



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

CARACTERIZACIÓN DE LA HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA EN
SIETE ESPECIES DE *Aloe* L. (ALOACEAE)
(Modalidad: Investigación)

PATRICIA ALEJANDRA VELÁSQUEZ VOTTELERD

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

CUMANÁ, 2009

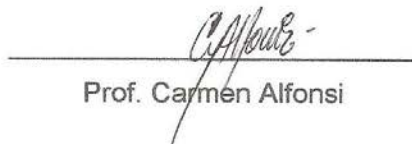
CARACTERIZACIÓN DE LA HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA EN SIETE
ESPECIES DE *Aloe* L. (ALOEACEAE)

APROBADO POR:


Prof. José Imery
Asesor




Prof. Hernán Cequea


Prof. Carmen Alfonsi

INDICE

AGRADECIMIENTO	i
DEDICATORIA	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	12
Material Vegetal	12
Evaluación Cariotípica	16
Tinción de Heterocromatina Constitutiva.....	17
Métodos Estadísticos	20
RESULTADOS.....	22
<i>Aloe vera</i>	22
<i>Aloe saponaria</i>	29
<i>Aloe littoralis</i>	30
<i>Aloe jucunda</i>	40
<i>Aloe zebrina</i>	41
<i>Aloe lutescens</i>	49
<i>Aloe jacksonii</i>	52
Relación entre Especies.	62
DISCUSIÓN	72
CONCLUSIONES	99
RECOMENDACIONES	101

BIBLIOGRAFÍA	102
APÉNDICE A	115

AGRADECIMIENTO

A Dios, por iluminarme y guiarme en el transcurso de mi carrera.

A mis padres Rosa Vottelerd y Rosauro Velásquez, al igual que mi tía Miriam Vottelerd y abuelita Josefina de Carmona por contribuir en mi formación personal y guiarme en el logro de todas las metas propuestas, a través de sus consejos, confianza y amor.

Al profesor José Imery, por asesorarme a lo largo del desarrollo de esta investigación, siendo un ejemplo a seguir moral y académicamente para mi persona y cualquier profesional de esta área.

Al profesor José Cumana y a la profesora Ivelise Guevara de Franco por la confianza, apoyo, y por ofrecer las instalaciones del Herbario I.R.B.R. para la realización de mi trabajo, muy necesario para el momento que comencé la fase experimental de esta investigación.

Al Lic. Antonio Gómez, por su importante colaboración en la utilización de algunos equipos indispensables en el desarrollo de esta investigación.

A los profesores que me transmitieron conocimientos académicos y de vida en mi formación como futura licenciada, en especial a las profesoras Aracelis Torres, Bertha Velásquez e Ivelise Guevara de Franco por el ejemplo, la confianza, el cariño y los conocimientos aportados.

A mis compañeros y amigos incondicionales, Diana Duarte, Carlos Leopardi y

Jesús González por todas las vivencias, aprendizaje y amistad compartida, así como a todos los compañeros con los cuales compartí buenos momentos que hicieron de mi carrera una enseñanza de vida.

A mi hermano Benjamín Velásquez, mi hermana Mary Cabrera, mis primos Sergio Reale y Cristina Reale, mi novio Marco Fuenmayor y a mis amigas Karen Antón y Edda Ruiz, por el apoyo sentimental, amor y confianza, valores tan importantes como el apoyo académico en la consecución de mis estudios.

DEDICATORIA

A mis padres y hermano, este trabajo es por y para ustedes.

A mi abuelo José Carmona, siempre serás mi ejemplo de vida.

A mi familia, por la confianza, apoyo y amor brindado en toda mi vida.

A mi novio y amigas (os), incondicionales en todo momento.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características generales de las siete especies de <i>Aloe</i>	14
Tabla 2. Modificaciones del tiempo de exposición al hidróxido de bario (2%- Ba(OH) ₂ .8H ₂ O) y del tiempo de tinción con giemsa (1,5%) en seis especies de <i>Aloe</i> .19	
Tabla 3. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe vera</i>	24
Tabla 4. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe saponaria</i>	32
Tabla 5. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe littoralis</i>	36
Tabla 6. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe jucunda</i>	43
Tabla 7. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe zebrina</i>	47
Tabla 8. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe lutecens</i>	54
Tabla 9. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de <i>Aloe jacksonii</i>	59
Tabla 10. Índices de asimetría intracromosómica (A ₁) e intercromosómica (A ₂) en siete especies de <i>Aloe</i>	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagen satelital del banco de germoplasma de especies suculentas (UDO-Biología).....	12
Figura 2. Representación fotográfica de <i>A. vera</i> (a), <i>A. saponaria</i> (b), <i>A. littoralis</i> (c), <i>A. jucunda</i> (d), <i>A. zebrina</i> (e), <i>A. lutescens</i> (f) y <i>A. jacksonii</i> (g), pertenecientes al banco de germoplasma de especies suculentas UDO-Biología.	13
Figura 3. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de <i>Aloe vera</i>	23
Figura 4. Cúmulos de heterocromatina constitutiva en el núcleo interfásico, profase y metafase mitótica observados en células meristemáticas radicales de <i>Aloe vera</i>	27
Figura 5. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de <i>Aloe vera</i> (a,b).....	27
Figura 6. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe vera</i>	28
Figura 7. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos de <i>Aloe vera</i>	28
Figura 8. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de <i>Aloe saponaria</i>	31
Figura 9. Constricciones secundarias en <i>Aloe saponaria</i>	33
Figura 10. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de <i>Aloe saponaria</i>	33
Figura 11. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe saponaria</i>	34
Figura 12. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas del tejido meristemático subapical de <i>Aloe saponaria</i>	34
Figura 13. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de <i>Aloe littoralis</i>	35
Figura 14. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de	

células meristemáticas radicales de <i>Aloe littoralis</i>	38
Figura 15. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe littoralis</i>	38
Figura 16. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos de <i>Aloe littoralis</i>	39
Figura 17. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de <i>Aloe jucunda</i>	42
Figura 18. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de <i>Aloe jucunda</i> (a,b).	44
Figura 19. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe jucunda</i> (a,b).	44
Figura 20. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas del tejido meristemático subapical de <i>Aloe jucunda</i>	45
Figura 21. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de <i>Aloe zebrina</i>	46
Figura 22. Constricciones secundarias en <i>Aloe zebrina</i>	48
Figura 23. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de <i>Aloe zebrina</i> (a,b).	50
Figura 24. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe zebrina</i>	50
Figura 25. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de <i>Aloe zebrina</i>	51
Figura 26. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de <i>Aloe lutescens</i>	53
Figura 27. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de <i>Aloe lutescens</i>	55
Figura 28. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe lutescens</i>	55
Figura 29. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de <i>Aloe lutescens</i>	56
Figura 30. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de <i>Aloe jacksonii</i> (4x).	58
Figura 31. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de	

células meristemáticas radicales de <i>Aloe jacksonii</i> (4x).	61
Figura 32. Bando C en cromosomas mitóticos de <i>Aloe jacksonii</i> (4x). Las flechas señalan bandas difusas.	61
Figura 33. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva (b) en cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de <i>Aloe jacksonii</i> (4x).	62
Figura 34. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre especies de <i>Aloe</i> en función de registros del índice de asimetría intracromosómica. Método de “promedio simple entre grupos”.	65
Figura 35. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre especies de <i>Aloe</i> en función de registros del índice de asimetría intercromosómica. Método de “promedio simple entre grupos”.	66
Figura 36. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre especies de <i>Aloe</i> a partir de registros de la longitud total del cariotipo. Método de “promedio simple entre grupos”.	66
Figura 37. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre seis especies de <i>Aloe</i> en función de registros del índice r (1/s). Método de “promedio simple entre grupos”.	69
Figura 38. Dendrograma representativo de la distancia entre siete especies de <i>Aloe</i> a partir de registros de presencia/ausencia de constricciones secundarias en cromosomas mitóticos.	69
Figura 39. Dendrograma representativo de la distancia entre siete especies de <i>Aloe</i> a partir de registros de presencia/ausencia de bandas de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos.	70
Figura 40. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre siete especies de <i>Aloe</i> en función del porcentaje de heterocromatina constitutiva total en cromosomas del tejido meristemático radical. Método de “promedio simple entre grupos”.	70

RESUMEN

En el estudio se caracterizó la heterocromatina constitutiva en *Aloe vera*, *A. saponaria*, *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. zebrina*, *A. lutescens* y *A. jacksonii*. Para ello, los meristemas radicales fueron pretratados, hidrolizados, aplastados y teñidos con orceína acética para observar atributos cariológicos. Por otro lado, a fin de visualizar la heterocromatina constitutiva, las preparaciones luego del aplastamiento y maduración fueron desnaturalizadas con hidróxido de bario a un tiempo específico para cada especie, renaturalizadas en solución salina, y teñidas con giemsa hasta observar cromocentros y bandas. Se realizaron cariogramas de los cariotipos e idiogramas de la distribución de bandas en cada especie y, además, se elaboraron dendrogramas de atributos cariológicos y heterocromatínicos. Las seis primeras especies presentaron un cariotipo bimodal de $2n=2x=14=8L+6S$, y *A. jacksonii* un cariotipo tetraploide de $2n=4x=28=16L+12S$ cromosomas con longitudes comprendidas entre 12-15,02 μm para cromosomas grandes (L), y entre 3,99-5,43 μm para cromosomas pequeños (S). Los centrómeros se ubicaron en posición submedia-terminal en los pares L y media-submedia en los pares S, con constricciones secundarias ubicadas en los brazos largos de los pares L_1 (*A. vera*), L_3 - L_4 (*A. littoralis* y *A. jucunda*) o L_4 (las 7 especies), y en los brazos cortos del par S_1 (*A. vera*, *A. saponaria* y *A. jacksonii*). Polimorfismo de tamaño de brazos y constricciones secundarias entre cromosomas homólogos fueron evidentes en todas las especies. Los cariotipos más simétricos son característicos de *A. littoralis*, *A. vera* y los menos simétricos de *A. zebrina* y *A. saponaria*. La tinción de heterocromatina constitutiva presentó mejores resultados en unas especies más que otras debido a la sensibilidad de *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. lutescens* a algunas etapas de la técnica. Los cromocentros se ubican de forma polarizada en el núcleo, no correspondiéndose numéricamente con las bandas presentes en cromosomas pues experimentaron solapamientos entre ellos, enmascarando la presencia de los más pequeños. Diferencias de tonalidad y grosor de bandas fueron observadas en los cromosomas de todas las especies. La distribución de la heterocromatina en el cariotipo, en general, estuvo restringida a los centrómeros, excepto en *A. saponaria* en la cual no se revelaron bandas pericentroméricas sino sólo dos bandas terminales en el L_4 ; en *A. littoralis* y *A. jucunda* también se observaron bandas terminales en los pares L_3 o L_4 . Tomando en cuenta los análisis de clúster realizados para siete atributos se formaron grupos entre *A. jucunda*-*A. lutescens* y *A. littoralis*-*A. jacksonii* (sin tomar en cuenta su condición tetraploide), consideradas las especies más relacionadas ya que comparten similitud en los atributos A_1 , A_2 y longitud total e índice A_1 , A_2 y "r", respectivamente. Por otro lado, *A. vera*-*A. littoralis* o *A. vera*-*A. zebrina*, y *A. saponaria*-*A. zebrina* son homólogas para dos atributos, en cada caso.

Palabras Claves: Heterocromatina constitutiva, *Aloe*, cromosomas, cariotipo, bandeo

C.

INTRODUCCIÓN

La familia Aloaceae agrupa a plantas perennes de hojas carnosas, suculentas y dispuestas en espiral formando rosetas en la base del tallo. Comprende un número aproximado de 700 especies e incluye principalmente a los géneros *Aloe*, *Gasteria*, *Haworthia*, *Astroloba*, *Pellnitzia*, *Chortolirion* y *Lomatophyllum*. Sus especies son originarias del norte y sur de África, Arabia, Madagascar, e incluso, unas pocas se han encontrado en las pequeñas islas del Océano Índico (Newton, 2004; Smith y Steyn, 2004).

El género *Aloe* L., junto con los ya mencionados, se encontraba en un ensamblaje natural de especies formalmente conocidas como la tribu Aloineae, una subdivisión de la familia Liliaceae (Brandham, 1969a). Sin embargo, debido al hecho que la familia sólo justificaba la inclusión en este taxón por la forma de sus flores, y gracias a refinamientos del sistema de clasificación y estudios taxonómicos recientes, la tribu fue elevada a estatus de familia (Aloaceae), tomando en cuenta características como hojas suculentas, óvulos hemítropos, la presencia de una película de aloína en torno a las células del floema y de mucílago foliar con propiedades laxantes (Van Wyk y Smith, 1996; Imery, 2000; Brandham, 2004).

Las especies del género *Aloe* L. fueron las primeras en ser reconocidas por Linneo e incluyen aproximadamente 400 plantas nativas de Sudáfrica, Península de Arabia e islas del Océano Índico (Smith y Steyn, 2004). Éstas han sido naturalizadas y cultivadas extensamente en muchas partes del mundo, abarcando áreas cálidas del Mediterráneo y zonas semiáridas de América, para su aprovechamiento en el campo de la medicina y la cosmética gracias a sus propiedades emolientes, humectantes, hidratantes y desinfectantes, por su alto contenido de polisacáridos y glucósidos, así

como también por su valor ornamental (Imery, 2002; Salmerón, 2006).

Las plantas de *Aloe* son un grupo distintivo y dominante de monocotiledóneas en muchas áreas del trópico y del sur de África gracias a su fabuloso crecimiento secundario (Chase *et al.*, 2000). Presentan una gran diversidad de hábitos que incluyen hierbas perennes, arbustos y árboles de pequeñas dimensiones, con raíces gruesas y hojas suculentas que se disponen en rosetones; margen con dientes espinosos o con finos pelos; superficie glabra, lisa o rugosa, que puede presentar una o ambas superficies espinosas, coloreada uniformemente de verde o con algunas manchas blancas. Sus inflorescencias son simples o ramificadas, con un pedúnculo grueso y erguido que posee en su extremo un racimo en forma de cabeza o cilindro con brácteas membranosas (Imery, 2000). Son especies diurnas, con flores amarillas o rojas, que producen abundante néctar, consideradas en Sudáfrica y otros países como especies de importancia en la apicultura (Velásquez e Imery, 2008).

Dentro de los áloes, existen especies que se propagan vegetativamente como respuesta a su adaptación en ambientes xerófilos o son capaces de reproducirse sexualmente por mecanismos de polinización y dispersión por semillas. Algunas plantas de este género, como *Aloe vera*, a pesar de que poseen flores completas, son autoincompatibles e involucran anomalías cromosómicas o mutaciones puntuales de genes que controlan los procesos de meiosis y fertilización (Imery, 2002; Newton, 2004).

Las especies de *Aloe*, por lo general, son diploides con un número cromosómico de $2n=14$, aunque existen algunos triploides originados esporádicamente en algunas poblaciones de África; un pequeño número de tetraploides provenientes de Kenya, Uganda y Somalia; y una única especie hexaploide excepcional dentro del género (Brandham y Carter, 1990). Poseen un cariotipo bimodal, con una estructura genómica básica ($x=7$) de cuatro pares de

cromosomas grandes (L), uno submetacéntrico o acrocéntrico (L₁) y tres acrocéntricos (L₂, L₃ y L₄), y tres pares de cromosomas acrocéntricos pequeños (S₁, S₂ y S₃) (Brandham, 2004).

La clasificación cromosómica específica de esta familia se realizó en base a la longitud del brazo pequeño (s) de sus cromosomas, donde el L₁ tiene el brazo más largo, el L₂ le sigue en longitud y es indistinguible con respecto al L₃, y el L₄ lo tiene más corto; por su parte, los seis cromosomas pequeños varían muy poco en la dimensión de sus brazos y son muy difíciles de reconocer unos con otros (Brandham, 1971; Sapre, 1978). Aunque el cariotipo de los áloes es uniforme a lo largo de la familia en aspectos como número y morfología cromosómica (Brandham, 1969a), existe una alta frecuencia de cambios estructurales en los cromosomas, como fusiones robersonianas, grandes translocaciones, inversiones y otros tipos de rearrreglos cromosómicos (Brandham y Doherty, 1998; Adams *et al.*, 2000).

Las plantas, desde hace muchos siglos, han sido empleadas por el hombre para el desarrollo de la humanidad ya que además de proporcionar el oxígeno que permite la sobrevivencia animal, se utilizan como fuente primaria de alimentación, como plantas ornamentales, medicinales, forrajeras, destinadas a la artesanía y a la manufactura de muchos productos de consumo humano. Estas razones han permitido que la producción de las especies vegetales de interés aumente vertiginosamente a nivel mundial. Sin embargo, los productores agrícolas se han tenido que enfrentar a numerosos problemas que disminuyen la calidad de los cultivares y causan profundas pérdidas económicas, de los cuales los más funestos son los ataques de fitopatógenos a las plantaciones y la baja producción en cuanto a biomasa producida por pobreza del suelo o por la misma naturaleza del cultivar utilizado (Poehlman y Allen, 2005).

La citogenética como ciencia aplicada ha abierto un gran umbral a la solución de muchos problemas que enfrenta el productor permitiendo, a través de sus

numerosas técnicas, caracterizar numerosas especies vegetales y utilizar sus atributos citocariológicos para crear productos de mejor calidad, en cuanto a biomasa, contenido nutricional y tolerancia a patógenos (Adetula *et al.*, 2005). Por otro lado, los estudios citogenéticos han permitido realizar valiosos aportes a los mecanismos de aislamiento reproductivo y modo de especiación de las plantas, así como ha contribuido a la resolución de problemas taxonómicos, evolutivos y aplicados de plantas y animales (Poggio y Naranjo, 2004).

Tradicionalmente, los citogenetistas vegetales utilizan coloración simple para visualizar los atributos cromosómicos mitóticos o meióticos, considerando a los colorantes acéticos como los más difundidos en los protocolos de plantas (Guerra, 1983). Las características estructurales y cuantitativas de los cromosomas son vitales en cualquier estudio básico o aplicado, pues son parte de un sistema dinámico que está moldeado por el proceso evolutivo y se expresa en características fácilmente analizables como longitud, número y morfología (Thomas, 1981). A pesar de esto, se ha notado que estas características son susceptibles de alteración experimental y pueden dar pie a errores de clasificación e identificación de pares cromosómicos en algunas especies vegetales (Linde-Laursen, 1978). Esta situación se ha mejorado gracias a la introducción de técnicas de bandeo, en especial del bandeo C en plantas. En muchas especies, esta técnica ha mostrado que los cromosomas poseen segmentos de heterocromatina constitutiva (HC) que permite distinguirlos dentro del cariotipo (Vosa, 1975; MacPherson y Filion, 1981; Guerra, 2000).

Los estudios de Heitz a principios del siglo XX, en células de 115 especies de plantas con carmín acético, revelaron un tipo de cromatina, a la que denominó heterocromatina constitutiva, la cual se encontraba en estado condensado de forma permanente en el núcleo, a lo largo del ciclo celular (Dillon, 2004). En el núcleo interfásico, forma aglomeraciones de material condensado o cromocentros, fuertemente coloreados, dispuestos de forma no aleatoria en la matriz difusa de

cromatina nuclear (Wisudharomn y Smyth, 1985); mientras que, de prometafase a telofase mitótica, la heterocromatina constitutiva está representada por segmentos cromosómicos que retienen su estado de compactación (Greilhuber, 1975). Varias propiedades han sido atribuidas a la HC, como aloclíca, replicación asincrónica y tardía, baja síntesis de ARN (Vosa, 1975), y un alto contenido de secuencias cortas en tándem de ADN repetitivo no codificante y ADN satélite, así como de histonas (H3 y H4) ricas en arginina, metiladas (sobre todo a nivel del residuo 9 de lisina de la H3) y poco acetiladas (Halleck y Schlegel, 1983).

A pesar su aparente deficiencia de genes activos que codifiquen para un producto funcional, la HC es uno de los componentes cromosomales de mayor atractivo en el mundo de la citogenética, debido a que se le atribuyen funciones como elemento clave en la regulación génica ya que afecta el número y localización de los quiasmas y recombinación de los genes, inactiva regiones de eucromatina trasladándolas a la heterocromatina como resultado de rearrreglos cromosómicos (silenciamiento), y además actúa en la regulación de la división celular, del desarrollo, de la organización genómica específica de cada tejido, de parámetros ontogénicos, de la transcripción, traducción y de la estabilización estructural del genoma durante la replicación (Khokhlova *et al.*, 2006). Por otro lado, también proporciona protección y fuerza a la cromatina centromérica, es una parte fundamental en la organización tridimensional del núcleo y contribuye en la ortoselección cariotípica, sobretodo en secuencias relacionadas con los telómeros (Yunis y Yasmineh, 1971; Kenton, 1991, Imery, 2007).

La heterocromatina constitutiva (HC) varía cualitativa y cuantitativamente entre especies vegetales, su cantidad es independiente a la cantidad de eucromatina en el núcleo y puede sufrir grandes cambios en relativamente poco tiempo (Guerra, 2000). Muchas especies pueden presentar diferencias en la composición y distribución de la heterocromatina debido a que el papel de ésta en procesos evolutivos y funcionales no

es el mismo, además se han desarrollado diferentes técnicas de coloración que permiten reportar su presencia, variabilidad, composición molecular y patrón de bandeo lineal a lo largo del cariotipo de especies vegetales y animales (Guerra, 2000; Inceer y Ayaz, 2005).

El bandeo C con giemsa es una técnica de tinción diferencial que fue inicialmente aplicada a cromosomas de ratones, en 1970, encontrándose que la heterocromatina centromérica era rica en ADN satélite, y se coloreaba más intensamente con giemsa al seguir los tratamientos por hibridación *in situ* (Fernández *et al.*, 2002; Imery, 2007). Posteriormente, se modificó este tratamiento de hibridación que utilizaba una base fuerte (NaOH), y se incluyó una solución alcalina más suave, el hidróxido de bario, que desnaturaliza los cromosomas sin destruirlos tanto como lo hace el hidróxido de sodio y, con su subsecuente incubación en solución salina en donde se disuelven los componentes eucromatínicos dañados, se obtuvo resultados exitosos en la coloración de la heterocromatina constitutiva (Vosa, 1975).

La heterocromatina revelada por bandeo C se ha visto correspondida con la concepción más general de la heterocromatina, coincidiendo con sitios de ADN altamente repetitivo o satélite, muy condensados, ricos en secuencias en tándem de A-T o G-C (Guerra, 2000). Esta técnica de tinción diferencial con giemsa, involucra la extracción diferencial del ADN y ciertas proteínas histónicas y no histónicas (Blakey y Filion, 1976) en función del tipo de cromatina, por medio de un proceso de desnaturalización (álcali)-reasociación del mismo (solución salina), en donde los sitios de ADN altamente repetitivo se van a reasociar de una forma más rápida y se expresarán como bandas oscuras de color magenta (Gill y Kimber, 1974a).

El término banda C es usado para describir un par de puntos coloreados, lateralmente adyacentes, que pueden aparecer fusionados como un solo punto o

banda, perteneciendo a cada una de las dos cromátidas comprendidas en cada cromosoma metafásico. De esta manera, dos bandas adyacentes consisten en dos pares de puntos ubicados longitudinalmente. Una banda puede entonces ser definida como una región del cromosoma claramente distinguible, gracias a su habilidad de teñirse diferencialmente, ya sea de forma ligera o prominente, con respecto al resto del cromosoma. En consecuencia, todas las bandas C oscuras deben ser consideradas como bandas señales o marcas, las cuales son diagnósticas en la identificación de cromosomas individuales (Hussein, 2005).

El bandeo C ha sido exitosamente usado en muchas especies vegetales de importancia económica, para establecer patrones generales de localización de las bandas heterocromáticas, identificar cromosomas individuales, elaborar cariotipos basados en estos bandeos y establecer relaciones genómicas dentro de una especie (Gill, y Kimber, 1974a; Tuna *et al.*, 2001; Adetula *et al.*, 2005). También, se han aprovechado estos patrones para comparar poblaciones (Bauchan y Hossain, 2001; Bauchan *et al.*, 2002; Bauchan *et al.*, 2003), varias especies (Buitendijk y Ramanna, 1996; Guerra, 2000; Imery, 2007), y subespecies (Bauchan y Hossain, 1997; Inceer y Ayaz, 2005); relacionar patrones de bandeo de posibles parentales e híbridos naturales con distintos de niveles de ploidía y conocer sus mecanismos de apareamiento cromosómico en meiosis (Gill y Kimber, 1974b; Bailey y Stace, 1992; Tuna *et al.*, 2004; Imery, 2007); demarcar relaciones filogenética entre especies o poblaciones (Buitendijk y Ramanna, 1996; Bauchan y Hossain, 2001; Bauchan *et al.*, 2002; Bauchan *et al.*, 2003; Imery, 2007); e incluso, detectar anomalías cromosómicas en el cariotipo (Bauchan *et al.*, 2002).

En *Hordeum L.*, la técnica de bandeo C ha sido ampliamente usada para caracterizar citogenéticamente este género a nivel intraespecífico e interespecífico (Linde-Laursen *et al.*, 1992), estableciendo relaciones y detectando polimorfismos en los patrones de bandas de poblaciones (Linde-Laursen, 1978), variedades (Vosa,

1976a) y ha sido muy importante para dilucidar la composición cromosómica de híbridos interespecíficos e intergenéricos (Linde-Laursen *et al.*, 1986). Por otra parte, el conocimiento de los patrones de bandeo en cebada ha permitido realizar mapas para identificar 70 zonas del cariotipo donde ocurren translocaciones (Linde-Laursen, 1988), un marcador de gran potencialidad en el mejoramiento genético o conocimiento a nivel genómico de este cereal.

La aplicación de esta técnica en el reconocimiento de rearrreglos cromosómicos también ha sido de utilidad en trigo (Hussein, 2005), centeno (Wei *et al.*, 1995) o los guisantes (Döbel *et al.*, 1973). Klášterská y Natarajan (1975) revelaron los patrones heterocromáticos de células de *Vicia faba* y *Nigella damascea* tratadas con mitomicina C, droga que induce aberraciones localizadas en regiones heterocromáticas, dando un indicio de los sitios donde podrían ocurrir este tipo de aberraciones. En el guisante *V. faba*, el análisis de bandeo C permitió elaborar idiogramas con la presunta posición de traslocaciones e inversiones en los cromosomas de su cariotipo (Döbel *et al.*, op.cit.). La ubicación de aberraciones cromosómicas es de suma importancia en la asociación de dichos cambios en cultivares con características fenotípicas de interés, que le brinden ventaja adaptativa al individuo.

Fregonezi *et al.* (2004) utilizaron bandeos cromosómicos para visualizar la morfología, estabilidad mitótica, conducta meiótica y composición de heterocromatina de cromosomas B de *Cestrum intermedium* y *C. strigilatum*, proporcionando información sobre el rol de heterocromatina en el origen y evolución de los cromosomas suplementarios en estas especies. Los resultados mostraron que los cromosomas B variaban de forma intraindividual en los meristemas radicales, siendo parecidos en tamaño y forma en ambas especies pero diferenciándose en el tipo, tamaño y distribución de la heterocromatina constitutiva.

La caracterización citogénética, a través del bandeo de heterocromatina constitutiva, de dos especies de *Medicago* permitió considerar la posibilidad de transferencia del carácter de resistencia a insectos de *Medicago noëana* a *M. sativa* por hibridación y utilizar el bandeo como herramienta para analizar las plantas híbridas obtenidas (Falistocco y Falcinelli, 1993). Adicionalmente, en alfalfa, se han realizado numerosos estudios comparativos en subespecies (Bauchan y Hossain, 1997) y poblaciones de diversas regiones del mundo como Chile o África (Bauchan *et al.*, 2002), revelando polimorfismo en los patrones de bandeo y similaridad en algunas poblaciones de este cereal de gran importancia alimentaria.

Las técnicas de bandeo suelen complementar a la citogenética molecular en la búsqueda de marcadores cromosómicos que permitan estudiar la organización del genoma, arquitectura nuclear y relaciones filogenéticas de especies animales y vegetales (Poggio y Naranjo, 2004). Por ejemplo, en *Scilla*, el análisis del cariotipo con bandeo C proporcionó detalles sobre la variación intracromosómica, tanto en cromosomas individuales como en varias poblaciones de esta hierba (Vosa, 1973). Greilhuber y Speta (1978), a partir de las diferencias de patrones de heterocromatina constitutiva, discutieron tendencias evolutivas y relaciones sistemáticas de este grupo. Posteriormente, Deumling y Greilhuber (1982) analizaron la heterocromatina de cuatro especies de *Scilla* usando bandeo C, hibridación *in situ* de ADN satélite y bandeo con fluorocromos, mostrando que existe alto grado de homología entre *S. siberica*, *S. amoeba* y *S. ingribae*; mientras que el ADN satélite de *S. mischtschenkoana* sólo es análogo con *S. siberica*.

Otros estudios que conjugan la citogenética básica y molecular se han realizado en pepino (Koo *et al.*, 2002), orquídeas (D'emerico *et al.*, 2005), cebolla (Friesen *et al.*, 1997) y en otras plantas de interés económico.

En el género *Aloe*, se han realizado diversos estudios cariológicos básicos de de

algunas especies (Vij *et al.*, 1980; Imery y Caldera, 2002), incluyendo a *A. vera* (Sapre, 1978; Matos y Molina, 1997; Albornoz e Imery, 2003; Imery, 2007), donde se mantiene, de forma general, la estructura bimodal uniforme ya establecida para la familia (Bradham y Doherty, 1998). Específicamente en Venezuela, Matos y Molina (1997) realizaron estudios cariotípicos de *A. vera* en plantas del estado Zulia y Falcón, reportando que en estas poblaciones todos los cromosomas, tanto grandes como pequeños, son submetacéntricos con longitudes que varían entre 5,55 μm y 17,76 μm . Por otro lado, Matos *et al.* (1998) refieren la necesidad de aplicar bandas C en *A. vera* para discernir la posible correspondencia entre la ubicación de organizadores nucleolares (NOR) encontrados en sus estudios y las regiones heterocromáticas observadas con bandas C.

En el estado Sucre, se realizó un estudio citogenético de diversas poblaciones de *A. vera* de la Península de Araya, en el cual Albornoz e Imery (2003) reconocieron diferencias entre poblaciones para el grupo de cromosomas más pequeños, atribuyéndolo a posibles cambios estructurales provenientes de la adaptación de las plantas a las condiciones ambientales. Imery y Caldera (2002) compararon las características cromosómicas de cinco especies de *Aloe*, encontrando diferencias entre éstas en cuanto a morfometría, asimetría cariológica y número o ubicación de las constricciones secundarias y, a partir de estas características, establecieron analogías entre *A. arborescens* y *A. sucotrina* seguida por *A. vera*, y separaron a *A. chinensis* y *A. saponaria* en un grupo aparte. Plantean la recomendación de analizar los patrones de bandeo de heterocromatina para reconocer de forma más específica variaciones intra e interespecíficas en las especies de *Aloe*.

Imery (2007) realizó estudios de bandeo C en *A. vera*, *A. saponaria* y algunos de sus híbridos experimentales diploides y triploides, encontrando patrones de bandeo totalmente opuestos entre ambas especies parentales, en donde *A. vera* exhibía bandas centroméricas en todos sus cromosomas, excepto el par L_3 y uno de los dos

cromosomas del par L_1 ; mientras que en *A. saponaria*, sólo se encontró una banda terminal en el brazo largo del par L_4 , permitiendo así, la identificación de los cromosomas procedentes de cada parental en híbridos interespecíficos de estas dos especies.

Tomando en cuenta que *A. vera* es una especie cuya explotación en Venezuela ha ido aumentando significativamente en los últimos años debido a sus importantes usos tanto en el campo ornamental, como farmacéutico y cosmetológico, lo cual ha promovido la búsqueda de alternativas de procesamiento y mejora de cultivos (Imery y Cequea, 2001), y en vista de que sólo se ha caracterizado la heterocromatina constitutiva con bandeado C en *A. vera* y *A. saponaria*, se consideró necesaria la ampliación del estudio del género *Aloe* mediante la caracterización del cariotipo y la heterocromatina constitutiva de siete especies de este género con la finalidad de obtener información para la búsqueda de marcadores genéticos asociados a características de interés, ya sea tolerancia a plagas y enfermedades, mayor rendimiento foliar o reproductivo, e incluso, elementos que exalten el valor ornamental de *A. vera*; así como establecer relaciones genómicas entre las especies y, de esta manera, contribuir en futuros estudios de filogenia. En tal sentido, en este estudio se plantearon los siguientes objetivos específicos: verificar el número, tamaño y morfología de los cromosomas mitóticos; estandarizar la técnica de tinción de heterocromatina constitutiva en las siete especies de *Aloe*; determinar el número, ubicación y tamaño relativo de las bandas C en cromosomas mitóticos; describir el número y distribución de cúmulos de heterocromatina en los núcleos interfásicos; y analizar comparativamente los atributos heterocromáticos de las siete especies de *Aloe*.

METODOLOGÍA

Material Vegetal

Para esta investigación, se utilizaron 10 plantas por cada una de las siete especies del género *Aloe* L. estudiadas, las cuales estaban conservadas en el banco de germoplasma de especies suculentas (UDO-Biología), ubicado en las coordenadas 10°26'32'' N y 64°09'14'' O en un bosque muy seco tropical de la ciudad de Cumaná (Figura 1).



Figura 1. Imagen satelital del banco de germoplasma de especies suculentas (UDO-Biología). La imagen fue adquirida a través del programa Google Earth versión 5.

Los ejemplares de *A. vera* fueron colectados originariamente de una población naturalizada en la península de Araya (10°36'34'' N, 64°07'18'' O); los de *A.*

saponaria y *A. jucunda* fueron adquiridos en un vivero comercial de la ciudad de Cumaná e identificados taxonómicamente según Sajeva y Costanzo (1994), Van Wyk y Smith (1996), y las cuatro especies restantes se introdujeron desde “Mesa Garden” (Nuevo México, EE.UU.) con certificación de identidad taxonómica y permiso fitosanitario N° 2666415 (USDA), encontrándose actualmente bajo la supervisión del investigador asesor. Algunas características generales de las siete especies de *Aloe* estudiadas se muestran en la figura 2 y tabla 1.



Figura 2. Representación fotográfica de *A. vera* (a), *A. saponaria* (b), *A. littoralis* (c), *A. jucunda* (d), *A. zebrina* (e), *A. lutescens* (f) y *A. jacksonii* (g), pertenecientes al banco de germoplasma de especies suculentas UDO-Biología.

Tabla 1. Características generales de las siete especies de *Aloe*.

Especie	NC	Origen	Hab.	Inflorescencia	Hoja	P
<i>A. vera</i>	2x	Península Arábica	HP	Simple o compuesta Pedúnculo erguido que emerge lateralmente entre dos hojas adultas Flores amarillas	Verde glauco Forma angosto-lanceolada Hojas grandes de 50 a 80 cm Sin manchas en el estado adulto Bordes espinosos del mismo color de las hojas	V
<i>A. saponaria</i>	2x	Región oriental Sudáfrica	HP	Ramificada Racimo en forma de cabeza Pedúnculo erguido que emerge desde el centro de la roseta Flores anaranjadas	Pardo-rojizo Forma angosto-lanceolada Manchas blancas permanentes. Bordes espinosos de color marrón	V-S
<i>A. littoralis</i>	2x	Sudáfrica	HP o Arb 3 m	Muy ramificada Pedúnculo erecto y oblongo Flores rosadas o rojas y amarillas en sus extremos que contienen una capa cerosa grisácea	Verde claro Hoja lanceolada o triangular de 12 a 60 cm de longitud Manchas blancas permanentes Borde con dientes de color marrón-rojizo	S
<i>A. jucunda</i>	2x	Este de África	HP<10 cm	Pedúnculo simple Flores púrpuras	Verde brillante Muy pequeñas, de forma triangular 5 a 8 cm de longitud. Manchas blancas permanentes. Borde espinoso marrón	V
<i>A. zebrina</i>	2x	Norte de Sudáfrica	HP	Muy ramificada en racimos ligeramente esparcidos. Flores color rosado opaco	Verde grisáceo opaco Hojas pequeñas triangulares Numerosas manchas blancas permanentes	V-S

Tabla 1. Continuación.

Especie	NC	Origen	Hab.	Inflorescencia	Hoja	P
<i>A. lutescens</i>	2x	Norte de Sudáfrica	HP ≤ 80 cm	Simple o ramificada Flores amarillas en el extremo del ramito y riojas al comienzo	Verde oscuro y opaco Forma angosto-lanceolada Bordes dentados marrón rojizo Sin manchas	V-S
<i>A. jacksonii</i>	4x	Este de África	HP < 20 cm	Simple o ramificada Flores purpuras Flores púrpuras	Verde oscuro Hojas pequeñas tubulares Bordes dentados Numerosas manchas blancas permanentes	

NC: número de cromosomas somáticos; Hab: hábito; P: propagación; HP: hierba perenne; Arb: arbusto; V: vegetativa; S: sexual.

Fuente: Van Wyk y Smith (1996); Brandham (2004); Newton (2004); Imery (2007).

Evaluación Cariotípica

Para la evaluación cariotípica, se empleó la metodología descrita por Matos y Molina (1997), con modificaciones de Imery (2007), cuyo protocolo se muestra a continuación:

El enraizamiento fue estimulado mediante poda radical y riego con el fertilizante nitrofoska a concentración mínima (1/15 X). Se colectaron raicillas jóvenes de 2-2,5 cm de longitud en un intervalo de tiempo comprendido entre las 7:00 y 8:30 a.m y se sumergieron en solución de colchicina 0,05% m/v por 3 horas a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Posteriormente, las raicillas fueron colocadas en una solución fijadora de Carnoy I (3:1 etanol absoluto/ácido acético glacial) por una hora a 4 °C, rehidratadas con agua destilada por 20 min, hidrolizadas con HCl 1 mol.l⁻¹ durante 10 min (con el fin de separar la lámina media que une las paredes celulares del tejido), y enjuagadas con agua destilada por 10 min.

La zona meristemática de cada raicilla fue seccionada individualmente en una gota de agua destilada sobre un portaobjeto y coloreada con dos gotas de orceína acética 2% m/v en ácido propiónico 45% v/v durante 3-4 min. A continuación, se colocó un cubreobjetos, eliminando el exceso de colorante con papel de filtro en los bordes, y se aplastó sobre el área de la tinción con el objeto de separar las células.

La observación de las láminas estuvo basada en la búsqueda de células metafásicas con cromosomas claramente distinguibles al microscopio de luz, seleccionando y fijando, permanentemente, las mejores con bálsamo de Canadá. La evaluación cariotípica se realizó en al menos diez células, tomando fotomicrografías a 1000 X en un microscopio Nikon modelo LABPHOT-2, empleando una cámara digital HP Photosmart modelo E427, y analizándolas luego en el programa Sigma Scan Pro 5 para la determinación digital de las longitudes de cada uno de los

componentes cromosómicos. Se evaluaron las siguientes características:

Número de cromosomas mitóticos.

Longitud del brazo corto (s).

Longitud del brazo largo (l).

Longitud completa de cada cromosoma ($L_c = s + l$).

Longitud del cariotipo ($LT = \sum L_c$).

Longitud relativa de cada cromosoma ($LR = L_c / LT * 100$).

Índice del cociente de brazos, del inglés “arm ratio” ($r = l/s$), de cada cromosoma.

Tinción de Heterocromatina Constitutiva

El Bando C en cromosomas metafásicos y la tinción de cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos se ejecutó en base al protocolo de Giraldez *et al.* (1979) con modificaciones de Imery (2007). La metodología utilizada se describe como sigue:

Se colectaron raíces jóvenes, de 2 a 3 cm de longitud, en un periodo de tiempo comprendido entre las 7:00 y 8:30 a.m. A continuación, se lavaron en agua corriente por dos minutos y se trataron con colchicina 0,05% por 2,5 horas en ambiente oscuro y a temperatura ambiente para contraer los cromosomas y mantenerlos suspendidos y sin solapamientos en metafase. Posteriormente, fueron colocadas en una solución fijadora de etanol/ácido acético glacial/cloroformo (5:3:2), a 4 °C por una hora y, transcurrido este tiempo, las raíces se enjuagaron con agua destilada por dos minutos, drenando así el fijador. Con el fin de hidrolizar la pared celular y disgregar el tejido, las raicillas fueron colocadas en HCl 0,5 mol.l⁻¹ a temperatura ambiente por 15 min y sumergidas luego en ácido propiónico 45% v/v por 10 min.

El meristema radical disectado se maceró en una gota de ácido propiónico 45% v/v, aplastando suavemente después de colocar el cubreobjeto. Para lograr su levantamiento, la lámina fue congelada con hielo seco, desplazándola rápidamente con una hojilla y se secó al aire por 30 min. La deshidratación de la lámina se efectuó con una solución de etanol absoluto por 5 horas, ventilando por 30 min para luego ser almacenada en sílica gel a temperatura ambiente (en ausencia de luz) por aproximadamente dos semanas.

Transcurrido el tiempo de incubación, la preparación fue sumergida en una solución filtrada $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 2% durante 45 min, a temperatura ambiente y en envase de vidrio tapado. Posteriormente, la muestra fue lavada dos veces en agua destilada (5 min) y secada por 10 min. Para la renaturalización, se colocaron las láminas en SSC 2X ($0,3 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaCl}$, $0,03 \text{ mol.l}^{-1} \text{ Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pH 7,4) a 65°C por una hora, enjuagando luego dos veces con agua destilada por 5 min y dejando ventilar por 15 min.

La tinción se efectuó con una mezcla 1,5% v/v de solución “stock” de Giemsa en buffer fosfato pH 7 a temperatura ambiente por 60 min, monitoreando la tinción cada 5 min con el fin de determinar el punto exacto donde se observan las bandas y los cromocentros en su máxima expresión. Posteriormente, la lámina se lavó suavemente con agua destilada (dos veces), y se secó al aire por aproximadamente 30 min. Finalmente, la preparación fue sumergida en xilol por dos horas y montada permanentemente en bálsamo de Canadá, para su subsiguiente evaluación al microscopio de luz.

Es importante acotar que, las técnicas de bandeo son susceptibles a muchos factores según la especie con que se ensaye, por lo que se hicieron modificaciones del protocolo por cada especie, en cuanto a variación de tiempo de exposición en los procesos de desnaturalización y tinción con giemsa (Tabla 2). Por tal razón, la

metodología descrita anteriormente fue la estandarizada para *Aloe vera* (Imery, 2007) y aplicada como método base en las seis especies restantes.

Tabla 2. Modificaciones del tiempo de exposición al hidróxido de bario (2%-Ba(OH)₂.8H₂O) y del tiempo de tinción con giemsa (1,5%) en seis especies de *Aloe*.

Especie	Tiempo de exposición al Ba(OH) ₂ .8H ₂ O 2% (min)	Tiempo de tinción con giemsa 1,5% (min)
<i>A. saponaria</i>	30	60
<i>A. littoralis</i>	22	60
<i>A. jucunda</i>	19	30
<i>A. zebrina</i>	25	40
<i>A. lutescens</i>	15	30
<i>A. jacksonii</i>	40	35

Cada lámina fue observada sistemáticamente para reconocer regiones de heterocromatina constitutiva en cromosomas metafásicos y núcleos interfásicos. Las zonas más oscuras de color magenta se registraron como heterocromatina C⁺ y el resto de los espacios de color violeta o menos coloreados, se indicaron como regiones de heterocromatina C⁻ (frecuencia < 25%). El registro fotomicrográfico se realizó de la misma manera descrita para los cariotipos. El porcentaje de heterocromatina constitutiva de cada cromosoma se calculó a partir de la fórmula: %H= (Longitud de banda/ L_C) * 100, con n=7 células, y el porcentaje de heterocromatina total se determinó mediante la fórmula siguiente: %H= (ΣLong. Bandas/Long. total del cariotipo) * 100, con n=7 células (Zheng *et al.*, 1991). Esta actividad fue ejecutada en ambiente digital, empleando el programa Sigma Scan Pro 5 y Microsoft Excel 2007.

En las especies *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. zebrina* y *A. lutescens*, las bandas fueron inconstantes de una célula a otra, razón por la cual la proporción de

heterocromatina constitutiva total se estimó a partir de la longitud total del cariotipo calculado en los estudios cariológicos de la especie respectiva, tomando para las mediciones cuantitativas las bandas cuya frecuencia era mayor al 25% de las observaciones.

Métodos Estadísticos

En el análisis estadístico descriptivo de la evaluación cariotípica, se organizaron los cromosomas en orden decreciente de acuerdo a la longitud del brazo corto en cada cariotipo según Brandham (1971). El par grande L_1 fue aquel que tuvo la mayor longitud del brazo corto, el L_2 y L_3 los que le siguen al L_1 en longitud de su brazo corto y, el L_4 , el par cromosómico que tuvo el brazo corto con menor longitud. De igual manera, fueron ordenados los tres pares de cromosomas pequeños (S_1 , S_2 y S_3). Se calculó el promedio y desviación estándar de cada variable cromosómica con $n=10$ células. Estos cromosomas mitóticos fueron también clasificados de acuerdo a la posición del centrómero (Levan *et al.*, 1964).

A fin de cuantificar el grado de asimetría, tanto intracromosómica (A_1) como intercromosómica (A_2), del cariotipo de cada una de las siete especies de *Aloe* caracterizadas en esta experiencia, se calcularon los índices de asimetría cariotípica (A_1 y A_2) propuestos por Romero (1986), según las fórmulas siguientes:

$$A_1 = 1 - (\sum_{i=1}^n b_i / B_i) / n \quad ; \quad A_2 = s / (\bar{X})$$

En la primera fórmula, b_i es la longitud media de los brazos cortos de cada par o grupo de homólogos; B_i , la longitud media de los brazos largos y n el número de cromosomas homólogos. La segunda fórmula expresa el coeficiente de dispersión de Pearson, y es la razón entre la desviación estándar (s) y la media (\bar{X}) de la longitud de los cromosomas del cariotipo.

A partir de matrices numéricas, se calcularon distancias euclidianas para los siguientes atributos: índice de asimetría A_1 , índice de asimetría A_2 , longitud total de cariotipo, índice “*arm ratio*” y porcentaje total de heterocromatina. Con estos valores de disimilitud entre especies fueron elaborados dendrogramas de distancia euclidiana a través del programa estadístico SPSS 12, usando el método “promedio simple entre grupos”.

Las bandas distintivas de cada par cromosómico, así como las constricciones secundarias presentes en los cromosomas mitóticos de cada especie, fueron numeradas desde la primera posible en el extremo del brazo corto del L_1 hasta la última posible del brazo largo en el S_3 y, con esta información, se construyó una matriz binaria (1/0) de presencia/ausencia, para cada caso, colocando en las columnas todos y cada uno de los atributos que fueron enumerados y, en las filas, las especies involucradas (entidades). Posteriormente, estos datos se procesaron mediante un programa computarizado (SPSS versión 12), para determinar la agrupación y similitud entre especies a partir del índice de Jaccard. Finalmente, las relaciones interespecíficas y sus distancias fenéticas fueron representadas gráficamente mediante la elaboración de un dendrograma.

RESULTADOS

Las siete especies de *Aloe* caracterizadas mostraron un número básico de cromosomas de $x=7$, seis de ellas con un complemento cromosómico diploide de $2n=2x=14$ y sólo una, *A. jacksonii*, con un complemento tetraploide de $2n=4x=28$ cromosomas. El cariotipo de las especies diploides es bimodal y está conformado por ocho cromosomas grandes (L), con un rango de longitud entre $12\ \mu\text{m}$ y $15,02\ \mu\text{m}$, y seis pequeños (S) con longitudes que van desde $3,99\ \mu\text{m}$ hasta $5,43\ \mu\text{m}$ de longitud. En *A. jacksonii*, los cromosomas se agrupan de la misma manera que en las otras seis especies, con la diferencia de que el número de cromosomas grandes y pequeños está duplicado. A continuación se detallaran los rasgos morfométricos del cariotipo de cada especie, así como los patrones de distribución de heterocromatina en núcleos interfásicos y cromosomas mitóticos.

Aloe vera

El cariotipo bimodal de *A. vera* consta de ocho cromosomas grandes y seis pequeños (Figura 3a,b) con longitudes comprendidas entre $11,75\text{-}13,84\ \mu\text{m}$ y $4,32\text{-}5,43\ \mu\text{m}$ (Tabla 3), respectivamente. El índice r refleja que el primer par de cromosomas grandes tiene el centromero en posición submedia (sm) y, en los otros tres pares L, el centromero se ubica en la región subterminal (st), mientras que los tres pares de cromosomas pequeños son todos submedianos. Las longitudes relativas oscilan entre $9,13\text{-}10,51\%$ en cromosomas grandes y $3,33\text{-}4,13\%$ en cromosomas pequeños, representando $77,97\%$ y $22,03\%$ de la longitud total del genoma de esta especie ($131,58\ \mu\text{m}$).

Con respecto a las constricciones secundarias, se aprecia, en cromosomas que

tienen poco grado de contracción, constricciones localizadas en los brazos largos de los pares L₁ y L₄ y en el brazo corto del par S₁. En general, la fórmula cariotípica que define a *A. vera* es $2n=2x=14=8L+6S=2L(sm)^{sat}+4L(st)+2L(st)^{sat}+2S(sm)^{sat}+4S(sm)$.

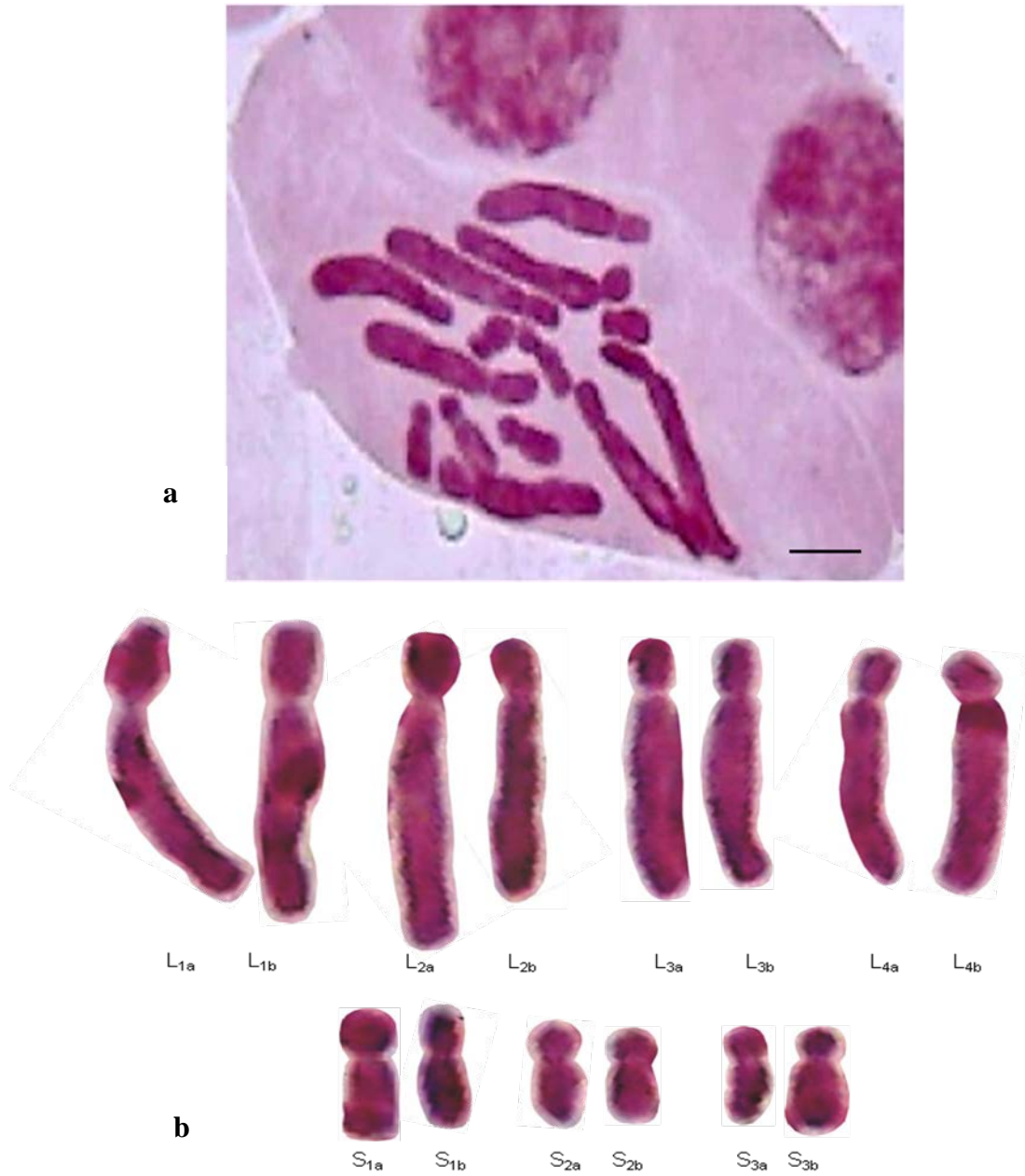


Figura 3. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de *Aloe vera*. Barra =10 μ m.

Tabla 3. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *Aloe vera*.

N°	s(μm)	l(μm)	Lc (μm)	LR (%)	r	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}
1	3,80± 0,85	10,04± 2,08	13,84± 2,79	10,51± 0,61	2,65± 0,21	sm	L ₁	-
2	3,53± 0,62	10,15± 1,66	3,68± 1,91	10,42± 0,68	2,90± 0,33	sm	L ₁	3,07± 0,76
3	2,97± 0,67	10,19± 2,57	13,15± 3,08	9,97± 0,62	3,44± 0,30	st	L ₂	3,62± 0,52
4	2,80± 0,43	9,99± 1,16	12,79± 1,50	9,73± 0,38	3,58± 0,22	st	L ₂	3,55± 1,13
5	2,63± 0,34	9,94± 1,75	12,56± 1,99	9,55± 0,37	3,79± 0,28	st	L ₃	-
6	2,50± 0,34	10,31± 2,41	12,81± 2,63	9,72± 0,58	4,11± 0,44	st	L ₃	-
7	2,28± 0,51	9,47± 1,64	11,75± 1,93	8,95± 0,73	4,20± 0,51	st	L ₄	3,39± 1,03
8	2,14± 0,46	9,86± 1,81	12,00± 1,92	9,13± 0,63	4,65± 0,69	st	L ₄	4,11± 2,08
9	1,99± 0,36	3,44± 0,83	5,43± 1,04	4,13± 0,36	1,73± 0,22	sm	S ₁	13,84± 4,15
10	1,89± 0,37	3,30± 0,75	5,18± 0,96	3,94± 0,24	1,76± 0,23	sm	S ₁	11,39± 3,79
11	1,77± 0,34	3,09± 0,87	4,85± 0,91	3,69± 0,28	1,77± 0,35	sm	S ₂	11,44± 2,91
12	1,68± 0,26	3,13± 0,67	4,82± 0,82	3,66± 0,24	1,86± 0,21	sm	S ₂	12,39± 2,93
13	1,50± 0,28	2,82± 0,84	4,32± 1,07	3,28± 0,31	1,88± 0,20	sm	S ₃	12,89± 4,17
14	1,44± 0,30	2,95± 0,82	4,38± 0,96	3,33± 0,35	2,06± 0,34	sm	S ₃	12,91± 4,60
Total			131,58± 17,98					4,23± 0,68

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; pc: pericentromérica.

Existe polimorfismo entre homólogos en cuanto al tamaño de brazos cortos y largos así como de constricciones secundarias, en la mayoría de las células analizadas (Figura 3b, Tabla 3); sin embargo, no hay mucha diferencia en sus longitudes relativas. Por otro lado, la tinción de la heterocromatina constitutiva (HC) con giemsa permitió observar cromocentros con buen contraste en núcleos interfásicos (Figuras 4,5a,b) y profase mitótica (Figura 4), así como bandas bien definidas en los cromosomas metafásicos (Figura 6).

Es importante mencionar que, tanto en *A. vera* como en las otras seis especies del género, la técnica de coloración con giemsa es muy sensible a la acción del desnaturalizante ya que una pequeña variación en el tiempo de exposición al reactivo puede provocar dificultad en la visualización de la mayoría de las bandas, observándose células de color lila pálido con acumulación de material proveniente del daño excesivo producido por el álcali. No sólo en *A. vera*, sino en todas las especies, se probó el tiempo de maduración en una, dos o tres semanas, estableciéndose que para el género el tiempo ideal para todas las especies fue de dos semanas, obteniéndose bandas con mejor grado de resolución que en las pruebas anteriores. Por otra parte, el tiempo de tinción puede afectar la visualización de las bandas y, además, la calidad de la observación de los cúmulos de heterocromatina constitutiva suele variar de una lámina a otra y de célula en célula, siendo necesaria la exhaustiva observación para lograr óptimos resultados.

Los cromocentros en *A. vera* se observan fácilmente y pueden ser registrados numéricamente en la mayoría de las células; sin embargo, no siempre existe correspondencia entre el número de cromocentros y el número de bandas presentes en los cromosomas, pues se han detectado ciertos solapamientos entre cromocentros (Figura 5b) debido a la disposición tridimensional de los mismos en la matriz nuclear. Los cromocentros varían en coloración y tamaño, algunos son de un color magenta intenso y otros de un lila pálido generalmente más pequeños. En la figura 5a, se

puede notar que los cromocentros tienen una disposición no aleatoria en el núcleo; los cúmulos de HC de las células hermanas se localizan de manera opuesta en la periferia nuclear al igual que los centrómeros de los cromosomas en la etapa de anafase, luego de su separación hacia los polos de la célula en la división mitótica. A medida que transcurren los estadios de la interfase (Figura 5b) y comienza la profase, esta disposición se pierde y los cromocentros se sitúan de acuerdo a la posición del centrómero con respecto a la longitud de cada cromosoma (posición submedia o subterminal).

El patrón de bandas de HC detectadas con la técnica de bandeo C con giemsa en esta especie consta de 11 bandas pericentroméricas (Figura 6), cinco ubicadas en cromosomas grandes y seis en cromosomas pequeños (Figura 7), representando aproximadamente el 4,23% de la longitud total del cariotipo (Tabla 3). Las bandas de cromosomas grandes se encuentran en uno de los dos cromosomas del par L_1 , en el par L_2 y L_4 ; mientras que todos los cromosomas pequeños exhiben bandas alrededor de sus centrómeros (Figura 6,7). Una banda terminal pequeña de color lila en el brazo largo del cromosoma L_1 que tiene banda centromérica es observada ocasionalmente en ciertas células del tejido meristemático de *A. vera*, coincidiendo con la ubicación de la constricción secundaria en este par cromosómico (Figura 6). Su presencia probablemente se corresponde y está asociada al cromocentro observado en el núcleo, situado de manera opuesta a la tendencia de la mayoría de los cromocentros revelados con la tinción magenta (Figura 6). No se observaron bandas intersticiales en los 14 cromosomas del complemento diploide.

Existe variación en la intensidad de tinción y tamaño de las bandas entre cromosomas no homólogos y entre homólogos (Figuras 6,7), siendo más intensas y de mayor tamaño las presentes en los cromosomas pequeños. Se ha observado heteromorfismo entre homólogos en los pares L_1 (sólo un cromosoma tiene banda), L_4 , S_1 y S_3 . Los cromosomas con el mayor porcentaje de

heterocromatina constitutiva son el S_{1a} (13,91%) y el S_{3a} (13,84%), mientras que el menor porcentaje se halla en el L_{1a} (3,07%).

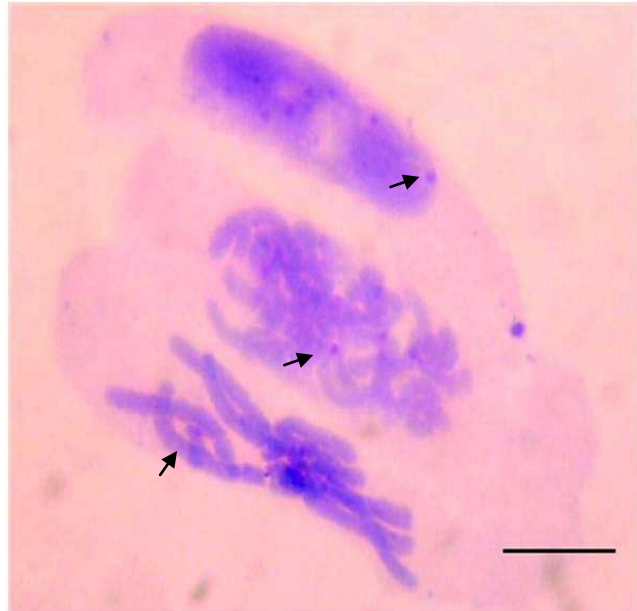


Figura 4. Cúmulos de heterocromatina constitutiva en el núcleo interfásico, profase y metafase mitótica observados en células meristemáticas radicales de *Aloe vera*. Las flechas indican cromocentros (parte superior) y una banda centromérica en un cromosoma pequeño (parte inferior). Barra=10 μ m.

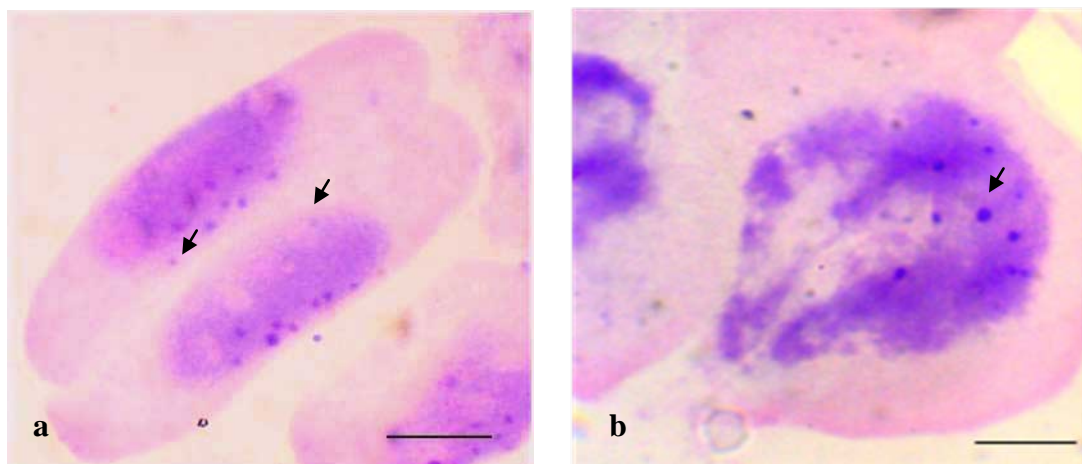


Figura 5. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe vera* (a,b). Las flechas indican cromocentros muy difusos o ubicados en posición terminal (a), así como solapamientos entre los mismos (b). Barra=10 μ m.



Figura 6. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe vera*. Las flechas señalan bandas difusas en cromosomas L y una constricción secundaria presente en el brazo largo del L₁ (en la parte superior izquierda de la célula). Barra= 10 μ m.

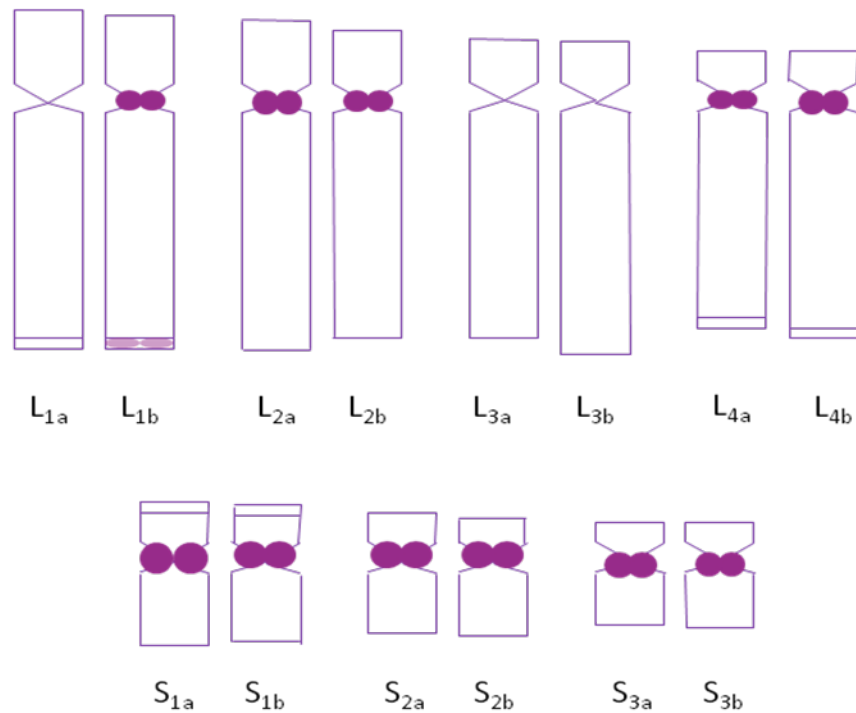


Figura 7. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos de *Aloe vera*. Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25% y los claros las bandas con frecuencia < 25%. Barra= 10 μ m.

Aloe saponaria

El complemento cromosómico de *A. saponaria* se divide en ocho cromosomas grandes y seis pequeños (Figura 8a,b) representados por la fórmula cariotípica: $2n=2x=14=8L+6S=6L(st)+2L(st)^{sat}+2S(sm)^{sat}+4S(sm)$, donde el centrómero en los cromosomas L se ubica en posición st y en los cromosomas S en posición sm (Tabla 4). El tamaño de su cariotipo es de 137,73 μm , distribuidos en longitudes que varían entre 12,63 μm y 15,02 μm para los cuatro pares cromosómicos grandes y, entre 4,38 μm y 4,96 μm , para los tres pares pequeños. En cuanto a las longitudes relativas de los cromosomas L y S con respecto a la longitud del genoma, se tiene que los primeros representan un 79,52% y los segundos un 20,48% (Tabla 4), en rangos que oscilan entre 9,17-10,90% y 3,16-3,61%, respectivamente. Al igual que en *A. vera*, existe polimorfismo entre homólogos con respecto al tamaño cromosómico de la mayoría de las células observadas (Figura 8b, Tabla 4).

En la figura 8 y 9, se observa la presencia de constricciones secundarias en los brazos largos del par L_4 y en los brazos cortos del par S_1 . Sólo en el cromosoma S_{1a} fue evidente un satélite bien formado en muchas de las células estudiadas (Figura 9); mientras que en el S_{1b} esta estructura era inconspicua y poco frecuente. En el brazo corto del par L_1 y L_4 , se visualiza un estreñimiento en su parte media o submedia que podría confundirse con una constricción secundaria, pero no hay elementos visuales convincentes para considerarlas una constricción como tal. También se observa la presencia de cromosomas pequeños con brazos largos de longitudes poco esperadas, pudiendo ser esto evidencia de posibles rearrreglos cromosómicos en *A. saponaria*.

La observación de cromocentros en núcleos y bandas en cromosomas de *A. saponaria* con la técnica de bandeado C con giemsa permitió reconocer dos únicos

sitios de acumulación de heterocromatina constitutiva en su genoma, los cuales se ubican en posición terminal de cada cromosoma del par L_4 (Figuras 10,11). La figura 10 muestra dos cromocentros solapados que se localizan hacia la periferia nuclear y se corresponden numéricamente con las bandas observadas en los cromosomas mitóticos (Figuras 11,12). La banda del L_{4a} es más prominente e intensa comparada con la banda del L_{4b} , que suele colorearse de un tono lila muy tenue. El porcentaje de heterocromatina constitutiva total del cariotipo fue de 0,85% y de cada cromosoma fue de 4,31% (L_{4a}) y 4,35% (L_{4b}).

Aloe littoralis

El cariotipo de *A. littoralis* posee la bimodalidad característica de la familia (Figura 13a,b), comprendiendo longitudes que van desde 4,22 μm a 5,14 μm en cromosomas pequeños y de 12,53 μm a 14,10 μm en cromosomas grandes (Tabla 5); se observan algunos polimorfismos entre las longitudes de algunos pares cromosómicos pero menos acentuados que en las otras dos especies descritas (Figura 13b). En datos porcentuales, del total de la longitud del cariotipo (135,21 μm), un 79,2% representa a los cromosomas grandes (9,28-10,42%) y un 20,8% a los pequeños (3,13-3,81%), siendo el L_{1a} (10,42%) el cromosoma con mayor proporción en tamaño y el S_{3a} (3,13%) aquel con el menor porcentaje de longitud relativa (Tabla 5). Según la clasificación cromosómica de Levan *et al.* (1964), los centrómeros en esta especie están ubicados en posición media en el par S_1 , submedia en los pares L_1 , S_2 y S_3 , y subterminal en los pares L_2 , L_3 y L_4 .

La fórmula cariológica de *Aloe littoralis* se resume en $2n=2x=14=8L+6S=2L(sm)+2L(st)+4L(st)^{sat}+2S(m)+4S(sm)$. Dicha fórmula establece la presencia de cuatro constricciones secundarias en los pares L_3 y L_4 localizadas, específicamente en sus brazos largos. Son muy evidentes en la mayoría de las preparaciones citológicas,

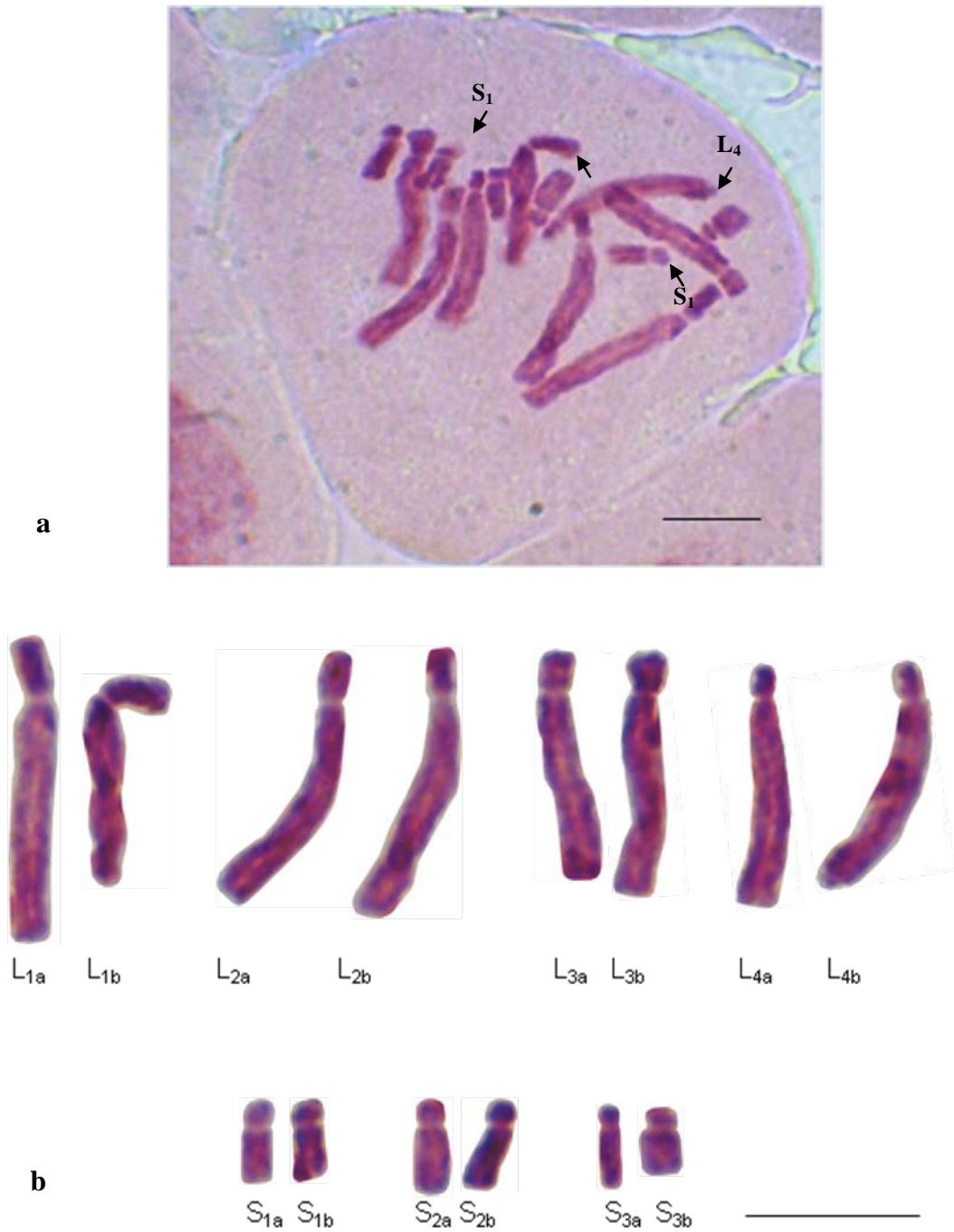


Figura 8. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de *Aloe saponaria*. Las flechas señalan constricciones secundarias presentes en el par L₄ y S₁ y pseudo-constricciones en el brazo corto de un cromosoma grande. Barra= 10 μm.

Tabla 4. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *A. saponaria*.

N°	s(μm)	l(μm)	Lc(μm)	LR(%)	r	Cl ₁	Cl ₂	%HC _t
1	3,69± 0,38	11,33± 2,03	15,02± 2,25	10,90± 0,77	3,07± 0,35	st	L ₁	-
2	3,36± 0,50	10,72± 1,70	14,09± 1,84	10,24± 0,81	3,22± 0,52	st	L ₁	-
3	2,87± 0,35	11,19± 1,50	14,07± 1,41	10,23± 0,65	3,94± 0,62	st	L ₂	-
4	2,70± 0,34	11,43± 1,49	14,13± 1,47	10,27± 0,53	4,28± 0,62	st	L ₂	-
5	2,45± 0,39	10,61± 1,66	13,05± 1,80	9,48± 0,72	4,37± 0,60	st	L ₃	-
6	2,28± 0,31	11,21± 1,80	13,48± 1,94	9,78± 0,69	4,95± 0,57	st	L ₃	-
7	1,95± 0,39	11,09± 2,25	13,04± 2,46	9,43± 0,89	5,72± 0,92	st	L ₄	4,31± 1,94
8	1,66± 0,42	10,97± 2,09	12,63± 2,29	9,17± 1,05	6,80± 1,44	st	L ₄	4,35± 2,01
9	1,63± 0,16	3,22± 0,74	4,85± 0,78	3,53± 0,43	1,98± 0,35	sm	S ₁	-
10	1,51± 0,16	3,44± 0,71	4,96± 0,70	3,61± 0,43	2,30± 0,42	sm	S ₁	-
11	1,41± 0,15	3,40± 0,47	4,82± 0,50	3,51± 0,30	2,42± 0,33	sm	S ₂	-
12	1,31± 0,16	4,46± 0,55	4,78± 0,59	3,47± 0,29	2,66± 0,41	sm	S ₂	-
13	1,21± 0,18	3,24± 0,82	4,45± 0,88	3,22± 0,33	2,70± 0,52	sm	S ₃	-
14	1,11± 0,17	3,27± 1,05	4,38± 1,16	3,16± 0,46	2,95± 0,54	sm	S ₃	-
Total			137,73± 13,47					0,85± 0,25

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; t: terminal.

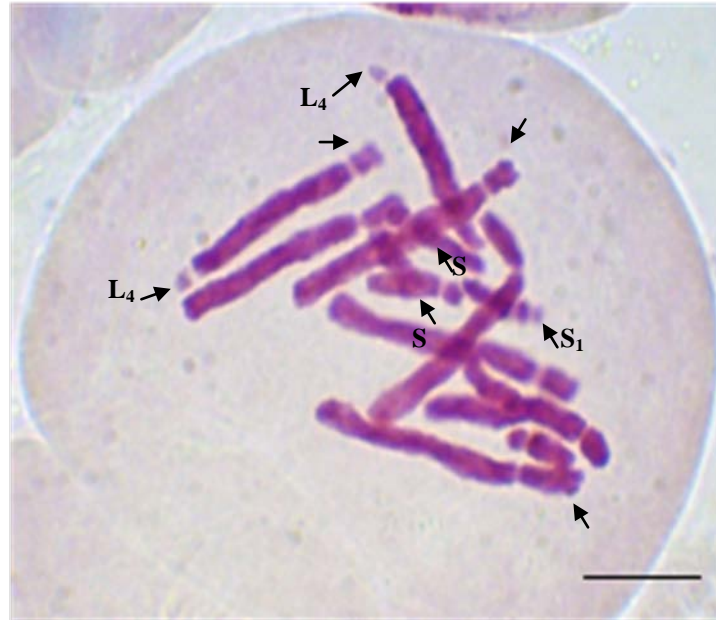


Figura 9. Constrictiones secundarias en *Aloe saponaria*. Las flechas señalan constrictiones presentes en brazos largos de cromosomas L_4 y en el brazo corto de un cromosoma S_1 , pseudo-constrictiones en brazos cortos de cromosomas grandes y la posible evidencia de un rearrreglo cromosómico en el brazo largo de un par cromosómico S. Barra= 10 μ m.



Figura 10. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe saponaria*. Las flechas indican cromocentros solapados, ubicados en posición terminal. Barra=10 μ m.



Figura 11. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe saponaria*. Las flechas indican bandas difusas y localizadas en posición terminal (L_4). Barra= 10 μ m.

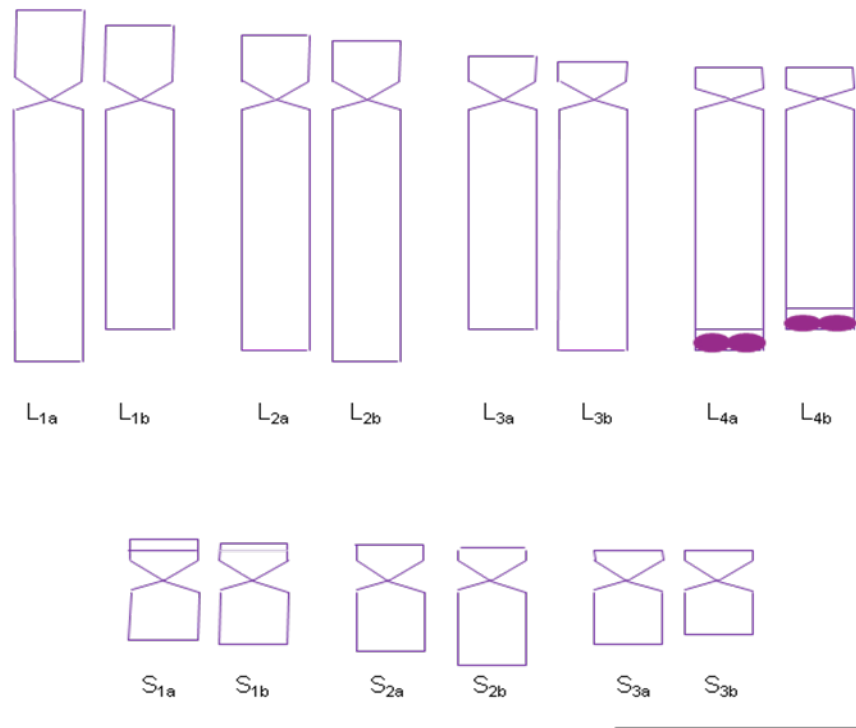


Figura 12. Idiograma de patrones de bando de heterocromatina constitutiva en cromosomas del tejido meristemático subapical de *Aloe saponaria*. Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25% y la línea clara posible constricción secundaria presente en el S_{1b} . Barra= 10 μ m.

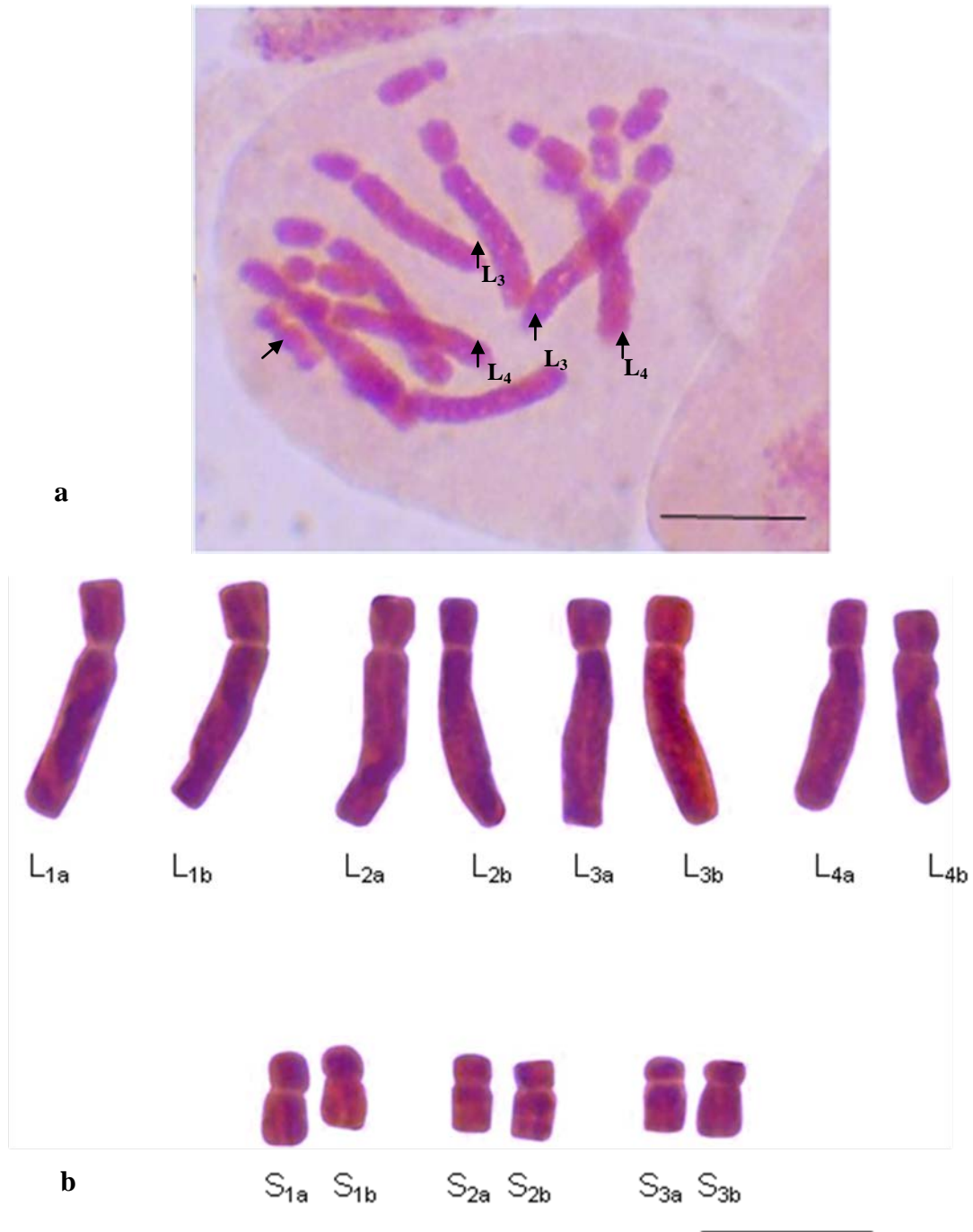


Figura 13. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de *Aloe littoralis*. Las flechas señalan constricciones secundarias presentes en el L₃-L₄ y pseudo-constricciones en el brazo largo de un cromosoma pequeño. Barra= 10 μ m.

Tabla 5. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *Aloe littoralis*.

Nº	s(µm)	l(µm)	Lc (µm)	LR (%)	r(µm)	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}	%HC _t
1	3,60± 0,30	10,48± 0,90	14,08± 1,10	10,42± 0,54	2,92± 0,22	sm	L ₁	4,36± 1,02	-
2	3,49± 0,35	10,29± 1,09	13,78± 1,34	10,18± 0,47	2,96± 0,27	sm	L ₁	4,54± 1,16	-
3	3,17± 0,36	10,92± 1,34	14,10± 1,62	10,41± 0,65	3,45± 0,30	st	L ₂	-	-
4	3,00± 0,36	10,81± 1,19	13,81± 1,53	10,19± 0,56	3,61± 0,16	st	L ₂	-	-
5	2,83± 0,25	10,53± 1,28	13,35± 1,49	9,86± 0,66	3,72± 0,27	st	L ₃	6,15± 1,96	4,64± 1,06
6	2,75± 0,20	10,19± 0,78	12,94± 0,90	9,59± 0,65	3,72± 0,27	st	L ₃	5,94± 0,88	-
7	2,61± 0,20	9,92± 0,81	12,53± 0,91	9,27± 0,40	3,81± 0,33	st	L ₄	-	4,91± 1,52
8	2,53± 0,18	10,00± 0,90	12,53± 0,99	9,28± 0,58	3,96± 0,35	st	L ₄	5,19± 1,32	4,79± 1,35
9	1,97± 0,15	3,16± 0,25	5,14± 0,33	3,81± 0,25	1,61± 0,14	m	S ₁	14,10± 2,94	-
10	1,88± 0,15	3,02± 0,32	4,90± 0,42	3,63± 0,27	1,61± 0,14	m	S ₁	14,28± 2,73	-
11	1,71± 0,16	3,09± 0,35	4,79± 0,48	3,54± 0,16	1,81± 0,13	sm	S ₂	15,79± 4,78	-
12	1,64± 0,14	3,09± 0,30	4,74± 0,39	3,50± 0,19	1,89± 0,18	sm	S ₂	15,95± 4,57	-
13	1,42± 0,11	2,80± 0,22	4,22± 0,25	3,13± 0,23	1,98± 0,22	sm	S ₃	-	-
14	1,35± 0,12	2,96± 0,23	4,30± 0,29	3,19± 0,22	2,21± 0,21	sm	S ₃	-	-
Total			135,21± 9,26					4,81	1,40

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; pc: pericentromérica; t: terminal.

variando un poco su tamaño entre homólogos (Figura 13a). También se pudo visualizar constreñimientos en los brazos largos de cromosomas pequeños como los observados para los brazos cortos de los cromosomas grandes en *A. saponaria*.

La técnica de bandeado C en *A. littoralis* experimentó dificultades en su estandarización debido a la sensibilidad de las células a la acción del álcali. Fue necesaria la reducción drástica del tiempo de exposición al desnaturalizante (Tabla 2), a fin de lograr resultados significativos y de buena resolución. No hubo limitantes en la visualización de los cromocentros (Figura 14); la mayoría de las células mostraban cúmulos de HC bien definidos de dos tonalidades, unos de un magenta intenso y unos pocos de color lila claro, dispuestos de manera no aleatoria en el núcleo experimentando como ya ha sido mencionado solapamientos unos con otros. Se observó un grupo de cromocentros ubicados en un polo de la célula (aproximadamente 12 o 13 cromocentros) y alrededor de 4 o 5 en el otro polo celular, pudiendo ser estos los correspondientes a las bandas teloméricas encontradas en brazos largos de los pares cromosómicos L_3 y L_4 .

Por otra parte, la observación de bandas en cromosomas mitóticos (Figura 15) fue inestable pues no todas las bandas se observaban en las células, las bandas centroméricas de los cromosomas pequeños eran las más constantes así como las bandas pericentroméricas del par L_3 en algunas células, mientras que en otras sólo se observaban las bandas terminales. Por esta razón, en el idiograma de la figura 16, se muestran bandas de un tono más claro para representar aquellas de procedencia dudosa o con una frecuencia por debajo de la establecida para contabilizar las bandas significativas presentes en cada cromosoma (región terminal de L_{1a} , L_{2a} y L_{3b} y región centromérica de L_{2a} , L_{4b} , y S_3).

Las bandas de color más intenso se ubican en la región centromérica de los cromosomas L_1 , L_3 , L_{4a} , S_1 y S_2 , así como en la región terminal de los cromosomas

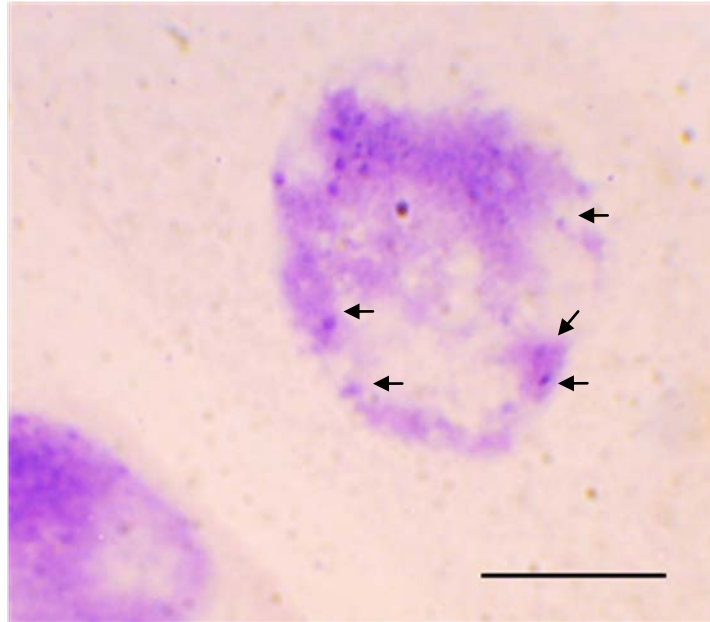


Figura 14. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe littoralis*. Las flechas indican cromocentros muy difusos o ubicados en posición terminal. Barra=10 μ m.

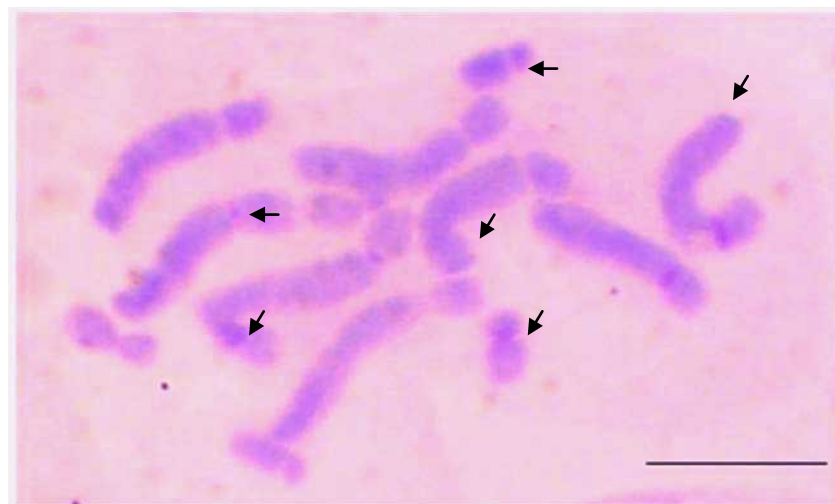


Figura 15. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe littoralis*. Las flechas indican bandas difusas o localizadas en posición terminal. Barra= 10 μ m.

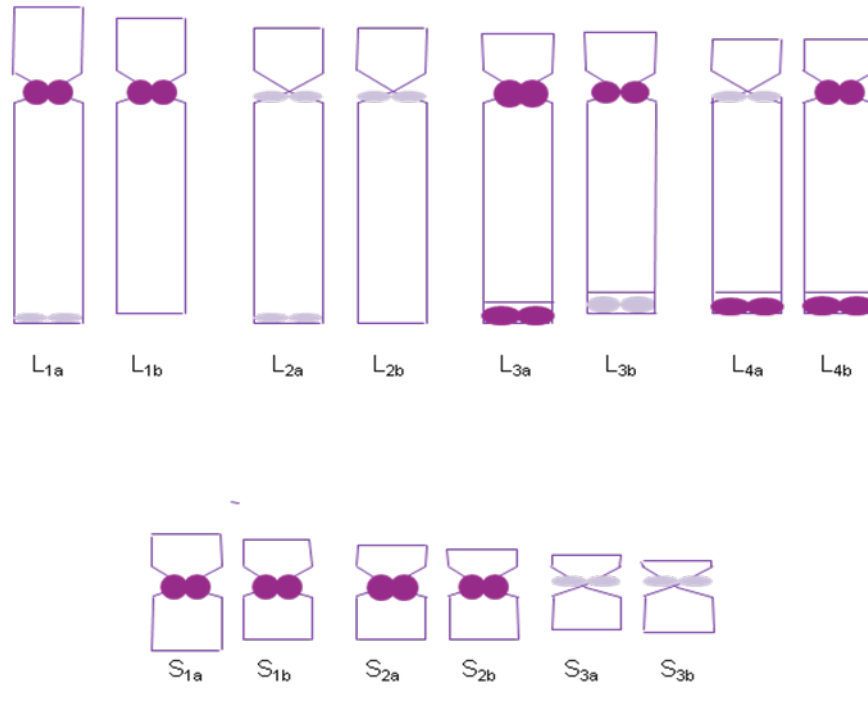


Figura 16. Idiograma de patrones de bandeo de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos de *Aloe littoralis*. Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25% y los claros las bandas con frecuencia < 25%. Barra= 10 μ m.

L_{3a} y L₄. Existe heteromorfismo del tamaño (S₂, L₃) y aparición de bandas (L_{3b}, L₄) entre homólogos (Figura 16). El porcentaje de heterocromatina constitutiva total (Tabla 5) en *A. littoralis* es de 6,21%, de los cuales 4,81% pertenecen a bandas pericentroméricas y 1,41% a bandas terminales. Como es de esperarse, los menores porcentajes se encuentran en los cromosomas grandes, siendo el L_{1a} aquel con la menor proporción del cariotipo (4,36%); sin embargo, el porcentaje de HC en los cromosomas L con bandas pericentroméricas y terminales aumenta, acercándose un poco al porcentaje de los cromosomas pequeños, que oscila entre 14,10% y 15,95% (S_{2b}).

Aloe jucunda

En la figura 17, se muestra el cariotipo de *A. jucunda*, conformado por 14 cromosomas que poseen una longitud total de 138,87 μm y longitudes cromosómicas de los pares S y L que fluctúan entre 4,01-5,18 μm y 12,86-15,01 μm , respectivamente (Tabla 6). El complemento diploide de esta especie está representado por $2n=2x=14=8L+6S=4L(\text{st})+4L(\text{st})^{\text{sat}}+6S(\text{sm})$, donde los cromosomas grandes subterminales constituyen el 80,26% de la longitud total del genoma, mientras que los pequeños submedianos sólo un 19,74% de longitud relativa, con intervalos que van de 9,29-10,83% en los primeros, y de 2,9-3,13% en los segundos.

Los polimorfismos de tamaño entre cromosomas homólogos son más evidentes en el par L_1 y en los brazos largos de los pares L_2 , L_3 , S_1 y S_2 (Figura 17b). Las constricciones secundarias se disponen en los brazos largos de los pares cromosómicos L_3 y L_4 , siendo más prominentes y visibles en muchas células las localizadas en el último par (Figura 17b). También, en los brazos cortos de estos cromosomas, se observan las pseudo-constricciones descritas para las especies anteriores.

Los cromocentros en *A. jucunda* poseen buen contraste y resolución, pudiendo diferenciar su disposición en el núcleo interfásico (Figura 18a,b). Variación en la tonalidad y tamaño son observados como consecuencia de la existencia de bandas de diferente tamaño e intensidad en los cromosomas. Aparecen solapados o dispersos en uno de los polos celulares (Figura 18b) y sólo se ven dos cromocentros ubicados de manera opuesta a los demás, lo que indica posiblemente la ubicación de las bandas terminales en el reticulado tridimensional que forma la cromatina nuclear. Al igual que en *A. littoralis*, la técnica de tinción de heterocromatina constitutiva no permitió la visualización de la totalidad de las bandas en todas las células analizadas (Figuras

19a,b), sino la presencia de unas pocas de manera constante (L_3 y L_4), la aparición de otras ocasionalmente, y unas pocas observadas una o dos veces como máximo (L_{2b} y S_{3a}), tomadas como no significativas en este estudio.

El patrón de bandeo de los cromosomas mitóticos del tejido meristemático radical de *A. jucunda* idealizado en la figura 20 consta de diez bandas pericentroméricas, localizadas en seis cromosomas grandes (L_{1a} , L_{2a} , L_{3a} , L_{3b} , L_{4a} y L_{4b}) y en cuatro pequeños (S_{1a} , S_{2a} , S_{2b} y S_{3a}), y dos bandas teloméricas presentes en los dos cromosomas del par L_4 en correspondencia con la ubicación de dos de las cuatro constricciones secundarias presentes en *A. jucunda*. Se observó polimorfismo en bandas homólogas de los pares L_1 , L_2 , S_1 , S_3 , debido a la ausencia de una banda en uno de los dos cromosomas del par, y en los pares L_3 , L_4 por diferencia de sus longitudes (banda centromérica y terminal).

Indiscutiblemente, las bandas pericentroméricas tienen mayor proporción (3,73%) que las bandas terminales (0,75%); al igual que si se comparan proporciones de heterocromatina en cromosomas pequeños (5,02-5,88%) y grandes (11,88-15,56%), a excepción de aquellos que tienen bandas centroméricas y terminales conjuntamente (L_4). Sin embargo, el porcentaje de heterocromatina total (4,48%) es pequeño con respecto a la longitud del genoma de esta especie (138,87 μm). El cromosoma L_{2a} es el que posee menor porcentaje de HC de todo el complemento cromosómico, mientras que el S_{3a} el que tiene la mayor proporción (Tabla 6).

Aloe zebrina

Los 14 cromosomas de *A. zebrina*, observados en la figura 21, se dividen en ocho grandes con centrómeros ubicados en posición st, y seis pequeños con

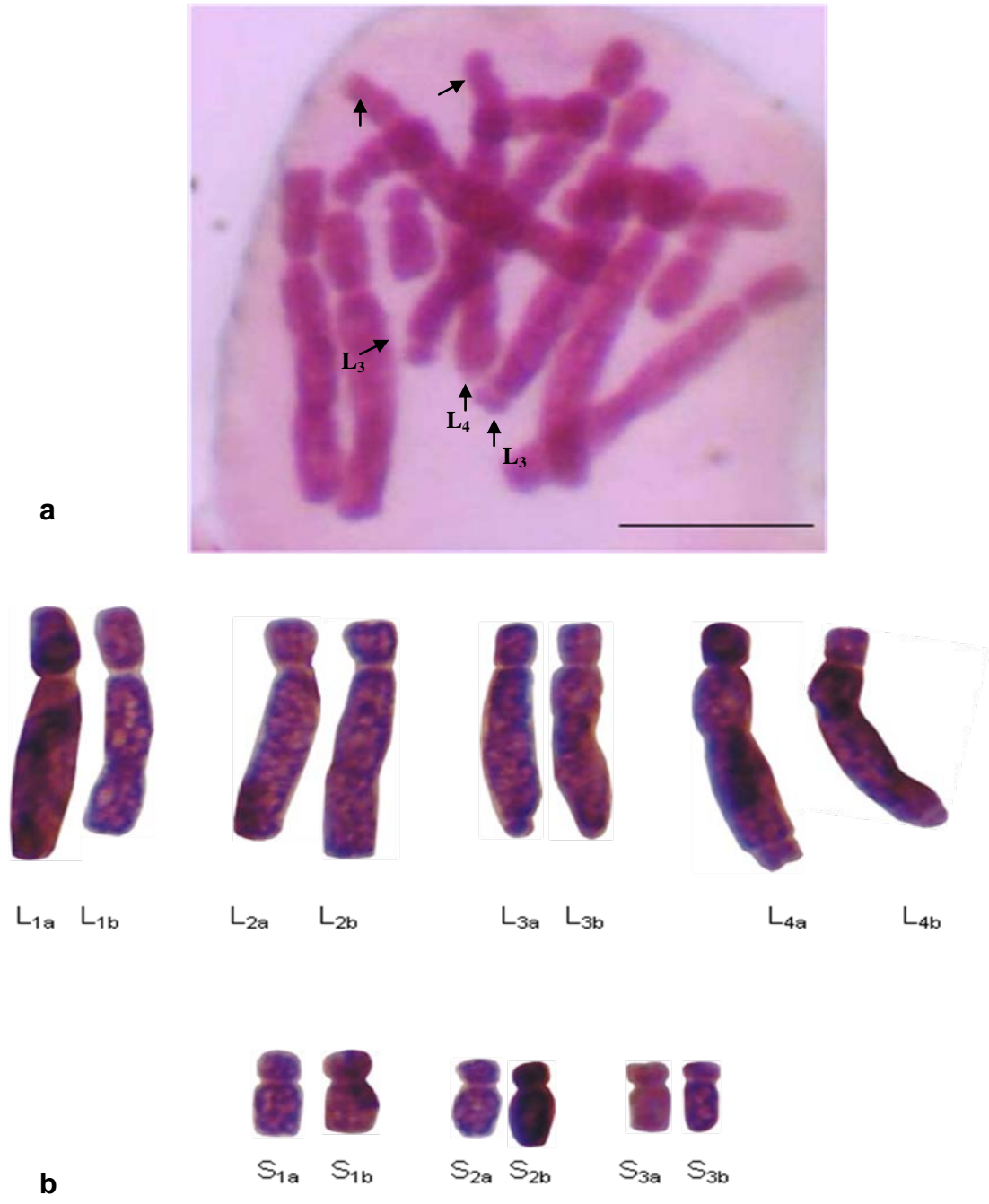


Figura 17. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de *Aloe jucunda*. Las flechas señalan constricciones secundarias presentes en los cromosomas L₃-L₄ y pseudo-constricciones en brazos cortos de cromosomas grandes. Barra= 10 μm.

Tabla 6. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *Aloe jucunda*.

N°	s(μm)	l(μm)	Lc(μm)	LR(%)	r(μm)	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}	%HC _t
1	3,65± 0,65	11,37± 2,12	15,01± 2,53	10,83± 0,91	3,14± 0,40	st	L ₁	5,29± 0,76	-
2	3,27± 0,65	11,00± 3,14	14,27± 3,34	10,25± 1,07	3,42± 0,82	st	L ₁	-	-
3	2,93± 0,54	11,50± 2,58	14,43± 2,99	10,36± 0,68	3,94± 0,45	st	L ₂	5,10± 1,15	-
4	2,74± 0,55	11,41± 2,54	14,15± 2,91	10,18± 0,92	4,19± 0,51	st	L ₂	-	-
5	2,64± 0,49	11,16± 1,86	13,80± 2,20	9,94± 0,57	4,26± 0,51	st	L ₃	5,23± 1,70	-
6	2,49± 0,38	11,49± 2,52	13,98± 2,80	10,07± 1,09	4,61± 0,53	st	L ₃	5,88± 1,54	-
7	2,24± 0,33	10,70± 1,63	12,93± 1,85	9,36± 0,95	4,80± 0,47	st	L ₄	5,02± 1,23	4,82± 1,55
8	2,00± 0,34	10,87± 1,86	12,86± 2,03	9,27± 0,61	5,48± 0,72	st	L ₄	5,74± 1,95	5,00± 1,04
9	1,83± 0,27	3,28± 0,62	5,12± 0,87	3,69± 0,26	1,79± 0,12	sm	S ₁	11,28± 3,65	-
10	1,69± 0,28	3,49± 0,59	5,18± 0,78	3,73± 0,22	2,07± 0,24	sm	S ₁	-	-
11	1,54± 0,27	3,06± 0,68	4,60± 0,91	3,31± 0,30	1,98± 0,22	sm	S ₂	14,56± 4,50	-
12	1,40± 0,24	2,86± 0,85	4,26± 1,02	3,05± 0,32	2,06± 0,34	sm	S ₂	14,71± 3,74	-
13	1,23± 0,19	3,05± 0,87	4,28± 0,89	3,09± 0,32	2,51± 0,58	sm	S ₃	15,58± 5,65	-
14	1,10± 0,20	2,91± 0,31	4,01± 0,43	2,90± 0,27	2,76± 0,33	sm	S ₃	-	-
Total			138,87± 19,67					3,73	0,75

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; pc: pericentromérica; t: terminal.

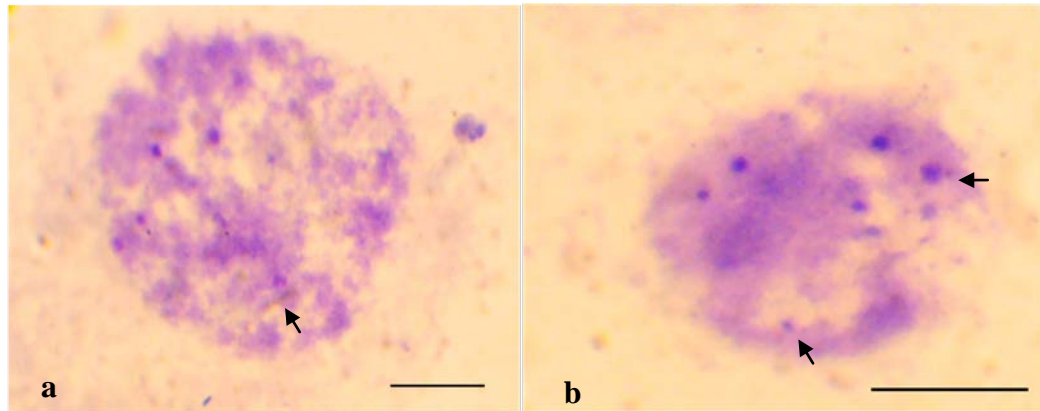


Figura 18. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe jucunda* (a,b). Las flechas indican cromocentros ubicados en posición terminal (a,b), así como solapamientos de los mismos (b). Barra=10 μ m.

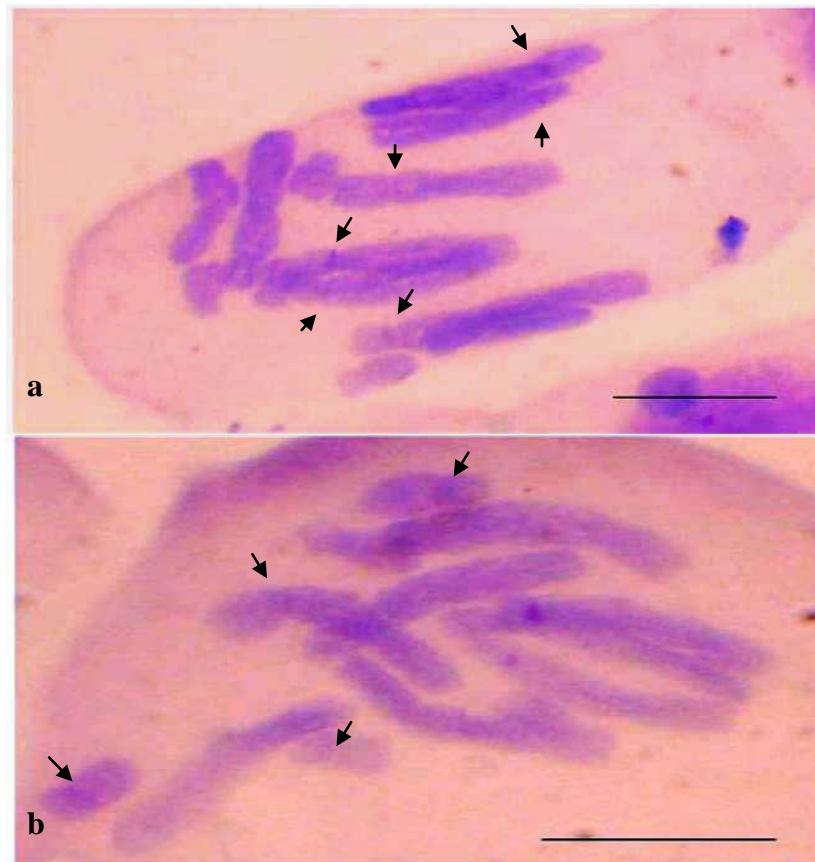


Figura 19. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe jucunda* (a,b). Las flechas indican bandas difusas o localizadas en cromosomas pequeños (b). Barra= 10 μ m.

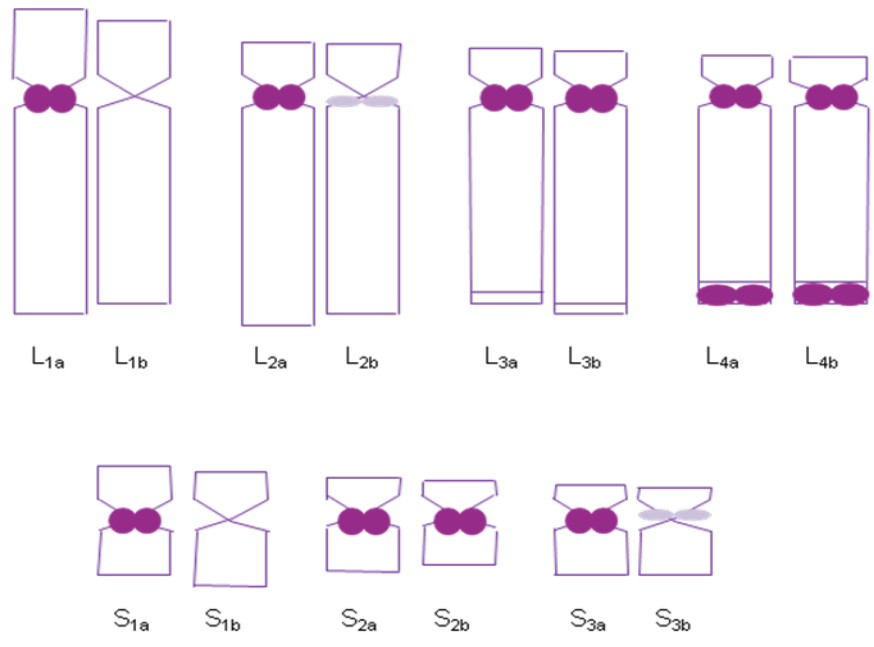


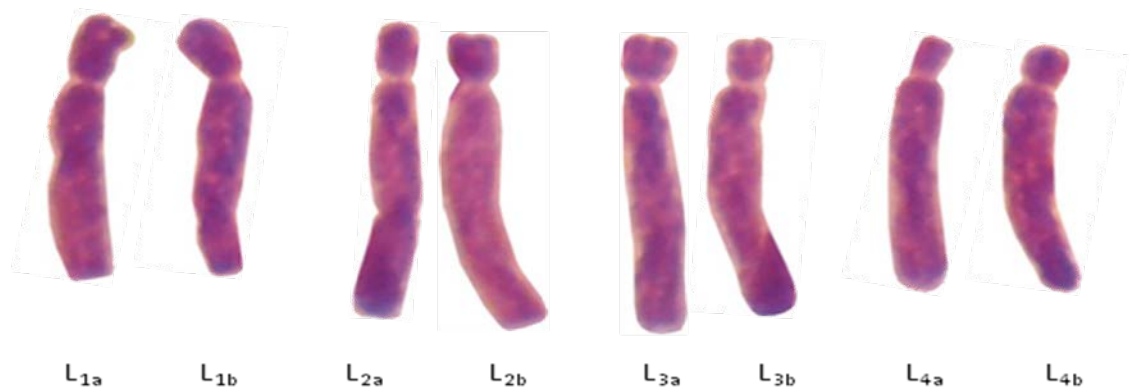
Figura 20. Idiograma de patrones de bandeo de heterocromatina constitutiva en cromosomas del tejido meristemático subapical de *Aloe jucunda*. Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25% y los claros las bandas con frecuencia < 25%. Barra= 10 μ m.

centrómeros localizados en posición sm, representados por la fórmula cariotípica $2n=2x=14=8L+6S=6L(st)+2L(st)^{sat}+6S(sm)$. De la longitud total del cariotipo (131,37 μ m), los pares cromosómicos grandes constituyen el 80,8% (9,6-10,53%), con rangos de longitud que van desde 12,65 μ m hasta 13,83 μ m, mientras que el 19,2% (3,04-3,56%) restante se corresponde con los pares cromosómicos pequeños, con longitudes comprendidas entre 3,99 μ m y 4,65 μ m (Tabla 7). El mayor valor de longitud relativa se encuentra en el cromosoma L_{1b} y el menor valor en el S_{3b}. Polimorfismos tanto en el tamaño de los brazos cortos como largos (Figura 21b, Tabla 7) fueron evidentes en todos los pares cromosómicos L y S, a excepción del S₃. Por otro lado, en *A. zebrina*, se observó la presencia de dos constricciones secundarias en la posición terminal de los brazos largos del par L₄ (Figura 22). Los estreñimientos que asemejan la formación de satélites caracterizados en los brazos

cortos de los cromosomas grandes se encontraron en el L_{1a}, L_{3a} y L_{3b} (Figura 21b).



a



b

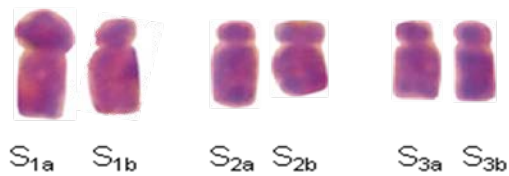


Figura 21. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de *Aloe zebrina*. Las flechas señalan pseudo-constricciones en brazos cortos de cromosomas grandes. Barra= 10 μ m.

Tabla 7. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *Aloe zebrina*.

Nº	s(µm)	l(µm)	Lc(µm)	LR(%)	r(µm)	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}
1	3,37± 0,64	10,21± 1,75	13,58± 2,30	10,32± 0,48	3,05± 0,27	st	L ₁	4,22± 1,36
2	3,09± 0,59	10,74± 2,64	13,83± 2,88	10,53± 1,23	3,52± 0,69	st	L ₁	3,83± 1,03
3	2,63± 0,61	10,87± 2,13	13,50± 2,59	10,24± 0,60	4,18± 0,53	st	L ₂	-
4	2,36± 0,31	11,13± 2,69	13,49± 2,73	10,25± 0,80	4,74± 0,94	st	L ₂	-
5	2,23± 0,26	10,93± 1,67	13,16± 1,84	10,04± 0,51	4,90± 0,43	st	L ₃	4,00± 1,11
6	2,19± 0,49	10,84± 1,89	13,03± 2,12	9,94± 0,92	5,02± 0,70	st	L ₃	4,96± 1,40
7	1,96± 0,27	10,70± 2,38	12,65± 2,57	9,60± 0,60	5,47± 0,70	st	L ₄	5,02± 1,87
8	1,87± 0,29	11,12± 2,28	12,99± 2,32	9,88± 0,69	6,00± 1,21	st	L ₄	5,92± 2,10
9	1,45± 0,32	3,20± 0,44	4,65± 0,68	3,56± 0,43	2,24± 0,31	sm	S ₁	14,02± 2,92
10	1,30± 0,28	3,03± 0,69	4,33± 0,85	3,30± 0,36	2,36± 0,42	sm	S ₁	14,09± 2,50
11	1,19± 0,21	2,93± 0,67	4,12± 0,78	3,16± 0,47	2,48± 0,44	sm	S ₂	14,49± 3,58
12	1,13± 0,15	2,88± 0,54	4,01± 0,61	3,08± 0,40	2,55± 0,36	sm	S ₂	12,51± 2,24
13	1,03± 0,20	2,99± 0,54	4,02± 0,70	3,06± 0,23	2,92± 0,32	sm	S ₃	13,39 ±3,43
14	1,02± 0,21	2,98± 0,51	3,99± 0,70	3,04± 0,24	2,97± 0,49	sm	S ₃	16,58± 2,09
Total			131,37± 18,32					5,30

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; pc: pericentromérica.

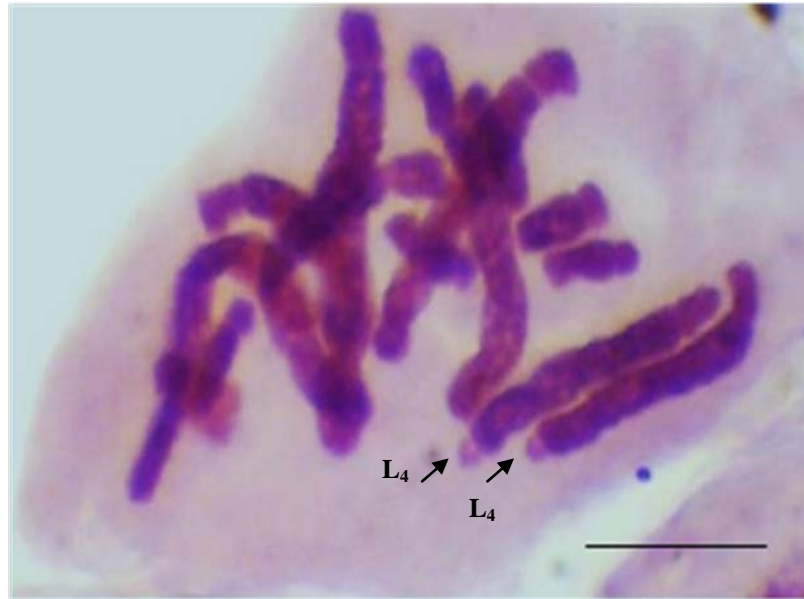


Figura 22. Constrictiones secundarias en *Aloe zebrina*. Las flechas indican constrictiones presentes en brazos largos de cromosomas L₄. Barra= 10 μ m.

A diferencia de las cuatro especies descritas anteriormente, los cromocentros de *A. zebrina* no poseen el elevado contraste e intensidad que los caracteriza (Figuras 23a,b). En esta especie su visualización se hace engorrosa pues tienden a confundirse con el reticulado cromatínico y hace falta detallar minuciosamente para lograr ubicarlos en el núcleo celular; por lo tanto, su conteo numérico y correspondencia con las bandas estuvo limitada en las células.

Las bandas en *A. zebrina* son de baja resolución, tonalidad y su observación fue inconstante (Figuras 24a,b) de la misma manera que en *A. jucunda* y *A. littoralis*. El patrón de bandeo de heterocromatina constitutiva está restringido netamente a bandas pericentroméricas ubicadas en los pares L₁, L₃, L₄ y todos los pares cromosómicos S. Bandas centroméricas en el par L₂ fueron detectadas en una sola célula sin certeza absoluta de su existencia, razón por la que no fue reportada como significativa, al igual que una supuesta banda terminal en el brazo largo del L_{4a} (Figura 25).

Polimorfismos en longitud son encontrados en todos los pares cromosómicos que poseen bandas, siendo más acentuados en los pares L_4 y S_3 (Tabla 7, Figura 25). Los cálculos de porcentaje en esta especie indican que 5,30% del cariotipo está representado por regiones C^+ , de los cuales 3,83-8,03% pertenecen a los cromosomas grandes y 11,6-16,58% a los pequeños; el L_{1a} y S_{3b} son los que poseen menor y mayor contenido de heterocromatina, respectivamente (Tabla 7).

Aloe lutescens

Los análisis morfométricos en cromosomas grandes y pequeños de *A. lutescens* (Tabla 8) arrojaron longitudes cromosómicas de 12,80-14,43 μm y 4,26-4,70 μm , y longitudes relativas de 80,25% (9,32-10,52%) y 19,77% (3,10-3,42%), respectivamente. Las constricciones secundarias en *A. lutescens* se sitúan en los brazos largos del par L_4 (Figura 26a,b) y otras pseudo-constricciones se observaron en brazos cortos de cromosomas grandes (Figura 26a). Según la clasificación de Levan *et al.* (1964), se puede distribuir a los 14 cromosomas del cariotipo bimodal de esta especie en ocho cromosomas grandes, de los cuales el par L_1 es submediano, los pares L_2 - L_3 subterminales, el par L_4 subterminal, y seis cromosomas pequeños submedianos sin satélites. Lo descrito anteriormente se resume en la fórmula: $2n=2x=14=8L+6S=2L(\text{sm})+4L(\text{st})+2L(\text{st})^{\text{sat}}+6S(\text{sm})$. Polimorfismos de tamaño se encontraron en los últimos tres pares de cromosomas grandes y en los seis cromosomas pequeños, sobre todo en los brazos largos (Figura 26; Tabla 8).

La tinción diferencial con giemsa en *A. lutescens* fue complicada de estandarizar por la sensibilidad de sus células a la exposición del hidróxido, considerada en este estudio como la especie que experimentó el menor tiempo de desnaturalización y tinción (Tabla 2). Pareciera haber una relación directa entre el tiempo de acción del desnaturalizante y el tiempo de aparición de bandas de

heterocromatina constitutiva. Adicionalmente, los cromocentros (Figura 27) y bandas (Figura 28) tuvieron menor contraste que el descrito para *A. zebrina*.

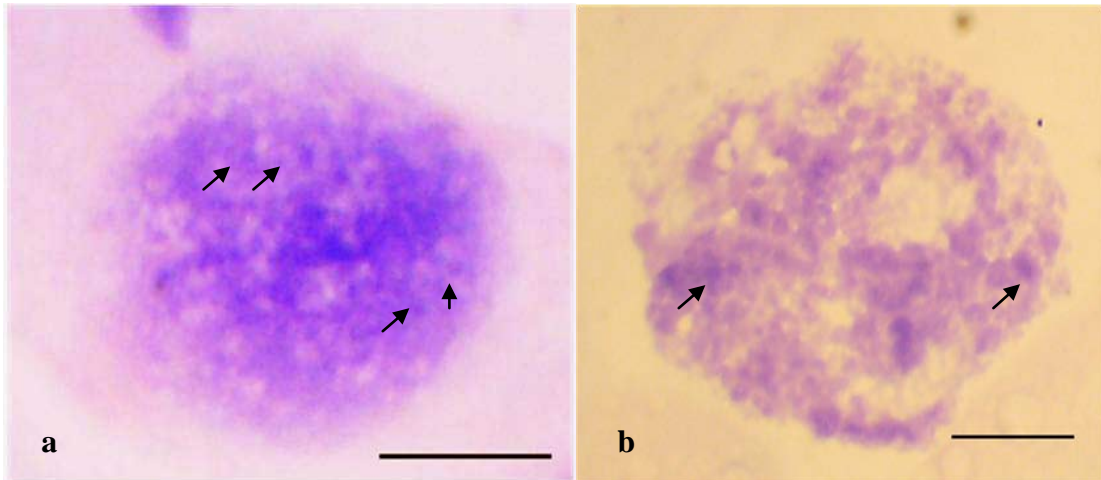


Figura 23. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe zebrina* (a,b). Las flechas indican cromocentros muy difusos. Barra= 10 μ m.



Figura 24. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe zebrina*. Las flechas indican bandas difusas o localizadas en posición terminal. Barra= 10 μ m.



Figura 24. Continuación. Las flechas indican bandas difusas. Barra= 10 μ m.

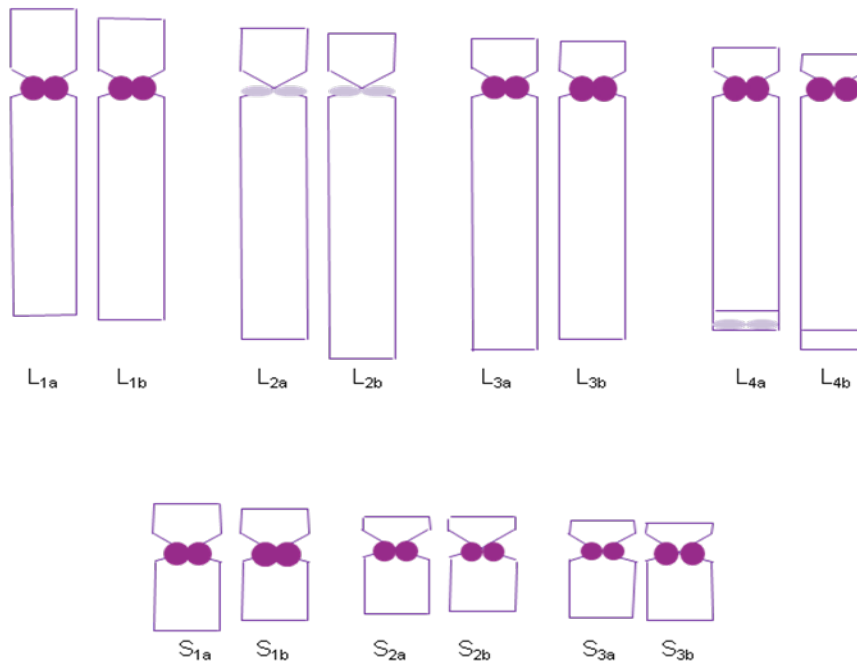


Figura 25. Idiograma de patrones de bandeo de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de *Aloe zebrina*. Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25% y los claros las bandas con frecuencia < 25%. Barra = 10 μ m.

Sin embargo, a pesar de las limitaciones en la observación, fue posible dilucidar la disposición de las bandas en su cariotipo (Figura 29), encontrándose bandas pericentroméricas en todos los cromosomas, excepto en L1b, siendo más intensas en tinción las presentes en los cromosomas pequeños. Se evidencian polimorfismos de aparición en el par L1 y de tamaño en todos los cromosomas con bandas, especialmente en el par L2 y L4. El contenido de heterocromatina en el genoma (Tabla 8) es de 6,49%, distribuido en gran parte en los S con proporciones comprendidas entre 10,42% y 14,04% (S3a) y, en menor grado, en los L con porcentajes que van desde 3,66% (L2b) hasta 5,28%.

Aloe jacksonii

A. jacksonii es la única especie tetraploide (Figura 30a,b) caracterizada en esta investigación. Su cariotipo está conformado por 28 cromosomas (269,43 μm), 16 cromosomas grandes con longitudes que fluctúan entre 12 μm y 14,67 μm y 12 cromosomas pequeños con tamaños que van desde 4,18 μm hasta 4,93 μm (Tabla 9). La proporción en longitud de los cromosomas con respecto a la longitud del cariotipo es de 79,37% en los L (4,47-5,52%), y de 20,63% en los S (1,56-1,83%). El índice r estimado para los cromosomas del complemento tetraploide de esta especie muestra que de los 16 cromosomas grandes, los 3 primeros L_1 son submedianos y el L_{1d} subterminal, al igual que los 12 cromosomas correspondientes a L_2 , L_3 y L_4 ; la mayoría de los cromosomas pequeños tienen el centrómero ubicado en la región submedia, a excepción de cromosomas S_{1a} - S_{1b} - S_{1d} en los cuales se encuentra en la región media.

De forma general, la morfología cromosómica de *A. jacksonii* se representa mediante la siguiente fórmula: $2n=4x=28=16L+12S=3L(\text{sm})+9L(\text{st})+4L(\text{st})^{\text{sat}}+$

$2S(m)^{sat}+1S(sm)^{sat}+1S(m)^{sat}+8S(sm)$.

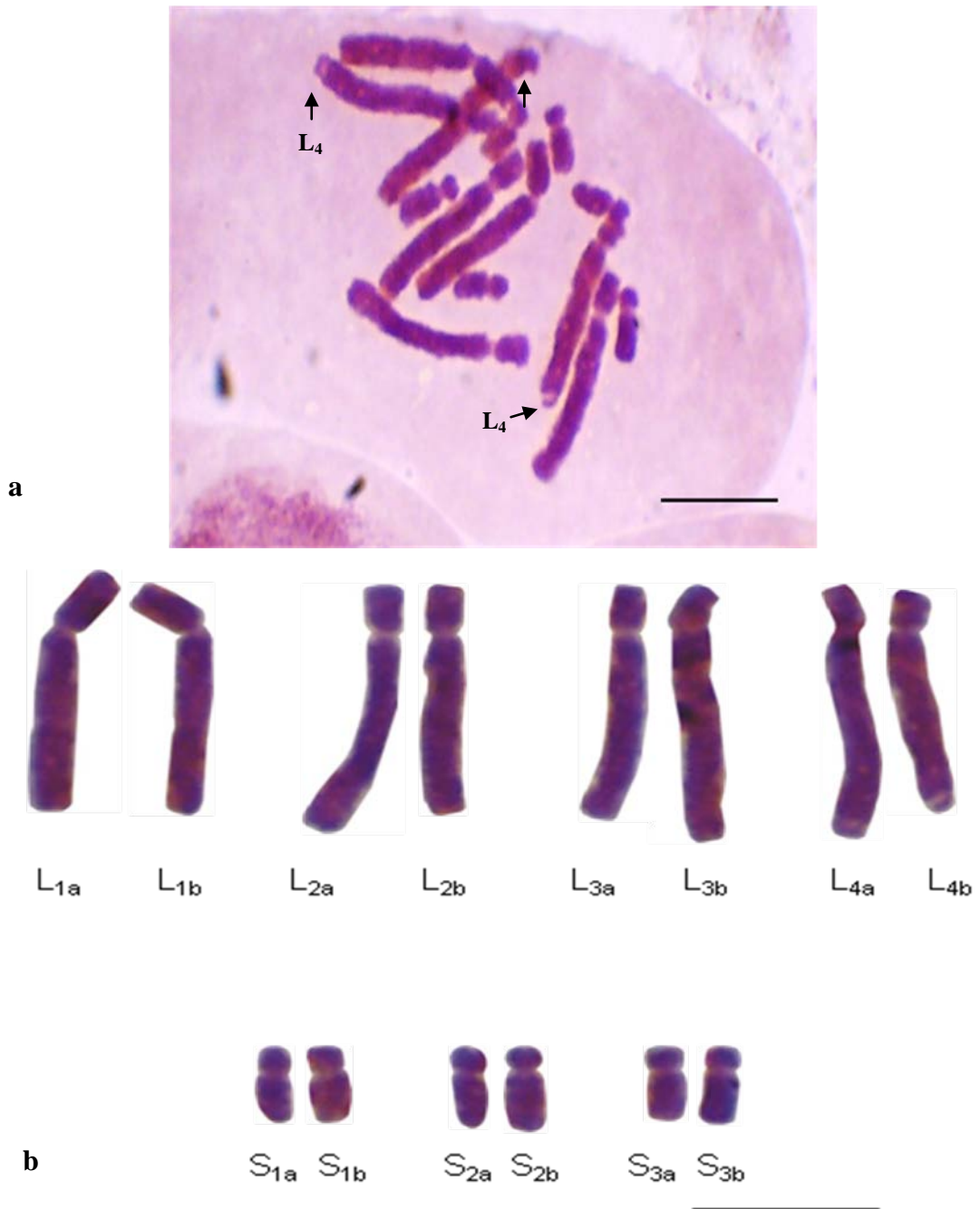


Figura 26. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de *Aloe lutescens*. Las flechas señalan constricciones secundarias presentes en el par L_4 y pseudo-constricciones en brazos cortos de cromosomas grandes. Barra = $10\ \mu\text{m}$.

Tabla 8. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *Aloe luteceus*.

N°	s(μm)	l(μm)	Lc(μm)	LR(%)	r(μm)	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}
1	4,04± 0,41	10,15± 0,99	14,19± 1,31	10,34± 0,28	2,52± 0,189	sm	L ₁	4,00± 0,95
2	3,71± 0,37	10,52± 0,93	14,23± 1,22	10,38± 0,31	2,85± 0,212	sm	L ₁	-
3	3,24± 0,18	11,19± 1,32	14,43± 1,42	10,52± 0,49	3,46± 0,367	st	L ₂	3,72± 0,73
4	3,06± 0,30	10,97± 1,25	14,04± 1,51	10,22± 0,37	3,58± 0,227	st	L ₂	3,66± 0,64
5	2,91± 0,30	10,73± 1,14	13,64± 1,38	9,93± 0,38	3,70± 0,252	st	L ₃	3,87± 0,81
6	2,78± 0,32	10,98± 1,36	13,76± 1,60	10,01± 0,39	3,96± 0,354	st	L ₃	4,28± 0,48
7	2,49± 0,28	10,62± 1,51	13,11± 1,68	9,53± 0,56	4,28± 0,509	st	L ₄	4,13± 0,63
8	2,29± 0,26	10,51± 1,30	12,80± 1,40	9,32± 0,45	4,64± 0,692	st	L ₄	5,28± 1,06
9	1,66± 0,17	2,92± 0,33	4,58± 0,48	3,34± 0,18	1,75± 0,114	sm	S ₁	10,42± 1,06
10	1,54± 0,19	3,16± 0,48	4,70± 0,63	3,42± 0,26	2,06± 0,225	sm	S ₁	10,85± 2,16
11	1,48± 0,22	3,19± 0,52	4,67± 0,63	3,40± 0,24	2,19± 0,432	sm	S ₂	12,62± 0,87
12	1,38± 0,20	3,22± 0,44	4,61± 0,53	3,35± 0,15	2,36± 0,397	sm	S ₂	11,89± 0,64
13	1,29± 0,20	2,96± 0,39	4,26± 0,53	3,10± 0,28	2,32± 0,348	sm	S ₃	14,04± 2,46
14	1,18± 0,19	3,15± 0,27	4,33± 0,42	3,16± 0,23	2,71± 0,390	sm	S ₃	13,69± 1,90
Total			137,34± 13,29					6,49

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; pc: pericentromérica.

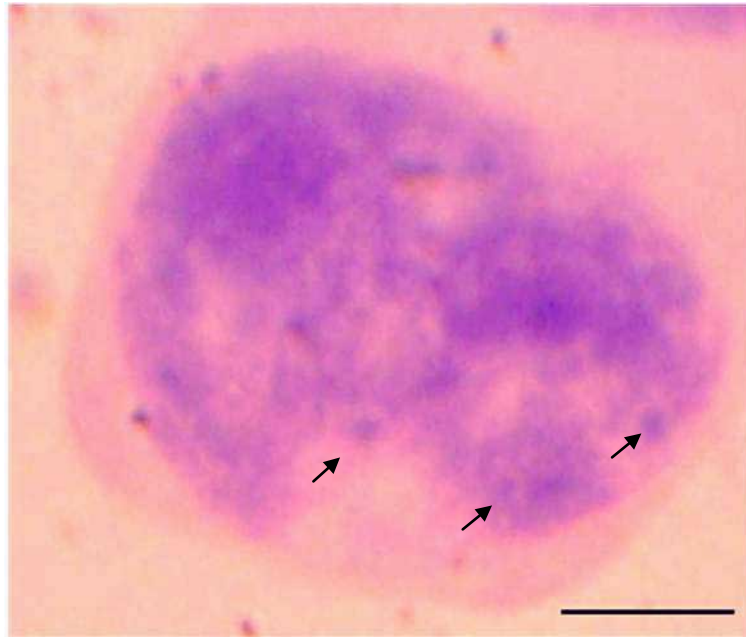


Figura 27. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe lutescens*. Las flechas indican cromocentros muy difusos. Barra=10 μ m.

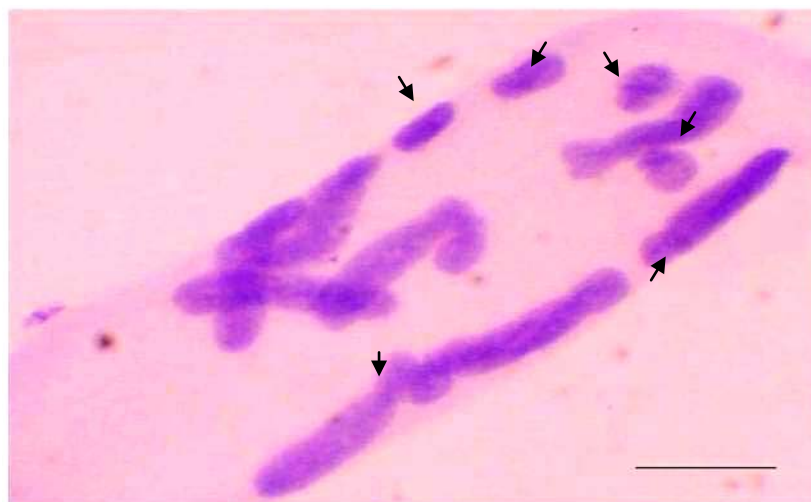


Figura 28. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe lutescens*. Las flechas indican bandas difusas. Barra= 10 μ m.

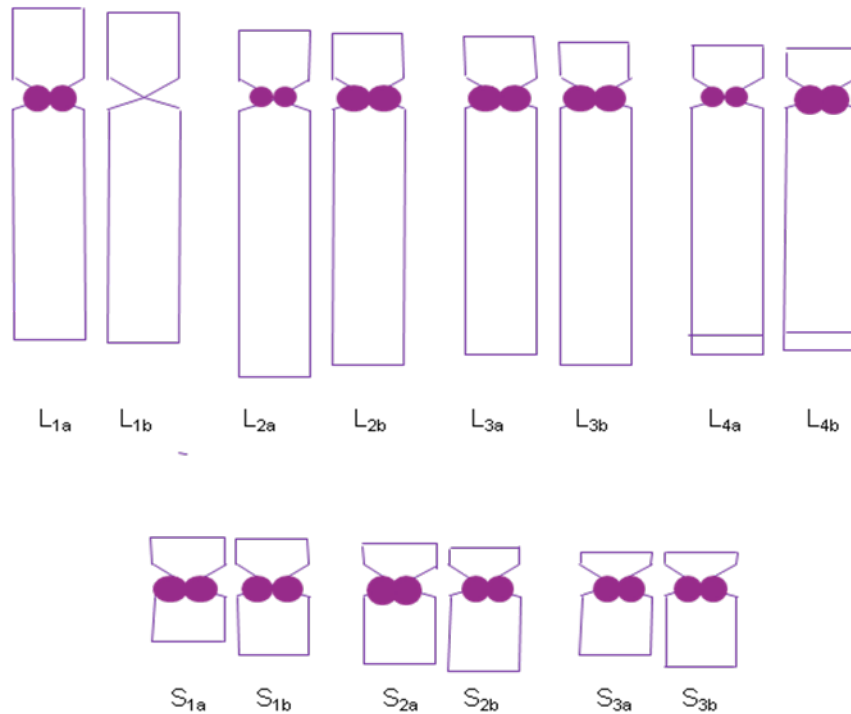


Figura 29. Idiograma de patrones de bandeado de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de *Aloe lutescens*. Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25%. Barra= 10 μ m.

De forma general, la morfología cromosómica de *A. jacksonii* se representa mediante la siguiente fórmula: $2n=4x=28=16L+12S=3L(sm)+9L(st)+4L(st)^{sat}+2S(m)^{sat}+1S(sm)^{sat}+1S(m)^{sat}+8S(sm)$.

Como se puede observar en la fórmula descrita anteriormente y en la figura 30, las ocho constricciones secundarias en *A. jacksonii* se encuentran en los brazos largos de los cromosomas L_4 y en los brazos cortos de los cromosomas S_1 . Además, existe polimorfismo en la longitud de los brazos de los cromosomas L_1 y S_1 , reflejado en las diferencias de la posición del centrómero en uno de los cromosomas que forman estos grupos. También existe polimorfismo menos evidente en los brazos de los demás

grupos cromosómicos (Figura 30b) y en el tamaño de las constricciones secundarias. Estructuras bien definidas formadas por acortamiento en la región subterminal de los brazos largos de cromosomas S_3 son observados en la figura 30a.

Por otro lado, la tinción de bandas y cromocentros de heterocromatina constitutiva en *A. jacksonii* tuvo una alta calidad de observación; ambos caracteres saltaban a la vista en núcleos interfásicos (Figura 31) y cromosomas (Figura 32), pudiendo ser contabilizados numéricamente alrededor de 28 cúmulos de heterocromatina teñidos de color magenta intenso. Se pudiera considerar que la técnica de bandeado C en *A. jacksonii* fue la que arrojó mejores resultados de todas las especies estandarizadas en la investigación, en cuanto a facilidad y resolución en la visualización de regiones de heterocromatina constitutiva. Los numerosos cromocentros de esta especie tetraploide poseen la ubicación habitual, algunos coloreados más intensamente que otros, y experimentando numerosos solapamientos que podían ser vistos como cuerpos de mayor tamaño e intensidad que los cromocentros normales (Figura 31), los cuales enmascaraban el conteo numérico de los mismos y, en muchas células, no se correspondían con las bandas detectadas en los cromosomas mitóticos.

El porcentaje de heterocromatina constitutiva con respecto a la longitud total de cariotipo es de 5,73%, con proporciones que van desde 2,91% (L_{1a}) hasta 4,07% (L_{4b}) en cromosomas grandes y desde 13,09% (S_{2c}) hasta 17,3% (S_{3b}), en cromosomas pequeños (Tabla 9). Las bandas en el tejido meristemático de *A. jacksonii* se ubican en posición pericentromérica de todos los cromosomas de su complemento tetraploide, variando en intensidad y tamaño (Figuras 32,33). Las bandas de los grupos cromosómicos pequeños eran mucho más intensas y de mayor tamaño que las bandas de los grandes, siendo poco conspicuas en los grupos L_1 y L_4 . Heteromorfismos entre cromosomas homólogos fueron evidentes en los siete grupos cromosómicos de esta especie (Figura 33).

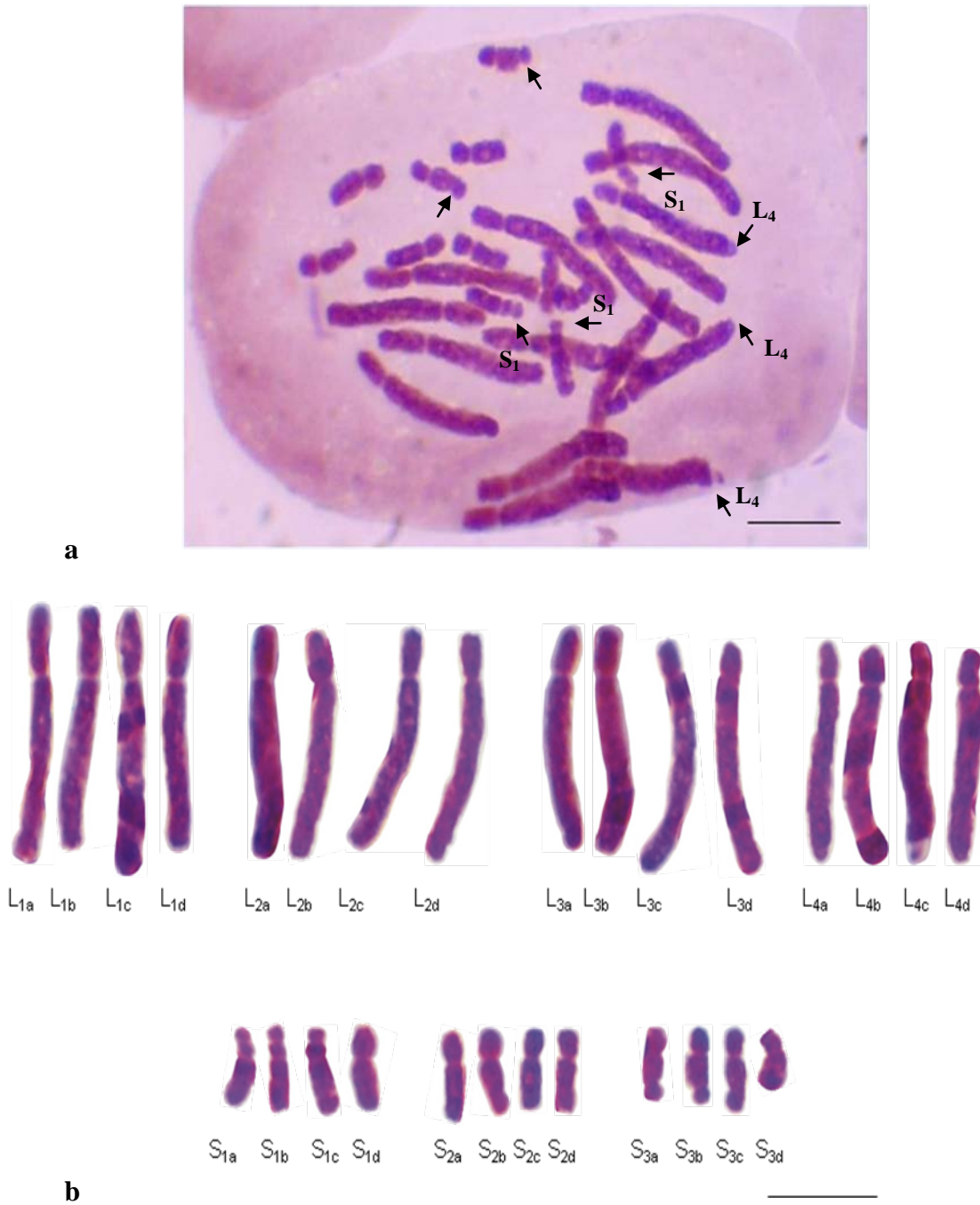


Figura 30. Cariotipo (a) y cariograma (b) de cromosomas mitóticos en meristema radical de *Aloe jacksonii* (4x). Las flechas señalan constricciones secundarias presentes en cromosomas L₄-S₁ y pseudo-constricciones en el brazo largo de un cromosoma pequeño (parte superior). Barra= 10 μm.

Tabla 9. Características morfométricas y porcentaje de heterocromatina constitutiva del complemento cromosómico de *Aloe jacksonii*.

N°	s(μm)	l(μm)	Lc(μm)	LR(%)	r	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}
1	3,92± 0,45	9,92± 2,01	13,83± 2,34	5,13± 0,29	2,53± 0,26	sm	L ₁	2,91± 0,49
2	3,77± 0,37	10,90± 3,27	14,67± 3,53	5,42± 0,48	2,88± 0,47	sm	L ₁	3,17± 0,67
3	3,52± 0,45	10,31± 1,64	13,83± 1,97	5,14± 0,26	2,93± 0,23	sm	L ₁	3,85± 0,84
4	3,35± 0,43	10,78± 2,58	14,12± 2,88	5,23± 0,34	3,22± 0,40	st	L ₁	3,62± 1,43
5	3,13± 0,51	11,03± 2,48	14,15± 2,88	5,24± 0,29	3,52± 0,35	st	L ₂	3,65± 1,20
6	2,90± 0,45	10,79± 1,68	13,68± 2,06	5,08± 0,18	3,73± 0,25	st	L ₂	3,64± 0,72
7	2,81± 0,42	10,68± 1,85	13,49± 2,23	5,00± 0,20	3,80± 0,22	st	L ₂	3,11± 0,97
8	2,73± 0,43	11,21± 2,94	13,94± 3,24	5,15± 0,40	4,10± 0,55	st	L ₂	3,23± 0,97
9	2,65± 0,35	10,44± 2,24	13,10± 2,43	4,87± 0,41	3,94± 0,50	st	L ₃	3,26± 1,44
10	2,58± 0,35	10,78± 2,75	13,36± 3,01	4,96± 0,58	4,17± 0,51	st	L ₃	3,70± 1,73
11	2,49± 0,35	10,05± 1,37	12,54± 1,58	4,67± 0,33	4,06± 0,37	st	L ₃	3,60± 0,96
12	2,42± 0,37	10,96± 2,57	13,39± 2,88	4,95± 0,32	4,51± 0,44	st	L ₃	3,21± 0,45
13	2,32± 0,35	10,48± 1,61	12,80± 1,90	4,75± 0,20	4,53± 0,28	st	L ₄	3,82± 0,81
14	2,21± 0,39	10,29± 1,70	12,50± 1,99	4,64± 0,21	4,68± 0,40	st	L ₄	4,07± 1,47
15	2,12± 0,33	10,49± 2,00	12,61± 2,31	4,67± 0,20	4,94± 0,26	st	L ₄	3,70± 1,18
16	1,90± 0,22	10,09± 1,76	12,00± 1,76	4,47± 0,42	5,34± 0,85	st	L ₄	3,23± 1,06

Tabla 9. Continuación.

Nº	s(µm)	l(µm)	Lc(µm)	LR(%)	r	Cl ₁	Cl ₂	%HC _{pc}
17	1,92± 0,26	2,87± 0,94	4,79± 0,93	1,78± 0,19	1,52± 0,37	m	S ₁	13,51± 3,71
18	1,85± 0,19	3,00± 0,33	4,85± 0,47	1,81± 0,13	1,62± 0,10	m	S ₁	13,12± 1,71
20	1,76± 0,19	2,95± 0,44	4,71± 0,62	1,75± 0,12	1,68± 0,09	m	S ₁	13,89± 4,02
21	1,71± 0,21	3,15± 0,43	4,86± 0,56	1,81± 0,09	1,84± 0,17	sm	S ₂	14,27± 2,76
22	1,66± 0,20	2,99± 0,38	4,65± 0,51	1,73± 0,10	1,81± 0,15	sm	S ₂	16,25± 3,53
23	1,61± 0,16	3,15± 0,53	4,76± 0,65	1,77± 0,06	1,96± 0,16	sm	S ₂	13,09± 3,31
24	1,56± 0,13	3,01± 0,54	4,58± 0,64	1,70± 0,12	1,93± 0,17	sm	S ₂	14,73± 4,13
25	1,51± 0,15	2,94± 0,49	4,45± 0,58	1,65± 0,07	1,94± 0,21	sm	S ₃	15,39± 2,84
26	1,46± 0,16	2,96± 0,33	4,42± 0,35	1,65± 0,13	2,03± 0,23	sm	S ₃	17,30± 4,50
27	1,41± 0,12	2,82± 0,54	4,24± 0,61	1,58± 0,14	2,00± 0,23	sm	S ₃	15,59± 3,38
28	1,34± 0,15	2,84± 0,56	4,18± 0,67	1,56± 0,13	2,11± 0,21	sm	S ₃	15,59± 3,44
Total			269,43± 38,69					5,73± 0,46

s: longitud del brazo corto; l: longitud del brazo largo; Lc: longitud del cromosoma; LR: longitud relativa; r: relación l/s; Cl₁: clasificación cromosómica según Levan *et al.* (1964); sm: centromero en posición submedia; st: centromero en posición subterminal; Cl₂: clasificación cromosómica según Brandham (1971); L: cromosoma grande; S: cromosoma pequeño; HC: heterocromatina constitutiva; pc: pericentromérica.

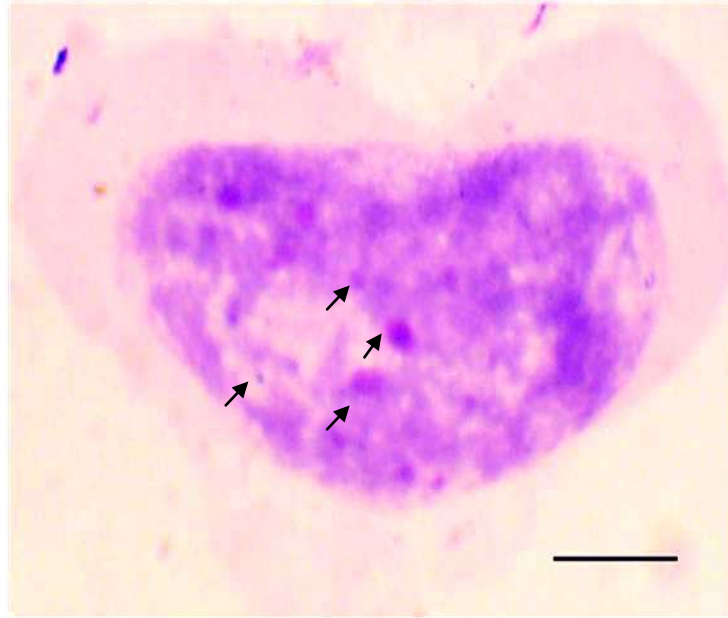


Figura 31. Cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos de células meristemáticas radicales de *Aloe jacksonii* (4x). Las flechas indican cromocentros muy difusos y solapamientos de los mismos. Barra= 10 μ m.

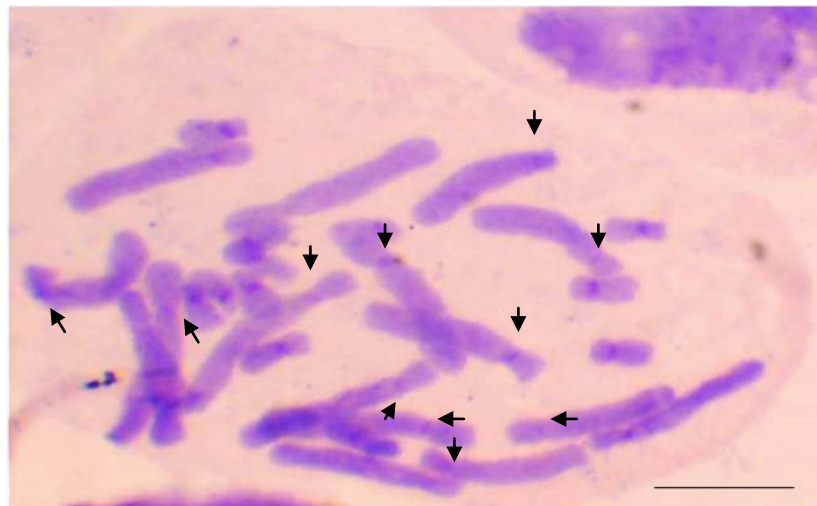


Figura 32. Bando C en cromosomas mitóticos de *Aloe jacksonii* (4x). Las flechas señalan bandas difusas. Barra= 10 μ m.

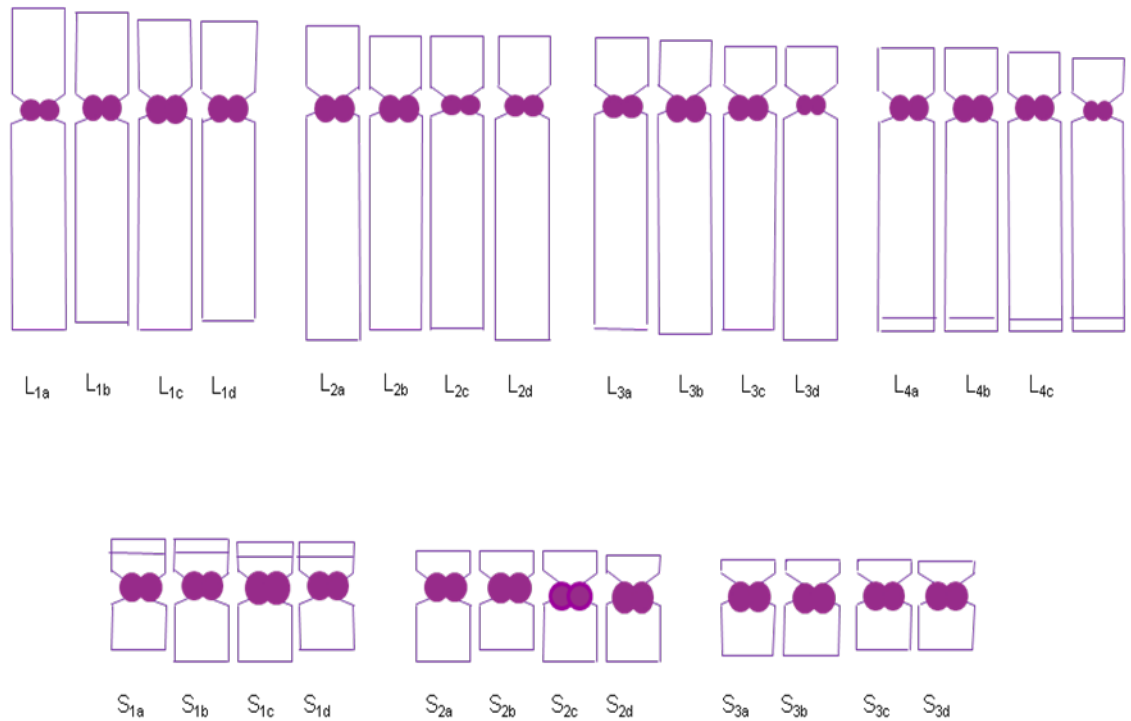


Figura 33. Idiograma de patrones de bandeo de heterocromatina constitutiva (b) en cromosomas mitóticos del tejido meristemático subapical de *Aloe jacksonii* (4x). Los círculos oscuros representan las bandas con frecuencia > 25%. Barra= 10 μ m.

Relación entre Especies

Dentro de una visión general e integradora, los estudios morfométricos y los patrones de bandeo C de los cariotipos en cada especie de *Aloe* permitieron establecer analogías o divergencias entre ellas. En primer lugar, todas las especies poseen un cariotipo bimodal, número básico de 7, y 14 cromosomas en el caso de las seis primeras especies y 28 en *A. jacksonii*.

Referente a longitudes de brazos cortos y largos existen varias tendencias. En cromosomas pequeños, *A. vera* resultó la especie con mayor longitud de brazo corto

en ambos extremos del límite S₁-S₃ (1,99-1,44 μm), seguido de *A. littoralis*, *A. jacksonii*, *A. jucunda* y *A. lutescens* con longitudes intermedias, y por último, los valores más pequeños los presentó *A. saponaria* junto con *A. zebrina* (1,45-1,02 μm). El tamaño de brazos largos en cromosomas S fue superior en *A. saponaria* (4,46-3,22 μm) e inferior en *A. littoralis* y *A. jacksonii* (3,15-2,80 μm); además, se observó que las longitudes del límite superior en brazos largos siempre se hallaba en los pares S₁ (*A. vera*, *A. littoralis*, *A. jucunda* y *A. zebrina*) y S₂ (*A. jacksonii*, *A. lutescens* y *A. saponaria*), mientras que las del límite inferior se ubicaba en su mayoría en el par S₃ (*A. vera*, *A. littoralis*, *A. jucunda* y *A. jacksonii*) y, en menor grado, en los pares S₁ (*A. lutescens* y *A. saponaria*) y S₂ (*A. zebrina*). Los valores máximos y mínimos de longitud cromosómica total se encuentran en *A. vera*-*A. littoralis* y en *A. zebrina* (Tabla 3-9), respectivamente.

En brazos cortos de cromosomas grandes, *A. lutescens*, *A. vera* y *A. littoralis* poseen rangos de longitud (L₁-L₄) más elevados, mientras que los menores los presentan *A. saponaria* y *A. zebrina* (Tabla 3-9). En los brazos largos, los límites superiores se ubican en el par L₂ (solo en *A. vera* en el L₃), y los inferiores en L₄, a excepción de *A. saponaria* (L₃). Los valores máximos de longitud se encuentran *A. jucunda* y *A. saponaria*, intermedios en *A. zebrina*, *A. lutescens*, *A. jacksonii* y mínimos en *A. littoralis* y *A. vera*. En términos de longitud cromosómica total, se puede precisar que a *A. jucunda* (15,01 μm-L_{1a}) y *A. saponaria* (15,02 μm-L_{1a}) son las especies que presentaron las longitudes más altas, mientras que *A. vera* (11,75 μm-L_{4b}) y *A. jacksonii* mostraron las más bajas (12 μm-L_{4b}).

Las proporciones de cromosomas grandes y pequeños en el cariotipo no permiten hacer distinciones claras entre las especies; todas poseen longitudes relativas en cromosomas L y S que van de 79-81% (*A. jacksonii*, *A. littoralis*, *A. saponaria*) a 80-82% (*A. lutescens*, *A. zebrina*, *A. jucunda*), a excepción de *A. vera*

que se diferencia por tener la menor longitud relativa de los cromosomas grandes (77,97%) y la mayor de los cromosomas pequeños (22,03%).

A partir de los datos de longitud fue posible calcular el índice de asimetría intra e intercromosómica de cada especie (Tabla 10), encontrándose que los cariotipos más asimétricos a nivel intracromosómico (A_1) son *A. zebrina* y *A. saponaria*, mientras que los más simétricos son *A. littoralis*, *A. vera* y *A. jacksonii*; el índice A_2 refleja mayor asimetría en *A. zebrina*, *A. jucunda*, *A. lutescens* y menor en *A. vera*. En general, los valores de estos índices indican que todas las especies de *Aloe* estudiadas en esta experiencia son asimétricas pues poseen valores que se acercan o sobrepasan en punto medio del rango que establecen ambos parámetros cromosómicos.

Tabla 10. Índices de asimetría intracromosómica (A_1) e intercromosómica (A_2) en siete especies de *Aloe*.

Especie	A_1^*	A_2^*
<i>A. vera</i>	0,604	0,441
<i>A. saponaria</i>	0,690	0,473
<i>A. littoralis</i>	0,600	0,466
<i>A. jucunda</i>	0,659	0,488
<i>A. zebrina</i>	0,700	0,499
<i>A. lutescens</i>	0,639	0,486
<i>A. jacksonii</i>	0,614	0,462

*: Los índices de asimetría calculados según Romero (1986), se realizaron a partir de los valores presentados en las tablas 2-8.

Dendrogramas basados en el primer índice (Figura 34) expresan analogía entre *A. vera* y *A. littoralis*, uniéndose progresivamente a *A. jacksonii* y al grupo formado por *A. jucunda*-*A. lutescens*, y divergencia en un clúster aislado conformado por las especies más asimétricas, *A. zebrina*-*A. saponaria*. Las similitudes cromosómicas en

función al índice de asimetría intercromosómica (A_2) dividen a las especies en tres clústeres generales (Figura 35), tendencias diferentes al anterior. El primero está constituido por las especies más análogas, *A. jucunda* y *A. lutescens*, que se agrupan a su vez con *A. zebrina*; el segundo representado por *A. littoralis*-*A. jacksonii*, como especies análogas unidas consecutivamente con *A. saponaria*; el tercero y el más divergente sólo incluye a *Aloe vera*, relacionándose de manera muy distante con los otros.

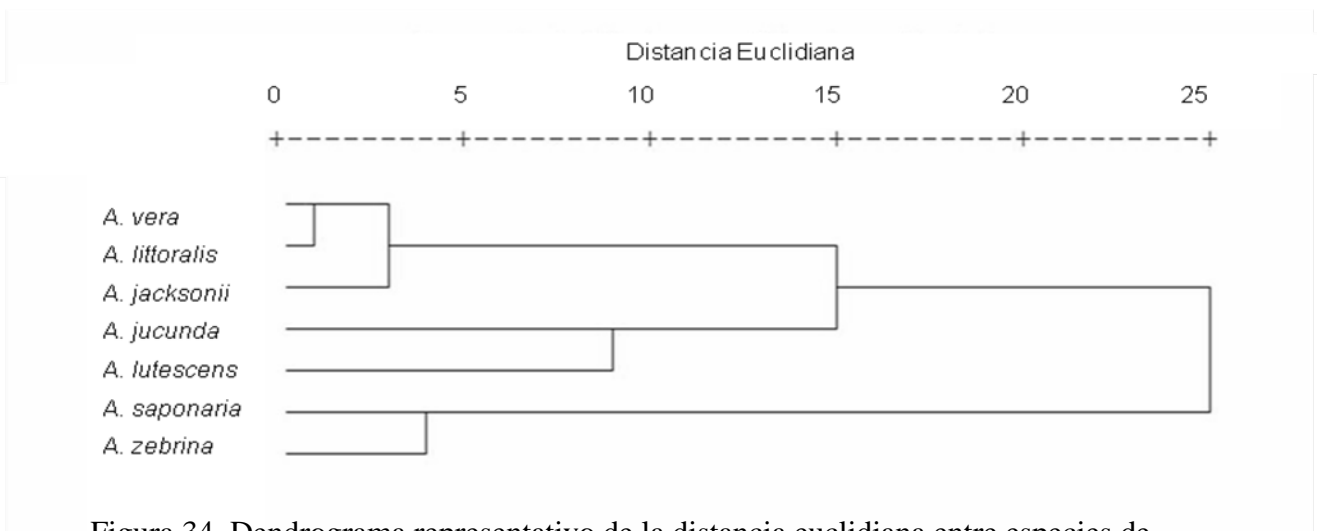


Figura 34. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre especies de *Aloe* en función de registros del índice de asimetría intracromosómica. Método de “promedio simple entre grupos”.

Con respecto a las longitudes generales del cariotipo, en las siete especies de *Aloe*, se puede observar que no hay una variación muy amplia en las seis especies diploides, ya que comprenden valores que van de 131,37 μm a 138,87 μm , siendo las menores las correspondiente a *A. zebrina* y *A. vera*, las intermedias a *A. littoralis*, y las mayores a *A. lutescens*, *A. saponaria* y *A. jucunda*. *A. jacksonii* posee el mayor tamaño (269,43 μm) de las siete especies, pues tiene su número cromosómico duplicado. El dendrograma de la figura 36 muestra similitudes cromosómicas en función a este parámetro, permitiendo corroborar lo descrito anteriormente pues en el

gráfico se observan que las especies más análogas son *A. vera* y *A. zebrina*, y el grupo de *A. saponaria*, *A. jucunda* y *A. lutescens*, el cual guarda cierta relación con *A. littoralis*, y por último, *A. jacksonii* se representa como la especie más divergente y forma un clúster aislado de las otras seis.

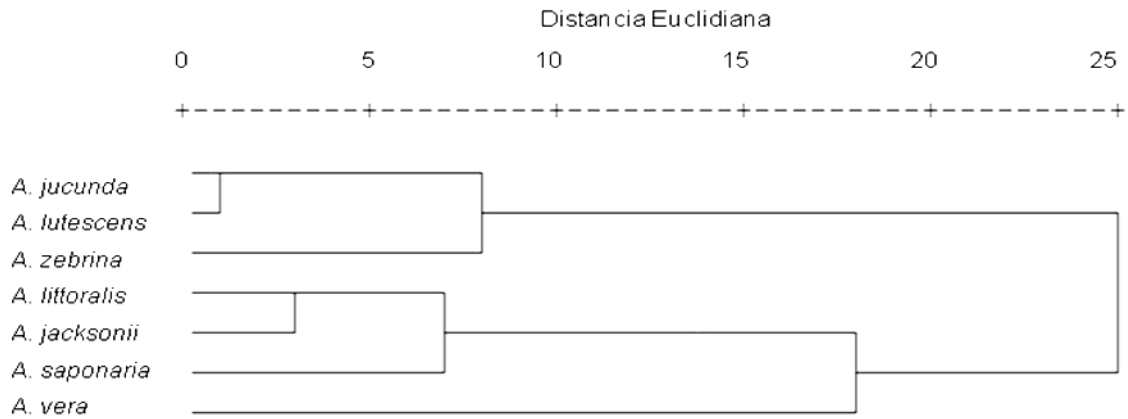


Figura 35. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre especies de *Aloe* en función de registros del índice de asimetría intercromosómica. Método de “promedio simple entre grupos”.



Figura 36. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre especies de *Aloe* a partir de registros de la longitud total del cariotipo. Método de “promedio simple entre grupos”.

Por otro lado, la clasificación de los cromosomas según la posición del centromero agrupó a las siete especies en tres grupos. El primero formado por *A. saponaria*, *A. zebrina* y *A. jucunda*, con centromeros ubicados en posición subterminal en los L y en posición submedia en los S; el segundo grupo conformado por *A. vera* y *A. lutescens*, donde el par L₁ submediano, los pares L₂-L₃-L₄ subterminales y los cromosomas pequeños submedianos; y el tercer grupo, que incluye a *A. jacksonii* y *A. littoralis*, semejante segundo grupo, pero con la diferencia que en el par S₁ el centromero está ubicado en la región media. Hay que resaltar que aunque *A. jacksonii* sea análogo en este carácter a *A. littoralis*, esta especie presentó polimorfismos en uno de los cromosomas los grupos L₁ y S₁ (Tabla 9), probablemente por ciertos cambios en los brazos producto de rearrreglos cromosómicos.

Comparando los valores numéricos de “índice r” en las seis especies diploides (Figura 37), a través de distancias euclidianas, se pudo observar que *A. vera*-*A. littoralis* son las especies más análogas, continuándose con *A. lutescens* y, por otro lado, sigue el grupo análogo constituido por *A. saponaria* y *A. zebrina*, unido a la especie más divergente, *A. jucunda*. Si fuese posible relacionar a la especie tetraploide en el análisis de clústeres, seguramente estuviese incluida en el grupo que conforma *A. vera* y *A. littoralis*; sin embargo, por el alto polimorfismo existente entre los homólogos de los cromosomas de esta especie, no se promediaron los valores arrojados por este índice a fin de evitar sesgos en el análisis. Otro factor que se tomó en cuenta para disminuir el sesgo estadístico en las especies diploides fue el de no promediar los valores correspondientes a los homólogos (polimórficos en este carácter), usando entonces 14 valores de “r” por cada una de las especies.

De manera general, las constricciones secundarias del cariotipo de las siete especies de *Aloe*, analizadas cariológicamente, están localizadas en posición terminal de los brazos largos de los cromosomas L₁, L₃ y L₄ y de los brazos cortos del par S₁.

Según el dendrograma de la figura 38, elaborado a partir índices de similitud que relacionan presencia/ausencia de las constricciones secundarias en las siete especies, *A. zebrina*-*A. lutescens* y *A. littoralis*-*A. jucunda* son consideradas aquellas con mayor analogía, debido a que las primeras tienen constricciones en los pares L₃ y L₄ y las segundas sólo en el L₄. Las tres especies restantes se separan progresivamente del primer grupo, siendo la más divergente *A. vera*, la cual se relaciona débilmente con el segundo grupo homólogo.

El bandeo de heterocromatina constitutiva en las siete especies de *Aloe* resultó en 17 bandas posibles, de las cuales 14 se encontraban en la región pericentromérica de cromosomas L-S y sólo tres se hallaban en las regiones terminales de los brazos largos de cromosomas grandes (L_{3a}, L_{4a} y L_{4b}). En el dendrograma de similitud entre especies, en función a la presencia/ausencia de bandas (Figura 39), se aprecia que *A. lutescens* y *A. jacksonii* son las especies más análogas y están incluidas en un único grupo, mientras que *A. zebrina*, *A. vera*, *A. jucunda*, *A. littoralis* y *A. saponaria* se van uniendo al primer clúster y aumentando su distancia de forma progresiva con respecto a este, considerándose *A. saponaria* como la especie más divergente y poco afín a las demás. Esto se debe a que es la única que no presenta bandas centroméricas en sus cromosomas y sólo una banda terminal en el par L₄. *A. lutescens* y *A. jacksonii*, por el contrario, presentan bandas centroméricas en la mayoría de sus cromosomas y carecen de bandas terminales. Las dos especies más cercanas a *A. saponaria* (*A. jucunda* y *A. littoralis*) son las únicas en las que se evidenció la presencia de bandas terminales.

A. lutescens fue la especie que presentó mayor porcentaje de heterocromatina en su cariotipo (6,49%), mientras que el menor porcentaje lo posee *A. saponaria*, especie divergente y aislada de las demás en el dendrograma correspondiente a este atributo heterocromatínico (Figura 40). Adicionalmente, en este gráfico se forman dos grupos muy marcados, donde el primero incluye a *A. vera*-*A. jucunda* (valores

medios bajos de porcentaje), y el segundo a *A. littoralis*-*A. lutescens* (mayores porcentajes), con valores de similitud iguales al primer grupo homologo, relacionado a su vez con las especies análogas *A. zebrina*-*A. jacksonii*, con menos similitud que las anteriores.

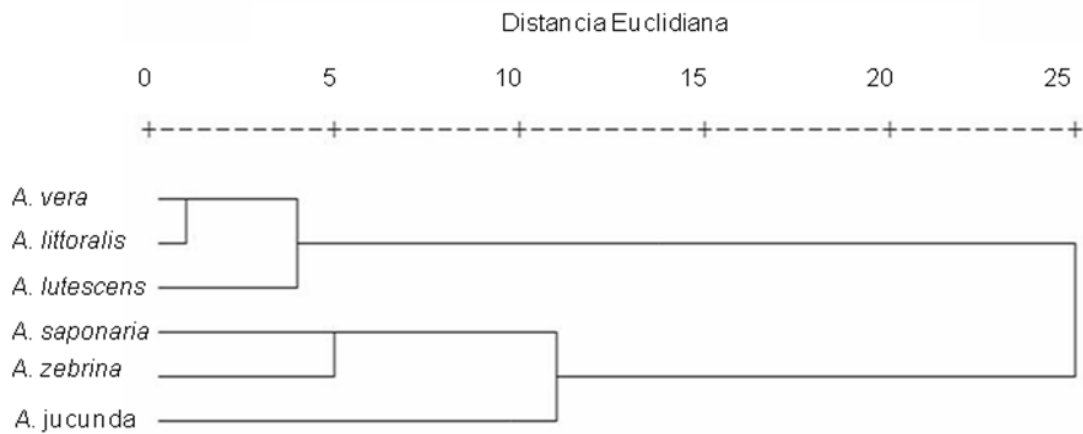


Figura 37. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre seis especies de *Aloe* en función de registros del índice r (l/s). Método de “promedio simple entre grupos”. No se consideró a *A. jacksonii*, debido a que su condición tetraploide limitaba la comparación con las especies diploides.

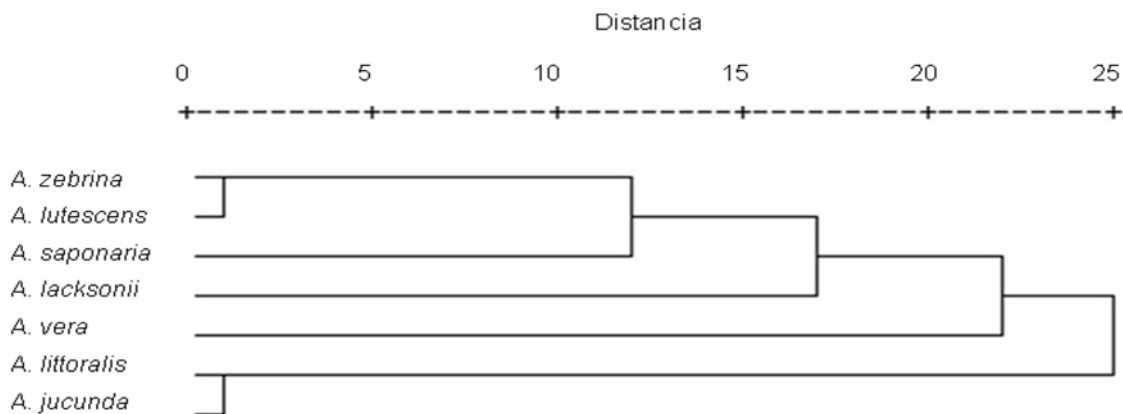


Figura 38. Dendrograma representativo de la distancia entre siete especies de *Aloe* a partir de registros de presencia/ausencia de constricciones secundarias en cromosomas mitóticos.

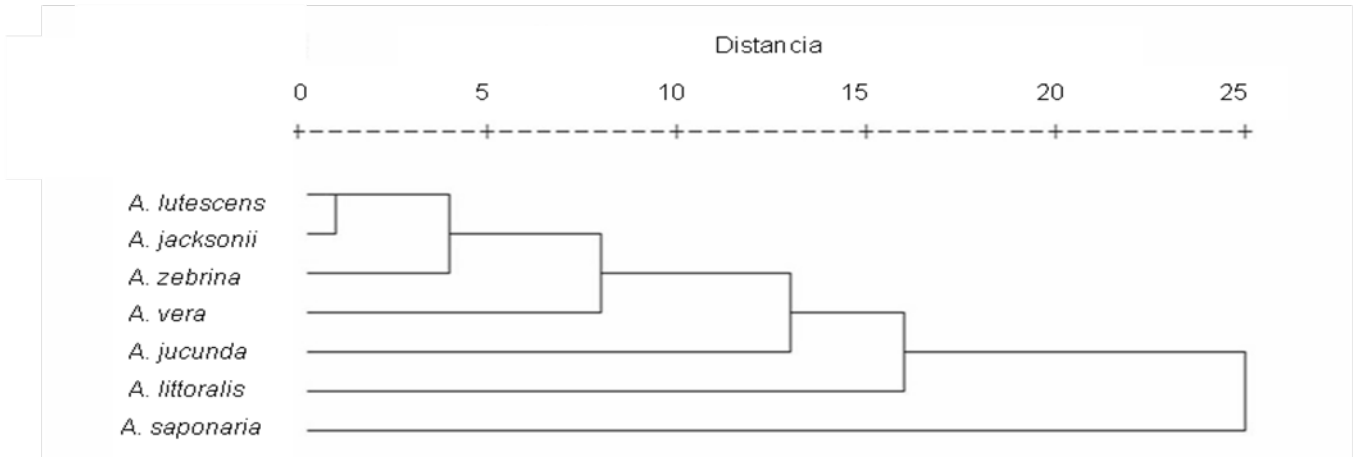


Figura 39. Dendrograma representativo de la distancia entre siete especies de *Aloe* a partir de registros de presencia/ausencia de bandas de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos.

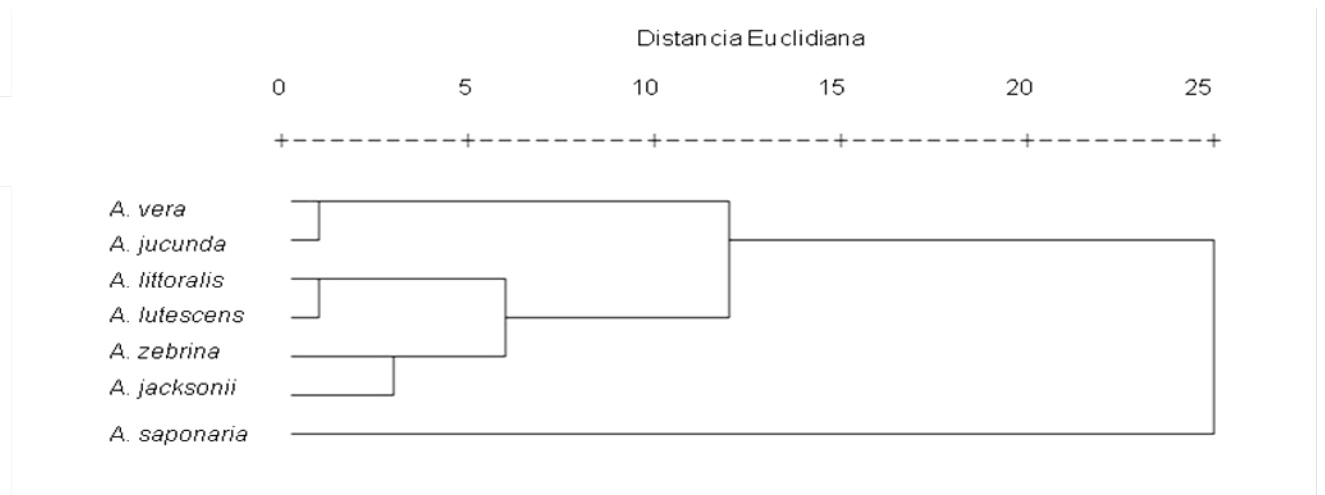


Figura 40. Dendrograma representativo de la distancia euclidiana entre siete especies de *Aloe* en función del porcentaje de heterocromatina constitutiva total en cromosomas del tejido meristemático radical. Método de “promedio simple entre grupos”.

Tomando en cuenta los análisis de clúster realizados para siete atributos tanto cariotípicos como heterocromatínicos, se podría defender que *A. jucunda*-*A. lutescens*

y *A. littoralis*-*A. jacksonii* (sin tomar en cuenta su condición tetraploide) son las especies más relacionadas ya que comparten analogías en tres de las características analizadas, A_1 , A_2 y longitud total e índice A_1 , A_2 y “r”, respectivamente. Por otro lado, *A. vera*-*A. littoralis* o *A. vera*-*A. zebrina*, y *A. saponaria*-*A. zebrina* son homólogas para dos atributos, en cada caso. También se observaron relaciones entre especies para una sola característica, variando de un dendrograma a otro, razón por la cual se podría decir que, además de las similitudes acotadas anteriormente, no existe una analogía muy marcada que pudiera unir a algunas especies en la mayoría de los análisis de distancia, sólo hay aspectos que son constantes en unos u otros. Si se incluye, adicionalmente, las relaciones en función a las longitudes cromosómicas se puede apreciar, en general, que *A. vera* y *A. littoralis* se agrupan en más de una observación al igual que *A. jucunda*-*A. lutescens* y *A. littoralis*-*A. jacksonii*; por otra parte, *A. zebrina* se separa de *A. vera* y se agrupa con *A. saponaria*.

DISCUSIÓN

La alta constancia del número y configuración del cariotipo de los géneros que componen la familia Aloaceae ha sido reportada por numerosos autores a lo largo de los años (Bradham, 1969a; Sapre, 1978; Bradham y Doherty, 1998; Imery y Caldera, 2002), considerando estas características como apomórficas dentro de la familia (Treulien *et al.*, 2003). Los resultados mostrados en esta investigación sustentan el mantenimiento del número básico de cromosomas y la bimodalidad en las siete especies caracterizadas. A excepción de *A. jacksonii*, el cariotipo de todas las especies estuvo conformado por 14 cromosomas, ocho grandes y seis pequeños. La baja frecuencia de poliploides en esta familia fue referida en una compilación del número cromosómico de varias especies de los géneros *Aloe*, *Gasteria* y *Haworthia* (Snoad, 1951), encontrándose sólo 27 tetraploides en los géneros *Gasteria* y *Haworthia*, ausentes en *Aloe*, y unos pocos pentaploides y hexaploides. Posteriormente, se reportó que en el género *Aloe* apenas un 6,2% de 113 especies analizadas eran poliploides (Brandham, 1971).

Inicialmente, Snoad op.cit. clasifica el cariotipo bimodal de tres géneros de la familia Aloaceae en cuatro grupos, el primero formado por un par de cromosomas grandes con brazos cortos de mayor tamaño, seguido por dos pares de cromosomas grandes con brazos cortos de tamaño medio y un par con brazos cortos de pequeña longitud, y por último, tres pares de cromosomas pequeños. Bradham (1971) soporta lo propuesto anteriormente y hace referencia a que el L₁ no necesariamente debe ser el cromosoma de mayor longitud, que los pares L₂ y L₃ son difíciles de diferenciar, y que los cromosomas pequeños son indistinguibles, requiriendo mucha observación y medición para ser identificados correctamente. Más recientemente, Imery *et al.* (2008) en estudios de los parentales *A. vera* y *A. saponaria* y sus híbridos diploides y

triploides consiguió la misma configuración en la mayoría de las muestras analizadas. La descripción del cariotipo de las siete especies de *Aloe* estudiadas se ajusta a lo descrito por estos autores.

La clasificación cromosómica según la posición del centrómero en cromosomas grandes y pequeños comprendió, en las siete especies, cromosomas grandes submedianos o subterminales, y pequeños medios o submedios. En *A. vera*, se ha descrito la presencia de un cromosoma grande submediano, diferente del resto de los cromosomas grandes de su complemento diploide (Imery y Caldera, 2002). En *A. littoralis*, *A. lutescens* y *A. jacksonii*, también se evidenció la presencia del L₁ con centrómero en posición submedia; sin embargo, uno de los cromosomas del grupo de cuatro L₁ de *A. jacksonii* resultó ser polimórfico, definido como st, lo que, al igual que en poblaciones naturalizadas de *A. vera* en la península de Araya, pudo ser atribuido a posibles mutaciones estructurales como deleciones, inversiones pericéntricas desiguales y/o translocaciones experimentadas por individuos ancestrales, mantenidas en el tiempo gracias a su mecanismo de propagación asexual (Albornoz e Imery, 2003). Por otra parte, Matos y Molina (1997) encontraron que, en ejemplares de *A. vera* del estado Zulia y Falcón, todos los cromosomas eran submetacéntricos, hecho no observado en ninguna de las siete especies de *Aloe* examinadas.

Estudios cariológicos en *A. saponaria* realizados por Vij *et al.* (1980), Imery y Caldera (2002) e Imery (2007) soportan la presencia de siete cromosomas grandes subterminales. Los primeros autores reportan que de los seis cromosomas pequeños, cuatro fueron subterminales y dos submedianos. En los dos estudios cariológicos realizados en ejemplares naturalizados en la ciudad de Cumaná y, en el presente estudio, no se encontraron cromosomas pequeños subterminales en *A. saponaria* ni en el resto de las especies de *Aloe* incluidas en el estudio. La cromosomas pequeños en la mayoría de las especies fueron submedianos, y sólo en *A. littoralis* y *A.*

jacksonii, el S₁ fue clasificado como mediano. Albornoz e Imery (2003) encontraron cromosomas metacéntricos en uno de los tres pares de cromosomas pequeños de algunas poblaciones de *A. vera*, rechazando la visión inicial de Imery (2000) de que el cariotipo de *A. vera* no presentaba centrómeros en la región media de sus cromosomas. Sapre (1978) reportó que, en ejemplares de *A. vera*, los pares cromosómicos S₂ y S₃ eran metacéntricos.

Es importante acotar que, *A. jacksonii* también experimentó polimorfismo en uno de los cromosomas del grupo S₁ (sm en vez de m), pero a diferencia del caso anterior, este cambio cromosómico no puede ser explicado por eventos de pérdida de fragmentos cromosómicos sino más bien por duplicaciones, inversiones o translocaciones. Imery *et al.* (2008) argumentan que las especies poliploides son más resistentes a cambios genómicos en sus cariotipos que las especies diploides, indicando que ciertas mutaciones registradas en los híbridos triploides *A. vera* x *A. saponaria* no se observaron en los híbridos diploides, por ser deletéreas en los mismos. Lógicamente, un individuo con el doble del complemento cromosómico típico de la especie es capaz de tolerar la carencia o redistribución de algunos genes en su genoma, afectados por la ocurrencia de aberraciones estructurales o génicas.

Las constricciones secundarias en la familia Aloaceae generalmente están localizadas en los extremos de los brazos largos de cromosomas grandes, variando de posición a lo largo de los géneros de este grupo de plantas suculentas (Snoad, 1951; Brandham, 1971). En las siete especies de *Aloe*, se han encontrado satélites, no sólo en brazos largos de los pares L₁, L₃ y L₄, sino también en los brazos cortos de cromosomas pequeños, específicamente en el S₁ y, además, polimorfismo en el tamaño de los satélites.

La existencia de constricciones secundarias en los L₁ y L₄ en *A. vera* y en el L₄ en *A. saponaria* ha sido reportada previamente (Sapre, 1978; Vij *et al.*, 1980; Imery

y Caldera, 2002), mientras que las constricciones secundarias en brazos cortos sólo se encontraron en tres de 163 plantas de *A. vera* de la península de Araya (Albornoz e Imery, 2003), y en un cromosoma del par S₁ de *A. saponaria* (Imery y Caldera, 2002). En esta investigación, la presencia de constricciones secundarias en los brazos cortos de cromosomas S₁ en *A. vera* fue evidente tanto en preparaciones de cariotipaje como en células sometidas a la técnica de bandeado C; en *A. saponaria*, se observó de forma clara la constricción ya sustentada y una pequeña constricción en su homólogo, inconspicua y poco frecuente. También satélites en cromosomas pequeños se revelaron en *A. jacksonii*. Brandham (1971) reportó la presencia de este tipo de constricciones en variedades de *A. tenuior* y *A. scobinifolia*, considerándolas como excepcionales dentro de la tribu Aloineae.

Es posible que, la dificultad experimentada en la observación de estas constricciones radique en el grado de contracción de los cromosomas debido a que se ha visto relacionada una alta resolución en la observación de satélites con el bajo grado de condensación, ya sea por la limitada acción del agente antimitótico o por la condición prometafásica de algunas células observadas en el tejido meristemático evaluado.

Recientemente, Adams *et al.* (2000), en análisis de ADN ribosomal (ADNr) de 28 especies de *Aloe*, hallaron en todas las especies, zonas de ADNr a 85% de distancia del centromero en los brazos largos de cromosomas grandes y ADNr en la región terminal de los brazos cortos de cromosomas S en cuatro especies, incluyendo a *A. vera*, hecho que sustenta de manera más significativa la presencia de un satélite en el S₁. Además, estos autores hacen referencia de que en monocotiledóneas es común la variabilidad de localización y número de sitios de ADNr y NORs dentro y entre especies, así como dentro de plantas individuales.

Matos *et al.* (1998) caracterizaron la presencia de NORs en cromosomas

mitóticos de *A. vera* usando la tinción con nitrato de plata (AgNOR), detectando NORs en los brazos largos de los pares L₁ y L₂ y en los brazos cortos de los cromosomas de los pares L₁, L₄, S₂ y S₃, siendo las últimas bandas las más visibles y frecuentes. Estos resultados no concuerdan con la ubicación de constricciones secundarias en los reportes previos (Albornoz e Imery, 2003) y en la actual investigación. Imery (2007) detectó posibles regiones Ag-NOR en la misma ubicación de las constricciones secundarias en *A. vera* y *A. saponaria*, en desacuerdo con lo expuesto anteriormente y planteó además la necesidad de futuras investigaciones a fin de establecer relaciones más estrechas entre las regiones NOR y la tinción nucleolar en *Aloe*.

Por otra parte, es frecuente la observación de constreñimientos adicionales o lo que se ha denominado “pseudo-constricciones” en la región intercalar de brazos cortos de cromosomas grandes y en la zona subterminal de brazos largos de cromosomas pequeños. Brandham (1971) hace mención a que no existen reportes de constricciones secundarias ubicadas en tales posiciones y sugiere que son producidas por un efecto de torsión o enrollamiento de las cromátidas hermanas, con poca significancia en la estructura del cariotipo; o que pertenecen a regiones de heterocromatina (Sapre, 1978); sin embargo, los estudios de bandeo C no revelan bandas ubicadas en tales regiones, justificando la primera razón expuesta.

La uniformidad cromosómica sugerida para estas plantas suculentas, obedeciendo a una marcada ortoselección cariotípica, definida como estabilidad en el número básico de cromosomas y en la morfología de los cromosomas tanto que pueden ser completamente indistinguibles de una especie a otra dentro del género (Bradham y Doherty, 1998), enmascara la importancia de las variaciones individuales en la longitud de los brazos cromosómicos de cada grupo de homólogos (Imery y Caldera, 2002). Las diferencias cariológicas observadas en las siete especies de *Aloe* son claras evidencias de que la aparente ortoselección cariotípica existente en el

género no se cumple en todos los aspectos que definen sus cariotipos.

Bradham y Doherti (1998), en una interpretación de las variaciones morfométricas entre cromosomas del cariotipo de varias especies de la familia Aloaceae, concluyeron que el incremento de las cantidades de ADN se da proporcionalmente en cromosomas grandes y pequeños, manteniendo sus longitudes relativas y bimodalidad del cariotipo en muchas de las especies, como se ha constatado para las longitudes relativas obtenidas en las siete especies de *Aloe*. Sin embargo, comparaciones de longitud cromosómica mostraron diferencias entre ellas, al igual que las detectadas a través de estudios estadísticos entre *A. vera* y *A. saponaria* así como en poblaciones de *A. vera*, en la península de Araya (Imery y Caldera, 2002; Albornoz e Imery, 2003). Polimorfismos cromosómicos entre homólogos en aspectos cuantitativos que incluyen longitudes de los brazos, longitudes cromosómicas, longitudes relativas e índices r como los observados a nivel intraespecífico en estas especies, también se han encontrado en otros géneros de plantas como *Alstroemeria*, *Scilla*, *Puschkinia* y *Cucumis* (Greilhuber y Speta, 1976; Ramachandran *et al.*, 1985; Buitendijk *et al.*, 1998).

Imery y Cequea (2002) sugieren que la estabilidad cromosómica refleja baja frecuencia de cambios numéricos y mayor frecuencia de mutaciones génicas o pequeñas aberraciones estructurales, como principales fuentes de variación en el proceso de divergencia del género *Aloe*. Imery y Caldera (2002) hacen referencia que las variaciones de longitud en las cinco especies de *Aloe* evaluadas podrían ser el resultado de translocaciones recíprocas y/o no recíprocas, o deleciones de fragmentos cromosómicos. Las variaciones cariotípicas son evidentes a nivel poblacional en *A. vera*, quizás como consecuencia de la influencia del medio ambiente en la modificación del genotipo e indirectamente sobre el crecimiento y desarrollo de poblaciones y especies, produciendo diferentes ecotipos a partir de un pool génico original que cambia en el tiempo (Albornoz e Imery, 2003).

Los heteromorfismos entre cromosomas homólogos son muy comunes entre animales y plantas, debido a la frecuencia de cambios estructurales como translocaciones e inversiones. Durante el proceso de especiación toman lugar alteraciones del contenido de ADN, y por consiguiente, de la morfología cromosómica, debido posiblemente a eventos de duplicación de segmentos de ADN en el mismo cromosoma considerando aspectos de apareamiento meiótico, o en unos pocos casos, a la inestabilidad mitótica dentro del individual (Brandham, 1975). Ramachandran *et al.* (1985) concluyen que las variaciones cariotípicas en *Cucumis sativus* se deben probablemente a amplificaciones lineales o deleciones de secuencias repetitivas, translocaciones e inversiones, recombinaciones desiguales, etc. Esto de igual manera es referido por Greilhuber y Speta (1978) en *Scilla siberica* y, además, argumentan que dichas variaciones son independientes de la variación de heterocromatina.

Bradham (1969a) correlacionó la presencia de pares cromosómicos heteromórficos con la formación de puentes “tipo E” en 163 especies de la tribu Aloineae (actualmente familia Aloaceae), asociando este tipo de aberración a la ocurrencia de dos inversiones separadas, una paracéntrica y otra pericéntrica. Puentes dicéntricos entre homólogos, fragmentos acéntricos y la existencia de microsporas adicionales, indican anormalidades de apareamiento, rupturas espontaneas, y posibles inversiones paracéntricas en *A. vera* (Imery y Cequea, 2002), *A. saponaria*, *A. littoralis*, *A. zebrina* y *A. jacksonii* (González, 2008), por lo que no es errado asumir que dichos cambios estructurales probablemente tengan repercusiones en la distribución genómica y cariotípica de estas especies.

En *A. saponaria*, la presencia de brazos cortos de muy pequeño tamaño en el par L₄ y brazos largos de cromosomas pequeños que exceden el tamaño considerado para los *Aloe*, podría ser la evidencia de una posible translocación recíproca existente entre estos dos cromosomas. Brandham (1969b) reporta presencia de translocaciones

entre brazos cortos de cromosomas grandes y brazos largos de cromosomas pequeños en especies de *Aloe* y *Harworthia*, concluyendo que ocurren cambios de forma simétrica debido a que existe una selección extrema actuando en los cambios asimétricos a fin de mantener la uniformidad cariotípica de la tribu. Albornoz e Imery (2003) encontraron una posible translocación recíproca entre cromosomas L_{sat} y S en una de las 160 plantas estudiadas. Se ha precisado que dichos intercambios en Aloaceae aumentan en frecuencia a medida que se incrementa el nivel de ploídía en las especies (Brandham y Johnson, 1977).

Según Brandham (1971), las alteraciones estructurales del cariotipo son causadas por eventos de intercambios desiguales entre los brazos de cromosomas no homólogos, afectando no el número cromosómico sino más bien en el tamaño del cromosoma o la posición de su centrómero.

Las plantas de *A. vera* naturalizadas en Suramérica poseen propagación exclusivamente vegetativa originando poblaciones con muy poca o ninguna variabilidad genética. Este tipo de reproducción trae como consecuencia el mantenimiento y acumulación de mutaciones que actúan como carga genética y van causando cambios progresivos en el cariotipo y organización genómica en esta especie y en aquellas que presenten el mismo fenómeno de autoincompatibilidad (Imery y Cequea, 2008). La propagación vegetativa brinda la posibilidad a las especies introducidas de adaptarse a nuevos ambientes y explotar nuevas condiciones ecológicas, y esto lo logran a través de supresión de la reproducción sexual por errores, tanto de fertilización como meióticos, evitando segregación y recombinación (Sapre, 1975).

Desde el descubrimiento de tratamientos específicos con giemsa que producían la diferenciación lineal en cromosomas somáticos, el mecanismo de bandeado con giemsa ha sido probado en numerosos trabajos (Schubert *et al.*, 1984). La naturaleza

química de las áreas positivas de giemsa se ha estudiado en base al contenido de ADN, y por la examinación del efecto de una amplia variedad de reactivos en el bandeo C (Blakey y Filion, 1976). Estudios de aislamiento y caracterización del ADN indicaron que las bandas giemsa positivas coincidían con ADN rico en CG o AT, las cuales pueden o no contener secuencias repetidas (Vosa, 1975). Posteriormente, Comings *et al.* (1973) reportaron que la incubación en hidróxido es la responsable de la pérdida del 21% de ADN cromosomal y que la solución salina remueve, adicionalmente, un 36,9% del ADN total, mientras que por otro lado, 89,8% del ARN y 27,5% de las proteínas son extraídas por la técnica de bandeo C.

Blakey y Filion (1976) concluyen que en *Tulipa* el tratamiento con la solución salina causa un colapso de la estructura cromosómica, provocado específicamente por rearrreglos estructurales de proteínas más que por extracción de material cromosomal, asumiendo que la acción como tal de la incubación en SSC es solubilizar las proteínas cromosómicas, difundiendo del ADN al exterior del cromosoma. Burkholder y Duczek (1980), en estudios sobre la composición de las proteínas relacionadas con el bandeo C, mostraron que el ácido clorhídrico y el tratamiento alcalino extrajeron no sólo ADN e histonas de las regiones cromosómicas con zonas de giemsa negativas, sino también proteínas no histónicas, resaltando el rol de este tipo de proteínas en la técnica de bandeo, en desacuerdo con la opinión de Comings *et al.* (1973), quienes expresan que las interacciones de histonas con el ADN son las responsables del alto empaquetamiento que caracteriza a la heterocromatina constitutiva.

Halleck y Schlegel (1983) argumentan que las histonas ricas en arginina inaccesibles a hiperacetilarse durante el tratamiento con butirato pudieran ser responsables de la alta compactación y consecuente resistencia de la heterocromatina constitutiva (caracterizadas por presentar proteínas con baja acetilación) a la solubilización durante el procedimiento de bandeo C, debido a que la acetilación en histonas provoca la descondensación de la cromatina a fin de exponer el ADN y

permitir que se inicien los procesos de transcripción o duplicación del mismo en la célula (Lodish *et al.*, 2003).

Fernández *et al.* (2002) reseñan que las regiones de giemsa positivas representan áreas de reasociación del ADN altamente repetitivo, refiriendo que es comúnmente aceptado que el mecanismo de bandeo C está basado en pérdidas preferenciales de ADN de las regiones que no poseen bandas C, el cual es depurado y desnaturalizado subsecuentemente en el tratamiento ácido y alcalino. El ADN desnaturalizado es posteriormente degradado en fragmentos pequeños que son extraídos en el cromosoma durante la incubación con solución salina. Estos autores, al igual que Burkholder y Duczek (1980), sugieren que proteínas particulares, posiblemente proteínas no histónicas, se asocian con el ADN y están muy involucradas en la condensación de la heterocromatina constitutiva, haciéndola más resistente a la dispersión y extracción. Comings *et al.* (1973) demostraron que la renaturalización de los cromosomas después de la desnaturalización ocurre en 20 segundos en las regiones C+ y en 3 a 5 minutos en el resto del ADN cromosómico.

Greilhuber y Speta (1976) hacen referencia que la heterogeneidad de la heterocromatina constitutiva, cuando está presente, usualmente causa algunas variaciones en la expresión de ciertas bandas o cromocentros y, hacen énfasis de que un balance entre la hidrólisis ácido acética y el tratamiento con hidróxido de bario provee una óptima diferenciación según el tipo de heterocromatina. Además, sugieren otras razones que pudieran afectar la variabilidad del bandeo como la fijación, maduración, aplastamiento, separación de paredes celulares y congelación.

En la actual investigación y en la realizada por Imery (2007) en especies de *Aloe*, se ha establecido que la maduración de las láminas por dos semanas es determinante e imprescindible para la obtención de buenos resultados en los patrones lineales de bandeo. Filion (1974) recomienda al menos cinco días de maduración con

el fin de acelerar la degradación de moléculas eucromatínicas y facilitar el posterior tratamiento de desnaturalización. La disociación celular de los meristemas radicales macerados, asociada a preparaciones deshidratadas y maduras, resultó adecuada para proveer cromosomas claros y preservados, bien distribuidos en el mismo plano celular sin fondo citoplasmático, solapamientos o deformaciones estructurales, facilitando así el ensamblaje de los cariotipos con bandeado C en *Bixa* (Almeida *et al.*, 2006). Martín y Hesemann (1988) establecieron que un largo periodo de maduración minimiza el tiempo de tinción en centeno.

En la estandarización de esta tinción diferencial en *Tulipa*, Filion (1974) argumenta que el uso de una solución saturada de hidróxido de bario o su exposición a altas temperaturas resulta en distorsión de cromosomas con poca o ninguna aparición de bandas, mientras que la aplicación del álcali diluido en tiempo prolongado produce resultados más consistentes, bandas definidas con mínimas distorsiones de los cromosomas. Imery (2007) llegó a la misma conclusión que este autor, al someter preparaciones de dos especies de *Aloe* y sus híbridos a varios rangos de concentración y temperatura de hidróxido de bario. Por otro lado, otros estudios como el de Martín y Hesemann (1988) en centeno o el de Greilhuber y Speta (1976) en *Scilla* emplean este reactivo en forma saturada y a altas temperaturas, obteniendo resultados de buena calidad. Como se puede notar, el uso del hidróxido de bario es un paso delicado y de suma importancia para lograr un bandeado de alta resolución, siendo algunas especies más sensibles que otras a la acción desnaturalizante de esta base, como se pudo registrar en *Aloe*.

En *Tulipa*, se evidenció que un tiempo prolongado de incubación en SSC requiere un largo tiempo de tinción y que al incrementar el número de láminas por jarra de coplin (>3) resulta en patrones de bandeado inconstante, debido a un cambio de pH por la condición alcalina de las preparaciones (Filion *op.cit.*). En la tinción con giemsa de bandas de heterocromatina en las especies de *Aloe*, también se observó la

baja calidad en los resultados de bandeo cuando se colocaban más de tres láminas en la cubeta de tinción, probablemente por la competición de las células del tejido meristemático por las partículas de tinción. Es posible que la dificultad de observación de bandas en algunas especies haya sido provocada por algunas de las razones expuestas.

En cariotipaje convencional, el tiempo ideal de coloración en función de la concentración de giemsa se relaciona cuantitativamente a la cantidad de ADN del cromosoma, y resulta en una pérdida de detalles cuando hay un prolongamiento excesivo del tiempo de coloración; la manera de conocer el lapso ideal de coloración es a través del monitoreo de la lámina, retirándola de la cubeta de tinción en tiempos regulares y devolviéndola lo más rápido posible luego de su observación al microscopio (Guerra, 1983). Los buenos resultados en la técnica de bandeo C con giemsa dependen de las consideraciones señaladas anteriormente y varían según las especies vegetales. Por ejemplo, en *Hordeum*, fue necesario prolongar el tiempo de tinción a 24 horas para una satisfactoria diferenciación de bandas de menor tamaño en este cereal (Vosa, 1976a).

En estudios de contraste de interferencia con microscopía de electrones en *Tulipa*, Blakey y Filion (1976) concluyeron que durante la incubación de buffer *Sörensen's* no se altera la superficie de la estructura del cromosoma y que los cúmulos producidos por la tinción de giemsa en esta especie son una acumulación de moléculas de color y no una parte integral del cromosoma poco afectado por la acción del álcali. La diferenciación de color en la tinción se produce por interacciones entre partículas de color básicas incluidas en el líquido de giemsa, que se van agregando progresivamente, y las moléculas de ADN no desnaturalizadas (Sato *et al.*, 1979).

La cromatina condensada en núcleos interfásicos puede exhibir diferentes arreglos, haciendo posible distinguir distintos tipos de organización nuclear en

interfase (Cremonini *et al.*, 1994), como se pudo evidenciar en la disposición de los cromocentros de las especies de *Aloe*. Al igual que en estas plantas, Schweizer y Enrendorfer (1976), en *Anacyclus*, observaron cromocentros correspondientes a las bandas centroméricas, ubicados de forma polarizada en el núcleo celular.

Durante mucho tiempo, se ha apreciado que los cromosomas no permanecen de forma pasiva en el núcleo, sino que se reorganizan dinámicamente para adaptarse a las necesidades de la célula. Las células en interfase y profase meióticas o mitóticas parecen haber elegido los telómeros como los sitios de interacción con el resto de la célula para esta organización (Goto *et al.*, 2001). La polarización de los cromosomas durante anafase, enfocada en los centrómeros y telómeros (Figura 5a), es por lo general mantenida en telofase, cuando la envoltura nuclear se forma alrededor de los cromosomas descondensados. Esta organización de los cromosomas, se denomina Rabl en honor del investigador que la describió por primera vez (Rabl, 1885). La presencia de la organización Rabl varía enormemente entre las especies y tejidos o etapas del desarrollo de un organismo, siendo relativamente fija en el tiempo y en el espacio nuclear, donde algunas células la pierden poco después de entrar en interfase, mientras que en otras puede permanecer mucho tiempo después que la división celular se ha completado (Franklin y Cande, 1999).

Stack *et al.* (1977) observaron la persistencia de la orientación Rabl en raíz de cebolla mediante tinción giemsa para visualizar heterocromatina telomérica. Cowan *et al.* (2001) argumentan que la orientación Rabl se mantiene en los cromosomas interfásicos de una serie de hierbas y en monocotiledóneas con grandes genomas, como los áloes (Bennett y Leitch, 2005), pero no en aquellos con genomas intermedios o pequeños, como el maíz y arroz respectivamente, asumiendo que esto podría ser simplemente una consecuencia de las limitaciones de la difusión de la cromatina en los núcleos de organismos con cromosomas grandes o grandes genomas. Alternativamente, sugieren que la orientación Rabl puede persistir a causa

de asociaciones entre telómeros y centrómeros con la envoltura nuclear, debido a que los telómeros parecen ofrecer importantes puntos de anclaje, con agrupaciones telómero-telómero y centrómero-centrómero entre cromosomas no homólogos. La distribución de familias de ADN repetitivo en el cariotipo podría depender de interacciones físicas de cromosomas e intercambios de secuencias en el núcleo (Jones y Flavell, 1982).

Según Hemmer y Morawetz (1990), la heterocromatina terminal juega un rol esencial en la organización 3D de la cromatina interfásica, debido a que la polarización de los cromosomas y la unión de los telómeros a la envoltura nuclear son esenciales para el mantenimiento del orden espacial de los cromosomas durante la interfase. La configuración Rabl impone un sorprendente grado de orden en la interfase nuclear, pues el aislamiento concreto de regiones pequeñas de los cromosomas definen dominios dentro del núcleo necesarios para el mantenimiento de determinadas configuraciones cromatínicas que deben ser codificadas a ARN (Cowan *et al.*, 2001). Manders *et al.* (1999) demostraron que en la transición G₂-M (entrada de la mitosis), cuando la cromatina se está condensando, los cromosomas no sufren mucha reorganización interna (movimiento) para llegar a la estructura que tendrán en la metafase, indicando que la orientación puede ser una forma de hacer frente a la difícil tarea de formar grandes cromosomas en metafase.

La correspondencia entre el número de cromocentros y el número de bandas en los cromosomas ha sido reportada para muchos géneros de plantas como *Tulipa* (Filion, 1974), *Azima* (Guerra, 1989), *Hordeum* (Linde-Laursen *et al.*, 1980), *Ornithogalum* (Azzoui *et al.*, 1990), *Dasypyrum* (Linde-Laursen y Frederiksen, 1991), *Crithopsis* (Linde-Laursen *et al.*, 1999), *Aloe* (Imery, 2007), entre otros, y son consideradas marcadores para determinar el patrón de bandeo esperado en los cromosomas metafásicos (Filion, 1974). A pesar de que la correspondencia numérica ya ha sido reportada para *A. vera* y *A. saponaria*, en la actual experiencia no fue tan

evidente en la mayoría de las especies caracterizadas, debido probablemente a solapamientos existentes entre los cromocentros producto de la configuración tridimensional del núcleo, lo que dio lugar a la observación de grandes cuerpos de tonalidad muy intensa que enmascaran la cantidad real de cromocentros existentes en la matriz nuclear, o quizás por la presencia de cromocentros inconspicuos que dificultan el conteo de estos en el núcleo interfásico (Linde-Laursen *et al.*, 1980) .

En un estudio comparativo de siete especies de *Anacyclus*, Schweizer y Enrendorfer (1976) notaron que en algunas especies la correspondencia cromocentros-bandas era pronunciada, mientras que otras experimentaban dificultades en la detección de cromocentros diminutos (bandas pequeñas en cromosomas mitóticos), debido a la fusión de bandas intra e intercromosómicas que daban lugar a la formación de cromocentros complejos en los núcleos interfásicos. En *Nothoscordum fragrans* (Sato *et al.*, 1979), *Secale cereale* (Weimarck, 1975; Jones y Flawell, 1982; Cermeño y Lacadena, 1985), *Aconitum sanyoense* (Okada, 1991), *Serjania*, *Cardiospermum* (Hemmer y Morawetz, 1990) y en siete especies de *Drosera* (Sheikh y Kondo, 1996) también ha sido aparente la fusión de bloques de heterocromatina constitutiva en interfase.

Patrones de heterocromatina revelados en *Allium paniculatum* con bandeado de fluorescencia mostraron dos tipos de fluorescencia en el núcleo interfásico, diferenciándose zonas bien demarcadas de fluorescencia más intensa y reducida cuando se colorea el núcleo con quinacrina (Vosa, 1976b). Sato *et al.* (1979) distinguieron dos tipos de tonalidades en segmentos positivos de heterocromatina constitutiva presente en núcleos interfásicos y cromosomas de *Nothoscordum fragrans*, e interpretaron que la diferencias en color no son causadas por la afinidad selectiva de las moléculas incluidas en el reactivo de giemsa, sino por la distinción en la organización y componentes de la heterocromatina, posiblemente diferentes especies moleculares del ADN o conformacionales (hebra simple o doble), las cuales

probablemente causan dos tonalidades según su ubicación en el cromosoma.

Las diferencias de intensidad encontradas en las bandas detectadas a través de la técnica de bandeo C en *Aloe* y en otras plantas (Linde-Laursen, 1975; Schweizer y Ehrendorfer, 1976; Cortés y Escalza, 1986; Miyamoto *et al.*, 1991; Guerra, 1993), sobretodo aquellas ubicadas en posición pericentromérica y terminal de algunos cromosomas grandes, sugieren algunas variaciones estructurales o moleculares de los segmentos de heterocromatina positiva (Filion, 1974; Miyamoto *et al.*, 1991) o la coexistencia de distintas familias de secuencias de ADN repetitivo en sus genomas (Cuellar *et al.*, 1996). Cortés y Escalza (1986), en la caracterización de la heterocromatina de varias especies de *Allium*, infieren que las diferencias de coloración en las bandas obedecen a la existencia de, por lo menos, dos clases de heterocromatina constitutiva que además varían en su grado de condensación, como también lo reporta Schweizer y Ehrendorfer (1976) en *Anacyclus*.

Linde-Laursen (1975) comenta que el método de aplastamiento y tinción de bandas individuales puede causar las variaciones en la intensidad y forma de las mismas en una célula o entre células del tejido meristemático. Sin embargo, Guerra (2000), en una compilación de estudios de bandeo con fluorescencia en 58 especies de plantas, concluyó que estas técnicas han podido revelar algunos tipos de heterocromatina, generalmente ricas en bases AT o GC, acotando que no todas las bandas C fueron diferenciadas por los flourocromos y que no toda la heterocromatina es detectable con el bandeo C, debido a que en algunas especies un número limitado de bandas de fluorescencia no se correspondían con sitios de heterocromatina positiva revelada con la técnica de tinción con giemsa. Es probable que procedimientos específicos de bandeo C no siempre definan todos los tipos de heterocromatina (Filion, 1974).

En un estudio previo, Guerra (1993) comentó que, en muchas especies, la

cromatina rica en GC está probablemente asociada con la región organizadora del nucleolo encontrándose junto a los pares de bases ricas en AT esparcidos en el cromosoma, siendo entonces la distribución de las secuencias altamente repetitivas específicas para cada cromosoma (Appels *et al.*, 1978) con orígenes de acumulación independientes (Kenton, 1991). Pardue y Hennig (1990) dividen la heterocromatina constitutiva en dos tipos, α y β , la primera ubicada en la región pericentromérica y la segunda en la región telomérica (Almeida *et al.*, 2006). Según Vosa (1974) las bandas proximales y algunas bandas intercalares son diferentes a las bandas terminales.

Por otro lado, en la mayoría de las especies de *Aloe* se notó la presencia de bandas muy pequeñas, poco coloreadas, que eran inestables en su aparición de célula en célula. Fillion (1974), además de encontrar en *Tulipa* pequeñas bandas que variaban según su intensidad, también observó bandas muy claras que generalmente estaban ausentes en la mayor parte de las células, no considerándolas como representativas. Esto ha sido argumentado en otras especies como *Paris tetraphylla* (Uchino y Wang, 1997), *Serjania* y *Cardiospermum* (Hemmer y Morawetz, 1990), *Triticum* (Gill y Kimber, 1974b), *Anacyclus* (Schweizer y Ehrendorfer, 1976) y *Vicia faba* (Döbel *et al.*, 1973). En esta última especie, las bandas ocasionales se asocian predominantemente en la región terminal de los cromosomas satélites al igual que las detectadas en la presente investigación, en la mayoría de los casos.

Hemmer y Morawetz (1990) explican la falta de homogeneidad en la aparición de bandas como fallas de bandeado y alta coloración de los cromosomas pretratados, asumiendo que estos errores se deben a una fuerte protección del ADN o proteínas resistentes, debido a un revestimiento artificial del ADN en el curso de la fijación de los cromosomas, mientras que Vosa (1976a) argumenta que la visibilidad de bandas intersticiales y terminales de *Hordeum* aumenta en profases tardías o metafases tempranas cuando los cromosomas aún no presentan un alto grado de contracción.

Según Schweizer y Ehrendorfer (1976), la relativa omnipresencia de las bandas proximales en los cromosomas de la mayoría de las especies del género *Anacyclus* es un componente ancestral del estilo de bandeo, mientras que la labilidad de las bandas intersticiales y terminales sugiere un origen más reciente y está relacionada con la separación taxonómica de los grupos de especies o de las taxas infraespecíficas. En concordancia con lo expresado anteriormente, Appels *et al.* (1978) expresa que las secuencias altamente repetitivas muestran conservación a lo largo de la escala evolucionaria aunque con marcados cambios cuantitativos que son comunes entre especies del mismo género.

A pesar de que cada especie tiene un patrón distintivo de bandeo C en su cariotipo (Miyamoto *et al.*, 1992), la prevalencia de bandas centroméricas sobre las terminales con ausencia de bandas intersticiales suele ser un patrón conservado de la mayoría de las especies de *Aloe* analizadas, ya que sólo *A. saponaria* mostró una distribución de bandeo opuesta a la esperada. El predominio de bandas proximales en el cariotipo de especies vegetales ha sido reportado previamente para *Anacyclus* (Schweizer y Ehrendorfer, 1976), *Cephalanthera* (Schwarzacher y Schweizer, 1982), *Annona* (Morawetz, 1984), *Paris* (Miyamoto *et al.*, 1992), *Emilia* (Guerra y Nogueira, 1990), *Hypochoeris* (Ruas *et al.*, 1995), *Helianthus* (Cuellar *et al.*, 1996), *Bulbine* (Watson, 1988), *Quercus* (Zoldos *et al.*, 1999) *Medicago* (Falistocco y Falcinelli, 1993), *Ophrys* (D'Emérico *et al.*, 2005), *Phaseolus* y *Vigna* (Zheng *et al.*, 1991), entre otras. Sin embargo, Imai (1991) argumenta que la mayoría de las especies vegetales presentan más bandas terminales que centroméricas, típico de especies como *Secale* (Gil y Kimber, 1974a), *Triticum* (Gil y Kimber, 1974b), *Alstroemeria* (Buitendijk y Ramanna, 1996), *Allium* (Vosa, 1976b), etc. Hamoud *et al.* (1991) interpretan la presencia de bandas intersticiales o terminales, con ausencia de bandas centroméricas, como el resultado de inversiones o translocaciones.

Según Kenton (1991), una relación proporcional entre el ADN satélite

centromérico, volumen del centrómero y tamaño del cromosoma ocurre en *Gibasis*, considerando esta asociación no como una regla universal pero sí como una necesidad funcional reflejada por propiedades organizacionales de un genoma ancestral; en *Aloe*, podría existir una relación inversa entre tamaño de bandas centroméricas y longitud del cromosoma, debido a que las bandas de mayor tamaño se localizan en cromosomas pequeños. Guerra (2000) también relaciona la distribución de bandas de heterocromatina constitutiva con la longitud cromosómica haciendo referencia que las bandas proximales fueron más comunes en cariotipos con cromosomas pequeños, tendencia que no concuerda con lo obtenido para *Aloe*.

La heterocromatina asociada a la región organizadora del nucleolo (HC-NOR) se diferencia claramente de los otros tipos de heterocromatina constitutiva porque contiene genes de ADNr (Do *et al.*, 2001), aunque puede también poseer secuencias repetitivas no relacionadas con las NOR, como los 120 pares de base encontrados en centeno (Guerra, 2000). Schweizer y Ehrendorfer (1976) encontraron asociación de uno o dos cromocentros grandes con el nucleolo, clasificándola como HC-NOR. Dicha asociación de cromosomas-nucleolos también se ha registrado en *Aloe* (Sapre, 1975).

Matos *et al.* (1998) expresan la necesidad de aplicar bandeo C en *A. vera* para discernir la correspondencia reportada en algunos casos entre NORs y HC; sin embargo, la distribución de las bandas en *A. vera* o en algunas de las seis especies restante no revela segmentos que se correspondan con el reporte excepcional de bandas NOR en los brazos cortos de cromosomas grandes y cromosomas pequeños, regiones que no se han detectado ni siquiera con estudios de bandeo NOR (Imery, 2007) o de hibridación *in situ* de sitios de ADNr (Adams *et al.*, 2000). Los actuales resultados tampoco muestran concordancia con el comentario de Imery y Caldera (2002) de que las observaciones de Matos *et al.* op.cit. pueden ser atribuidas a la presencia de regiones de heterocromatina constitutiva altamente condensadas.

A pesar de la presencia de satélites en cromosomas pequeños (Adams *et al.*, 2000; Imery, 2007), no se encontraron bandas de HC que coincidan con la ubicación de estas constricciones secundarias en las tres especies en las que están presentes, al igual como ocurre con las constricciones localizadas en los brazos largos de los L de algunas especies. Futuros estudios de bandeo N, bandeo NOR o estudios de citogenética molecular podrían ser requeridos para dilucidar, de manera definitiva, las regiones de heterocromatina constitutiva que se encuentran asociadas a NORs, en el género *Aloe*. Por otra parte, Guerra (1989) infiere que bandas teloméricas ubicadas en brazos largos de cromosomas acrocéntricos lleva a la suposición de traslocaciones Robertsonianas que pudieron haber ocurrido durante la evolución del género *Azima*.

La presente investigación y otros estudios similares de plantas (Vosa, 1973; Schweizer y Ehrendorfer, 1976; Vosa, 1976b; Morawetz, 1984; Jellen y Gill, 1996; Bauchan *et al.*, 2003) muestran que los cromosomas homólogos pueden ser polimórficos y difieren en número, resolución, tamaño y proporción de los segmentos de heterocromatina constitutiva. La heterocigocidad estructural es ciertamente una expresión de variabilidad o inestabilidad citogenética, y es frecuentemente encontrada en grupos de plantas herbáceas (Morawetz, 1984), o en especies de polinización cruzada (Endo y Gill, 1984a; Tuna *et al.*, 2001). Sin embargo, Linde-Laursen *et al.* (1980) refieren que polimorfismos entre homólogos se encontraron tanto en taxas autocompatibles como antoincompatibles de *Hordeum*, y Sakurai y Ichicawa (2001) reportan algunas diferencias en las bandas teloméricas de varios cromosomas de clones de *Setcreasea*, demostrándose que la presencia de polimorfismo no sólo se restringe a especies de reproducción sexual sino también se da en plantas con reproducción asexual, debido a la acumulación de cambios genéticos a lo largo de las generaciones típicas de este tipo de plantas (Albornoz e Imery, 2003).

Las diferencias de tamaño de bandas C entre homólogos no puede ser atribuida a diferencias de aplastamiento (Cortés y Escalza, 1986), condiciones de tinción, o

algún aspecto de la técnica de bandeo Como lo reporta Koo *et al.* (2002) en estudios de variedades y cultivares de *Cucumis sativus*. Los procesos de naturalización y cultivo provocan incremento de la presión selectiva de propiedades genéticas específicas (adaptabilidad) afectando la arquitectura cromosómica, patrones de bandeo y control de las regiones NOR (Koopman *et al.*, 1993). Por tal razón, la amplificación de secuencias de ADN repetitivo, recombinación desigual y futuras duplicaciones, alta frecuencia de fracturas y reuniones de segmentos cromosómicos en regiones ricas en heterocromatina (Schweizer y Ehrendorfer, 1976), deleciones (ausencia de bandas en un homólogo) o cambios estructurales de una secuencia localizada en regiones de heterocromatina podrían ser los factores involucrados en los polimorfismos que se dan en la divergente evolución de especies diploides y poliploides (Kakeda *et al.*, 1991; Hamoud *et al.*, 1991; Linares *et al.*, 1992).

La heterocromatina pericentromérica contiene un gran número de secuencias repetidas, a menudo representadas por elementos transpuestos que causan la redistribución de la heterocromatina, resultando en macromutaciones. Los elementos transpuestos pueden tener un efecto en la velocidad de transcripción y, además, tienen influencia en procesos morfogénéticos, promoviendo la ocurrencia de inversiones y translocaciones, procesos que usualmente acompañan a la especiación. En general, la redistribución de la heterocromatina causa reorganización funcional del genoma, lo cual afecta a rasgos individuales o a la expresión fenotípica de una serie de características (Khokhlova *et al.*, 2006). Endol y Gill (1984b) sugieren que cambios en la talla del cromosoma y en su índice r pueden ser causados por amplificación de secuencias repetidas y redistribución de la heterocromatina constitutiva.

Dos tendencias controversiales explican el mecanismo de reorganización de la heterocromatina constitutiva en el genoma. El primero propone que la heterocromatina representada por bandeo C es un componente aditivo del genoma y el otro establece que puede aparecer a través de la transformación o reemplazamiento

de la eucromatina. Greilhuber y Speta (1978) observaron variación infraespecífica en tres especies de *Scilla*, encontrando correspondencia entre el polimorfismo de bandas C y el incremento de longitud en los brazos cromosómicos, al igual que Loidl (1983) en *Allium*. Vosa (1973) sugiere que los segmentos de heterocromatina se pueden reemplazar o adicionarse a la eucromatina de *Scilla siberica*. Watson (1988) alega que no existe un incremento significativo de la morfología cromosómica en *Bulbine*, considerando que la eucromatina ha sido transformada en heterocromatina, posiblemente por cambios de empaquetamiento de la eucromatina, aunque infiere que existen factores que podrían explicar la amplificación de la heterocromatina constitutiva centromérica como translocaciones.

Dillon (2004) resalta la importancia de la heterocromatina constitutiva como elemento regulador de ciertos genes eucromatínicos, los cuales son a través de translocaciones e inversiones distribuidos hacia las regiones heterocromáticas con el fin de silenciar su expresión. Los dos modelos no son exclusivos ya que la eucromatina contiene genes esenciales que podrían preceder cambios en el empaquetamiento del ADN con o sin amplificación de la heterocromatina (Watson, 1988). Los cambios de secuencias repetitivas son probablemente causados por mecanismo que actúan de manera especie-específica, a lo largo de la localización de quiasmas, puntos de quiebre, permitiendo a las plantas generar la variabilidad que podría ser de importancia adaptativa en ambientes cambiantes (Buitendijk *et al.*, 1998).

Polimorfismos en el tamaño de las bandas de heterocromatina entre homólogos fueron también registrados en el tetraploide *A. jacksonii*. A pesar de la ausencia de estudios de apareamiento en meiosis y origen de este híbrido, la analogía de aspectos morfométricos de los cromosomas, posición de constricciones secundarias y bandas en sus grupos cromosómicos, sugieren un posible origen autoploiploide de esta especie, al igual que lo reportado por Bauchan y Hossain (2001) en una población

tetraploide de *Medicago*, debido a que los polimorfismos en los caracteres cariológicos y heterocromatínicos son también encontrados en las especies de *Aloe* diploides.

Linde-Laursen y Baden (1994) observaron que los polimorfismos del patrón de bandeo entre homólogos del autotetraploide *Psathyrostachys lanuginosa* indican un origen no inmediato de este híbrido. El heteromorfismo en autotetraploides también fue observado en un estudio comparativo de varias especies de *Gibasis*, donde Kenton (1978) sugirió dos posibles orígenes para estos tipos de plantas, el primero sugiere que el híbrido se originó de dos especies diploides muy relacionadas y el segundo que ocurrió diferenciación estructural dentro del autotetraploide, luego de su formación. Es probable que *A. jacksonii* en el curso de su evolución sufriera numerosos cambios y rearrreglos estructurales que se fueron acumulando por su condición clonal y poliploide, dando lugar a polimorfismos más acentuados que los observados en especies diploides.

Por otra parte, la similitud generalizada de los patrones de bandeo en las especies de *Aloe* puede ser explicada por mecanismos análogos de amplificación y transferencia de secuencias repetitivas en el núcleo interfásico, que ocurren cuando los cromosomas no homólogos se orientan de forma paralela y polarizada en la matriz nuclear (como consecuencia del proceso mitótico que originó a la célula), produciéndose la co-evolución de bandas en los brazos cromosómicos (Buitendijk *et al.*, 1998). Posteriormente, por mecanismos genómicos de amplificación de ADN se van creando diferencias y polimorfismo entre especies semejantes (Gill, 1981). Las diferencias drásticas de bandeo, como el encontrado en *A. saponaria*, podrían ser el resultado de un continuo proceso de evolución citogenética en esta especie (Morawetz, 1984).

La semejanza en los patrones de bandeo de las pocas especies analizadas podría

sustentar la visión de que la familia Aloaceae presenta un proceso de ortoselección cariotípica muy marcado (Brandham y Doherty, 1998), con presencia de heterocromatina constitutiva al nivel centromérico de algunos cromosomas grandes y pequeños, con mayor contenido en estos últimos, y con restricción de la aparición de una única banda terminal en los brazos largos de cromosomas satélites. Según Guerra *et al.* (2000), los paralelismos de patrones de bandeo pueden ser una consecuencia de la estructura especial del cariotipo ancestral y ortoselección cariotípica, donde la selección canalizó los cambios estructurales por tres razones: similar presión ambiental, adaptación celular, o semejante distribución de quiasmas. Este autor sugiere que de ser así la heterocromatina tiende a acumularse mediante amplificaciones de repeticiones preexistentes en las mismas regiones de cromosomas homólogos de diferentes clados.

Diversas investigaciones han señalado que el incremento del contenido de heterocromatina constitutiva ocurre de forma paralela al aumento de ADN en el núcleo (Marks y Schweizer, 1974; Thomas, 1981; Inceer y Ayaz, 2005), estando a su vez correlacionado aparentemente con géneros avanzados, siendo más o menos apomórficos con respecto a su morfología, anatomía y fitoquímica (Avramova, 2002). El tamaño del genoma posee significado adaptativo, importante en la evolución y la diversificación a distintos ambientes (Poggio y Naranjo, 2004), siendo ventajosa la presencia de heterocromatina por la función que cumplen los centrómeros y telómeros en la organización nuclear durante interfase o mitosis, y por la interacción de ésta con proteínas reguladoras que se unen al ADN (Avramova, 2002). D'Emerico *et al.* (2000) interpretaron el incremento de heterocromatina de *Listera cordata* como indicador evolutivo de una reorganización cariotípica reciente, no experimentada por otras orquídeas, las cuales poseen bajo porcentaje de heterocromatina constitutiva restringida a los centrómeros (D'Emerico *et al.*, 2005; Schwarzacher y Schweizer, 1982).

Estudios del contenido del ADN y tamaño del genoma de diversas especies de *Aloe* revelan que este género posee alto contenido de ADN en comparación con otras angiospermas (Zonneveld, 2002; Bennett y Leitch, 2005). Bradham y Doherty (2008) sugieren que el aumento de la cantidad ADN para especies avanzadas está establecido; si esto es así, la correlación plesiomorfía/ cariotipos con poca heterocromatina (Guerra *et al.*, 2000) no se cumple para este grupo de plantas, debido a que el porcentaje de heterocromatina en las siete especies estudiadas no sobrepasa el 7% comparado con la longitud total de sus cariotipos.

Genomas con bajo contenido de heterocromatina constitutiva son característicos de géneros como *Scilla* (Greilhuber y Speta, 1978), *Oryza* (Hamoud *et al.*, 1991), *Dasyrium* (Linde-Laursen y Frederiksen, 1991), *Hordeum* (Linde-Laursen *et al.*, 1980), *Allium* (Vosa, 1976b), *Ornitogalum* (Azzoui *et al.* 1990), *Vicia* (Creomonini *et al.*, 1993), *Cephalanthera* (Schwarzacher y Schweizer, 1982), *Festuca* y *Vulpia* (Bailey y Stace, 1992), de las cuales solo en una especie de *Scilla* y en *Dasyrium*, perteneciente a una de las familias más especializadas de monocotiledóneas (Chase, 2004), no se cumple la correlación bajo porcentaje de heterocromatina-bajo contenido de ADN. Sin embargo, géneros como *Alstroemeria* con gran cantidad de heterocromatina constitutiva (Buitendijk y Ramanna, 1996) en su genoma exhiben altos valores de contenido de ADN (Bennett y Leitch, 2005).

Greilhuber y Speta (1976) argumentan que la pequeña proporción de heterocromatina se pudo haber originado durante el proceso de diploidización en lugar de ser una condición primitiva. Imai (1991) indica que la eliminación de heterocromatina constitutiva podría ser una ventaja evolutiva, típica de mamíferos e insectos, debido a que elimina de los cromosomas el exceso de secuencias teloméricas y centroméricas inactivadas en su estructura por la heterocromatina después de la fisión céntrica y además, reduce el grado de interacciones deletéreas (translocaciones recíprocas) resultado de la asociación no específica de la

heterocromatina en el núcleo interfásico.

Por otro lado, Zonneveld (2002) establece que la disminución en el contenido de ADN toma lugar en la evolución del género *Aloe*, contrario a lo sugerido por Brandham y Doherty (1998), y en concordancia con la tendencia de la evolución cariotípica de incrementar asimetría, disminuir el número cromosómico y el contenido de ADN en conjunción con cambios morfológicos y ecológicos (Valdés, 2004). De acuerdo con Pierozzi *et al.* (1997), la pérdida o ganancia de heterocromatina constitutiva en un cariotipo refleja ajustes de las necesidades de cada especie y no puede ser considerado como un carácter que indique de forma estricta la tendencia evolutiva de las especies en general, sino más bien podría representar un subproducto aleatorio de la evolución (Guerra, 1993); por lo tanto, su significado evolutivo debe ser asociado con otros estudios filogenéticos a fin de dilucidar por completo la tendencia evolutiva general de la heterocromatina constitutiva en las especies vegetales.

Según Brandham y Doherty (1998), las especies derivadas presentan cromosomas con mayor longitud, lo cual se expresa en un incremento proporcional en los brazos cromosómicos para mantener la ortoselección cariotípica característica de la familia Aloeaceae. Si además de este criterio, se toma en cuenta el aumento de asimetría cromosómica como indicativo de evolución cariotípica (Valdés, 2004), se podría considerar como especies más avanzadas a *A. saponaria* y *A. jucunda* y como las más ancestrales a *A. lutescens*, *A. vera* y *A. littoralis*.

Si el ancestro de *Aloe* fue posiblemente una planta de 150 mm de longitud (Imery y Caldera, 2002), entonces *A. saponaria* y *A. jucunda* no deberían posicionarse como especies evolucionadas, por su menor tamaño. Sin embargo, *A. lutescens*, *A. vera* y *A. littoralis* exhiben mayor tamaño y los más altos porcentajes de heterocromatina constitutiva. Es posible que el patrón de heterocromatina de *A.*

saponaria, opuesto al caracterizado en las otras seis especies, indique un origen o proceso adaptativo diferente al experimentado por el resto. Albornoz e Imery (2003) concluyen que la asimetría bimodal de los cariotipos y las variaciones observadas en los cromosomas más pequeños sugieren que *A. vera* no ha alcanzado su estabilidad cariológica, presentando reordenamientos de fragmentos cromosómicos que perduran o no según las condiciones del ambiente y el mecanismo reproductivo de la especie.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente y en vista que no se formaron tendencias sólidas o constantes en los agrupamientos basados en distancias fenéticas y a la variabilidad intra e interespecífica de los parámetros cariológicos-heterocromatínicos descritos, sería controversial y poco conveniente sugerir cualquier tipo de relación filogenética entre estas especies de *Aloe* sin complementar con estudios que involucren análisis morfológicos, químicos, citogenéticos o moleculares, como bandeo de fluorescencia o hibridación *in situ*, no sólo en los ejemplares caracterizados sino incluyendo a mayor número de especies y poblaciones posibles; no obstante, los resultados aquí presentados aportan atributos cariológicos de utilidad en el estudio del género *Aloe* y en el reconocimiento de marcadores citológicos de interés en futuros trabajos.

CONCLUSIONES

La mayoría de las especies de *Aloe* presentaron un cariotipo bimodal $2n=2x=14=8L+6S$, a excepción del tetraploide *A. jacksonii* que mostró $2n=4x=28=16L+12S$ cromosomas, con centrómeros ubicados en la región sm-st de los cromosomas grandes y en la región m-sm de los cromosomas pequeños.

Las constricciones secundarias se ubicaron, en general, en los brazos largos de los pares $L_1-L_3-L_4$ y en los brazos cortos de par S_1 (*A. vera*, *A. saponaria*, y *A. jacksonii*).

Polimorfismo de tamaño de brazos y de constricciones secundarias fueron evidentes entre cromosomas homólogos de las siete especies. Estos reordenamientos son más comunes y menos deletéreos en la especie poliploide.

Las especies con cariotipos más simétricos son *A. littoralis* y *A. vera*, y menos simétricos en *A. zebrina* y *A. saponaria*.

El tiempo de exposición a hidróxido de bario y de tinción con giemsa en la técnica diferencial de heterocromatina constitutiva (bandeo C) varió entre especies, siendo sensibles unas más que otras al daño celular, considerando necesaria la maduración de láminas por dos semanas y monitoreo exhaustivo de las preparaciones en los procesos químicos de hidrólisis, desnaturalización, renaturalización y tinción con giemsa para la obtención de resultados de óptima calidad.

Los cromocentros de heterocromatina constitutiva en núcleos interfásicos se ubican de forma no aleatoria en el núcleo celular, donde los cúmulos correspondientes a centrómeros y telómeros se disponen de forma opuesta en la

matriz nuclear, exhibiendo frecuentemente solapamientos que enmascaran su correspondencia numérica con las bandas reveladas en cromosomas mitóticos.

Las bandas C+ estuvieron localizadas estrictamente en posición pericentromérica en las especies *A. vera*, *A. zebrina*, *A. lutescens* y *A. jacksonii*, en posición terminal sólo en *A. saponaria*; mientras que *A. littoralis* y *A. jucunda*, además de bandas centroméricas, presentaron bandas terminales en los brazos largos de los pares L₃ y L₄. *A. lutescens* fue la especie con mayor porcentaje de heterocromatina en su genoma (6,49%).

Heteromorfismo en la aparición y grosor de bandas entre homólogos de las siete especies ocurren a través de mecanismos de amplificación de ADN repetitivo que obedecen a respuestas adaptativas de cada especie a su entorno.

A pesar que no hubo una tendencia establecida en la comparación de los atributos cariotípicos y heterocromatínicos de las especies de *Aloe*, se formaron grupos análogos entre *A. jucunda*-*A. lutescens*, *A. littoralis*-*A. jacksonii*, *A. littoralis*-*A. vera*, *A. vera*-*A. zebrina* y *A. zebrina*-*A. saponaria*. *A. saponaria* figuró como clado más divergente en la mayoría de los caracteres analizados.

RECOMENDACIONES

La afinidad de las especies *Aloe zebrina*, *A. lutescens*, y *A. littoralis* con *A. vera*, de acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización de caracteres morfométricos y patrones de heterocromatina constitutiva en el cariotipo de estas especies, indican que son buenas candidatas para ser usadas como parentales en cruces interespecíficos con *A. vera* a fin de obtener nuevos genotipos que puedan ser de utilidad en la producción y comercialización agrícola de esta planta, ampliamente utilizada en la medicina natural, cosmetología y, además, considerada una especie ornamental con alto potencial apícola.

En vista de la sensibilidad experimentada por las especies a la técnica de tinción de heterocromatina constitutiva con giemsa, es recomendable afinar la técnica en las siete especies para poder corroborar la presencia de las bandas inestables observadas en la investigación y, además, realizar la técnica involucrando a un mayor número de especies con el propósito de establecer relaciones genómicas más específicas dentro del género. Es necesario complementar estos estudios con análisis de citogenética molecular como hibridación *in situ* o bandeo con fluorocromos, pues estas técnicas brindan mayores detalles y precisión en la determinación de la existencia y localización de secuencias de ADN repetitivo que estén incluidas o no en las regiones de heterocromatina constitutiva, o de sitios de ADN ribosómico que puedan dar información acerca de la asociación de estas secuencias con la ubicación de bandas terminales.

BIBLIOGRAFÍA

Adams, S.; Leitch, I.; Bennet, M.; Chase, M. y Leitch, A. 2000. Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (Asphodelaceae). *American Journal of Botany*, 87(11): 1578-1583.

Adetula, O.; Fatokun, C. y Obigbesan, G. 2005. Centromeric banding pattern of mitotic chromosomes in *Vigna vexillata* (TVnu73). *African Journal of Biotechnology*, 4(5): 400-402.

Albornoz, A. e Imery, J. 2003. Evaluación citogenética de ocho poblaciones de *Aloe vera* L. de la Península de Araya-Venezuela. *Ciencia*, 11(1): 5-13.

Almeida, P.; Carvalho, C. y Clarindo, W. 2006. Classical and molecular cytogenetic tools to resolve the *Bixa* karyotypes. *Cytologia*, 71(4): 391-398.

Appels, R.; Driscoll, C. y Peacock, W. 1978. Heterochromatin and highly repeated DNA sequences in rye (*Secale cereale*). *Chromosoma*, 70: 67-89.

Avramova, Z. 2002. Heterochromatin in animals and plants. Similarities and differences. *Plant Physiology*, 129: 40-49.

Azzioui, O.; Moret, J. y Guern, M. 1990. Giemsa C-banded karyotypes of some *Ornithogalum* L. species in North Africa. *Cytologia*, 55: 125-134.

Bailey, J. y Stace, C. 1992. Chromosome banding and pairing behaviour in *Festuca* and *Vulpia* (Poaceae, Pooideae). *Plant Systematics and Evolution*, 182: 21-28.

Bauchan, G. y Hossain, M. 1997. Karyotypic analysis of C-banded chromosomes of diploid alfalfa: *Medicago sativa* ssp. *caerulea* and ssp. *falcata* and their hybrid. *The Journal of Heredity*, 88(6): 533-537.

Bauchan, G. y Hossain, M. 2001. Distribution and characterization of heterochromatic DNA in the tetraploid African population alfalfa genome. *Crop Science*, 41: 1921-1926.

Bauchan, G.; Campbell, A. y Hossain, M. 2002. Chromosomal polymorphism as detected by C-banding patterns in Chilean alfalfa germplasm. *Crop Science*, 42: 1291-1297.

Bauchan, G.; Campbell, A. y Hossain, M. 2003. Comparative chromosome banding

- studies of Nondromant alfalfa germplasm. *Crop Science*, 43: 2037-2042.
- Bennett, M. y Leitch, I. 2005. Nuclear DNA amounts in angiosperms: progress, problems and prospects. *Annals of Botany*, 95: 45-90.
- Blakey, D. y Filion, W. 1976. Differential giemsa staining in plants. II. Morphological changes in chromosome structure observed with interference contrast and scanning electron microscopy. *Chromosoma*, 56:191-197.
- Brandham, P. 1969a. Chromosome behaviour in the Aloineae. I. The nature and significance of E- type bridges. *Chromosoma*, 27: 201-215.
- Brandham, P. 1969b. Chromosome behaviour in the Aloineae. II. The Frequency of interchange heterozygosity. *Chromosoma*, 27: 216-225.
- Brandham, P. 1971. The chromosomes of the Liliaceae: II. Polyploidy and karyotype variation in the Aloineae. *Kew Bulletin*, 25(3): 381-399.
- Brandham, P. 1975. Stabilised breakage of a duplicated chromosome segment in *Aloe*. *Chromosoma*, 51: 269-278.
- Brandham, P. 2004. The chromosomes of *Aloe*-variation on a theme. En: *Aloes. The genus Aloe*. Reynolds, T. (ed). CRC Press. Boca Ratón. Pág. 355-360.
- Brandham, P. y Carter, S. 1990. A revisión of the *Aloe tidmarshii* / *A. ciliaris* complex in South Africa. *Kew Bulletin*, 45(4): 637-645.
- Brandham, P. y Doherty, M. 1998. Genome size variation in the Aloaceae, an angiosperm family displaying karyotypic orthoselection. *Annals of Botany*, 82 (Supplement A): 67-73.
- Brandham, P. y Johnson, M. 1977. Population cytology of structural and numerical chromosoma variants in the Aloineae (Liliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 128: 105-122.
- Buitendijk, J. y Ramanna, M. 1996. Giemsa C-banded karyotypes of eight species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Annals of Botany*, 78: 449-457.
- Buitendijk, J.; Peters, A.; Quené, R. y Ramanna, M. 1998. Genome size variation and C-band polymorphism in *Alstroemeria aurea*, *A. ligtu* and *A. magnifica* (Alstroemeriaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 212: 87-106.
- Burkholder, G. y Duczek, L. 1980. Proteins in chromosome banding. II. Effect of R-

- and C-banding treatments on the proteins of isolated nuclei. *Chromosoma*, 79: 43-51.
- Cermeño, M. y Lacadena, J. 1985. C-banding analysis of gamma-radiation-induced chromosomal interchanges in rye. The role of C-heterochromatin in chromosome repatterning. *Chromosoma*, 91: 297-306.
- Chase, M. 2004. Monocot relationships: an overview. *American Journal of Botany*, 91(10): 1645–1655.
- Chase, M.; De Bruijn, A.; Cox, A.; Reeves, G.; Rudall, P.; Johnson, M. y Eguiarte, L. 2000. Phylogenetics of Asphodelaceae (Asparagales): an analysis of plastid rbcL and trnL-F DNA sequences. *Annals of Botany*, 86: 935-951.
- Comings, D.; Avelino, E.; Okada, T. y Wyandt, H. 1973. The mechanism of C- and G-banding of chromosomes. *Experimental Cell Research*, 77: 469-493.
- Cortés, F. y Escalza, P. 1986. Analysis of different banding patterns and late replicating regions in chromosomes of *Allium cepa*, *A. sativum* and *A. nigrum*. *Genetica*, 71: 39-46.
- Cowan, C.; Carlton, P. y Cande, W. 2001. The polar arrangement of telomeres in interphase and meiosis. Rabl organization and the bouquet. *Plant Physiology*, 125: 532-538.
- Cremonini, R.; Colonna, N.; Stefani, A. Galasso, I. y Pignone, D. 1994. Nuclear DNA content, chromatin organization and chromosome banding in brown and yellow seeds of *Dasypyrum villosum* (L.) P. Candargy. *Heredity*, 72: 365-373.
- Cremonini, R.; Funari, S.; Galasso, I. y Pignone, D. 1993. Cytology of *Vicia* species. II. Banding patterns and chromatin organization in *Vicia atropurpurea* Desf. *Heredity*, 70: 628-633.
- Cuellar, T.; Belhassen, E.; Fernández, B.; Orellana, J. y Bella, J. 1996. Chromosomal differentiation in *Helianthus annuus* var. *macrocarpus*: heterochromatin characterization and rDNA location. *Heredity*, 76: 586-591.
- D'Emérico, S.; Pignone, D.; Bartolo, G.; Pulvirenti, S.; Terrasi, C.; Stuto, S. y Scrugli, A. 2005. Karyomorphology, heterochromatin patterns and evolution in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 148: 87-99.
- D'Emérico, S.; Pignone, D. y Scrugli, A. 2000. Karyomorphology and evolution in Italian populations of three Neottieae species (Orchidaceae). *Cytologia*, 65: 189-195.

- Deumling, B. y Greilhuber, J. 1982. Characterization of heterochromatin in different species of the *Scilla siberica* group (Liliaceae) by *in situ* hybridization of satellite DNAs and fluorochrome banding. *Chromosoma*, 54: 535-555.
- Dillon, N. 2004. Heterochromatin structure and function. *Biology of the Cell*, 96: 631-637.
- Do, G.; Seo, B.; Yamamoto, M.; Suzuki, G. y Mukai, Y. 2001. Identification and chromosomal location of tandemly repeated DNA sequences in *Allium cepa*. *Genes & Genetic Systems*, 76: 53-60.
- Döbel, P.; Rieger, R. y Michaelis, A. 1973. The giemsa banding patterns of the standard and four reconstructed karyotypes of *Vicia faba*. *Chromosoma*, 43: 409-422.
- Endo, T. y Gill, B. 1984a. The heterochromatin distribution and genome evolution in diploid species of *Elymus* and *Agropyron*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 26: 669-678.
- Endo, T. y Gill, B. 1984b. Somatic karyotype, heterochromatin distribution, and nature of chromosomes differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em Thell. *Chromosoma*, 89: 361-369.
- Falisticco, E. y Falcinelli, M. 1993. Karyotype and C-banding in *Medicago noëana* Boiss., Leguminosae. *Cytologia*, 58: 151-154.
- Fernández, R.; Barragán, M.; Bullejos, M.; Marchal, J.; Díaz de la Guardia, R. y Sánchez, A. 2002. New C-band protocol by heat denaturation in the presence of formamide. *Hereditas*, 137: 145-148.
- Filion, G. 1974. Differential giemsa staining in plants. I. Banding patterns in three cultivars of *Tulipa*. *Chromosoma*, 49: 51-60.
- Franklin, A. y Cande, W. 1999. Nuclear organization and chromosome segregation. *The Plant Cell*, 11: 523-534.
- Fregonezi, J.; Rocha, C.; Torezan, J. y Vanzela, A. 2004. The occurrence of different Bs in *Cestrum intermedium* and *C. strigilatum* (Solanaceae) evidenced by chromosome banding. *Cytogenetic Genome Research*, 106: 184-188.
- Friesen, N.; Borisjuk, N.; Mes, T.; Klaas, M. y Hanelt, P. 1997. Allotetraploid origin of *Allium altynolicum* (Alliaceae, *Allium* sect. *Schoenoprasum*) as investigated by karyological and molecular markers. *Plant Systematics and Evolution*, 206: 317-335.

- Gill, B. 1981. Evolutionary relationships based on heterochromatin bands in six species of the Triticinae. *The Journal of Heredity*, 72: 391-394.
- Gill, B. y Kimber, G. 1974a. The giemsa C-banded karyotype of rye. *Proceeding National Academic Science of USA*, 71(4): 1247-1249.
- Gill, B. y Kimber, G. 1974b. Giemsa C-banding and the evolution of wheat. 1974b. *Proceeding National Academic Science of USA*, 71(10): 4086-4090.
- Giraldez, R.; Cermeño, M. y Orellana, J. 1979. Comparison of C-banding pattern in the chromosomes of inbred lines and open pollinated varieties of rye. *Z. Pflanzenzuchtg*, 83: 40-48.
- González, J. 2008. Microsporogénesis de cinco especies de *Aloe* L. (Aloaceae). Trabajo de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Goto; B.; Okazaki, K. y Niwa, O. 2001. Cytoplasmic microtubular system implicated in de novo formation of a Rab1-like orientation of chromosomes in fission yeast. *Journal of Cell Science*, 114: 2427-2435.
- Greilhuber, J. 1975. Heterogeneity of heterochromatin in plants: Comparison of Hy- and C-bands in *Vicia faba*. *Plant Systematics and Evolution*, 124: 139-156.
- Greilhuber, J. y Speta, F. 1976. C-banded karyotypes in the *Scilla hohenackeri* group, *S. persica*, and *Puschkinia* (Liliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 126: 149-188.
- Greilhuber, J. y Speta, F. 1978. Quantitative analyses of C-banded karyotypes, and systematics in the cultivated species of the *Scilla siberica* group (Liliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 129: 63-109.
- Guerra, M. 1983. O uso de giemsa na citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandeamento. *Ciência e Cultura*, 35(2): 190-193.
- Guerra, M. 1989. The chromosomes of *Azima tetraantha* (Salvadoraceae). *Plant Systematics and Evolution*, 168: 83-86.
- Guerra, M. 1993. High amount of heterochromatin in a tropical tree species: *Genipa americana* L. (Rubiaceae). *Cytologia*, 58: 427-432.
- Guerra, M. 2000. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. *Genetic and Molecular Biology*, 23(4): 1029-1041.

Guerra, M.; Bezerra, K.; Barros, E. y Ehrendorfer, F. 2000. Heterochromatin banding patterns in Rutaceae-Aurantioideae-A case of parallel chromosomal evolution. *American Journal of Botany*, 87(5): 735-747.

Guerra, M. y Nogueira, T. 1990. The cytotaxonomy of *Emilia* spp. (Asteraceae: Senecioneae) occurring in Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 170: 229-236.

Halleck, M. y Schlegel, R. 1983. C-banding of *Peromyscus* constitutive heterochromatin persists following histone hyperacetylation. *Experimental Cell Research*, 147: 269-279.

Hamoud, M.; Hassan, Y.; Nagl, W. y Selim, E. 1991. C-banded karyotypes of seven cultivars of *Oryza sativa*. *Cytologia*, 56: 319-325.

Hemmer, W. y Morawetz, W. 1990. Karyological differentiation in Sapindaceae with special reference to *Serjania* and *Cardiospermum*. *Botanic Acta*, 103:372-383.

Hussein, S. 2005. C-banding analysis of chromosome translocations in doubled haploid wheats. *African Journal of Biotechnology*, 4(6): 541-547.

Imai, H. 1991. Mutability of constitutive heterochromatin (C-bands) during eukaryotic chromosomal evolution and their cytological meaning. *Japan Journal of Genetic*, 66: 635-661.

Imery, J. 2000. Inducción de autotetraploidia en *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Aloaceae). Trabajo de Postgrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Imery, J. 2002. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Aloaceae). Trabajo para ascender a la categoría de Profesor Agregado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Imery, J. 2007. Caracterización genética de parentales e híbridos diploides [VS] y triploides [VVS] entre *Aloe vera* (L.) Burm.f. [2V, 4V] y *Aloe saponaria* Haw. [2S] (Aloaceae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Imery, J. y Caldera, T. 2002. Estudio cromosómico comparativo de cinco especies de *Aloe* (Aloaceae). *Acta Botánica de Venezuela*, 25(1): 47-66.

Imery, J. y Cequea, H. 2001. Evaluación citogenética de la generación M_1V_2 de tetraploides experimentales en sábila (*Aloe vera* L.). *Revista UDO Agrícola*, 1(1): 29-33.

- Imery, J. y Cequea, H. 2002. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae). *Acta Botánica de Venezuela*, 25(2): 143-152.
- Imery, J. y Cequea, H. 2008. Autoincompatibilidad y protandria en poblaciones naturalizadas de *Aloe vera* de Araya, Venezuela. *Polibotánica*, 26: 113-125.
- Imery, J.; Raymúndez, M. y Menéndez, A. 2008. Karyotypic variability in experimental diploid and triploid hybrids of *Aloe vera* x *A. saponaria*. *Cytologia*, 73(3): 305-311.
- Inceer, H. y Ayaz, S. 2005. Giemsa C-banded karyotypes of *Vicia cracca* L. subsp. *cracca* and *V. bithynica* L. *Turkey Journal Botany*, 29: 311-316.
- Jellen, E. y Gill, B. 1996. C-banding variation in the Moroccan oat species *Avena agadiriana* ($2n=4x=28$). *Theoretical and Applied Genetics*, 92: 726-732.
- Jones, J. y Flavell, R. 1982. The mappin of highly-repeated DNA families and their relationship to C-bands in chromosomes of *Secale cereale*. *Chromosoma*, 86: 595-612.
- Kakeda, K.; Fukui, K. y Yamagata, H. 1991. Heterochromatic differentiation in barley chromosomes revealed by C- and N- banding techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 81: 144-150.
- Kenton, A. 1978. Giemsa C-banding in *Gibasis* (Commelinaceae). *Chromosoma*, 65: 309-324.
- Kenton, A. 1991. Heterochromatin accumulation, disposition and diversity in *Gibasis karwinskyana* (Commelinaceae). *Chromosoma*, 100: 467-478.
- Khokhlova, S.; Bychenko, A.; Gainudinov, A. y Gordei, I. 2006. Polymorphism of heterochromatin C-blocks in chromosomes of rye genome in rye-wheat amphidiploids and their chromosome substitution lines. *Cytology and Genetics*, 40 (3): 132-136.
- Klásterská, I. y Natarajan, A. 1975. Distribution of heterochromatin in the chromosomes of *Nigella damascena* and *Vicia faba*. *Hereditas*, 79: 154-156.
- Koo, D.; Hur, Y.; Jin, D. y Bang, J. 2002. Karyotype analysis of a Korean cucumber cultivar (*Cucumis sativus* L. cv. Winter Long) using C-banding and Bicolor Fluorescence *in situ* hybridization. *Molecules and Cells*, 13(3): 413-418.
- Koopman, W.; De Jong, J. y De Vries, I. 1993. Chromosome bandin patterns in

Lettuce species (*Lactuca* sect. *Lactuca*, Compositae). *Plant Systematics and Evolution*, 185: 249-257.

Levan, A., Fredga, K. y Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.

Linares, C.; Vega, C.; Ferrer, E. y Fominaya, A. 1992. Identification of C-banded chromosomes in meiosis and the analysis of nucleolar activity in *Avena byzantina* C. Koch cv 'Kanota'. *Theoretical and Applied Genetics*, 83: 650-654.

Linde-Laursen, I. 1975. Giemsa C-banding of the chromosomes of 'Emir' barley. *Hereditas*, 81: 285-289.

Linde-Laursen, I. 1978. Giemsa C-banding of barley chromosomes. II. Banding patterns of trisomics and telotrisomics. *Hereditas*, 89: 37-41.

Linde-Laursen, I. 1988. Giemsa C-banding of barley chromosomes. V. Localization of breakpoints in 70 reciprocal translocations. *Hereditas*, 108: 65-76.

Linde-Laursen, I. y Baden, C. 1994. Giemsa C-banded karyotypes of two cytotypes (2x, 4x) of *Psathyrostachys lanuginosa* (Poaceae; Triticeae). *Hereditas*, 120: 113-120.

Linde-Laursen, I.; Bothmer, R. y Jacobsen, N. 1980. Giemsa C-banding in Asiatic taxa of *Hordeum* section *Stenostachys* with notes on chromosomes morphology. *Hereditas*, 93: 235-254.

Linde-Laursen, I.; Bothmer, R. y Jacobsen, N. 1986. Giemsa C-banded karyotypes of *Hordeum secalinum*, *H. capense* and their interspecific hybrids with *H. vulgare*. *Hereditas*, 105: 179-185.

Linde-Laursen, I.; Bothmer, R. y Jacobsen, N. 1992. Relationships in the genus *Hordeum*: giemsa C-banded karyotypes. *Hereditas*, 116: 111-116.

Linde-Laursen, I. y Frederiksen, S. 1991. Comparison of the giemsa C-banded karyotypes of *Dasypirum villosum* (2x) and *D. breviaristatum* (4x) from Greece. *Hereditas*, 114: 237-244.

Linde-Laursen, I.; Frederiksen, S. y Seberg, O. 1999. The giemsa C-banded karyotype of *Crithopsis delileana* (Poaceae; Triticeae). *Hereditas*, 130: 51-55.

Lodish, H., Berk, A., Lawrence, S., Matsudaira, P., Baltimore, D. y Darnell, J. 2003. *Biología celular y molecular*. Cuarta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

- Loidl, J. 1983. Some features of heterochromatin in wild *Allium* species. *Plant Systematics and Evolution*, 143: 117-131.
- MacPherson, P. y Filion, W. 1981. Karyotype analysis and the distribution of constitutive heterochromatin in five species of *Pinus*. *The Journal of Heredity*, 72: 193-198.
- Manders, E.; Kimura, H. y Cook, P. 1999. Direct imaging of DNA in living cells reveals the dynamics of chromosome formation. *The Journal of Cell Biology*, 144(5): 813-821.
- Marks, G. y Schweizer, D. 1974. Giemsa banding: Karyotype differences in some species of *Anemone* and in *Hepatica nobilis*. *Chromosoma*, 44: 405-416.
- Martin, J. y Hesemann, C. 1988. Cytogenetic investigations in wheat, rye y and triticale. I. Evaluation of improved giemsa C- and flouochrome banding techniques in reY chromosomes. *The Genetical Society of Great Brintain*, 61: 459-467.
- Matos, A. y Molina, J. 1997. Estudio citogenético en células radicales de *Aloe vera* L. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 14: 173-182.
- Matos, A.; Molina, J. y Acosta, D. 1998. Localización de NORs en cromosomas de *Aloe vera* L. (Aloaceae). *Acta Botánica de Venezuela*, 21(2): 1-9.
- Miyamoto, J.; Kurita, S. y Fukui, K. 1991. Image analysis of C-banding patterns in two herbs: *Paris tetraphylla* A. Gray and *Paris verticillata*. *Japan Journal of Genetic*, 66: 335-345.
- Miyamoto, J.; Kurita, S.; Zhijian, G. y Hen, L. 1992. C-banding patterns in eighteen taxa of genus *Paris* sensu Li, Liliaceae. *Cytologia*, 57: 181-194.
- Morawetz, W. 1984. How stable are genomes of tropical woody plants? Heterozygosity in C-banded karyotypes of *Porcelia* as compared with *Annona* (Annonaceae) and *Drimys* (Winteraceae). *Plant Systematics and Evolution*, 145: 29-39.
- Newton, L. 2004. Aloes in habitat. En: *Aloes. The genus Aloe*. Reynolds, T. (ed). CRC Press. Boca Raton. Pág. 3-14.
- Okada, H. 1991. Correspondence of giemsa C-band with DAPI/CMA fluorochrome staining pattern in *Aconitum sanyoense* (Ranunculaceae). *Cytologia*, 56: 135-141.
- Pardue, M. y Hennig, W. 1990. Heterochromatin: junk or collectors item?.

Chromosoma, 100: 3-7.

Pierozzi, N. y Jung, S. 1997. Karyotype and C-band analysis in two species of *Genipa* L. (Rubiaceae, Gardenieae Tribe). *Cytologia*, 62: 81-90.

Poehlman, J. y Allen, D. 2005. *Mejoramiento genético de las cosechas*. Segunda edición. Editorial Limusa. México D.F.

Poggio, L. y Naranjo, C. 2004. "Citogenética". "Inta". <[ar/ediciones/2004/biotec/parte2cap5.pdf](#)> (13/01/2009).

Rabl, C. 1885. Über zelltheilung. *Morphologisches Jahrbuch*, 10: 214–330.

Ramachandran, C.; Brandenburg, W. y Nijs, A. 1985. Intraspecific variation in C-banded karyotype and chiasma frequency in *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 151: 31-41.

Romero, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.

Ruas, C.; Ruas, P.; Matzenbacher, N.; Ross, G.; Bernini, C. y Vanzela, A. 1995. Cytogenetic studies of some *Hypochoeris* species (Compositae) from Brazil. *American Journal of Botany*, 82(3): 369-375.

Sakurai, T. y Ichikawa, S. 2001. Karyotypes and giemsa C-banding patterns of *Zebrina pendula*, *Z. purpusii* and *Setcreasea purpurea*, compared with those of *Tradescantia ohiensis*. *Genes & Genetics System*, 76: 235-242.

Salmerón, Y. 2006. Caracterización de la tolerancia a *Erwinia chrysanthemi* en 22 especies de *Aloe* (Aloaceae). Trabajo de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Sapre, A. 1975. Meiosis and pollen mitosis in *Aloe barbadensis* Mill. (*A. perfoliata* var. *vera* L., *A. vera* Auth. Non Mill). *Cytologia*, 40: 525-533.

Sapre, A. 1978. Karyotype of *Aloe barbadensis* Mill.: a reinvestigation. *Cytologia*, 43: 237-241.

Sato, S.; Kuroki, Y. y Ohta, S. 1979. Two types of color-differentiated C-banding positive segments in chromosomes of *Nothoscordum fragrans*, Liliaceae. *Cytologia*, 44: 715-725.

Sajeva, M. y Costanzo, M. 1994. *Succulents. The illustrate diccionario*. Timber Press,

Oregon.

Schubert, I.; Rieger, R. y Döbel, P. 1984. G and/or C- bands in plant chromosomes. *Journal of the Cell Science*, 71: 111-120.

Schwarzacher, T. y Schweizer, D. 1982. Karyotype analysis and heterochromatin differentiation with giemsa C-banding and fluorescent counterstaining in *Cephalanthera* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 141: 91-113.

Schweizer, D. y Ehrendorfer, F. 1976. Giemsa banded karyotypes, systematics, and evolution in *Anacyclus*. *Plant Systematics and Evolution*, 126: 107-148.

Sheikh, S. y Kondo, K. 1996. Comparative C- banding and fluorescent-banding analysis of seven species of *Drosera* (Droseraceae). *Cytologia*, 61: 383-394.

Smith, G. y Steyn, E. 2004. Taxonomy of Aloaceae. En: *Aloes. The genus Aloe*. Reynolds, T. (ed). CRC Press. Boca Ratón. Pág. 15-36.

Snoad, B. 1951. Chromosome numbers of succulent plants. *Heredity*, 5: 279 – 283.

Stack, S.; Brown, D. y Dewey, W. 1977. Visualization of interphase chromosomes. *Journal of the Cell Science*, 36: 281-299.

Thomas, H. 1981. The giemsa C-band karyotypes of six *Lolium* species. *Heredity*, 46(2): 263-267.

Tuna, M.; Gill, K. y Volgel, K. 2001. Kariotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in diploid bromegrass (*Bromus riparius* Rehm). *Crop Science*, 41: 831-834.

Tuna, M.; Vogel, K.; Gill, K. y Arumuganathan, K. 2004. C-banding analyses of *Bromus inermis* genomes. *Crop Science*, 44: 31- 37.

Treutlein, J.; Smith, G.; Van Wyk, B. y Wink, M. 2003. Phylogenetic relationships in Asphodelaceae (Subfamily Alooideae) inferred from chloroplast DNA sequences (*rbcL*, *matK*) and from genomic fingerprinting (ISSR). *Taxon*, 52: 193-207.

Uchino, A. y Wang, L. 1997. C-band polymorphism in *Paris tetraphylla* chromosomes in four populations of Kumamoto prefecture. *Cytologia*, 62: 181-189.

Valdés, B. 2004. Caracteres taxonómicos: Cariología y citogenética. En: *Botánica*. Izco, J. (ed.). Segunda edición. M. Madrid.

Van Wyk, E. y Smith, G. 1996. *Guide to the Aloes of South Africa*. Quinta edición.

Briza Publications. Pretoria.

Velásquez, R. e Imery, J. 2008. Fenología reproductiva y anatomía floral de las plantas *Aloe vera* y *Aloe saponaria* (Aloaceae) en Cumaná, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 56(3): 1109-1125.

Vij, S.; Sharma, M. y Toor, I. 1980. Cytogenetical investigations into some garden ornamentals. II. The genus *Aloe* L. *Cytologia*, 45: 515-532.

Vosa, C. 1973. Heterochromatin recognition and analysis of chromosome variation in *Scilla siberica*. *Chromosoma*, 43: 269-178.

Vosa, C. 1974. The basic karyotype of rye (*Secale cereale*) analysed with giemsa and fluorescence methods. *Heredity*, 33(3): 403-408.

Vosa, C. 1975. The use of giemsa and other staining techniques in karyotype analysis. *Current Advances in Plant Science*, 14: 495-510.

Vosa, C. 1976a. Chromosome banding patterns in cultivated and wild barleys (*Hordeum* spp.). *Heredity*, 37(3): 395-403.

Vosa, C. 1976b. Heterochromatin banding patterns in *Allium*. II. Heterochromatin variation in species of the *paniculatum* group. *Chromosoma*, 57: 119-133.

Watson, E. 1988. C-banding patterns in the Australian *Bulbine* (Liliaceae): the annual group, *B. semibarbata* s. lato. *Plant Systematics and Evolution*, 159: 1-17.

Wei, J.; Campbell, W. y Wang, R. 1995. Standard giemsa C-banded karyotype of Russian wildrye (*Psathyrostachys juncea*) and its use in identification of a deletion-translocation heterozygote. *Genome*, 38: 1262-1270.

Weimarck, A. 1975. Heterochromatin polymorphism in the rye karyotype as detected by the giemsa C-banding technique. *Hereditas*, 79: 293-300.

Wisudharomn, S. y Smyth, D. 1985. Different replication patterns of chromocentres and C-bands in *Lilium henryi*. *Chromosoma*, 93: 49-56.

Yunis, J. y Yasmineh, W. 1971. Heterochromatin, satellite DNA and cell function. *Science*, 174: 1200-1209.

Zheng, J., Nakata, M., Uchiyama, H., Morikawa, H. y Tanaka, R. 1991. Giemsa C-banding patterns in several species of *Phaseolus* L. and *Vigna* Savi., Fabaceae. *Cytologia*, 56: 459-466.

Zoldos, V.; Papes, D.; Cerbah, M.; Panaud, O.; Besendorfer, V. y Yakovlev, S. 1999. Molecular-cytogenetic studies of ribosomal genes and heterochromatin reveal conserved genome organization among 11 *Quercus* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 969-977.

Zonneveld, B. 2002. Genome size analysis of selected species of *Aloe* (Aloaceae) reveals the most primitive species and results in some new combinations. *Bradleya*, 20: 5-12.

APÉNDICE A

MATRICES DE PRESENCIA/AUSENCIA Y DISTANCIA FENÉTICA DE ATRIBUTOS CARIOTÍPICOS Y HETEROCROMATÍNICOS EN LAS SIETE ESPECIES DE *Aloe*.

Tabla A1. Matriz binaria de presencia/ausencia de constricciones secundarias* en siete especies de *Aloe*.

	cs ₁	cs ₂	cs ₃	cs ₄	cs ₅	cs ₆	cs ₇	cs ₈
	(L _{1al})	(L _{1bl})	(L _{3al})	(L _{3bl})	(L _{4al})	(L _{4bl})	(S _{1as})	(S _{1bs})
<i>A. vera</i>	1	1	0	0	1	1	1	1
<i>A. saponaria</i>	0	0	0	0	1	1	1	0
<i>A. littoralis</i>	0	0	1	1	1	1	0	0
<i>A. jucunda</i>	0	0	1	1	1	1	0	0
<i>A. zebrina</i>	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>A. lutescens</i>	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>A. jacksonii</i>	0	0	0	0	1	1	1	1

*: Constricciones secundarias (cs) en brazos largos (l) o cortos (s) de cromosomas homólogos grandes (L_a y L_b) o pequeños (S_a y S_b).

Tabla A2. Matriz binaria de presencia/ausencia de bandas* en cromosomas mitóticos.

	B₁	B₂	B₃	B₄	B₅	B₆	B₇	B₈	B₉	B₁₀	B₁₁	B₁₂	B₁₃	B₁₄	B₁₅	B₁₆	B₁₇
	(L _{1ac})	(L _{1bc})	(L _{2ac})	(L _{2bc})	(L _{3ac})	(L _{3at})	(L _{3bc})	(L _{4ac})	(L _{4at})	(L _{4bc})	(L _{4bt})	(S _{1ac})	(S _{1bc})	(S _{2ac})	(S _{2bc})	(S _{3ac})	(S _{3bc})
<i>A. vera</i>	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1
<i>A. saponaria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>A. littoralis</i>	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
<i>A. jucunda</i>	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
<i>A. zebrina</i>	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1
<i>A. lutescens</i>	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1
<i>A. jacksonii</i>	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1

*: Bandas (B) localizadas en posición centromérica o terminal (t) de cromosomas homólogos grandes (L_a y L_b) o pequeños (S_a y S_b).

Tabla A3. Distancia euclidiana entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros numéricos del índice de asimetría intracromosómica (A_1) en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>	<i>A. jacksonii</i>
<i>A. vera</i>	0,000	0,086	0,004	0,055	0,096	0,035	0,010
<i>A. saponaria</i>	0,086	0,000	0,090	0,031	0,010	0,051	0,076
<i>A. littoralis</i>	0,004	0,090	0,000	0,059	0,100	0,039	0,014
<i>A. jucunda</i>	0,055	0,031	0,059	0,000	0,041	0,020	0,045
<i>A. zebrina</i>	0,096	0,010	0,100	0,041	0,000	0,061	0,086
<i>A. lutescens</i>	0,035	0,051	0,039	0,020	0,061	0,000	0,025
<i>A. jacksonii</i>	0,010	0,076	0,014	0,045	0,086	0,025	0,000

*: Los valores del índice A_1 fueron tomados de los cálculos plasmados en la tabla 10. Los datos de la tabla indican índices de disimilitud entre especies.

Tabla A4. Distancia euclidiana entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros numéricos del índice de asimetría intercromosómica (A_2) en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>	<i>A. jacksonii</i>
<i>A. vera</i>	0,000	0,032	0,025	0,047	0,058	0,045	0,021
<i>A. saponaria</i>	0,032	0,000	0,007	0,015	0,026	0,013	0,011
<i>A. littoralis</i>	0,025	0,007	0,000	0,022	0,033	0,020	0,004
<i>A. jucunda</i>	0,047	0,015	0,022	0,000	0,011	0,002	0,026
<i>A. zebrina</i>	0,058	0,026	0,033	0,011	0,000	0,013	0,037
<i>A. lutescens</i>	0,045	0,013	0,020	0,002	0,013	0,000	0,024
<i>A. jacksonii</i>	0,021	0,011	0,004	0,026	0,037	0,024	0,000

*: Los valores del índice A_2 fueron tomados de los cálculos plasmados en la tabla 10. Los datos de la tabla indican índices de disimilitud entre especies.

Tabla A5. Distancia euclidiana entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros numéricos de longitud total del cariotipo en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>	<i>A. jacksonii</i>
<i>A. vera</i>	0,000	6,150	3,630	7,290	0,210	5,760	137,850
<i>A. saponaria</i>	6,150	0,000	2,520	1,140	6,360	0,390	131,700
<i>A. littoralis</i>	3,630	2,520	0,000	3,660	3,840	2,130	134,220
<i>A. jucunda</i>	7,290	1,140	3,660	0,000	7,500	1,530	130,560
<i>A. zebrina</i>	0,210	6,360	3,840	7,500	0,000	5,970	138,060
<i>A. lutescens</i>	5,760	0,390	2,130	1,530	5,970	0,000	132,090
<i>A. jacksonii</i>	137,850	131,700	134,220	130,560	138,060	132,090	0,000

*: Las longitudes totales fueron tomadas de los cálculos plasmados en las tablas 3 - 9. Los datos de la tabla indican índices de disimilitud entre especies.

Tabla A6. Distancia euclidiana entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros numéricos del índice r (l/s) en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>
<i>A. vera</i>	0,000	3,446	0,967	1,930	3,383	1,091
<i>A. saponaria</i>	3,446	0,000	4,132	1,867	1,218	3,128
<i>A. littoralis</i>	0,967	4,132	0,000	2,469	3,930	1,367
<i>A. jucunda</i>	1,930	1,867	2,469	0,000	1,632	1,788
<i>A. zebrina</i>	3,383	1,218	3,930	1,632	0,000	3,050
<i>A. lutescens</i>	1,091	3,128	1,367	1,788	3,050	0,000

*: Los valores del índice r fueron tomados de los cálculos plasmados en las tablas 3 - 8. Los datos de la tabla indican índices de disimilitud entre especies.

Tabla A7. Matriz de similitud entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros de presencia/ausencia de constricciones secundarias en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>	<i>A. jacksonii</i>
<i>A. vera</i>	1,000	0,500	0,250	0,250	0,333	0,333	0,667
<i>A. saponaria</i>	0,500	1,000	0,400	0,400	0,667	0,667	0,750
<i>A. littoralis</i>	0,250	0,400	1,000	1,000	0,500	0,500	0,333
<i>A. jucunda</i>	0,250	0,400	1,000	1,000	0,500	0,500	0,333
<i>A. zebrina</i>	0,333	0,667	0,500	0,500	1,000	1,000	0,500
<i>A. lutescens</i>	0,333	0,667	0,500	0,500	1,000	1,000	0,500
<i>A. jacksonii</i>	0,667	0,750	0,333	0,333	0,500	0,500	1,000

*: Los datos de presencia/ausencia de constricciones se tomaron en función de la tabla 11. Los valores indican índices de similitud de Jacard entre especies.

Tabla A8. Matriz de similitud entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros de presencia/ausencia de bandas de heterocromatina constitutiva en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>	<i>A. jacksonii</i>
<i>A. vera</i>	1,000	1,000	0,353	0,438	0,643	0,714	0,786
<i>A. saponaria</i>	0,000	1,000	0,167	0,167	0,000	0,000	0,000
<i>A. littoralis</i>	0,353	0,167	1,000	0,600	0,600	0,471	0,529
<i>A. jucunda</i>	0,438	0,167	0,600	1,000	0,600	0,667	0,625
<i>A. zebrina</i>	0,643	0,000	0,600	0,600	1,000	0,786	0,857
<i>A. lutescens</i>	0,714	0,000	0,471	0,667	0,786	1,000	0,929
<i>A. jacksonii</i>	0,786	0,000	0,529	0,625	0,857	0,929	1,000

*: Los datos de presencia/ausencia de bandas se tomaron en función de la tabla 12. Los valores indican índices de similitud de Jacard entre especies.

Tabla A9. Distancia euclidiana entre las siete especies de *Aloe* a partir de registros numéricos del porcentaje de heterocromatina constitutiva (HC) total en cromosomas mitóticos*.

	<i>A. vera</i>	<i>A. saponaria</i>	<i>A. littoralis</i>	<i>A. jucunda</i>	<i>A. zebrina</i>	<i>A. lutescens</i>	<i>A. jacksonii</i>
<i>A. vera</i>	0,000	3,380	1,980	0,250	1,070	2,260	1,500
<i>A. saponaria</i>	3,380	0,000	5,360	3,630	4,450	5,640	4,880
<i>A. littoralis</i>	1,980	5,360	0,000	1,730	0,910	0,280	0,480
<i>A. jucunda</i>	0,250	3,630	1,730	0,000	0,820	2,010	1,250
<i>A. zebrina</i>	1,070	4,450	0,910	0,820	0,000	1,190	0,430
<i>A. lutescens</i>	2,260	5,640	0,280	2,010	1,190	0,000	0,760
<i>A. jacksonii</i>	1,500	4,880	0,480	1,250	0,430	0,760	0,000

*: Los porcentajes de HC fueron tomados de los cálculos plasmados en las tablas 3 - 9. Los datos de la tabla indican índices de disimilitud entre especies.

Hoja de Metadatos

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

Título	Caracterización de la heterocromatina constitutiva en siete especies de <i>Aloe</i> L. (Aloaceae).
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Velásquez V., Patricia A.	CVLAC	17446999
	e-mail	paty_ale_v@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Heterocromatina constitutiva, *Aloe*, cromosomas, cariotipo, bandeo C

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

En el estudio se caracterizó la heterocromatina constitutiva en *Aloe vera*, *A. saponaria*, *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. zebrina*, *A. lutescens* y *A. jacksonii*. Para ello, los meristemas radicales fueron pretratados, hidrolizados, aplastados y teñidos con orceína acética para observar atributos cariológicos. Por otro lado, a fin de visualizar la heterocromatina constitutiva, las preparaciones luego del aplastamiento y maduración fueron desnaturalizadas con hidróxido de bario a un tiempo específico para cada especie, renaturalizadas en solución salina, y teñidas con giemsa hasta observar cromocentros y bandas. Se realizaron cariogramas de los cariotipos e idiogramas de la distribución de bandas en cada especie y, además, se elaboraron dendrogramas de atributos cariológicos y heterocromatínicos. Las seis primeras especies presentaron un cariotipo bimodal de $2n=2x=14=8L+6S$, y *A. jacksonii* un cariotipo tetraploide de $2n=4x=28=16L+12S$ cromosomas con longitudes comprendidas entre 12-15,02 μm para cromosomas grandes (L), y entre 3,99-5,43 μm para cromosomas pequeños (S). Los centrómeros se ubicaron en posición submedia-terminal en los pares L y media-submedia en los pares S, con constricciones secundarias ubicadas en los brazos largos de los pares L_1 (*A. vera*), L_3 - L_4 (*A. littoralis* y *A. jucunda*) o L_4 (las 7 especies), y en los brazos cortos del par S_1 (*A. vera*, *A. saponaria* y *A. jacksonii*). Polimorfismo de tamaño de brazos y constricciones secundarias entre cromosomas homólogos fueron evidentes en todas las especies. Los cariotipos más simétricos son característicos de *A. littoralis*, *A. vera* y los menos simétricos de *A. zebrina* y *A. saponaria*. La tinción de heterocromatina constitutiva presentó mejores resultados en unas especies más que otras debido a la sensibilidad de *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. lutescens* a algunas etapas de la técnica. Los cromocentros se ubican de forma polarizada en el núcleo, no correspondiéndose numéricamente con las bandas presentes en cromosomas pues experimentaron solapamientos entre ellos, enmascarando la presencia de los más pequeños. Diferencias de tonalidad y grosor de bandas fueron observadas en los cromosomas de todas las especies. La distribución de la heterocromatina en el cariotipo, en general, estuvo restringida a los centrómeros, excepto en *A. saponaria* en la cual no se revelaron bandas pericentroméricas sino sólo dos bandas terminales en el L_4 ; en *A. littoralis* y *A. jucunda* también se observaron bandas terminales en los pares L_3 o L_4 . Tomando en cuenta los análisis de clúster realizados para siete atributos se formaron grupos entre *A. jucunda*-*A. lutescens* y *A. littoralis*-*A. jacksonii* (sin tomar en cuenta su condición tetraploide), consideradas las especies más relacionadas ya que comparten similitud en los atributos A_1 , A_2 y longitud total e índice A_1 , A_2 y “r”, respectivamente. Por otro lado, *A. vera*-*A. littoralis* o *A. vera*-*A. zebrina*, y *A. saponaria*-*A. zebrina* son homólogos para dos atributos, en cada caso.

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

Contribuidores:

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

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2009	04	23

Lenguaje: spa

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TG-PAVV.doc	Aplication/Word

Alcance:

Espacial: **Universal** (Opcional)

Temporal: **Intemporal** (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciada en Biología

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio:

Biología

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

Universidad de Oriente

Derechos:

Para publicar título y resumen únicamente en la página web.

Patricia A. Velásquez V.

**Patricia Velásquez
AUTOR 1**

José Imery
**Dr. José Imery
TUTOR**

Hernán Cequea
**Dr. Hernán Cequea
JURADO 1**

Carmen Alfonsi
**Dra. Carmen Alfonsi
JURADO 2**

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

A. C. Orellana

