntrico. F-G-H) Fragmento acéntrico en Metafase II.....	28
Figura 11. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en <i>Aloe ammophila</i> . A) Profase II mostrando fragmento acéntrico. B) Puente dicéntrico en telofase I. C) Fragmento acéntrico en	

anafase II. D) Célula sin actividad meiótica. E) Puente más fragmento acéntrico en profase II. F) Doble puente dicéntrico en anafase II. G) Doble puente dicéntrico más fragmento acéntrico en metafase II. H) Microspora adicional..... 29

Figura 12. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en *Aloe littoralis*. A-B) Migración precoz de cromosomas en metafase I. C) Puente dicéntrico más fragmento acéntrico en anafase I. D) Puente dicéntrico en telofase I. E-F) Puente dicéntrico en profase II. G) Fragmento acéntrico en metafase II. H) Puente dicéntrico en telofase II. 30

Figura 13. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en *Aloe jacksonii*. A) Anafase I con puente cromosómico. B) fragmento acéntrico en profase II. C) Profase II mostrando puente cromatídico más fragmento acéntrico. D) Puente dicéntrico más fragmento acéntrico en metafase II. E) Doble puente cromosómico en anafase II. F) Doble puente cromosómico más fragmento acéntrico en telofase II. G) fragmento cromosómico en telofase II. H) Péntada..... 31

Figura 14. Granos de polen de las especies de *Aloe* estudiadas en cultivos de agar y sacarosa. La flecha muestra el tubo polínico de un grano aparentemente viable, mientras asterisco (*) señala un grano de polen inviable. A) *A. saponaria*. B) *A. zebrina*. C) *A. ammophila*. D) *A. littoralis*..... 32

Figura 15. Meiocitos en profase I mostrando distintos números de micronúcleos. A) Leptoteno con siete micronúcleos. B) Diploteno con cinco micronúcleos. C y D) Leptoteno con tres micronúcleos. 34

Figura 16. Meiocitos de *Aloe jacksonii* mostrando distintos números de cromosomas univalentes. A) cromosoma univalente en metafase I. B) cromosoma univalente en metafase II. C) Dos cromosomas univalentes en metafase I. D) cromosoma univalente en anafase II. 35

RESUMEN

El estudio se llevó a cabo en cinco especies de *Aloe*; *A. saponaria*, *A. zebrina*, *A. ammophila*, *A. littoralis* y *A. jacksonii*. El comportamiento de los cromosomas meióticos se reveló a través de la preparación de láminas mediante la tinción con orceína acética 1,5% m/V y la viabilidad de los granos de polen se determinó, cualitativamente, observando la elongación de los tubos polínicos en una mezcla homogénea de agua de grifo, agar-agar (4 g.l⁻¹) y sacarosa (0,06 mol. l⁻¹). Durante el estudio microsporogénico se observaron todas las fases meióticas, incluyendo las subfases de la profase I. Algunos eventos de importancia registrados en todas las especies fueron: migración precoz de los cromosomas en metafase I y rezagados en anafase I, fragmentos acéntricos y los puentes dicéntricos. Otras anomalías aparecieron de forma particular, como fue el caso de los micronúcleos observados de forma constante en la profase I de los meiocitos de *A. ammophila* y la presencia de cromosomas univalentes en diversas fases meióticas de *A. jacksonii*. El mayor valor de viabilidad de los granos de polen se registró en *A. zebrina* (66,3 %) y el menor en *A. ammophila* (43,1 %), esto debido probablemente al elevado número de anomalías cromosómicas reportadas durante la microsporogénesis de estas especies. Los porcentajes de viabilidad en *A. saponaria* y *A. littoralis* fueron de 48,5 y 55,8 %, respectivamente. Las aberraciones cromosómicas reportadas pueden ser debidas a factores ambientales como temperatura y humedad, mutaciones estructurales como deleciones, traslocaciones e inversiones y a mutaciones puntuales que involucran la expresión de genes controladores de los diferentes pasos de la meiosis. Independientemente del origen o causa de la anomalía, quedó evidenciado que todas tienen un efecto negativo sobre la formación normal de gametos, ya que la viabilidad de los granos de polen fue menor en aquellas especies que presentaron el mayor número de anomalías cromosómicas.

Palabras claves: Meiosis, Microsporogénesis, *Aloe*, Anomalías cromosómicas, Viabilidad de los granos de polen

INTRODUCCIÓN

La meiosis ha sido objeto de numerosas investigaciones científicas en diversos organismos (Cnudde y Gerats, 2005). Este proceso permite combinar genomas individuales para producir un aumento en la diversidad genética, resultando una estrategia reproductiva exitosa en la evolución de los organismos debido a la capacidad de combinar genomas individuales, produciendo así un aumento en la diversidad genética (Rice y Chippindale, 2001).

La meiosis se describe a menudo como un caso especial de división celular porque difiere de la mitosis en diversos aspectos. Existen al menos cuatro diferencias notorias relacionadas con el apareamiento y la recombinación de cromosomas homólogos paternos y maternos, la unión de los cinetocoros hermanos a los microtúbulos, la cohesión de las cromátidas hermanas con el centrómero, la cual se mantiene hasta la segunda división y, por último, la ausencia de la replicación de los cromosomas después de la primera división meiótica (Zickler y Kleckner, 1998). Específicamente, la meiosis, consiste de una sola fase de replicación de ADN, seguida en profase I, por el apareamiento y sinapsis de cromosomas homólogos para formar bivalentes (Sánchez-Moran y cols., 2004).

El apareamiento de los cromosomas se hace evidente por la asociación entre homólogos durante la profase meiótica, que se divide en varios estadios, según el grado de sinapsis y condensación (Nonomura y cols., 2004). Posteriormente, la recombinación ocurre entre cromátidas no hermanas en cada bivalente. Los cromosomas homólogos se condensan tomando una posición ecuatorial (metafase I) antes de sufrir una división reduccional durante la anafase I (Sánchez-Moran y cols., 2004). La segunda división meiótica es ecuacional y separa las cromátidas hermanas

de cada cromosoma, dando lugar a los gametos haploides necesarios para la reproducción sexual (Caryl y cols., 2003).

La meiosis consiste en una serie de eventos altamente coordinados, los cuales son esenciales para la segregación apropiada de los cromosomas (Yang y cols., 2003). Como cualquier otro proceso biológico, todos los pasos secuenciales involucrados en la meiosis son controlados por una serie de genes (Ramana, 1974; Mok y Peloquin, 1975; Mok y cols., 1976; Koduru y Rao, 1981; Falistocco y cols., 1994, citados por Lattoo y cols., 2006). Una mutación en cualquiera de estos genes puede causar anomalías serias en todo el proceso, formándose finalmente, productos meióticos genéticamente aberrantes, con un impacto adverso en la fertilidad y eficiencia reproductora de las especies (Lattoo y cols., 2006).

Cualquier cambio en la secuencia del ADN se denomina mutación, y éstas pueden envolver grandes regiones de la molécula o tan sólo un par de bases. Existen numerosos criterios para clasificar las mutaciones, Stanfields (1995), las clasifica en seis categorías: mutaciones de tamaño, de calidad, de origen, de magnitud del efecto fenotípico, de dirección y de tipo celular. Otros autores solo toman en cuenta tres categorías; tipo de célula, magnitud y mecanismo. Con respecto al tipo de célula, las mutaciones pueden ser somáticas o germinales. Las mutaciones somáticas afectan a las células del individuo y no se transmiten a la siguiente generación. Por otro lado, se encuentran las mutaciones germinales que afectan a las células productoras de gametos. Estas mutaciones se transmiten a la siguiente generación y tienen una mayor importancia desde el punto de vista evolutivo (Pierce, 2006).

Strickberger (1998) menciona que las mutaciones pueden ser estructurales o citológicamente visibles; a diferencia de las mutaciones génicas o puntuales que generalmente son invisibles al microscopio convencional. Las anormalidades cromosómicas estructurales representan mutaciones citológicamente visibles y se

observan como cambios en la conformación inicial de uno o más cromosomas, las cuales pueden alterar su número, estructura y tamaño.

La meiosis, ha sido un proceso estudiado en diversas especies vegetales, en donde se conoce como microsporogénesis, la cual ocurre durante el desarrollo de las anteras y su finalidad radica en la formación de microsporas dentro del microsporangio o saco polínico (Raven, 1986). Posteriormente el núcleo de cada microspora se divide por mitosis hasta finalmente formar el núcleo del tubo y el núcleo generativo, indispensables para la reproducción sexual (Saigo y Saigo, 1983).

En plantas superiores las anormalidades cariológicas pueden ser detectadas en tejido somático, observando el avance de la mitosis en zonas meristemáticas y analizando detalladamente las características morfométricas de los cromosomas en división. Por otro lado, el análisis de las configuraciones cromosómicas durante la meiosis permite reconocer o confirmar anormalidades genéticas poco evidentes en el cariotipo. Los estudios de meiosis pueden dilucidar la presencia de anormalidades genéticas que limitan la reproducción sexual de un individuo.

La forma de apareamiento de los homólogos en los estadios de profase I, y su avance hasta la metafase I, permiten determinar alteraciones en el proceso normal de recombinación (Imery, 2002). El comportamiento de los cromosomas durante los procesos de división celular, específicamente la meiosis, ha sido evaluado en una gran cantidad de plantas a nivel mundial, encontrándose numerosas aberraciones cromosómicas en muchas especies de interés agrícola, medicinal, ornamental, etc. Estas anormalidades son principalmente ocasionadas por procesos endógenos o producidas por agentes ambientales externos, tales como compuestos químicos, sustancias mutagénicas, radiaciones, que promueven o aceleran la existencia de fallas en el apareamiento, recombinación y segregación correcta de los cromosomas (Puizina y cols., 2004; Sayuri y cols., 2005).

Entre las anormalidades comúnmente observadas durante la meiosis se encuentran la segregación anormal de los cromosomas. Pagliarini (2000), evaluando el comportamiento meiótico de especies de plantas de importancia económica, reportó entre otros eventos, irregularidades en la migración de los cromosomas en metafase I, observando grupos de cromosomas que migraban precozmente hacia los flancos de la célula y, en anafase I, reveló la presencia de cromosomas rezagados que permanecían en el huso de la célula.

Sayuri y cols. (2005), en el estudio de la microsporogénesis de variedades tetraploides de *Brachiaria nigropedata*, encontraron anormalidades en la segregación de los cromosomas, tanto en metafase I como anafase I, sosteniendo que estas anormalidades eran la principal causa de la aparición de micronúcleos en etapas posteriores. Otros autores han reportado similares resultados en *Hevea brasiliensis* (Pagliarini y cols., 1992) y *Bougainvillea* sp. (Adamowski y cols., 1996; Viccini y Carvalho, 2002). Evidencia de asas de inversión y otras anormalidades cromosómicas también fueron conseguidas por Ahmad y cols. (1979), evaluando inversiones heterocigóticas en el híbrido *Glycine soja*.

La presencia de puentes cromosómicos también ha sido revelada por diferentes autores, Mendes-Bonato y cols. (2001) evaluaron la inestabilidad meiótica en plantas del césped *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae) y reportaron un porcentaje de células que mostraban puentes principalmente en la telofase I, que fueron asociados a la presencia de cromosomas pegajosos. Por otra parte, Cequea y cols. (2003) encontraron en *Tridax procumbens* puentes dicéntricos atribuidos principalmente a la ocurrencia de inversión paracéntrica heterocigótica, la cual era confirmada por la presencia de las asas de inversión en la profase I, específicamente en paquiteno.

Otra anomalía comúnmente observada en diversas especies vegetales son los

fragmentos acéntricos. Dundas y cols. (1987), en su estudio comportamiento meiótico en dos especies de *Atylosia* nativas de Australia, hallaron, entre otras anormalidades, fragmentos acéntricos, que conjuntamente con otras anomalías, elevaron significativamente la esterilidad de estos organismos. Ausencia de citocinesis al final de la primera o segunda división ha sido reportada por muchos autores, entre ellos, Risso-Pascotto y cols. (2006), los cuales determinaron ausencia de citocinesis, tanto en la primera como en la segunda división meiótica en la microsporogénesis de *Brachiaria dictyoneura*.

La formación de micronúcleos y microsporas adicionales en la etapa de tétradas se han encontrado mediante la evaluación de la etapa final de la microsporogénesis. Mendes-Bonato y cols. (2001), Cequea y cols. (2003), Sayuri y cols. (2005), entre otros, determinaron la asociación entre puentes dicéntricos, fragmentos acéntricos, cromosomas rezagados, cromosomas en asa y otras anormalidades cariológicas, durante la meiosis y sus efectos sobre el número de microsporas y el porcentaje de fertilidad de los gametos producidos a partir de la célula madre del grano de polen en diferentes especies de plantas.

Anormalidades como las antes descritas, también han sido señaladas en organismos pertenecientes a la familia Aloaceae, afectando su reproducción sexual. En este sentido, Brandham (1970) observó puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos, sosteniendo que estas anormalidades ocurrían en más de 186 plantas de 167 taxa de la tribu Aloineae. Imery y Cequea (2002) evaluaron la microsporogénesis en *Aloe vera*, encontrando también desplazamiento precoz de cromosomas pequeños, uno o más puentes dicéntricos en meiosis I y II y microsporas adicionales en la etapa de las tétradas.

La familia Aloaceae comprende más de 700 especies, incluidas principalmente en los géneros *Aloe*, *Gasteria*, *Haworthia* y *Astrobala*. Son nativas de África, Arabia,

Madagascar y una isla ubicada en el Océano Índico llamada Socotra, donde existen como poblaciones típicas de regiones áridas y semiáridas (Van-Wyk y Smith, 1996). Debido a su importancia ornamental y uso medicinal, muchas de estas plantas han sido introducidas y cultivadas extensivamente en diferentes países de todo el mundo (Sajeva y Costanzo, 1994 citados por Imery y Cequea, 2002).

El género *Aloe* L. está compuesto principalmente de hierbas perennes, arbustos o pequeños árboles, solitarios o agrupados, que presentan raíces gruesas, hojas distribuidas en espiral formando rosetas u ocasionalmente opuestas en plantas jóvenes, carnosas y generalmente suculentas; lámina lineal, lanceolada o triangular, base envainada; ápice usualmente tipo espinoso; margen con dientes u ocasionalmente con finos pelos; superficie glabra, lisa o rugosa, algunas veces con una o ambas superficies espinosas, uniformemente coloreada de verde o presentando manchas blancas. Inflorescencias simples o ramificadas; pedúnculo grueso y erguido. Fruto tipo cápsula, subglobular, generalmente dehiscente hacia el ápice (Carter, 1994). Algunas las especies pertenecientes a este genero no presentan frutos ni semillas y su reproducción se lleva a cabo exclusivamente mediante propagación vegetativa a través de hijuelos (Imery, 2001).

El presente trabajo surge por la necesidad de analizar la microsporogénesis en cinco especies de *Aloe*: *A. jacksonii* Reyn., *A. ammophila* Reyn., *A. littoralis* Bak., *A. saponaria* Haw. y *A. zebrina* Bak., a fin de dilucidar posibles eventos durante la formación de los gametos masculinos, que representen información valiosa para la posterior aplicación en la transferencia de características de interés agronómico hacia la especie comercial *Aloe vera* a través de un programa de mejoramiento genético por la hibridación interespecífica.

METODOLOGÍA

Material vegetal

El estudio se realizó en diez plantas adultas de cada especie, las cuales forman parte de la colección *in vivo* de plantas suculentas (UDO-Biología), ubicado a 10°26'32'' N y 64°09'14'' O, en un bosque muy seco tropical de la ciudad de Cumaná. Estas especies se indican a continuación:

Aloe saponaria, *A. zebrina*, *A. ammophila*, *A. littoralis* y *A. jacksonii*

Para analizar las configuraciones meióticas durante el proceso de formación del grano de polen, se colectaron botones florales a diferentes horas y estadios de madurez, se fijaron en etanol/ácido acético glacial (3:1) por 24 h y se almacenaron en etanol 70 % V/V a 4°C hasta su evaluación.

Hora meiótica

Se colectaron al menos 10 botones florales de cada una de las especies por cada intervalo de tiempo estudiado, desde las 6 am hasta las 6 pm. Para realizar el conteo de las células, se examinaron las láminas preparadas siguiendo la metodología explicada anteriormente, y se contabilizaron en ellas los distintos estadios meióticos en cada intervalo de tiempo examinado. En número máximo establecido de cada fase de la microsporogénesis por intervalo de tiempo a contabilizar, fue de 100 células en cada una de las especies de interés. Finalmente para cada una de las especies se consideró como hora meiótica, aquel periodo del día que presentó el mayor número de fases meióticas que comprenden el proceso de la microsporogénesis.

Tamaño y color de los botones florales con respecto a la microsporogénesis

Se observaron las características relacionadas con el color y el tamaño de los botones florales recolectados para cada especie. Una vez realizado el estudio de las configuraciones meióticas, se relacionaron dichas características con el desarrollo del proceso de la microsporogénesis en cada una de las especies de interés.

Preparación de láminas

Las láminas se prepararon mediante aplastamiento individual de anteras. Las muestras previamente fijadas, fueron colocadas en una cápsula de Petri con agua destilada durante 15 minutos. De cada botón floral se extrajo una antera, la cual fue fragmentada con un corte transversal para desbordar y colorear su contenido durante un período de 4 minutos, mediante la suspensión, sobre portaobjetos previamente identificados, en una gota de orceína acética 1,5% m/V. Seguidamente, se eliminó el tejido somático de la antera y se le colocó, minuciosamente, el cubreobjeto. Las evaluaciones citológicas se realizaron en preparaciones temporales de, al menos, un botón floral proveniente de cada planta, hora de colecta y estado de madurez.

Viabilidad del grano de polen

Para determinar la viabilidad de los granos de polen se colectaron al menos 20 flores, provenientes de 10 plantas, próximas a la antesis (6:00-7:00 a.m.). Una vez en laboratorio, se esperó por la dehiscencia de las anteras. Seguidamente los granos de polen de las anteras recién abiertas se dispersaron sobre portaobjetos a los cuales previamente se les agregó 5 gotas de una mezcla homogénea de agua de grifo, agar-agar (4 g.l^{-1}) y sacarosa ($0,06 \text{ mol.l}^{-1}$) (Sunderland y Roberts, 1977). Esta preparación se monitoreo a través de un microcopio óptico. Se contabilizaron 5 000 granos de polen por cada especie. Se consideró un grano de polen como viable cuando su eje

polar resultaba menor o igual a la longitud del tubo polínico emitido (Kalinganire y cols., 2000).

Microscopia y fotografía

Todas las observaciones y tomas fotomicrográficas se realizarán en un microscopio ÓPTIMA, equipado con una cámara de video digital Moticam 350. Las imágenes fueron analizadas en computadora con los programas PhotoimpactTM SE y SigmaScan Pro 5, y posteriormente impresas en papel con calidad fotográfica Epson SO41141.

RESULTADOS

Hora meiótica

El número de células durante la microsporogénesis de *Aloe saponaria*, observadas a diferentes horas diurnas se muestran en la fig. 1. El conteo de las células en las respectivas fases de división a las horas predeterminadas en el estudio, permitió establecer la hora meiótica para esta especie en un rango que abarca desde las 10:30 hasta las 12:30 horas, ya que en este lapso de tiempo se observaron, como lo indica la figura, el mayor número y diversidad de fases meióticas. La profase I desciende a medida que avanza el día, mientras la etapa de las tétradas posee un comportamiento inverso, observándose su mayor número de apariciones a las 18 horas.

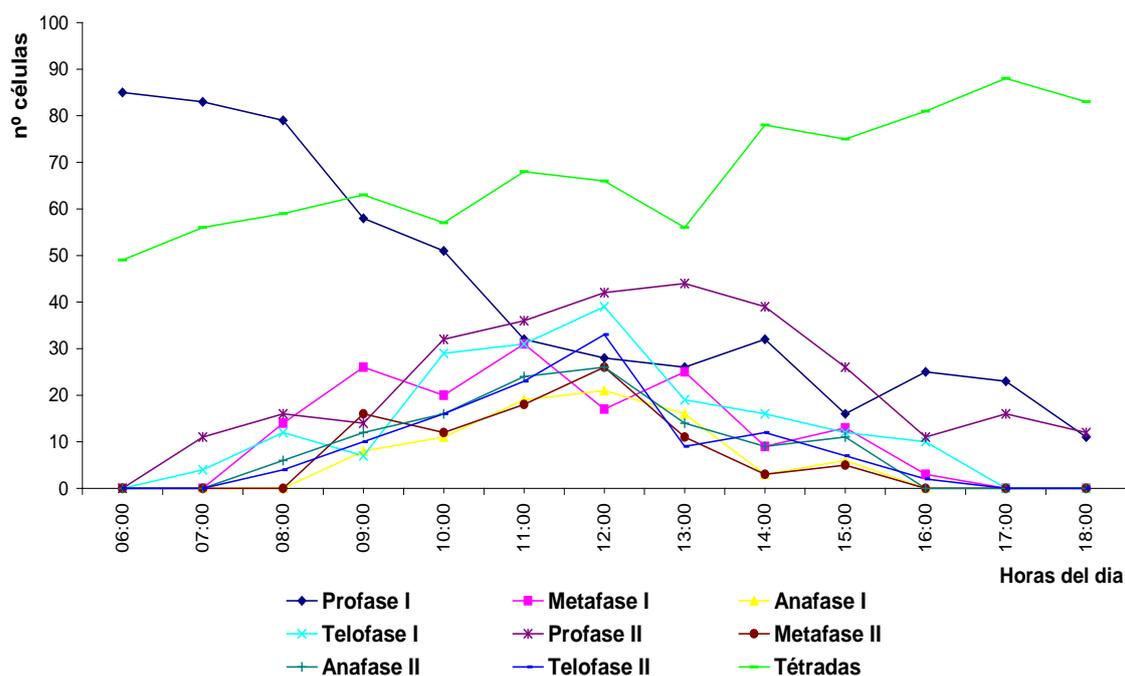


Figura 1. Número de células durante la microsporogénesis de *Aloe saponaria*, observadas a diferentes horas diurnas.

El número de células durante la microsporogénesis de *A. ammophila* observadas a diferentes horas diurnas fue determinado (fig. 2). Se muestra que exceptuando la profase I y la etapa de las tétradas, las demás fases que comprenden ambas divisiones nucleares solo fueron observadas a partir de las 10 horas y se pudieron contabilizar hasta las 14 horas ya que, como muestra la figura, no se registraron fases a partir de este momento. Por otra parte, la figura

deja ver que solo estadios de profase I y tétradas se mantuvieron presentes durante todas las horas evaluadas. La hora meiótica establecida para la especie abarca un rango que va desde las 11 horas hasta las 13 horas.

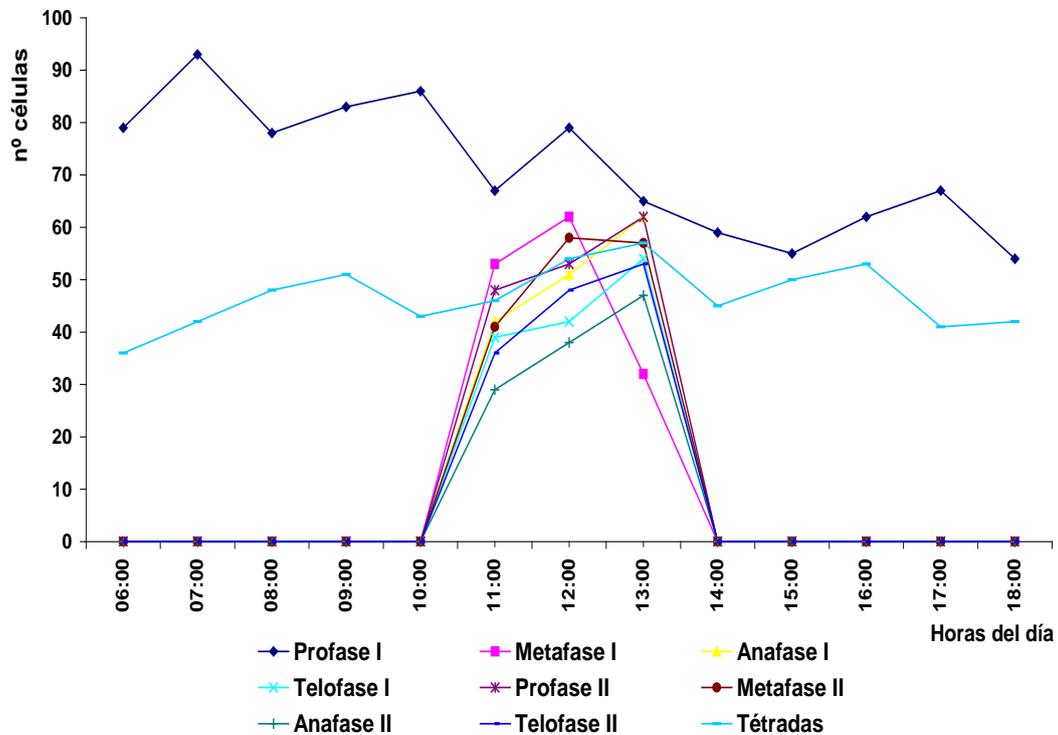


Figura 2. Número de células durante la microsporogénesis de *Aloe ammophila*, observadas a diferentes horas diurnas.

En *A. littoralis*, el número de células contabilizadas durante la microsporogénesis reportados en la figura 3, revelan que en esta especie el proceso de división nuclear se extiende a lo largo de las horas diurnas. Se puede observar que desde las 7 hasta las 17 horas se observaron en su totalidad las fases que comprenden el proceso de división, además se conservó la misma tendencia de presentar el mayor número de meiocitos en las horas del mediodía y un descenso de células en profase I y el aumento en la etapa de tétradas a medida que transcurre el día. El rango de horas que comprende la mayor tasa de división meiótica se encuentra entre las 10 y las 12 horas.

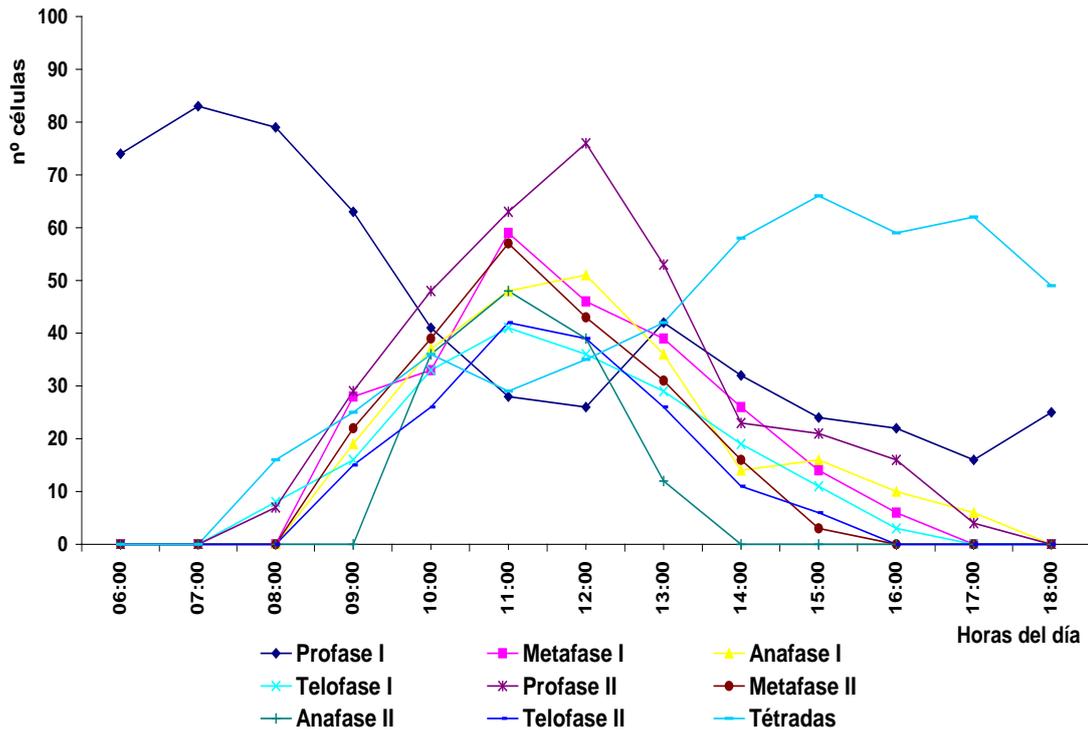


Figura 3. Número de células durante la microsporogénesis de *Aloe littoralis*, observadas a diferentes horas diurnas.

La hora meiótica establecida para *A. saponaria*, *A. ammophila* y *A. littoralis*, se encuentra entre las 10 y 14 horas del día según lo muestran las figuras 1-2 y 3, respectivamente. Durante este lapso de tiempo se contabilizó el mayor número de células en división meiótica en las especies mencionadas. Conjuntamente se observó en estas tres especies un aumento en el número de meiocitos a medida que transcurría la mañana y un descenso de los mismos en el transcurso de la tarde. Debido a este similar comportamiento observado en las especies estudiadas, no se realizó el muestreo para determinar la hora meiótica en *A. zebrina* y *A. jacksonii*, ya que se presume que la hora meiótica para estas especies, también se encuentre dentro del periodo del día que abarca desde las 10 hasta las 14 horas.

Morfometría de los botones florales con respecto al desarrollo de la microsporogénesis

El tamaño de los botones florales en donde se observó la mayor frecuencia de células en división meiótica fue variable en las distintas especies de *Aloe* estudiadas, siendo los botones de *A. jacksonii* los más pequeños ($3,01 \pm 0,32$ mm) y los de *A. saponaria* los botones más grandes ($6,10 \pm 0,96$ mm). El tamaño de los botones florales en el resto de las especies

estudiadas fueron $3,60 \pm 0,48$ mm para *A. ammophila*, $3,04 \pm 0,41$ mm en *A. littoralis* y $3,90 \pm 0,75$ mm para *A. zebrina*. Aquellos botones analizados cuyos tamaños fue inferior a los antes establecidos, mostraron células que se encontraban en la fase de transición entre la mitosis de las células madres de los granos de polen y la microsporogénesis. Los botones colectados que presentaron un mayor tamaño a los establecidos, generalmente contenían

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)	micr ospo ras libre s desp ués de la ruptu ra de la capa de
Células en metafase I normal	153	24,0	
Anafase/Telofase I normal	320	50,2	
Anafase/Telofase I con un fragmento acéntrico	54	8,5	
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico	50	7,8	
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico más	29	4,6	

calosa que ocurre normalmente en la fase final de la citocinesis.

Cabe resaltar que los botones florales en donde se observaron fases meióticas, se encontraban cubiertos completamente por las brácteas. Estos botones, protegidos por brácteas, en su totalidad presentaron un color opaco o blanquecino tanto del perianto, como de las anteras en las cinco especies de *Aloe* analizadas. Los botones que a diferencia de las características de color antes mencionadas, mostraban una pigmentación amarilla oscura, contenían solo fases postmeioticas propias de la microgametogénesis.

Tabla 1. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de *Aloe saponaria*.

fragmento acéntrico			
Anafase/Telofase I con doble fragmento acéntrico	9	1,4	Conf igur ació n de célul as
Anafase/Telofase I con dos o más puentes dicéntricos	7	1,1	
Anafase/Telofase I con dos o más puentes dicéntricos mas un fragmento acéntrico	11	1,7	
Anafase/Telofase I con dos o mas fragmentos acéntricos más un puente dicéntrico	5	0,8	
Número total de células observadas	638	100	

meióticas

Las configuraciones meióticas de las especies de *Aloe* analizadas fueron reveladas mediante la tinción de los meiocitos con el uso de oreceína acética. A través de la práctica de este método citológico, se logro observar configuraciones aparentemente normales, como otros arreglos aberrantes en ambas divisiones meióticas (tablas 1-10).

Las proporciones de células analizadas en la meiosis I de *A. saponaria* son reportadas en la tabla 1. Se muestra el número de células aparentemente normales y su respectivo porcentaje, y de la misma manera se reportan las aberraciones cromosómicas observadas durante el análisis de las láminas. En esta tabla se deja ver que el porcentaje de células normales en anafase y telofase esta ligeramente por encima del 50 % y casi un 21 % esta representado por configuraciones con alguna anormalidad, siendo la presencia de fragmentos acéntricos la anormalidad con mayor porcentaje. Otras configuraciones meióticas son descritas.

En la segunda división nuclear de *A. saponaria*, se resalta el elevado porcentaje (65,7 %) de células normales durante la división (Tabla 2). El análisis en la etapa de citocinesis mostró un elevado número de tétradas normales, representado un 9,0 % del total de los meiocitos analizados y apenas un 0,8 % de tétradas aberrantes. La tabla muestra que, a diferencia de la primera división meiótica, la anormalidad más frecuente estuvo representada por la presencia de los puentes dicéntricos.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II normal	784	65,7

Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un fragmento acéntrico	114	8,4
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico	100	9,6
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	42	3,5
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con doble fragmento acéntrico	14	1,2
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos o más puentes dicéntricos	16	1,3
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos puentes dicéntricos más un fragmento acéntrico	2	0,2
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos fragmentos acéntricos y un puente dicéntrico	4	0,3
Tétradas normales/Tétradas aberrantes	108/9	9/0,8
Número total de células observadas	1193	100

Tabla 2. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de *Aloe saponaria*.

Las configuraciones de células en la primera división nuclear en *A. zebrina* (Tabla 3), muestran que la sumatoria de las células en metafase I y las células en anafase o telofase normal, suman un 96,0 % del total analizado, dejando prever una primera división meiótica bastante regular. La anormalidad con mayor porcentaje estuvo representada por la aparición de puentes dicéntricos, principalmente en sanafase I, los cuales fueron observados en 17 oportunidades, representando el 2,6 % del total de las células analizadas.

Tabla 3. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de *Aloe zebrina*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Células en metafase I normal	295	45,0
Anafase/Telofase I normal	334	51,0
Anafase/Telofase I con un fragmento acéntrico	5	0,8
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico	17	2,6
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	1	0,1
Anafase/Telofase I con doble fragmento acéntrico	2	0,3
Anafase/Telofase I con dos o más fragmentos acéntricos más un puente dicéntrico	1	0,1
Número total de células observadas	655	100

Las diferentes configuraciones observadas en la segunda división meiótica de *A. zebrina* se indican en la tabla 4. Se puede resaltar la presencia de puentes cromatídicos como la mayor anormalidad cromosómica, seguidos de la presencia de los fragmentos acéntricos, los cuales

representaron el 4,9 y 1,4 % del total de las células analizadas. Además de las anomalías contabilizadas, se puede apreciar un alto porcentaje de células aparentemente normales (84 %) en las fases meióticas durante la segunda división nuclear. Por otro lado, se observa que todas las tétradas contabilizadas fueron aparentemente normales, representando un 9,6 % del total de las células contabilizadas. Otras configuraciones anómalas como puente dicéntrico más fragmento acéntrico, doble puente dicéntrico y doble fragmento acéntrico fueron visualizadas.

Tabla 4. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de *Aloe zebrina*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II normal	866	83,6
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un fragmento acéntrico	15	1,4
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico	51	4,9
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	3	0,3
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con doble fragmento acéntrico	1	0,1
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos o más puentes dicéntricos	1	0,1
Tétradas normales	99	9,6
Número total de células observadas	1036	100

Las configuraciones meióticas observadas en *A. ammophila*, muestran que el porcentaje de células normales fue apenas de un 30,2 % (Tabla 5), representando el menor porcentaje en la primera división meiótica de las especies estudiadas. Las principales anomalías citológicamente visibles fueron los puentes dicéntricos y los fragmentos acéntricos, aunque otras configuraciones aberrantes fueron registradas, como doble fragmento acéntrico y doble puente dicéntrico. El porcentaje de células en metafase I, donde las anomalías no pueden registrarse con certeza debido al alto grado de condensación y al gran vínculo físico o acercamiento entre los cromosomas, fue de 50,4 % de un total de 387 células contabilizadas, obteniéndose más de un 80 % de meiocitos aparentemente normal entre metafase I hasta telofase I.

Tabla 5. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de *Aloe ammophila*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Células en metafase I normal	195	50,4
Anafase/Telofase I normal	117	30,2
Anafase/Telofase I con un fragmento acéntrico	34	8,8
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico	36	9,3
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	1	0,3
Anafase/Telofase I con doble fragmento acéntrico	1	0,3
Anafase/Telofase I con dos o más puentes dicéntricos	2	0,6
Anafase/Telofase I con dos o más fragmentos acéntricos más un puente dicéntrico	1	0,3
Número total de células observadas	387	100

Las configuraciones meióticas de *A. ammophila* de la segunda división se muestran en la tabla 6. El porcentaje de células en metafase I aparentemente normal alcanza un 63,0 %, mientras que siguen siendo los puentes dicéntricos, junto a los fragmentos acéntricos, las anormalidades que aportan mayor porcentaje. Se registraron además otras células en división con varias aberraciones como la presencia simultánea de puente dicéntrico más fragmento acéntrico en 4 meiocitos, y 6 células meióticas con doble puente. Por otro lado, se puede mencionar que las tétradas aberrantes alcanzan en esta especie 6,6 % de todas las células analizadas, lo que está correspondiendo al número de anormalidades observadas en fases anteriores, ya que muy probablemente las anormalidades que se observan en anafase y telofase, repercuten al final de la citocinesis, conllevando a la formación de tétradas.

Tabla 6. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de *Aloe ammophila*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II normal	421	63,0
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un fragmento acéntrico	35	5,2
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico	57	8,5
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	4	0,6
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con doble fragmento acéntrico	2	0,3
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos o más puentes dicéntricos	6	0,9
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos puentes dicéntricos más un fragmento acéntrico	1	0,15
Tétradas normales/Tétradas aberrantes	122/21	18,2/3,1
Número total de células observadas	669	100

Las configuraciones de las células durante la microsporogénesis de *A. littoralis* se reportan en las tablas 7 y 8, primera y segunda división nuclear, respectivamente. Con respecto a la tabla 7 se puede notar un alto porcentaje de células en metafase, en anafase y telofase normal, dejando ver una primera división bastante regular. Se puede notar la ausencia de otras configuraciones anormales presentes en la microsporogénesis de especies estudiadas anteriormente, como por ejemplo la presencia de anafase o telofase con doble puente dicéntrico. Los fragmentos acéntricos representaron la mayor anomalía, además tres configuraciones anormales en bajo porcentaje fueron registradas. En cuanto a la tabla 8 se puede resaltar un aumento en los porcentajes de puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos con respecto a la primera división nuclear. Otras dos configuraciones anormales fueron reportadas.

Tabla 7. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de *Aloe littoralis*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Células en metafase I normal	181	39,7
Anafase/Telofase I normal	231	50,7
Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Anafase/Telofase I con un fragmento acéntrico	34	7,4
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico	8	1,7
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	1	0,2
Anafase/Telofase I con doble fragmento acéntrico	1	0,2
Número total de células observadas	456	100

Tabla 8. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de *Aloe littoralis*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II normal	408	58,5
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un fragmento acéntrico	104	14,9
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico	75	10,7
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	1	0,1
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos o más puentes dicéntricos	1	0,1
Tétradas normales/Tétradas aberrantes	102/7	14,6/1
Número total de células observadas	698	100

Las proporciones de las células analizadas en la primera división nuclear en *A. jacksonii*, se muestran en la tabla 9. En ella se puede observar que casi un 40 % de las configuraciones presentó alguna anomalía y poco más de un 60 % resultaron ser células aparentemente normales en las distintas fases que comprende el proceso de división. Deja ver además que las anomalías con mayor frecuencia fueron los puentes cromatídicos y los fragmentos cromosómicos.

Tabla 9. Proporciones de células analizadas en la meiosis I de *Aloe jacksonii*

Células en metafase I	48	21,1	
Anafase/Telofase I normal	92	40,5	
Anafase/Telofase I con un fragmento acéntrico	37	15,4	C
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico	35	16,3	on
Anafase/Telofase I con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	9	4,0	resp
Anafase/Telofase I con doble fragmento acéntrico	2	0,9	ecto
Anafase/Telofase I con dos o más puentes dicéntricos	4	1,8	al
			anál
			isis
Número total de células observadas	227	100	de

la segunda división meiótica durante la microsporogénesis en *A. jacksonii*, se puede mencionar que solo el 28 % de las células totales representaron configuraciones aparentemente normales (Tabla 10). En la tabla además se observa que casi un 10 % del total de células contabilizadas fueron tétradas aberrantes. Configuraciones meióticas severas como la presencia de doble puente cromatídico, doble fragmento acéntrico o la presencia simultánea de estas últimas anomalías mencionadas, son observadas al menos diez veces cada una, representando casi un 15 % del total analizado. Finalmente se puede apreciar que al igual en la meiosis II, los puentes cromosómicos y los fragmentos acéntricos, representaron las anomalías cromosómicas observadas con mayor frecuencia durante la segunda división nuclear en la microsporogénesis de *A. jacksonii*.

Tabla 10. Proporciones de células analizadas en la meiosis II de *Aloe jacksonii*.

Configuración de células observadas	Número	Porcentaje (%)
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II normal	151	28
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un fragmento acéntrico	78	14,4
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico	96	17,8
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con un puente dicéntrico más fragmento acéntrico	26	4,8
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con doble fragmento acéntrico	12	2,2
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos o más puentes dicéntricos	14	2,6
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos puentes dicéntricos más un fragmento acéntrico	11	2
Profase/Metafase/Anafase/Telofase II con dos fragmentos acéntricos y un puente dicéntrico	14	2,6
Tétradas normales/Tétradas aberrantes	85/53	15,7/9,8
Número total de células observadas	540	100

Estadios de profase I y el resto de las fases meióticas que comprenden la microsporogénesis

A pesar de que los estadios de la profase I fueron identificados para todas las especies, la caracterización y la apreciación de eventos citológicos de gran importancia que pudieran explicar o representar la causa de posteriores anormalidades en la microsporogénesis, como la forma de apareamiento de los cromosomas homólogos o la presencia de bucles o asas en paquiteno, no pudieron ser visualizados debido al alto grado de aglutinamiento de la cromatina en dichos estadios. Sin embargo, las demás fases de la división fueron identificadas y presentadas en las figuras 4-13. La meiosis aparentemente normal de las especies estudiadas se muestra de forma ascendente desde la metafase I hasta la etapa final de la diacinesis (figuras 4-8). Otras configuraciones anómalas fueron observadas durante el estudio de la microsporogénesis de las especies estudiadas (figuras 9-13). Entre las anormalidades observadas se encuentran los fragmentos acéntricos, de tamaño variable (tabla 12), puentes cromosómicos, migración irregular de los cromosomas y la presencia de cromosomas univalentes en *Aloe jacksonii* (figura 19).

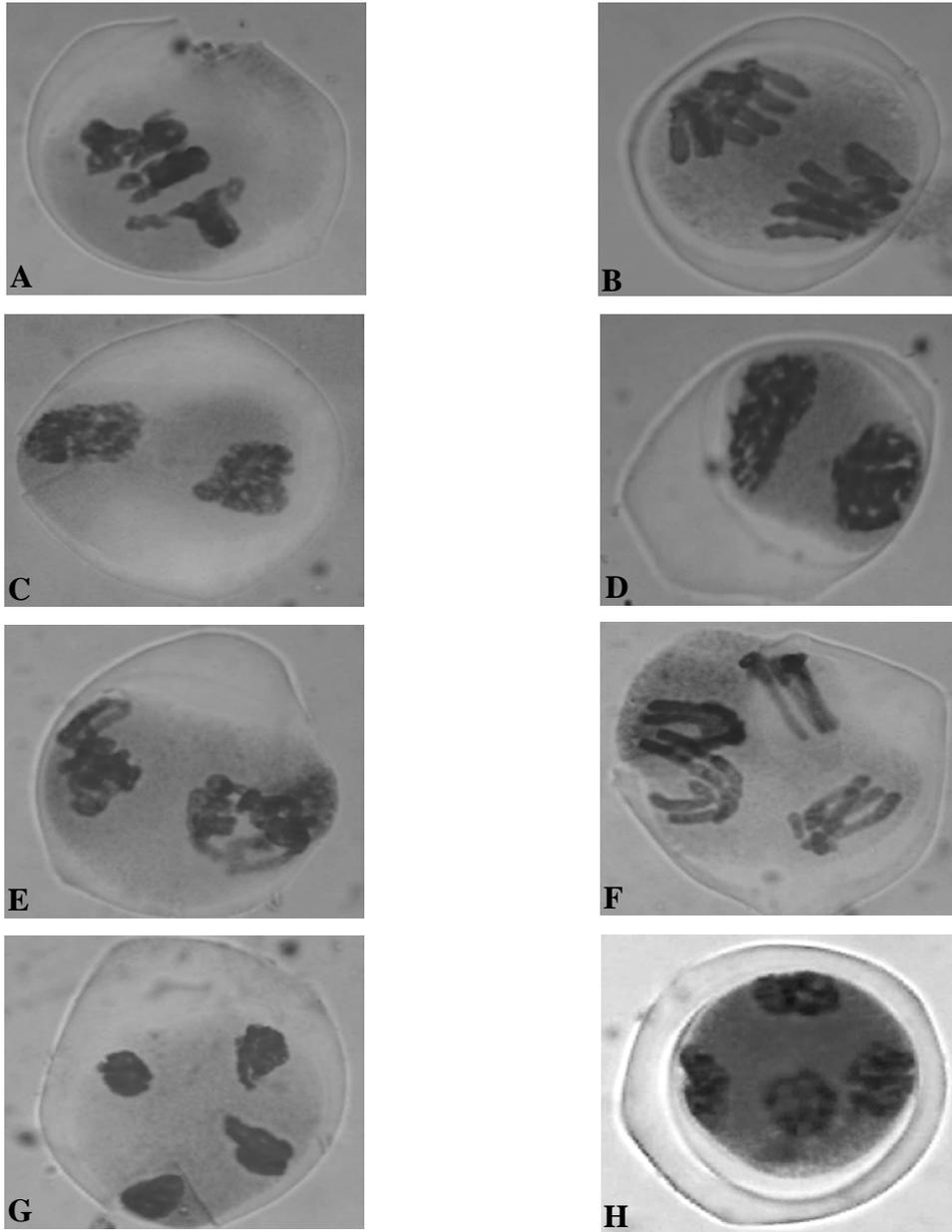


Figura 4. Microsporogénesis aparentemente normal en *Aloe saponaria*. A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.

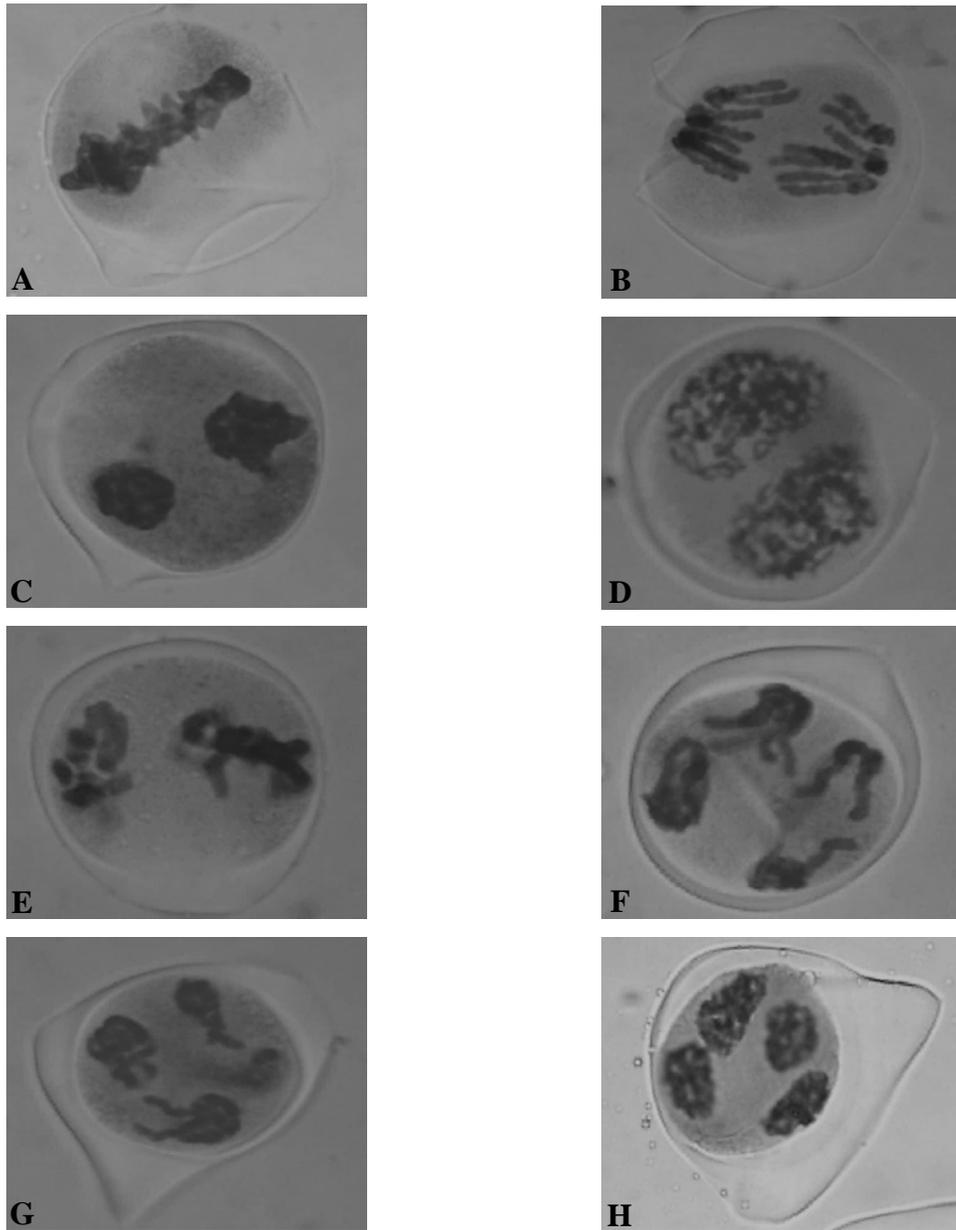


Figura 5. Microsporogénesis aparentemente normal en *Aloe zebrina*. A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.

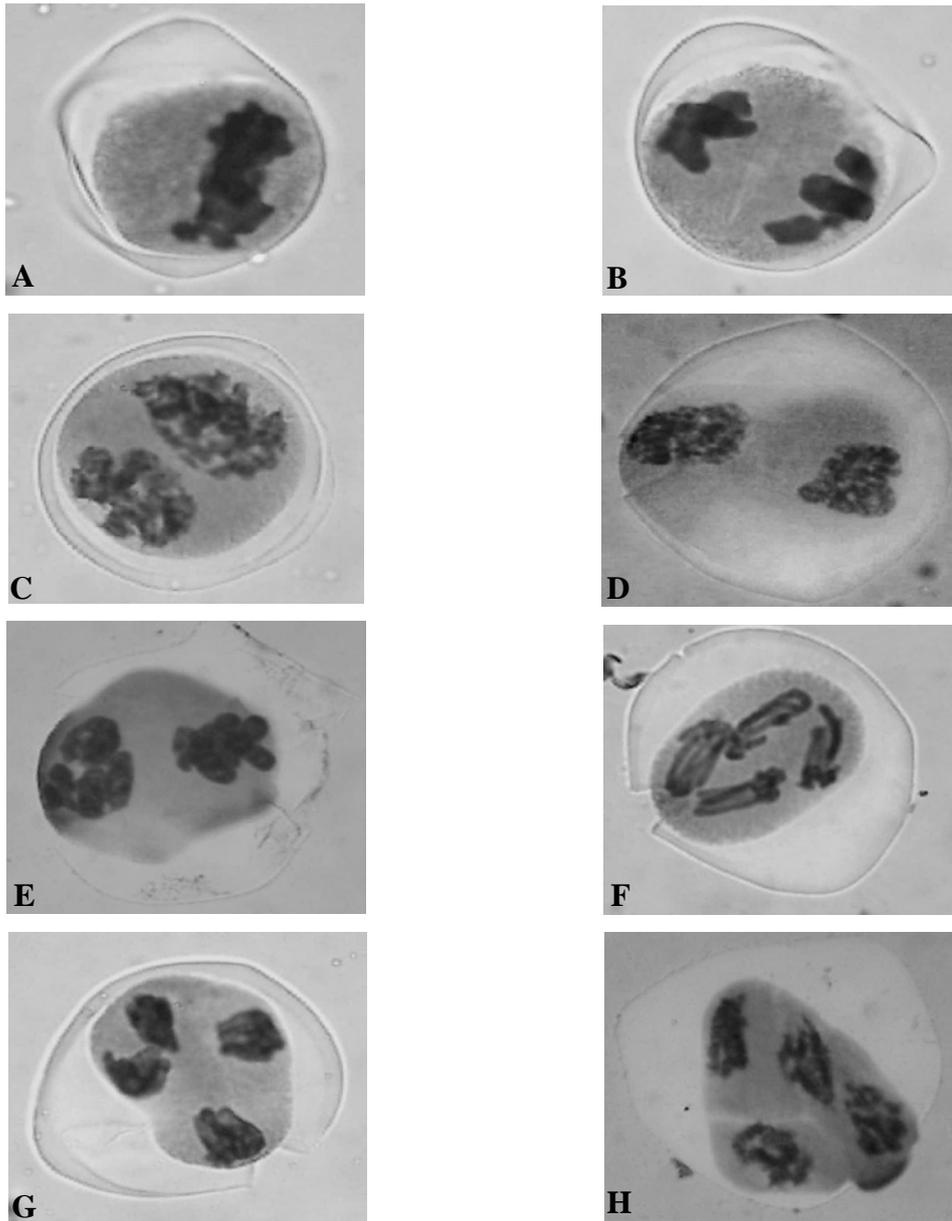


Figura 6. Microsporogénesis aparentemente normal en *Aloe ammophila*. A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.

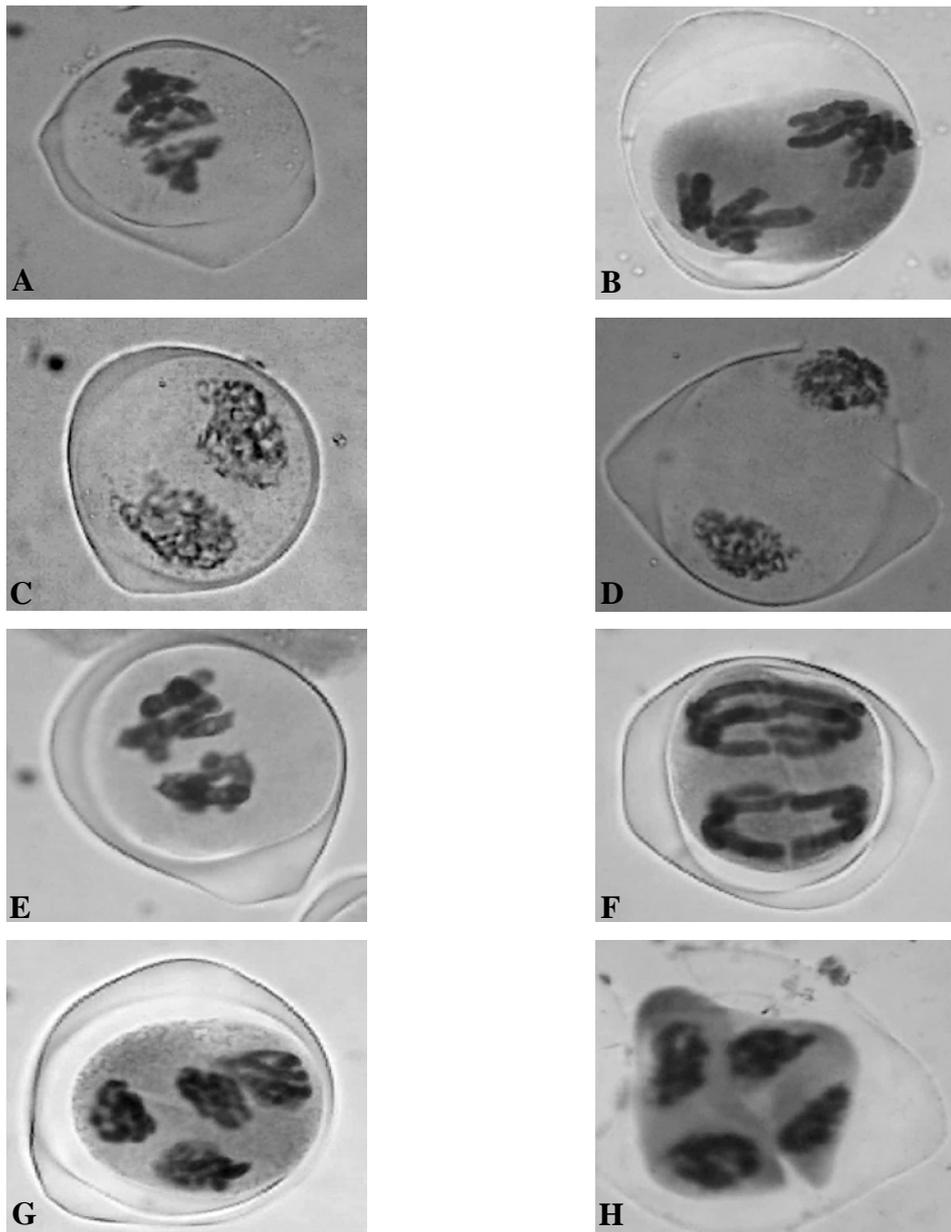


Figura 7. Microsporogénesis aparentemente normal en *Aloe littoralis*. A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. 8) Tétrada.

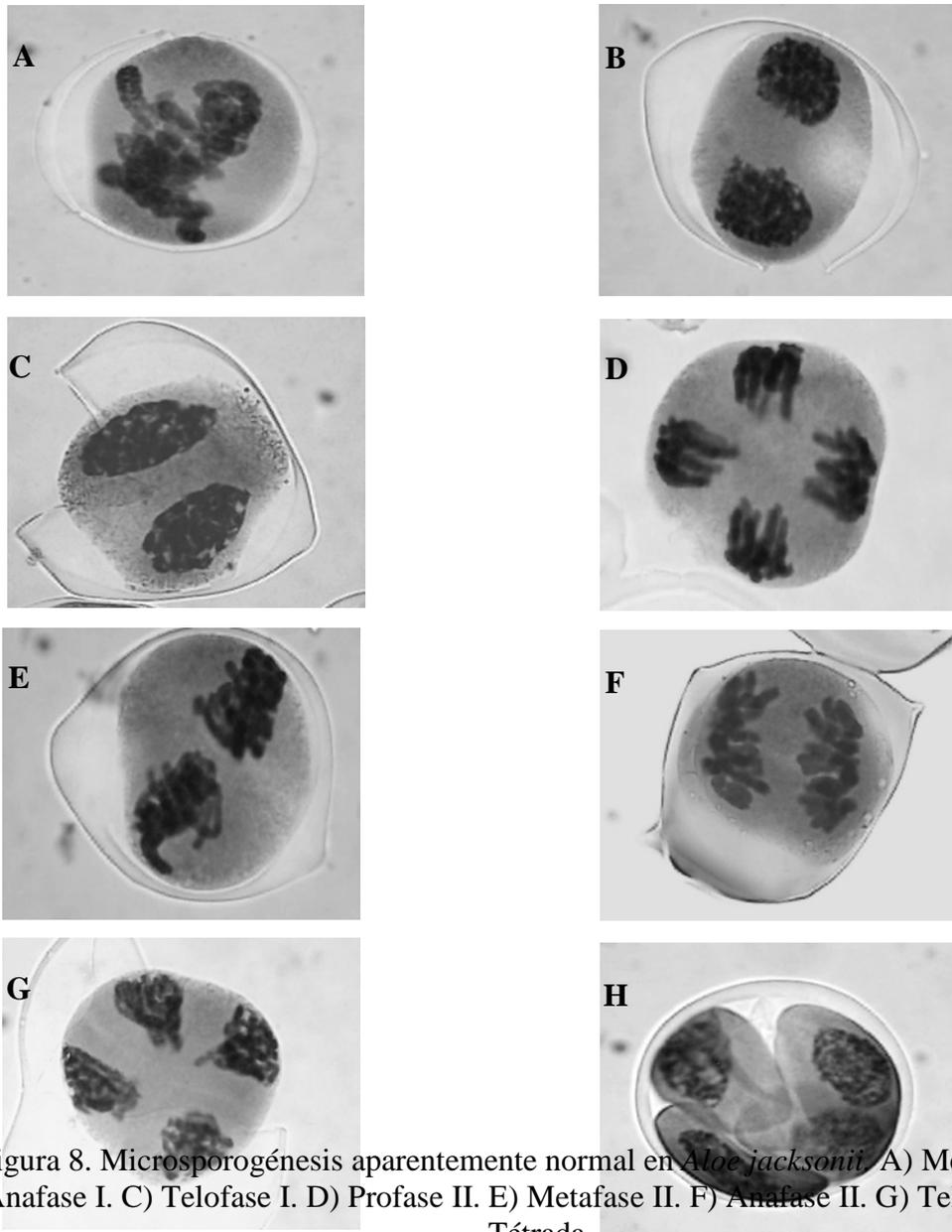


Figura 8. Microsporogénesis aparentemente normal en *Aloe jacksonii*. A) Metafase I. B) Anafase I. C) Telofase I. D) Profase II. E) Metafase II. F) Anafase II. G) Telofase II. H) Tétrada.

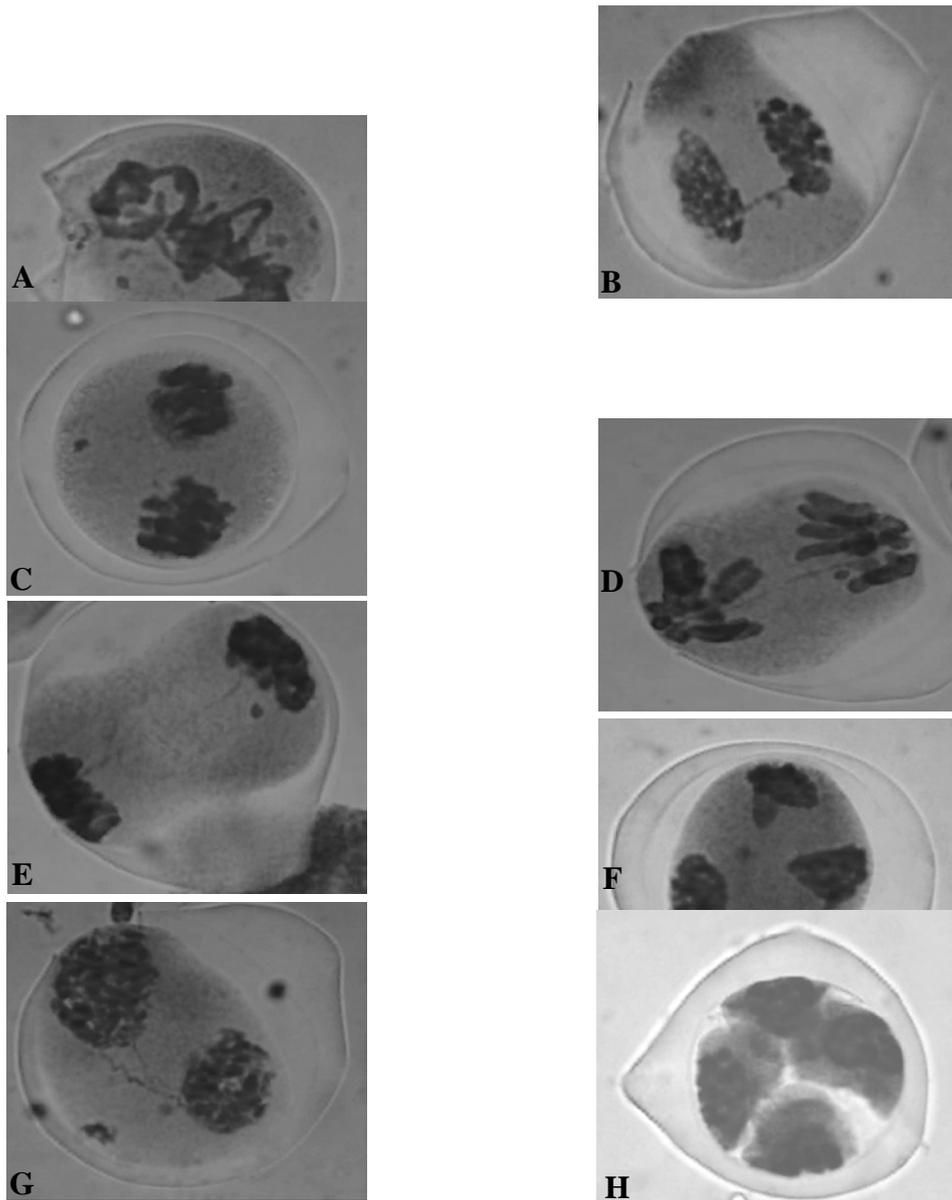


Figura 9. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en *Aloe saponaria*. A) Migración precoz de cromosomas en metafase I. B) Puente más fragmento acéntrico. C) Fragmento en telofase I. D) Anafase I mostrando puente más fragmento. E) Telofase I con puente más fragmento. F) Doble fragmento acéntrico. G) Profase II con doble puente más fragmento. H) Péntada.

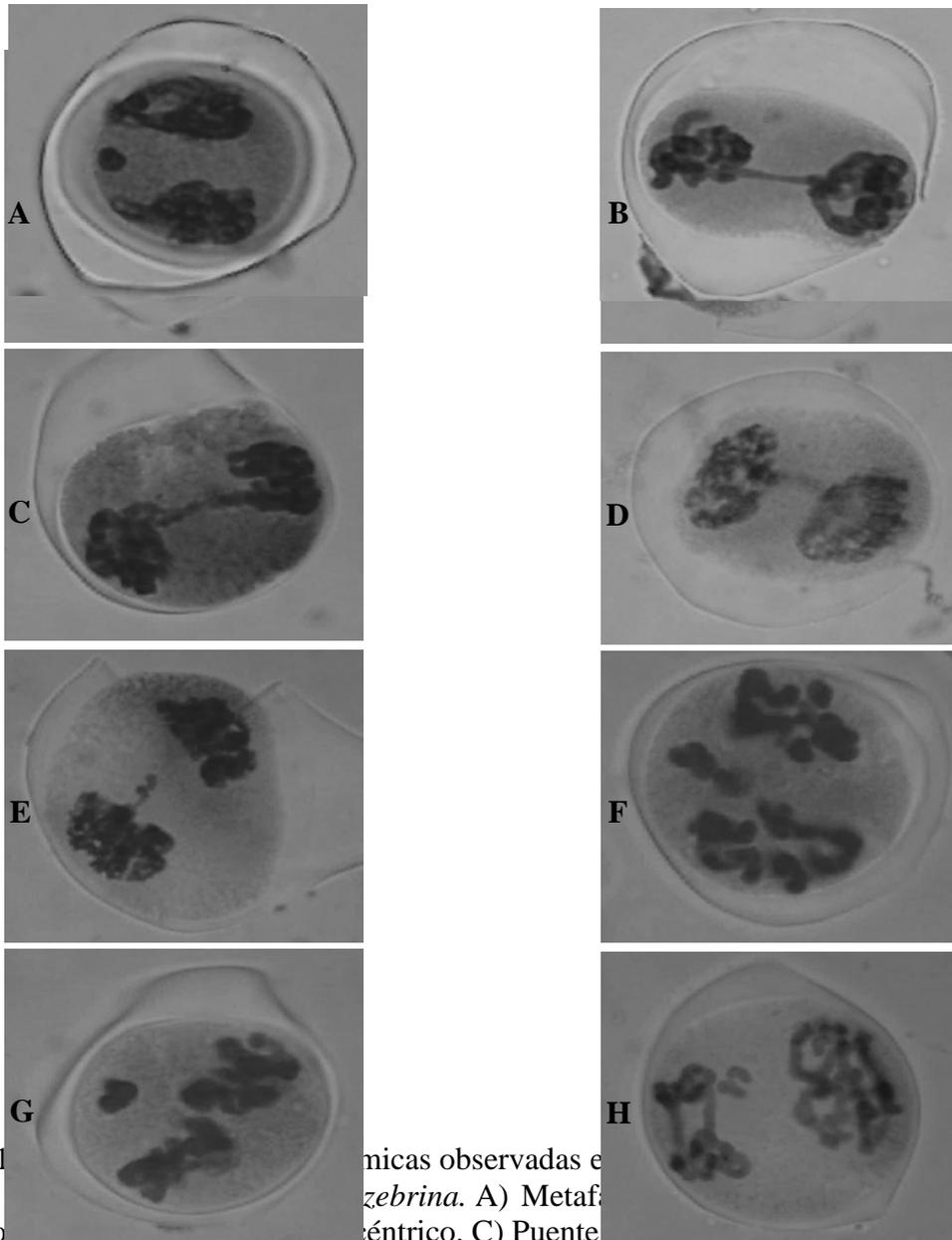


Fig. 1. Abnormalidades cromosómicas observadas en células madre de oocitos de *Danio rerio* (zebrina). A) Metafase I mostrando puente dicéntrico. B) Profase II. C) Profase II mostrando puente dicéntrico. D) Profase II. E) Profase II. F) Metafase II mostrando fragmento acéntrico. G) Metafase II mostrando fragmento acéntrico. H) Metafase II mostrando fragmento acéntrico.

A

B

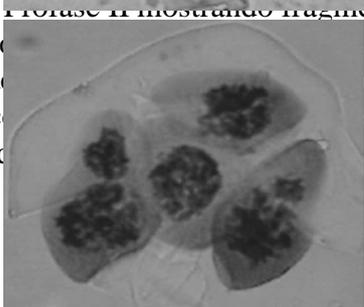
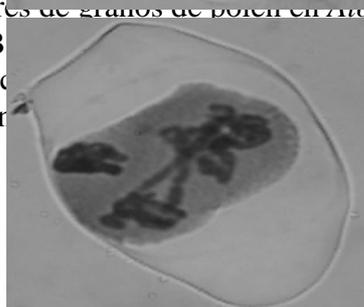
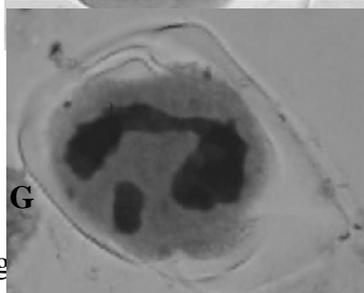
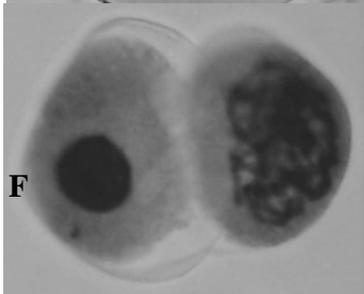
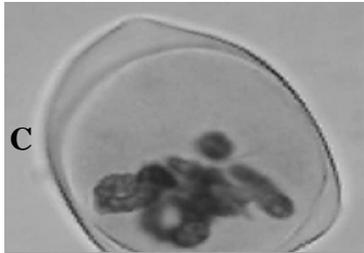


Fig. 1. Anomalías cromosómicas observadas en las células de células madre de granos de polen en *Boe ammophila*. A) Normal metafase II. B) Normal metafase II. C) Fragmento de cromosoma con puente dicéntrico. D) Fragmento de cromosoma con puente acéntrico. E) Fragmento de cromosoma con puente dicéntrico. F) Fragmento de cromosoma con puente acéntrico. G) Fragmento de cromosoma con puente dicéntrico. H) Microspora acéntrica.

A

B

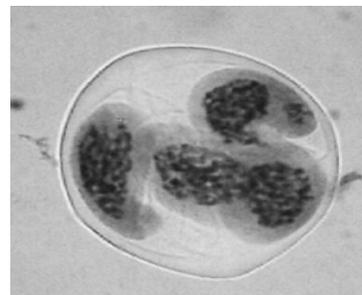
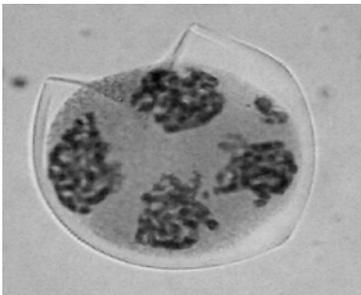
E

F

G

H

Figura 13. Anormalidades cromosómicas observadas en la microsporogénesis de células madres de granos de polen en *Aloe jacksonii*. A) Anafase I con puente cromosómico. B) fragmento acéntrico en profase II. C) Profase II mostrando puente cromatídico más fragmento acéntrico. D) Puente dicéntrico más fragmento acéntrico en metafase II. E) Doble puente cromosómico en anafase II. F) Doble puente cromosómico más fragmento acéntrico en telofase II. G) fragmento cromosómico en telofase II. H) Péntada.



Viabilidad de los granos de polen

La viabilidad de los granos de polen en el medio de agar y sacarosa se determino mediante el registro de la elongación del tubo polínico en las distintas especies de *Aloe* estudiadas (figura 14).

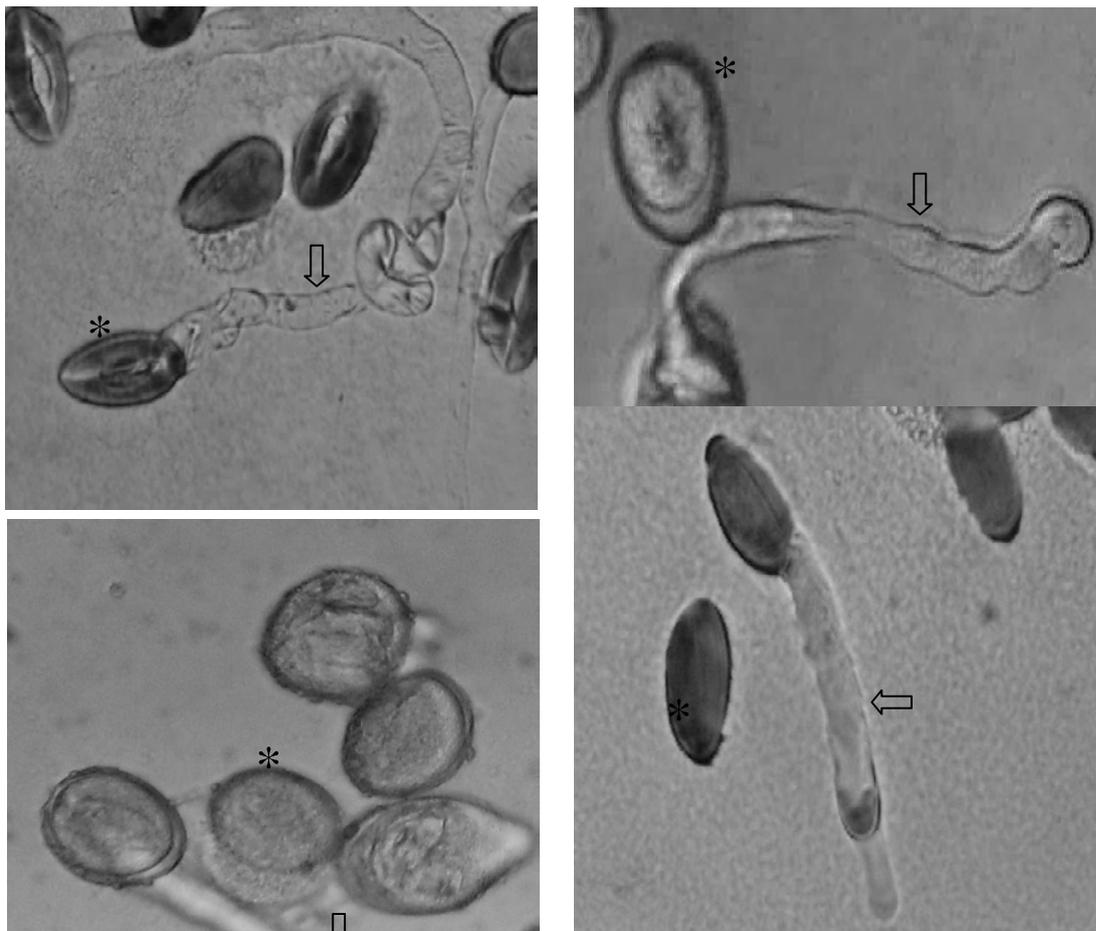


Figura 14. Granos de polen de las especies de *Aloe* estudiadas en cultivos de agar y sacarosa. La flecha muestra el tubo polínico de un grano aparentemente viable, mientras el asterisco (*) señala un grano de polen inviable. A) *A. saponaria*. B) *A. zebrina*. C) *A. ammophila*. D) *A. littoralis*.

Los diferentes porcentajes de viabilidad de los granos de polen se muestran en la tabla 11. La especie con mayor viabilidad de los granos de polen fue *A. zebrina* con 66,3 % de viabilidad. Contrario a esto, *A. ammophila* presentó el menor porcentaje de viabilidad (43,1 %), probablemente asociado al número de anomalías cromosómicas reportadas durante su microsporogénesis (Tablas 5 y 6). La tabla informa también el porcentaje de viabilidad en *A*

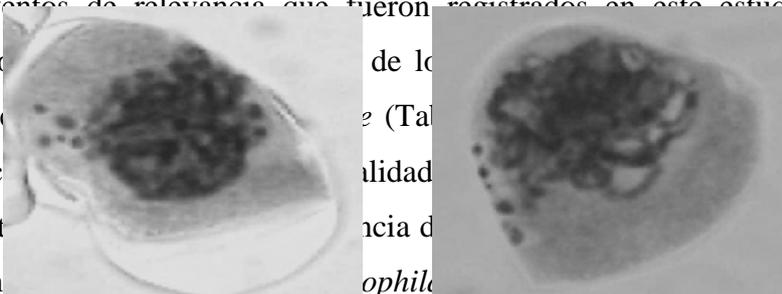
saponaria y *A. littoralis*, los cuales fueron de 48,5 y 55,8 %, respectivamente.

El porcentaje de viabilidad en *A. jacksonii* no pudo ser determinado, debido a una floración muy temporal de esta especie, lo que imposibilitó obtener las muestras para realizar dicho análisis, pero de acuerdo al número de anomalías reportadas en la meiosis, es muy probable que dicho porcentaje sea muy bajo.

Tabla 11. Porcentaje de viabilidad de los granos de polen de las especies de *Aloe* estudiadas.

Especie	Granos contabilizados (n)	Flores analizadas	Porcentaje de viabilidad (%)
<i>Aloe saponaria</i>	5000	22	48,5
<i>Aloe zebrina</i>	5000	26	66,3
<i>Aloe ammophila</i>	5000	31	43,1
<i>Aloe littoralis</i>	5000	20	55,8

Otros eventos de relevancia que fueron registrados en este estudio, se encuentran relacionados con el análisis de la microsporogénesis de *A. jacksonii* (Tabla 12). Otro evento de importancia es la presencia de cromosomas univalentes, fueron registrados únicamente en *Aloe ammophila*.



Esta anomalía sólo fue registrada en esta especie y muy probablemente representa un factor que contribuya a la infertilidad a estos organismos.

Tabla 12. Variación del tamaño de los fragmentos cromosómicos observados durante la microsporogénesis de las especies analizadas.

Especies	Promedio del tamaño de los fragmentos cromosómicos
<i>Aloe saponaria</i>	6,5 ± 2,6 μm
<i>Aloe zebrina</i>	7,9 ± 3,6 μm
<i>Aloe ammophila</i>	9,9 ± 1,8 μm
<i>Aloe littoralis</i>	7,3 ± 1,9 μm
<i>Aloe jacksonii</i>	13,3 ± 5,9 μm

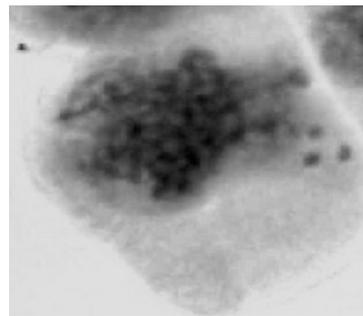
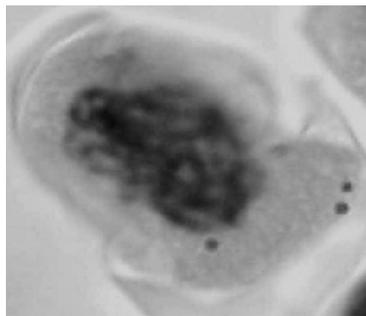
A

B

C

D

Figura 15. Meiocitos en profase I mostrando distintos números de micronúcleos. A) Leptoteno con siete micronúcleos. B) Diploteno con cinco micronúcleos. C y D) Leptoteno con tres micronúcleos.



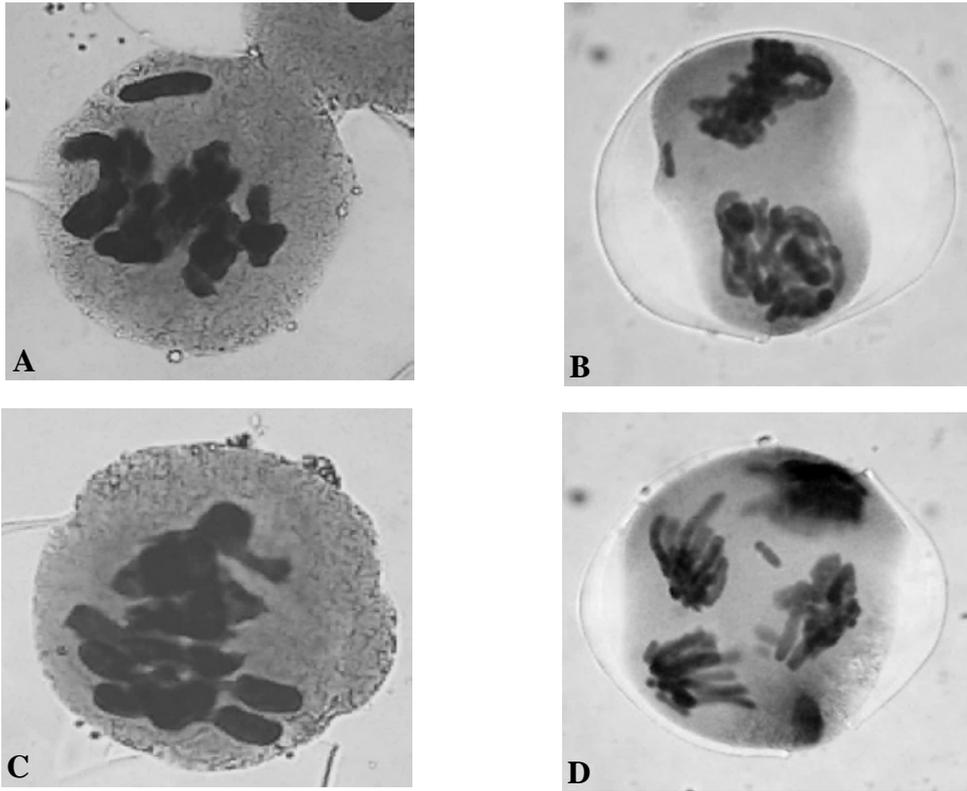


Figura 16. Meiocitos de *Aloe jacksonii* mostrando distintos números de cromosomas univalentes. A) Cromosoma univalente en metafase I. B) Cromosoma univalente en metafase II. C) Dos cromosomas univalentes en metafase I. D) Cromosoma univalente en anafase II.

DISCUSIÓN

Durante el análisis de la microsporogénesis en las especies estudiadas se pudo observar las diferentes configuraciones cromosómicas, aparentemente normales, relacionadas con el proceso de división nuclear, así como otros eventos irregulares asociados a fallas en alguno de los pasos que lo constituyen. Aunque no fue cuantificado, un suceso que se mantuvo conservado en todas las especies analizadas fue la segregación irregular de los cromosomas en metafase I (figuras 9A, 10A, 12A). Las metafases en la primera división de las especies estudiadas generalmente presentaron un alto grado de aglutinamiento de la cromatina y escasa resolución al microscopio, lo que impidió la observación certera de eventos anormales en dicho estadio, razón por la cual las metafases I registradas en este estudio, no fueron separadas en normales y anormales, sin embargo la migración fue observada en estas especies, y es un hecho que puede tener un impacto negativo en la fase final de la microsporogénesis.

La segregación exacta de los cromosomas durante la primera división meiótica requiere que los cromosomas homólogos se apareen y recombinen correctamente para de esta manera formar los bivalentes. Alguna falla para experimentar el apareamiento y recombinación tendrá como resultado la segregación inexacta en anafase (Franklin y Cande, 1999). Diversos autores han reportado fallas asociadas a la segregación cromosómica durante la evaluación de la microsporogénesis en diversas especies vegetales. Con respecto al género *Aloe*, la segregación anormal de cromosomas, entre otras fallas, fue evidenciada por el desplazamiento precoz de cromosomas pequeños en metafase I durante el estudio meiótico en *A. vera* (Imery y Cequea, 2002). De igual forma, la presencia de uno o más cromosomas rezagados durante anafase I, fue observada en la microsporogénesis de *Agave tequilana* (Ruvalcaba-Ruiz y Rodríguez-Garay, 2002) y *Vriesea* y *Aechmea* (Palma-Silva y cols., 2004).

Fallas en cuanto al vínculo físico de los componentes necesarios para que ocurra la migración de los cromosomas pueden generar un desplazamiento anormal de los mismos. Algunos cromosomas que no se unen al huso acromático producen la segregación anormal en anafase (Vargas y cols., 2008). En este sentido, Seijo (2000) sostiene que cromosomas que quedan rezagados en la primera división, puedan deberse a fallas en la unión de los

cinetocoros a las fibras del huso, presentando un comportamiento independiente al resto de los cromosomas que integran los núcleos.

Según Mendes-Bonato y cols. (2006), el huso está representado por una superestructura compleja de proteínas, la cual se ensambla a partir de microtúbulos dinámicos y microtúbulos motores que finalmente generan la fuerza que le permiten al huso llevar a cabo el desplazamiento de los cromosomas hacia los flancos de las células. Durante una meiosis normal, el huso genera las fuerzas para mantener y segregar a los cromosomas homólogos hacia las células hijas (Franklin y Cande, 1999). Por esta importante función del huso acromático durante el proceso de división nuclear, alguna falla relacionada a su ensamblaje o funcionamiento traerá como consecuencia anomalías en la segregación cromosómica que posteriormente pueden tener un impacto negativo sobre el producto final de la división.

Otras causas que se han mencionado para la explicación de la presencia de fallas cromosómicas durante procesos de división nuclear, son las condiciones ambientales. Un estudio citogenético realizado en Soya, reveló discrepancia en el porcentaje de anomalías meióticas, incluyendo la mala segregación cromosómica, entre plantas que crecieron en diferentes condiciones ambientales (Palmer y cols., 2000). Los autores señalan que las especies analizadas crecieron en dos ambientes contrastantes y que las altas temperaturas presentes en Iowa (EE.UU.) parecieron aumentar la frecuencia de aberraciones meióticas, con respecto a aquellas que crecieron en una localidad de China.

El efecto de factores climáticos, como la temperatura, sobre los procesos de división nuclear ha sido demostrado en diversos grupos de plantas. En gimnospermas, un estudio sobre *Abies sibirica* o abeto siberiano, una conífera que habita en clima frío y en suelos húmedos en montañas o ríos, reveló que las fluctuaciones de la temperatura en los distintos meses del año probablemente generaron, entre otras aberraciones, incorrecta división cromosómica. En plantas evaluadas durante la época seca del verano se registraron mayor número de anomalías; mientras que se observó un descenso de las mismas para las temporadas frescas de primavera donde se registra un declive en los grados centígrados del lugar (Bazhina y cols., 2008).

Imery (2007) señala en el estudio sobre inestabilidad cariológica durante la formación de células madres de granos de polen en *Aloe vera*, que las condiciones de estrés ambiental presentes en la zona de estudio como; elevadas temperaturas, radiación solar y escasez de

humedad, características de los bosques xerófilos de la península de Araya, estado Sucre, promovieron cambios fisiológicos importantes que generaron la inestabilidad cromosómica de la especie en estudio. El autor señala que estas condiciones ambientales pudieron promover el aumento en la concentración de algunas sustancias propias de la planta y alteraron la división normal de las células madres de los granos de polen en dicha especie.

Un estudio meiótico realizado en diferentes temporadas de distintos años en híbridos interespecífico del género *Brachiaria*, mostró variación con respecto a la frecuencia de anomalías durante la división nuclear. Las condiciones en las zonas de estudio en cada muestreo presentaban variaciones en la temperatura, humedad y horas de exposición al sol. Las condiciones climáticas específicas durante la colección de las muestras podrían explicar las distintas frecuencias de anomalías observadas ya que dichas circunstancias pudieran estar afectando el funcionamiento de algunos genes que controlan la meiosis (Fuzinato y cols., 2008).

En el caso particular de este trabajo, las especies estudiadas forman parte de un banco de germoplasma que se encuentra ubicado en un bosque seco del sureste de la ciudad de Cumaná, caracterizado por altas temperaturas, escasez de agua y elevada radiación solar, lo que potencialmente pudo estar afectando, entre otros procesos la segregación cromosómica.

Una fuente que también es citada para explicar la migración anormal de los cromosomas está referida al cariotipo de las especies. Plantas con cariotipos asimétricos con uno o más pares de cromosomas grandes, eventualmente pueden generar apareamientos desiguales de cromosomas grandes y pequeños, propiciando la migración precoz de estos últimos, aún sin completar la disolución de los quiasmas en aquellos de mayor tamaño (Imery, 2000).

Las especies analizadas en este trabajo, al igual que la mayoría de las especies pertenecientes a la familia Aloaceae, presentan un cariotipo $2n=2x=14$, caracterizado por una distribución bimodal con cuatro pares de cromosomas grandes y tres pequeños (Brandham, 1990). Esta característica de las especies estudiadas puede, en parte, incidir en la segregación de los cromosomas en ambas divisiones meióticas, provocando la migración precoz de los cromosomas pequeños y el estado rezagado en los de mayor tamaño.

El origen de fallas en la segregación cromosómica puede ser diverso y su efecto puede alterar la fertilidad de los gametos ya que, probablemente, se formen gametos desbalanceados en cuanto al contenido de ADN en sus núcleos, presentando células hijas con material cromosómico extra, y otras que por el contrario, tendrán deficiencias de zonas génicas necesarias para el desarrollo del embrión (Techio y cols., 2006).

Otra anomalía comúnmente observada en estudios meióticos, son los puentes cromatídicos. Fueron descritos desde los primeros estudios realizados en *Trillium hageae*, *Paris verticillata* y *Secale cereale* (Imery y Cequea, 2002). Estos se describen a menudo como una conexión entre los grupos de cromosomas ubicados en diferentes polos de la célula. Se observan generalmente en anafase y telofase. Esta aberración se reportó en todas las especies analizadas en este trabajo y junto con la presencia de fragmentos acéntricos, fueron las anomalías más frecuentes en ambas divisiones meióticas para las cinco especies de *Aloe*.

Para tratar de explicar la aparición de dichos puentes durante la meiosis masculina, es necesario estudiar diferentes causas que pudieran estar originándolos. Muchos autores han presentado algún grado de divergencia al momento de determinar la causa que está generando esta anomalía. Principalmente la ocurrencia de cromosomas pegajosos y mutaciones cromosómicas estructurales, han sido planteadas; sin embargo, otros investigadores se han orientado hacia distintos eventos para tratar de explicar la presencia de dichos puentes.

La pegajosidad en los cromosomas es caracterizada por un intenso aglutinamiento de cromatina durante alguna fase del ciclo celular. El grado de pegajosidad es muy variado, desde moderado hasta severo, manifestándose, para los diferentes casos, eventos citológicos particulares. Entre los eventos que pueden ocurrir se encuentran; aglutinamiento de los cromosomas y la formación de puentes cromosómicos. En las especies de *Aloe* analizadas, un alto grado de aglutinamiento fue observado en los estadios de la profase I, causado probablemente por la pegajosidad en los cromosomas, lo que impidió la visualización certera de los apareamientos entre homólogos en diacinesis. En cuanto a la formación de puentes cromosómicos, un estudio meiótico en *Brachiaria decumbens*, mostró una alta frecuencia de cromosomas pegajosos, principalmente en ambas anafases meióticas, conllevando a la formación de puentes cromosómicos cuando dicha pegajosidad involucraba unos pocos cromosomas (Mendes-Bonato y cols., 2001).

En otro estudio meiótico en algunas especies de *Avena* realizado en Irán, los cromosomas pegajosos fueron observados desde las etapas tempranas de profase I hasta las etapas finales de la meiosis en muchas de las especies estudiadas, siendo esta condición la principal causa de la presencia de puentes cromatídicos en anafase I y II así como en telofase I y II (Sheidai y cols., 2003). El origen de esta anomalía en la cromatina de diferentes especies de plantas, la cual conlleva a la formación de puentes, es principalmente atribuido a factores genéticos y ambientales (Nirmala y Rao, 1996). Sin embargo, otros investigadores sugieren que una interacción genética-ambiental es el verdadero motivo que explica la presencia de cromosomas pegajosos en diferentes plantas (Baptista-Giacomelli y cols., 2000). Por otra parte, no solo los factores genéticos y ambientales, temperatura principalmente, o la interacción entre ellos pueden causar un aglutinamiento de la cromatina para provocar pegajosidad en los cromosomas, otros agentes también han sido reportados como posibles causantes de esta aberración.

Estudios en cultivares de maíz ubicados en los suelos de las sabanas brasileras, donde la saturación de aluminio es naturalmente alta, reportaron una elevada frecuencia de cromosomas pegajosos en los microsporocitos, sugiriendo el autor que ese exceso de aluminio en el suelo afectó la naturaleza de la cromatina, ocasionando pegajosidad en los cromosomas (Caetano-Pereira y Pagliarini, 1995).

Los efectos de elementos químicos, principalmente metales pesados, sobre el material genético han sido determinados en algunos estudios meióticos. Un estudio comparativo del potencial genotóxico de cadmio y mercurio en mitosis y meiosis de especies del género *Glycine*, reportó diferentes anomalías en ambas divisiones nucleares. Particularmente en el análisis meiótico realizado en la Soya, fue precisamente la pegajosidad en los cromosomas la anomalía prominente inducida por ambos metales, la cual se observó, principalmente, en la metafase y anafase de ambas divisiones nucleares (Kumar y Rai, 2006).

Otro estudio que pone de manifiesto el efecto de compuestos químicos sobre la división meiótica fue el realizado por Rezanejad (2007), en donde se determinó el efecto de la contaminación del aire sobre la microsporogénesis, además de otros procesos biológicos, en *Spartium junceum*. Esta investigación asoció la presencia de dióxido de nitrógeno, dióxido de carbono y dióxido de azufre en las anteras, con las diferentes aberraciones encontradas tanto en los meiocitos como en la estructura del tapete y de la exina o superficie externa de los

granos de polen. Particularmente en la meiosis se reportaron un conjunto de anomalías que, en su mayoría, conllevaron a la formación de tétradas aberrantes.

Como se mencionó anteriormente el origen de las anomalías meióticas pueden ser diversos. En el caso de las especies de *Aloe* estudiadas en este trabajo, no se descarta la posibilidad de que el exceso de algún elemento químico en el suelo del área de estudio o inclusive contaminantes transportados por el aire, pudieran estar alterando la naturaleza de la cromatina, generando así cromosomas pegajosos que a su vez originen los puentes cromatídicos. Sin embargo, no solo los factores antes descritos pueden actuar como fuente potencial de puentes cromatídicos en la microsporogénesis de las especies analizadas, sino, como se dijo antes, mutaciones de tipo estructurales pudieron de igual manera ser responsables de esta anomalía.

Otra causa que puede explicar la presencia de puentes cromosómicos son mutaciones en el gen que cumple la función homóloga del gen *SKP1* en levaduras. En *Arabidopsis thaliana*, probablemente una mutación en el gen *ASK1* similar al *SKP1*, dificultó remover o degradar algunas proteínas requeridas para la asociación entre homólogos en profase I (Consiglio y cols., 2003). En las especies de *Aloe* analizadas, pudieron estar ocurriendo mutaciones en genes con similar función al *SKP1*, que favorecieron a la formación de figuras las citológicas conocidas como puentes cromatídicos o cromosómicos.

Los puentes cromatídicos en las especies del género *Aloe*, son anomalías que han sido descritas en diversas investigaciones. En un estudio realizado por Brandham (1971), se analizaron más de cien especies del género *Aloe*, reportándose en muchas de ellas, la presencia de puentes cromatídicos, vinculados a fragmentos cromosómicos, los cuales el autor catalogó con diferentes nombres, basándose en la forma citológica descrita por dichos fragmentos. En este estudio el autor no realizó un análisis detallado del comportamiento de los cromosomas meióticos, ya que este formaría parte de futuras publicaciones. El estudio estuvo basado principalmente en la importancia taxonómica de la formación de puentes tipo “E” en la anafase I meiótica de las especies estudiadas. Sin embargo, en un estudio previo, el autor concluyó que la ocurrencia de este tipo de puentes, especialmente en alta frecuencia, proporcionaba una fuerte evidencia de que las plantas que presentaban dicho rasgo citológico tenían un origen híbrido reciente.

Otro estudio en plantas de *Aloe macrocarpa* fue realizado por Akinyele (2007), en donde reporta una mutación estructural, específicamente la ocurrencia de una delección en un segmento en uno de los cromosomas grandes, lo que conllevó a la reducción del porcentaje de germinación del polen, fallas en las flores para formar frutos y aborto de los frutos antes de alcanzar la etapa de maduración, quedando evidenciado el efecto negativo de las anomalías cromosómicas sobre la reproducción sexual de estas plantas.

Imery y Cequea (2002) en el estudio de la microsporogénesis de *A. vera*, igualmente observaron puentes dicéntricos vinculando los diferentes grupos de cromosomas que posteriormente formarán los núcleos de las microsporas. Los autores señalan que la presencia de varias anomalías cromosómicas han sido reportadas en diversas especies vegetales, generalmente en especies con cariotipos muy asimétricos. En este trabajo los autores no descartan la posible ocurrencia de mutaciones estructurales, pero a cambio de delecciones, como las reportadas en *Aloe macrocarpa*, se plantea la ocurrencia de una inversión paracéntrica heterocigótica que explica la presencia de las anomalías meióticas reportadas, entre ellas los puentes cromosómicos. Sostienen que el apareamiento que se da entre el cromosoma que presenta la inversión y su homólogo, implica la formación de un bucle o asa de inversión, dentro de la cual deben ocurrir recombinaciones que generan los puentes dicéntricos (hilos finos de cromatina vinculado a dos centrómeros) y fragmentos acéntricos (segmentos cromosómicos desvinculados totalmente a centrómeros) observados en meiosis I.

De existir una inversión paracéntrica heterocigótica, recombinaciones simples entre dos cromátidas o dobles entre tres cromátidas dentro del asa de inversión, así como recombinaciones de manera simultánea dentro y fuera del asa, involucrando dos o cuatro cromátidas, producen puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos que reducen en un 50% la fertilidad del gameto. Igualmente, las recombinaciones dobles entre cuatro cromátidas dentro del asa de inversión generan puentes dicéntricos dobles y dos fragmentos acéntricos que provocan la completa esterilidad de los gametos (Imery y Cequea, 2002).

La principal evidencia de que ha ocurrido una inversión paracéntrica heterocigótica es la presencia del bucle de inversión en paquiteno. Esta figura citológica fue observada en un estudio sobre la microsporogénesis en *Tridax procumbens*. En este trabajo se observaron anomalías como puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos en anafase I y II, puentes

dicéntricos en metafase II y de cinco a siete microsporas en la etapa de las tétradas, indicando que estas plantas fueron heterocigóticas para una inversión paracéntrica que pudo involucrar uno o más cromosomas homólogos. Todas estas aberraciones, muy probablemente, fueron las responsables de la reducción en el porcentaje de la fertilidad para estas plantas, debido a la formación de gametos genéticamente anormales al final de la microgametogénesis (Cequea y cols., 2003).

En *Agave tequilana* también se ha citado la presencia de inversiones paracéntricas para explicar las anormalidades cromosómicas observadas durante la división meiótica. Células con fragmentos acéntricos vinculados o no al puente y células que solo presentaban fragmentos fueron visualizadas. Los autores además sugieren que otro tipo de aberraciones cromosómicas estructurales, como deleciones y duplicaciones, pudieron estar ocurriendo, las cuales se reflejaron en la baja viabilidad del polen de las plantas analizadas (Ruvalcava-Ruiz y Rodríguez-Garay, 20002).

Alstroemeria andina se analizó desde el punto de vista citogenético para intentar determinar posibles anormalidades meióticas durante la formación de las tétradas, reportándose una alta frecuencia de puentes cromatídicos en anafase I, lo que de igual manera fue atribuido a inversiones paracéntricas hetecigóticas. Otras anormalidades como micronúcleos presentes en las microsporas fueron observadas, implicando niveles significativos de gametos desbalanceados en cuanto al material genético. Esto a su vez se asocia con la baja tinción del polen que estuvo cerca del 30 %, por lo que se sugiere una disminución significativa de la fertilidad de los gametos. Finalmente los autores señalan que algunos factores ambientales afectaron drásticamente la estructura de los cromosomas y los mecanismos de control genético de la meiosis. Sugieren que la división celular fue perturbada por la contaminación natural de la tierra, probablemente por su proximidad a un lecho mineral, ya que las plantas estudiadas fueron muestreadas de una población ubicada en una región montañosa donde se llevan a cabo proyectos de exploración minera en la república Argentina (Sanso y Wulff, 2007).

Estudios meióticos llevados a cabo en plantas cuya población natural se ubican en regiones cercanas a industrias o con alta actividad automotriz han arrojado, entre sus resultados, los efectos negativos que la contaminación del aire o suelo pueden causar sobre el ADN de las especies vegetales que se desarrollan con estas características. De allí que

estudios citogenéticos realizados en células en división nuclear sirvan como indicadores o puedan corroborar cierto grado de contaminación en determinada área. Cabe destacar que las plantas de *Aloe* estudiadas en este trabajo se conservan en una región donde el tráfico automotriz es muy reducido y además se encuentra apartada de la zona industrial, por lo que los niveles de contaminación de son muy bajos. No obstante, el bosque seco donde se encuentra ubicado este banco de germoplasma, ha presentado un notable aumento en la actividad de la construcción, de donde pueden provenir pequeñas partículas minerales como silicatos de calcio y aluminatos de calcio, contenidas en el cemento, que eventualmente pueden ser aerotransportadas hasta el jardín con las especies estudiadas, entrar en contacto con ellas, y junto con otros factores, contribuir para causar alteraciones en el material genético que deriven en anomalías cromosómicas.

Con relación a los fragmentos acéntricos, estos fueron observados, al igual que los puentes cromatídicos, en todas las especies evaluadas e inclusive representó la mayor anomalía en la microsporogénesis de *Aloe saponaria*, *A. ammophila* y *A. littoralis*. Como se mencionó antes, los fragmentos acéntricos pueden resultar de un tipo de recombinación dentro del asa de inversión en paquiteno (Imery, 2001; Cequea y cols., 2003). Cabe destacar que la ocurrencia de inversiones paracéntricas va a generar fragmentos acéntricos del mismo tamaño. Sin embargo los fragmentos observados en este trabajo presentan tamaños diferentes con promedios de $6,5 \pm 2,6 \mu\text{m}$, $7,9 \pm 3,6 \mu\text{m}$, $9,9 \pm 1,8 \mu\text{m}$ y $7,3 \pm 1,9 \mu\text{m}$ para *A. saponaria*, *A. zebrina*, *A. ammophila* y *A. littoralis*, respectivamente (Tabla 12). Por esta razón, se puede proponer que a pesar de que cabe la posibilidad de la ocurrencia de inversiones, también no se descarta la ocurrencia de diversos eventos que eventualmente produjeron este tipo de aberración. Según Imery y Cequea (2002), la frecuente observación de puentes dicéntricos y fragmentos acéntricos de tamaño variable, sugiere, además de la posible ocurrencia de inversiones, la existencia de otras aberraciones cromosómicas que involucren rupturas espontáneas y fallas de recombinación entre cromátidas y cromosomas homólogos.

Seijo (2001) observó fragmentos acéntricos durante la evaluación citogenética de la microsporogénesis de *Lathyrus annuus*. Sostiene que los fragmentos que se observan en la primera división podrían haberse originado por dos motivos, como consecuencia de un entrecruzamiento en un “Loop” o asa de apareamiento durante el paquiteno en el caso de que el individuo sea heterocigoto para una inversión paracéntrica, o por intercambios de tipo “U” por mala resolución de los quiasmas. Sin embargo como consecuencia de estos fenómenos

también se originaría un puente dicéntrico, que no fue observado. Es posible suponer que el fragmento se formara por falla en la reparación de los “nicks”, o roturas espontáneas en los cromosomas, que se producen en paquiteno al momento de la recombinación. Es probable que estas rupturas espontáneas ocurrieran en las especies de *Aloe* analizadas y que la misma falla reportada para *Lathyrus annuus*, fue la causa de fragmentos acéntricos de diferentes tamaños y en número variable presentes en estas especies de *Aloe*, además de explicar la presencia de aquellos meiocitos en donde se observaron fragmentos acéntricos sin puentes cromatídicos.

Las roturas espontáneas pudieran estar explicando además la presencia de otra anomalía que se observó únicamente en *A. ammophila*. La presencia de micronúcleos en esta especie se observó en los primeros estadios de la profase I, principalmente entre leptoteno y diploteno (figura 14); sin embargo, existen otras razones que pueden explicar la presencia de dichos micronúcleos. Esta anomalía fue identificada en un estudio de inestabilidad cariológica durante la formación de células madres del polen en *A. vera* (Imery, 2007), y se atribuyó principalmente a un aumento en la concentración de antraquinonas genotóxicas causado por el estrés ambiental preponderante en la zona de estudio (temperaturas diurnas entre 32,7 y 39,8 °C, elevada radiación solar y escasez de humedad). Es probable que un caso similar se produzca en la división mitótica que antecede a la microsporogénesis de *A. ammophila*, generando así los micronúcleos observados en profase I. Eventualmente estas células madres de granos de polen pueden recibir las señalizaciones celulares para entrar al siguiente paso de la microgametogénesis, heredando meiocitos con micronúcleos en los primeros estadios de la profase I, como fue observado frecuentemente en *A. ammophila*.

Otros investigadores han determinado micronúcleos en fases más avanzadas de la microsporogénesis, así es el caso de micronúcleos observados en ambas telofases meióticas (Mendes-Bonato y cols., 2001; Utsunomiya y cols., 2005; Ricci y cols., 2007; Fuzinato y cols., 2008). Las plantas de *A. ammophila* presentaron los micronúcleos solo en la profase I, por lo que probablemente estos pudieron reordenarse con el resto de los cromosomas y seguir el mismo ciclo de condensación y segregación de los núcleos mayores. Otro evento que pudo ocurrir para no visualizar los micronúcleos en etapas posteriores de la meiosis, es que simplemente fueron solapados por los cromosomas que conforman los núcleos mayores, impidiendo así la observación de los micronúcleos.

Un evento que fue particularmente observado durante la microsporogénesis de *A. jacksonii*, fue la presencia de cromosomas univalentes en diversas fases de dicho proceso. Koduro y Rao (1981) sugieren que la presencia de cromosomas univalentes observados en la profase I, se debe a la presencia de mutaciones en genes sinápticos, que dificultan el proceso de sinapsis e impiden el apareamiento de los cromosomas homólogos. En relación a esto, algunos mutantes sinápticos en *Arabidopsis thaliana* (*Asy1*), generan defectos en la sinapsis de los cromosomas homólogos (Ross y cols., 1997; Caryl y cols., 2000). El gen *Asy1* codifica una proteína homóloga a la *HOP1* en levaduras, la cual es esencial para el ensamblaje del complejo sinaptonémico y la sinapsis normal entre los cromosomas. Por otra parte, una mutación del gen *dmc1* en *A. thaliana*, muestra una pobre formación de bivalentes durante la meiosis masculina (Couteau, 1999). En la especie *A. jacksonii*, mutaciones en los genes encargados de funciones similares a los genes descritos en *A. thaliana*, pudieran ser las responsables de alguna anomalía durante la formación del complejo sinaptonémico y de la formación de bivalentes, que expliquen la presencia de cromosomas univalentes. En *Aloe jacksonii* los univalentes no fueron observados en los estadios de profase I, como señalan Koduro y Rao (1981), debido al alto grado de aglutinamiento de los cromosomas, pero se dejaron ver en fases posteriores (Figura 19). En cuanto al comportamiento general de estos cromosomas, Techio y cols. (2006), sostienen que el comportamiento implica la segregación anormal, migración precoz en metafase y rezagados en anafase, y posteriormente causa la formación de gametos aneuploides.

En *A. jacksonii* la migración irregular quedó evidenciada, ya que estos se lograron observar migrando precozmente en metafase I y rezagados o desorientados tanto en metafase II como en anafase II (fig. 19).

Una condición en las plantas que también propicia la formación de cromosomas univalentes es el nivel de ploidía de las mismas. En un estudio meiótico realizado en el híbrido entre el elephant grass x pearl Millet, se señaló que el nivel de ploidía de estos híbridos, probablemente aumentó la presencia de cromosomas univalentes observados durante la microsporogénesis, los cuales mostraron su comportamiento típico; migración irregular que conllevó a la formación de gametos desbalanceados genéticamente y redujo la fertilidad del polen de estos organismos (Sree, 1972). *A. jacksonii* es una especie de naturaleza tetraploide (Riley y Majumdar, 1979), probablemente esta condición propició la presencia de los univalentes. Sin embargo, más recientemente otras posibles causas se han citado para explicar

la presencia de dichos cromosomas. Ricci y cols. (2007), realizaron un estudio de la microsporogénesis del maíz, en donde observaron la presencia de cromosomas univalentes entre diploteno y diacinesis como resultado de la ausencia de quiasmas en los cromosomas homólogos. En relación a esto Piffer y cols. (2007), en un estudio citogenético en maíz, señalaron que existió una correlación negativa entre el aumento del número de los cromosomas univalentes con la frecuencia de quiasmas de los cromosomas homólogos.

Por otro lado, Ricci y cols. (2007) converge con Sree (1972) y Techio y cols., (2006), en cuanto al comportamiento de los cromosomas univalentes durante los procesos de división nuclear, y añaden que además se pueden formar microcitos y poliadas en las microsporas, durante la etapa de las tétradas, que finalmente reducen el porcentaje de viabilidad de los gametos masculinos. En los análisis realizados a *A. jacksonii*, se puede establecer la relación entre el número de cromosomas univalentes, con la cantidad elevada de pentadas registradas al final de la citocinesis. Probablemente el destino de dichos cromosomas fue la formación de microsporas adicionales con un contenido genómico incompleto, que explica el probable desbalance genético del resto de las microsporas, generando así fallas de fertilidad.

Otra anomalía que fue observada durante las microsporogénesis de las especies de *Aloe*, excepto en *A. zebrina*, fueron las microsporas adicionales en la fase de las tétradas (figuras 10 y 12, H). Como las demás anomalías, la ocurrencia de poliadas también puede ser explicada por diferentes causas. Anteriormente se mencionó la presencia de cromosomas univalentes como una posible causa de poliadas; sin embargo, otras causas pudieran estar generando dicha aberración. La mala orientación del huso acromático en ambas divisiones meióticas en la microsporogénesis de un híbrido interespecífico de *Brachiaria*, provocó que los cromosomas en metafase II y anafases II quedaran dispersos en el plano ecuatorial del meiocito, formándose microsporas adicionales al final de la meiosis, produciendo así, células aberrantes en vez de las tétradas normales (Mendes-Bonato y cols., 2004). De acuerdo con Brown y Lemmon (1992), la posición de los cromosomas en la placa ecuatorial en metafase, determina el plano de citocinesis y el número de células que se formarán. Una dispersión de los cromosomas por mala orientación del huso en metafase traerá como resultado la formación de poliadas con diferentes números y tamaños de microsporas, fraccionamiento del genoma en pequeñas partes y finalmente causará la esterilidad del polen.

En *Brachiaria nigropedata*, se han reportado diferentes números de microsporas

adicionales, atribuidas al comportamiento de los micronúcleos observados en fases meióticas previas. Cuando solo estaban conformados por cromosomas univalentes, estos se mantenían como micronúcleos dentro de la microspora, pero cuando estaban conformados por un grupo de cromosomas fueron asilados como microsporas adicionales de diferentes tamaños generando poliadas (Utsunomiya y cols., 2005). En relación a esto, Imery y Cequea (2002) señalan que los fragmentos cromosómicos presentes en forma individual o vinculados a puentes dicéntricos durante la anafase o telofase conforman, generalmente, micronúcleos adicionales que incrementan el número de microsporas al final de la meiosis y ocasionan deficiencias génicas.

Otras hipótesis son manejadas para tratar de explicar la presencia de microsporas adicionales en la fase final de la microsporogénesis. Los cromosomas rezagados fueron citados en un estudio citogenético en *Vine cacti*, para explicar la presencia de esta anomalía en las tétradas. En dicho estudio la presencia de cromosomas rezagados fue una característica común en anafase I. Es posible que algunos de estos cromosomas, posteriormente en la división, conforman núcleos independientes y, en consecuencia, las poliadas (Tel-zur y cols., 2005).

Algunas mutaciones en genes específicos han sido descritas para tratar de explicar la presencia de poliadas. En condiciones normales se forman cuatro microsporas, lo cual caracteriza el estado de tétradas. Las poliadas también se pueden originar por la mutación de algunos genes. La acción de un gene similar al Dv (divergent), descrito en maíz (Clark, 1940), genera que los husos en anafase I no convergen hacia los polos y los cromosomas se dispersan a lo largo del meiocito; cada cromosoma o conjunto de cromosomas induce a citocinesis adicional, formando poliadas (Caetano, 2003), o por divisiones adicionales de las microsporas en la postmeiosis, sin la replicación del ADN, antes de su liberación de la pared de calosa. Mecanismo semejante se ha descrito en maíz, causado por el gene Po (polymitotic) que provoca mitosis supernumerarias durante la formación de polen. La meiosis puede ocurrir con normalidad, pero las microsporas sufren mínimo cuatro divisiones sin replicación (Caetano y Pagliarini, 1997).

En las especies de *Aloe*, no se aparta que la mala orientación del huso acromático, la presencia de micronúcleos, la migración precoz de cromosomas o algunas mutaciones citológicamente no visibles en el núcleo, puedan originar las microsporas adicionales en la

etapa final de la microsporogénesis. Sin embargo, la alta frecuencia de fragmentos acéntricos registrados en las fases previas de ambas cariocinesis de las microsporas, hace pensar que probablemente estos fragmentos acéntricos se mantuvieron aislados en los meiocitos hasta el final de la división, para finalmente producir una microspora de menor tamaño y genéticamente desbalanceada.

Otro parámetro determinado en las especies de *Aloe* analizadas en este estudio fue la viabilidad de los granos de polen mediante su dispersión en medios de germinación constituidos por una solución de agar y sacarosa. Muchos trabajos han utilizado otros métodos para determinar el porcentaje de viabilidad de los granos de polen. Uno de los más usados es la tinción de los granos con colorantes como acetocarmin, fuscina, azul de anilina, lactofenol, entre otros. Este método tiene la desventaja que en la mayoría de las veces tiñen citoplasmas vivos y muertos, realizándose una sobreestimación de la fertilidad del polen (González y cols., 2002; Imery y Cardenas, 2006). En un estudio sobre la viabilidad del polen en *Prunus armeniaca*, el porcentaje de viabilidad obtenida con el uso de acetocarmin fue, en todas las plantas tratadas, próxima al 100%, apartándose considerablemente de los resultados que se obtuvieron con el método de germinación y crecimiento del tubo polínico (Andres y cols., 1999). Es por esta razón que a pesar de lo rápido y práctico que resultan los métodos de tinción para el estudio de viabilidad del polen, se ha escogido para este trabajo el método de germinación y elongación del tubo polínico, para tratar de obtener un porcentaje de viabilidad más certero.

A pesar que en algunos trabajos el porcentaje de viabilidad en los granos de polen probablemente ha sido sobreestimado mediante el uso de algún método de tinción, en otros la utilización de dichos métodos han otorgado resultados satisfactorios, tal es el caso de un estudio realizado con la finalidad de determinar la viabilidad del grano de una línea de girasol cultivado, en el girasol silvestre *Helianthus annuus*, y en su descendencia híbrida, en el cual se realizó la tinción con el colorante Buffalo Black NBR, según la técnica de Jackson (1988). En este trabajo los autores confirmaron la viabilidad de los granos de polen en los híbridos de forma cualitativa por medio de la germinación del polen así como por la capacidad de estos mismos híbridos de generar poblaciones F₂ (Villareal y cols., 2006). Es por esto que a pesar de la selección en este trabajo del método de germinación de los granos polen para determinar la viabilidad de estos mismos, los métodos de tinción del polen mediante el uso de colorantes no deben ser descartados.

Los porcentajes de viabilidad de los granos de polen que se aprecian en la tabla N° 9, se encuentran directamente relacionados con las anomalías de la microsporogénesis. Diversos estudios han asociado las aberraciones durante la microsporogénesis con el porcentaje final de viabilidad de los granos de polen (Ruvalcaba-Ruiz y Rodrigue-Garay, 2002; Akinyele, 2007).

Un estudio sobre el comportamiento de los cromosomas meióticos en varias especies del género *Laucena*, mostró diferentes porcentajes de viabilidad del grano de polen. El promedio de la viabilidad en la mayoría de las variedades estudiadas fue muy alto, por encima del 90 %. Sin embargo, un híbrido entre los 26 genotipos estudiados presentó un porcentaje de viabilidad menor al 50 %. Estos porcentajes de viabilidad fueron relacionados con los eventos suscitados durante la microsporogénesis, ya que las plantas que presentaron una meiosis regular fueron las que mayor porcentaje de viabilidad arrojaron; mientras que las plantas del híbrido cuyo porcentaje de viabilidad de los granos de polen fue menor, presentó una meiosis irregular con alta frecuencia de anomalías como univalentes, multivalentes, cromosomas pegajosos y puentes cromatídicos (Boff y Schifino, 2002).

Otros estudios han citado una especie de asincronía en la división meiótica que finalmente provoca disminución en la viabilidad polínica. Se ha observado que en algunas especies de dicotiledóneas los dos núcleos resultantes de la primera división meiótica entran asincrónicamente en la segunda (González y cols., 2001), lo cual podría resultar en esterilidad masculina. Esta misma anomalía es reportada por Mendes-Bonato y cols. (2002), quienes la han relacionado con la orientación del huso, cromosomas rezagados y puentes anafásicos que afectan la conformación de las tétradas.

Imery y Cequea (2002), estudiando la microsporogénesis de *Aloe vera*, hallaron baja viabilidad del polen ($39,3 \pm 10,54\%$), relacionándola con las observaciones citológicas anormales como quiasmas persistentes entre homólogos grandes, desplazamiento precoz de cromosomas pequeños, presencia de puentes dicéntricos con o sin fragmentos acéntricos en la meiosis I, así como también la observación de puentes y fragmentos, además de microsporas adicionales, en la meiosis II. Por el contrario, en un estudio realizado en *Paspalum maritimum*, el comportamiento muy regular de los cromosomas y la alta frecuencia de tétradas normales conllevó a un alto porcentaje de tinción de los granos de polen (Adamowski y cols., 1999).

Por otra parte, factores climatológicos han sido utilizados para explicar descenso en la viabilidad del polen de algunas especies. Las condiciones ambientales adversas pueden causar la no funcionalidad polínica (Tanner y cols., 1990; Fernández-Muñoz y cols., 1995) lo que está en dependencia del genotipo. Las fluctuaciones de temperatura inhiben la floración, la producción de polen y su viabilidad, limitando la producción de semillas (Bamberg, 1995).

Un estudio reveló en híbridos interespecíficos de arroz, que las variaciones en la temperatura afectaban negativamente el porcentaje de viabilidad. A medida que la temperatura descendía y se acercaba a los 20 °C, el porcentaje del polen descendió para todas las variedades analizadas. Los autores señalan que durante la iniciación de la meiosis en las células madres de los granos de polen, las plantas de arroz son muy sensibles a las bajas temperaturas, las cuales pueden alterar la correcta división nuclear y generar disminución de fertilidad en el polen (Yang y cols., 2004). Un estudio citogenético realizado en especies de forraje y legumbres a diferentes altitudes en los alpes italianos, reveló que las plantas ubicadas a 2000 m de altitud presentaron el mayor número de anomalías cromosómicas, las cuales se reflejaron en la baja viabilidad de los granos de polen de las pocas flores que llegaron a formarse en esas condiciones (Mariani y cols., 2000).

Cabe resaltar que no solo las anomalías propias de las microsporogénesis van a reducir el porcentaje de fertilidad de los granos de polen, ya que cabe la posibilidad de que una especie que presente una meiosis regular muestre un bajo porcentaje de viabilidad de sus granos de polen. Anomalías postmeioticas también van a tener un efecto negativo sobre la fertilidad del polen. En una investigación realizada en los híbridos de *Leymus mollis* x *Triticum aestivum* se observaron, luego de la meiosis II, algunas microsporas con forma irregular, citomixis, primera división mitótica simétrica y cromosomas o cromátidas dispersas aleatoriamente en el citoplasma de las microsporas. Todas estas aberraciones tuvieron un impacto negativo sobre la viabilidad de los granos de polen en estos organismos (Xing-Feng, 2005).

El bajo porcentaje de viabilidad de los granos de polen en las especies de *Aloe* estudiadas, especialmente *Aloe saponaria* y *A. ammophila*, podría estar relacionado con la alta frecuencia de anomalías reportadas en ellas. Estas especies presentan los menores porcentajes de viabilidad y las frecuencias más altas de anomalías durante la

microsporogénesis. Es posible que estas especies sean más sensibles a las altas temperaturas presentes en la zona de muestreo, lo que pudo ser la causa de un mayor daño al material genético, lo que impidió la observación de las configuraciones meióticas normales, las cuales finalmente propiciaron la disminución de la fertilidad de los granos de polen. No obstante, no se descarta que cualquier otro factor, de los antes expuestos, que conlleve a la presencia de anomalías cromosómicas afecte directamente la viabilidad del polen en estas especies.

A. zebrina y *A. littoralis*, por su parte mostraron los mayores porcentajes de viabilidad, los cuales se relacionan con las bajas frecuencias de anomalías presentes durante la microsporogénesis de cada una de ellas. La no ocurrencia de mutaciones puntuales o estructurales que conlleven a la formación de gametos genéticamente desbalanceados, una resistencia mayor a las condiciones ambientales adversas y una correcta segregación cromosómica avalada por el correcto ensamblaje y funcionamiento del huso acromático probablemente fueron las causas que le permiten a estas especies mostrar los porcentajes de viabilidad más elevados.

A pesar de las anomalías presentes durante la microsporogénesis de las especies estudiadas, se puede observar que la sumatoria del porcentaje de células en metafase I más el porcentaje de células aparentemente normales en la primera división y el porcentaje de las células aparentemente normales en la meiosis II, es mayor al 70 %, exceptuando la meiosis II en *Aloe ammophila*, por lo que a pesar de generar la formación de gametos aberrantes, necesariamente estuvo que estar ocurriendo, paralelamente, otros eventos no asociados a la microsporogénesis que contribuyan a la disminución de la viabilidad de los granos de polen y de la reproducción sexual observada en estas especies. Probablemente sea necesario estudiar los procesos de división mitótica posteriores a la microsporogénesis o evaluar la megasporogénesis en estas especies, para así tratar de determinar otras causas que sumen fuerzas para disminuir la reproducción sexual de las especies. Además no se descarta algún tipo de incompatibilidad gametofítica o esporofítica, como la propuesta por Imery (2001) para *Aloe vera*, que de igual forma impida la reproducción sexual de estas especies del género *Aloe*.

Los estudios citogenéticos han sido realizados desde principios del siglo XX con diversas finalidades; el conocimiento de los procesos de división celular en diversos organismos animales y vegetales, aporte al conocimiento sobre enfermedades genéticas, han

servido para la caracterización genética de germoplasmas, ayudando a la solución de problemas taxonómicos, en estudios evolutivos y desde hace mucho tiempo han sido utilizados en programas de mejoramiento genético en vegetales. En este trabajo se han fusionado algunas de las aplicaciones de la citogenética, ya que generó un aporte al conocimiento de la microsporogénesis de las especies de *Aloe* estudiadas, se describieron los eventos anómalos que en ellas se presentaron, registrándose diferencias en algunos eventos citológicos durante la formación de los gametos masculinos en estas plantas, que de algún modo permiten caracterizar genéticamente estas especies, además de ofrecer información valiosa para la selección de posibles padres que traten de asegurar el éxito de las hibridaciones e incrementar la eficiencia del mejoramiento vegetal, cumpliendo así con uno de los análisis obligatorios antes de emprender algún programa de cruzamiento intra o interespecífico.

CONCLUSIONES

La hora meiótica para las especies analizadas estuvo comprendida entre las 10 y 14 horas del día, mientras que el tamaño de los botones florales con células en división meiótica, igualmente en todas las especies, fue de los 2,6 mm hasta los 7 mm.

La migración irregular de los cromosomas conjuntamente con los fragmentos acéntricos y los puentes cromatídicos, representaron las anormalidades observadas con mayor frecuencia en las especies de *Aloe* estudiadas.

Aloe zebrina presentó la microsporogénesis más regular de las especies sometidas a estudio, al contrario de *Aloe ammophila* en la cual se registró el mayor número de anormalidades cromosómicas.

El porcentaje de viabilidad de los granos de polen se vio reducido en más de un 50 % en *Aloe saponaria* y *Aloe ammophila*, mientras que para *A. zebrina* y *A. littoralis* se redujo en un 30 % y 40 %, respectivamente.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios complementarios como la megasporogénesis o proceso de formación de las megasporas, así como las divisiones sucesivas hasta la formación del gametofito femenino en estos vegetales que puedan generar conocimiento para explicar la escasa reproducción sexual observada en las especies analizadas, estudiar los procesos de división mitótica que sufre el núcleo de la microspora durante la formación de los granos de polen que contribuyan a encontrar otras causas que estén generando la disminución de la viabilidad de los granos de polen.

BIBLIOGRAFÍA

- Adamowski, E.; Pagliarini, M. y Valva, F. 1996. Avaliação do comportamento meiótico em *Boungainvillea sp.* (Nyctaginaceae) de diferentes regiões do Brasil. *Revista Unimar*, 18: 403-412.
- Ahmad, Q.; Britten, E. y Byth, D. 1979. Inversion heterozygosity in the hybrid soybean *Glycine soja*. *The Journal of Heredity*, 70: 358-364.
- Akinyele, B. 2007. Meiotic chromosome behaviour and sexual sterility in two Nigerian species of *Aloe Linn.* *African Journal of Biotechnology*, 22: 2585-2589.
- Andres, M.; Rodríguez, J. y Duran, J. 1999. Viabilidad del polen del albaricoquero (*Prunus armeniaca L.*). *Investigación agrícola de producción vegetal*, 14: 12-19.
- Bamberg, J. 1995. Screening potato (*Solanum*) species for male fertility under stress. *American Potato Journal*, 72: 23-33.
- Baptista-Giacomelli, F.; Pagliarini, M. y Almeida, J. 2000. Multiple anaphase bridges on meiosis in Brazilian oats (*Avena sativa L.*). *Nucleus*, 43: 58-63.
- Bazhina, E.; Kvitko, O y Muratova, E. 2008. Meiosis at microsporogenesis in Siberian fir (*Abies sibirica Ledeb.*) in natural populations and in an arboretum. *Eurasian Journal for Research*, 11: 41-49.
- Boff, T. y Schifino-Wittmann, M. 2002. Pollen fertility and meiotic behaviour in accessions and species of leucaena. *Tropical Grasslands*, 36: 54-58.
- Brandham, P. 1970. Chromosome behaviour in the Aloineae III. Correlations between spontaneous chromatid and sub-chromatid aberrations. *Chromosoma*, 31: 1-17.
- Brandham, P. 1971. The chromosomes of the Liliaceae; polyploidy and karyotype variation in the Aloineae. *Kew Bulletin*, 25: 381-399.

- Brandham, P. 1990. Meiotic crossing-over between sites on opposite sides of the centromeres of homologues is frequent in hybrid *Aloaceae*. *Genome*, 33: 170-176.
- Brown, R. y Lemmon, B. 1991. Pollen mitosis in orchids: A generative cell domain involved in spatial control of the hemispherical cell plate. *Journal Cell Science*, 100: 559-565.
- Caetano, P. 2003. La aplicabilidad de la citogenética en *Zea mays L.*: genes mutantes meióticos. *Revista Ciencias Agrícolas*, 20: 27-49.
- Caetano-Pereira, C. y Pagliarini, M. 1997. Influence of aluminium in causing chromosome stickiness in maize microsporocytes. *Maydica*, 40: 325-330.
- Carter, S. 1994. *Flora of tropical east Africa; Aloaceae*. Royal Botanic Gardens editorial, Kew, Kingdom United.
- Caryl, A.; Armstrong, S.; Jones, G. y Franklin, F. 2000. A homologue of the yeast *HOP1* gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asy1*. *Cromosoma*, 109: 62-71
- Caryl, A.; Jones, G. y Franklin, C. 2003. Dissecting plant meiosis using *Arabidopsis thaliana* mutants. *Journal of Experimental Botany*, 54: 25-38.
- Cequea, H.; Díaz, D.; Imery, J. y Nirchio, M. 2003. Cytogenetics study of paracentric inversions in *Tridax procumbens* (Compositae). *Cytologia*, 68: 329-333.
- Clark, F. 1940. Cytogenetic studies of divergent meiotic spindle formation in *Zea mays*. *American Journal Botany*, 27: 547 -559.
- Cnudde, F. y Gerats, T. 2005. Meiosis: Inducing Variation by Reduction. *Plant Biology*, 7: 321-341.
- Consiglio, F.; Conicella, C.; Mont, L. y Carputo, D. 2003. Highlights of meiotic genes in *Arabidopsis thaliana*. *African Journal of Biotechnology*, 2: 516-520.

- Couteau F.; Belzile, F.; Horlow C.; Grandjean, O.; Vezon, D. y Doutriaux, M. 1999. Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 11: 1623-1634.
- Dundas, I.; Britten, E.; Byth, D y Gordon, G. 1987. Meiotic behavior of hybrids of pigeonpea and two Australian native *Atylosia* species. *The Journal of Heredity*, 78: 261-265.
- Fernández-Muñoz, R.; González-Fernández, J. y Cuartero, J. 1995. Genetics of the viability of pollen grain produced at low temperature in *Lycopersicon* Mili. *Euphytica*, 84: 139-144.
- Franklin, A. y Cande, W. 1999. Nuclear Organization and Chromosome Segregation. *The Plant Cell*, 11: 523-534.
- Fuzinato, V.; Pagliarini, M. y Borges do Valle, C. 2008. Microsporogenesis in sexual *Brachiaria* hybrids (Poaceae). *Genetics and Molecular Research*, 6: 1107-1117.
- González, F.; Rudall, P. y Furness, C. 2001. Microsporogenesis and systematics of Aristolochiaceae. *Botany Journal Linnaean Society*. 137: 221-242.
- González, M.; Estévez, A.; Castillo, J.; Salomón, J.; Moré, O. y Hernández, M. 2002. La Calidad del Polen: Requisito Indispensable del Mejoramiento Tradicional de la Papa en Cuba. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 13: 75-94.
- Imery, J. 2000. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Aloaceae). Trabajo para Ascender a la categoría de Profesor Asociado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Imery, J. 2007. Inestabilidad cariológica durante la formación de células madres del polen en *Aloe vera* (Aloaceae). *Revista Biología Tropical*, 55: 805-813.
- Imery, J. 2007B. Variaciones cromosómicas en *Aloe vera*. *Memorias del II Simposio Latinoamericano de Citogenética e Evolución, Digital (II SLACE)*: 35-38.
- Imery, J. 2001. Protandria y autoincompatibilidad en *Aloe vera* L. Resumen LI

Convención Anual de AsoVAC. San Cristóbal, Táchira.

- Imery, J. y Cardenas, T. 2006. Durabilidad de la capacidad germinativa del polen en *Aloe vera* (L.) Burm. f. y *A. saponaria* Haw. *Revista UDO Agrícola*, 6: 67-75.
- Imery, J. y Cequea, H. 2002. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Aloaceae). *Acta Botánica Venezuelica*, 25(2): 143-152.
- Kalinganire, A.; Harwood, C.; Slee, M.Uy Simona, A. 2000. Floral structure, stigma receptivity and pollen viability in relation to protandry and self-incompatibility in silky oak (*Grevillea robusta* A. Cunn.). *Annales of Botany*, 86: 133-148.
- Koduro, P. y Rao, M. 1981. Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 59: 197-214.
- Kumar, G. y Rai, P. 2006. Comparative genotoxic potential of mercury and cadmium in Soybean. *Turk Journal Biology*, 29: 353-362.
- Lattoo, K.; Khan, S.; Bamotra, S. y Dhar, A. 2006. Cytomixis impairs meiosis and influences reproductive success in *Chlorophytum comosum* (Thunb) Jacq. – an additional strategy and possible implications. *Journal Bioscience*, 31: 629-637.
- Mariani, A.; Roscini, C.; Paoletti, R.; Rosafio, M.; Basili, F. y Sulas, L. 2000. Cytogenetic study of forage grasses and legumes. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 45: 1022-1379.
- Mendes-Bonato, A.; Junqueira, R.; Pagliarini, M.; Borges do Valle, C. y Penteado, M. 2002. Unusual cytological patterns of microsporogenesis in *Brachiaria decumbens*: Abnormalities in spindle and defective cytokinesis causing precocious cellularization. *Cell Biology Institute*, 26: 641-646.
- Mendes-Bonato, A.; Pagliarini, M.; Da Silva, N. y Borges do Valle, C. 2006. Abnormal spindle orientation during microsporogenesis in an interspecific *Brachiaria* (Gramineae) hybrid. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 122-125.

- Mendes-Bonato, A.; Pagliarini, M.; Da Silva, N. y Borges do Valle, C. 2001. Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae). *Acta Scientiarum*, 2: 619-625.
- Mendes-Bonato, A.; Pagliarini, M.; Da Silva, N.; Borges do Valle, C. y Jank, L. 2004. Abnormal pollen mitoses (PM I and PM II) in an interspecific hybrid of *Brachiaria ruziziensis* and *Brachiaria decumbens* (Gramineae). *Journal of Genetics*, 83: 305-310.
- Nirmala, A.; Rao, P. 1996. Genesis of chromosome numerical mosaicism in higher plants. *Nucleus*, 39: 151-175.
- Nonomura, K.; Nakano, M.; Fukuda, T.; Eiguchi, M.; Miyao, A.; Hirochika, H. y Kurata, N. 2004. The novel gene homologous pairing aberration in rice meiosis I of rice encodes a putative coiled-coil protein required for homologous chromosome pairing in meiosis. *The Plant Cell*, 16: 1008-1020.
- Pagliarini, S.; Marques, J.; Takayama, S.; Martinez, M. y Monteiro, W. 1992. Poliploidia em seringueira. Análise do comportamento meiótico de alguns clones de *Hevea brasiliensis*. *Revista Unimar*, 14: 25-35.
- Pagliarini, M. 2000. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology*, 23: 997-1002.
- Palma-Silva, C.; Dos Santos, D.; Kaltchuk-Santos, E. y Bodanese-Zanettini, M. 2004. Chromosome numbers, meiotic behavior, and pollen viability of species of *vriesea* and *aechmea* genera (Bromeliaceae) native to rio grande do sul, Brazil. *American Journal of Botany*, 91: 804-807.
- Palmer, R.; Sun, H. y Zhao, L. 2000. Genetics and cytology of chromosome inversions in Soybean Germplasm. *Crop Science*, 40: 683-687.
- Pierce, B. 2006. *Genética*. Segunda edición. Panamericana. Madrid.

- Piffer, M.; Baldez, T.; Ferreira, E.; Pagliarini, M. y Scapim, C. 2007. Effects of endogamy on microsporogenesis in popcorn (*Zea mays* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7: 321-326.
- Puizina, J.; Siroky, J.; Mokros, P.; Schweizer, D. y Riha, K. 2004. Mre11 deficiency in *Arabidopsis* is associated with chromosomal instability in somatic cells and spo11-dependent genome fragmentation during meiosis. *The Plant Cell*, 16: 1968-1978.
- Raven, P. 1986. *Biology of plants*. Cuarta edición. Saunders College Publishing. Fort Worth.
- Rezanejad, F. 2007. The effect of air pollution on microsporogenesis, pollen development and soluble pollen proteins in *Spartium junceum* L. (Fabaceae). *Turk journal botany*, 31: 183-191.
- Ricci, G.; Silva, N.; Pagliarini, M. y Scapim, C. Microsporogenesis in inbred line of popcorn (*Zea mays* L.). *Genetics and Molecular Research*, 6: 1013-1018.
- Rice, W. y Chippindale, A. 2001. Sexual recombination and the power of natural selection. *Science*, 294: 555-559.
- Riley, H. y Majumdar, S. 1979. *The Aloineae. A biosystematic survey*. University Press, Kentucky.
- Risso-Pascotto, C.; Pagliarini, M. y Valle, C. 2006. Microsporogenesis in *Brachiaria dictyoneura* (Fig. & De Not.) Stapf (Poaceae: Paniceae). *Genetics and Molecular Research*, 5: 837-845.
- Ross, K.; Fransz, P.; Armstrong, S.; Vizir, I.; Mulligan, B.; Franklin, F. y Jones, G. 1997. Cytological characterization of four meiotic mutants of *Arabidopsis* isolated from T DNA- transformed lines. *Chromosome Research*, 5: 551-559.
- Ruvalcaba-Ruiz, D. y Rodríguez-Garay, B. 2002. Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. *azul*. *BMC Plant Biology*, 2: 10-14.

- Saigo, R y Saigo, B. 1983. *Botany, principles and applications*. Prentice-Hall. New Jersey.
- Sánchez-Moran, E.; Jones, G.; Franklin, C. y Santos, J. 2004. A puromycin-sensitive aminopeptidase is essential for meiosis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 16: 2895–2909.
- Sanso, A. y Wulff, A. 2007. Meiotic irregularities in *Alstroemeria andina* var. *Venustula* (Alstroemeriaceae). *Botanical Studies*, 48: 311-317.
- Sayuri, K.; Suely, M. y Borges, C. 2005. Microsporogenesis in tetraploid accessions of *Brachiaria nigropedata* (Ficalho & Hiern) Stapf (Gramineae). *Biocell*, 29: 295-301.
- Seijo, G. 2001. Análisis Citogenético de *Lathyrus annuus* L. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 37: 81-85.
- Sheidai, M.; Koobaz, P. y Zehzad, B. 2003. Meiotic studies of some *avena* species and populations in iran. *Journal of Sciences*, 14: 121-131.
- Siller, S. 2001. Sexual selection and maintenance of sex. *Nature*, 411: 689–692.
- Sree, S. 1972. Cytological studies on diploid and polyploid taxa of the genus *Pennisetum* Rich. *Genetica*, 43: 257-273.
- Stansfield, D. 1995. *Genética*. Tercera edición. McGraw-Hill. México D.F.
- Strickberger, M. 1988. *Genética*. Tercera edición. Omega. Barcelona, España.
- Sunderland, N. y Roberts, M. 1977. New approaches to pollen culture. *Nature*, 270: 236-238.
- Tanner, G.; Piccirilli, M.; Moore, A.; Lardin, P. Y Arcioni, S. 1990. Initiation of non-physiological división in cultured microspores of *Medicago* sp. *Protoplasm*, 158: 165-167.
- Techio, V.; Chamma, L. y Pereira, A. 2006. Meiosis in elephant grass (*Pennisetum*

- purpureum*), pearl Mollet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 353-362.
- Tel-Zur, N.; Abbo, S. y Mizrahi, Y. 2005. Cytogenetics of semi-fertile triploid and aneuploid intergeneric Vine Cacto Hybrids. *Journal of Heredity*, 96:124-131
- Utsunomiya, K.; Pagliarini, M. y Borges do Valle, C. Microsporogenesis in tetraploid accessions of *Brachiaria nigropedata* (Ficalho & Hiern) Stapf (Gramineae). *Biocell*, 29: 295-301.
- Van-Wyk, B. y Smith, G. 1996. *Guide to the Aloes of South Africa*. Briza publications. Pretoria, South Africa.
- Vargas, T.; Xena, N.; Vidal, M.; Oropeza, M. y García, E. 2008. Genetic stability of *solanum tuberosum* l. cv. Désirée plantlets obtained from embryogenic cell suspension cultures. *Interciencia*, 33: 213-218.
- Viccini, L. y Carvalho, C. 2002. Meiotic chromosomal variation resulting from irradiation of pollen in maize. *Journal of Applied Genetics*, 43: 463-469.
- Villareal, R.; Reyes-Valdez, M.; Espinosa, C. y Villareal, J. 2006. Viabilidad del polen de una línea de girasol cultivado, en el girasol silvestre (*Helianthus annuus* L. ssp. Texanus Heiser) y en su descendencia híbrida. *Acta Botánica Mexicana*, 76: 47-57.
- Xing-Feng, L.; Shu-Bingm, I.; Ju-Rong, G.; Wen-Hui, L. y Hong-Gang, W. 2005. Abnormal pollen development of bread wheat-*Leymus mollis* partial amphiploid. *Euphytica*, 144: 247-253.
- Yang, X.; Makaroff, C. y Ma, H. 2003. The *Arabidopsis* male meiocyte death1 gene encodes a phd-finger protein that is required for male meiosis. *The Plant Cell*, 15: 1281-1295.
- Zickler, D. y Kleckner, N. 1998. The leptotene-zygotene transition of meiosis. *Annual Review of Genetics*, 32: 619-697.

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Micros orogénesis de cinco especies de Aloe L. (Aloaceae).
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
González Ruiz, Jesús Enrique	CVLAC	16816046
	e-mail	jesús_gonz@cantv.net
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Meiosis, Microsporogénesis, <i>Aloe</i> , Anormalidades cromosómicas, Viabilidad de los granos de polen

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

El estudio se llevó a cabo en cinco especies de *Aloe*; *A. saponaria*, *A. zebrina*, *A. ammophila*, *A. littoralis* y *A. jacksonii*. El comportamiento de los cromosomas meióticos se reveló a través de la preparación de láminas mediante la tinción con orceína acética 1,5% m/V y la viabilidad de los granos de polen se determinó, cualitativamente, observando la elongación de los tubos polínicos en una mezcla homogénea de agua de grifo, agar-agar (4 g.l⁻¹) y sacarosa (0,06 mol. l⁻¹). Durante el estudio microsporogénico se observaron todas las fases meióticas, incluyendo las subfases de la profase I. Algunos eventos de importancia registrados en todas las especies fueron: migración precoz de los cromosomas en metafase I y rezagados en anafase I, fragmentos acéntricos y los puentes dicéntricos. Otras anomalías aparecieron de forma particular, como fue el caso de los micronúcleos observados de forma constante en la profase I de los meiocitos de *A. ammophila* y la presencia de cromosomas univalentes en diversas fases meióticas de *A. jacksonii*. El mayor valor de viabilidad de los granos de polen se registró en *A. zebrina* (66,3 %) y el menor en *A. ammophila* (43,1 %), esto debido probablemente al elevado número de anomalías cromosómicas reportadas durante la microsporogénesis de estas especies. Los porcentajes de viabilidad en *A. saponaria* y *A. littoralis* fueron de 48,5 y 55,8 %, respectivamente. Las aberraciones cromosómicas reportadas pueden ser debidas a factores ambientales como temperatura y humedad, mutaciones estructurales como deleciones, traslocaciones e inversiones y a mutaciones puntuales que involucran la expresión de genes controladores de los diferentes pasos de la meiosis. Independientemente del origen o causa de la anomalía, quedó evidenciado que todas tienen un efecto negativo sobre la formación normal de gametos, ya que la viabilidad de los granos de polen fue menor en aquellas especies que presentaron el mayor número de anomalías cromosómicas.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
José Imery	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	jimery@cantv.net
	e-mail	
Hernán Cequea	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	hceque@cantv.net
	e-mail	
Carmen Alfonsi	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	calfonsi@sucre.udo.edu.ve
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	12	08

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_JG.doc	Application/word

Alcance:

Espacial : _____ (Opcional)

Temporal: _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Biología

Nivel Asociado con el Trabajo: **Licenciatura**

Área de Estudio:

Biología

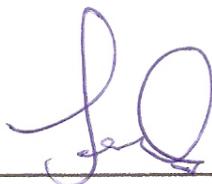
Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

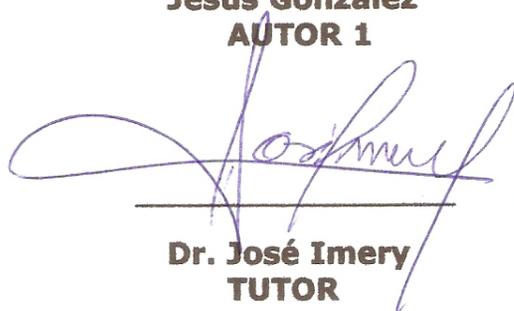
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

Para publicar título y resumen únicamente en la pagina web.



Jesús González
AUTOR 1



Dr. José Imery
TUTOR



Lic. Hernán Cequea
JURADO 1



Lic. Carmen Alfonsi
JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

