

Estudio citogenético en *Citrus* IV: bandas heterocromáticas C en *Citrus volkameriana* Pasq.

por María S. Caro¹ y A. M. Frías de Fernández²

1. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán. Adscripta a la Fundación Miguel Lillo.

2. Fundación Miguel Lillo, Área Botánica.

Summary

«Cytogenetic studies on *Citrus*. IV. Heterochromatic C-bands in *Citrus volkameriana* Pasq.». The somatic chromosomes of *Citrus volkameriana* Pasq. ($2n=18$) were individually identified by the Giemsa C-banding technique. Constitutive heterochromatin was mainly detected in the pericentrometric and telomeric regions of eight pairs of chromosomes. Bands were not present in pair V. The karyotype of *Citrus volkameriana* Pasq. is regarded to be homozygous for all of chromosomes except for the pair I, in which the heterochromatin polymorphism was present. More information about this karyotype can be obtained from the pair I.

Key words: Cytogenetics, *Citrus volkameriana*, heterochromatic bands, chromosomes, karyotypes.

Introducción

Citrus volkameriana Pasq., utilizado como patrón de injertos para mejoramiento genético de diversos cítricos, constituye uno de los progenitores de cruzamientos de gran importancia económica.

Pocos trabajos citológicos han sido efectuados en el género *Citrus* (Banerji, 1954; Agrawal, 1987a, b; Sharma & Bal, 1957; Naithani & Raghuvanshi, 1958, 1963; Iwamasa & Nito, 1988). Es muy probable que el pequeño tamaño de los cromosomas haya contribuido a limitar el número de trabajos en este género. En relación a *Citrus volkameriana*, estudios citológicos previos (Frías de Fernández *et al.*, 1995) demostraron que el número diploide en esta especie es de $2n=18$ y la presencia de un biva-

lente heteromórfico en Metafase I.

Como parte de las investigaciones citológicas sobre esta especie damos a conocer el modelo de distribución de la heterocromatina constitutiva en los cromosomas mitóticos de *Citrus volkameriana* Pasq. utilizando las técnicas de bandeado C.

En el género *Citrus*, son pocos los trabajos realizados con bandeado (Guerra, 1985, 1993; Liang, 1988; Wei *et al.*, 1988) y en relación a *Citrus volkameriana* serían los primeros que se dan a conocer.

Materiales y métodos

Las plantas utilizadas de *Citrus volkameriana* provienen de cultivos de la Estación Experi-

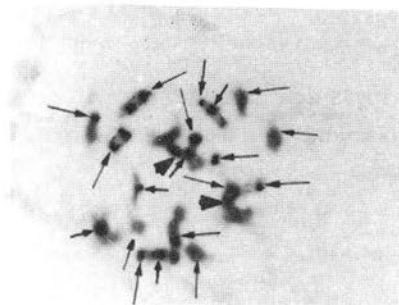


Fig. 1. Metafase de *Citrus volkameriana* ($2n=18$) con técnica de bandeo C. Las flechas largas indican bandas teloméricas y las flechas cortas, las bandas centroméricas. Puntas de flecha indican el par cromosómico heteromórfico. La escala representa 10 μm .

mental Agroindustrial Obispo Colombres de Tucumán (EEAIOC).

Para los estudios mitóticos se utilizaron ápices de raíces que fueron pretratadas en una solución de α -bromonaftaleno por 12 horas a temperatura ambiente, y posteriormente fijadas en etanol: acético (3:1).

Para el bandeo C se empleó la técnica de Sumner (1972) con las siguientes modificaciones: el material fijado se trató con una solución de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ al 5% durante 20 minutos a 65°C ; a continuación las raíces fueron inmersas en una solución salina de $2 \times \text{SSC}$ a pH7, durante 1 hora, a 65°C . Se coloreó en solución de Giemsa al 2% en buffer fosfato Sorensen pH 6,9. Por último se colocaron en xilol durante 5 minutos y se montaron en Bálsamo de Canadá. Para la confección del ideograma se tuvo en cuenta el promedio del tamaño y la ubicación de las bandas en 20 placas metafásicas.

Resultados y discusión

El complemento diploide de *Citrus volkameriana* ($2n=18$) está constituido por cromosomas muy pequeños, comprendidos en el rango

de 0,94-2,51 μm .

Con la técnica de bandeo C se pone en evidencia la presencia de heterocromatina constitutiva en 16 cromosomas del complemento. Según su localización se observan dos tipos de bandas: teloméricas —presentes en 14 cromosomas— y pericentroméricas —en 5 cromosomas— (fig. 1). Esta distribución de la heterocromatina constitutiva coincidiría con lo reportado por Wei *et al.* (1988) y Guerra (1985) en diferentes especies del género *Citrus*. Por otro lado Liang (1988) encuentra predominantemente bandas teloméricas.

No observamos bandas en el par 5, lo que coincidiría con lo reportado por Guerra (1993) en el *pattern* de bandeo cromosómico con CMA/DAPI analizado en seis especies de *Citrus*.

Los resultados obtenidos nos permiten describir las siguientes características de los 9 pares de cromosomas de *C. volkameriana* (fig. 2).

Grupo 1. Constituido por dos pares de cromosomas grandes de distintos tamaños, presentan una marcada diferencia en la distribución de la heterocromatina constitutiva ya que uno de los

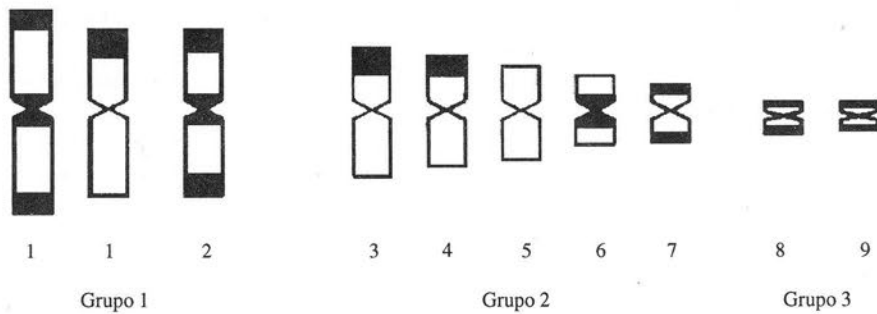


Fig. 2. Ideograma de *Citrus volkameriana* mostrando el modelo de distribución de la heterocromatina constitutiva.

cromosomas muestra 2 bandas teloméricas, y una pericentromérica (1), mientras que su homólogo (1') pone en evidencia solamente una banda telomérica en uno de sus brazos. Este modelo de bandeo avalaría las diferencias encontradas en el cariotipo de *Citrus volkameriana* realizado con las técnicas convencionales (Frías de Fernández *et al.*, en prensa).

El cromosoma 2 lleva una banda pericentromérica, de tamaño grande, y dos bandas teloméricas, siendo más prominente una de ellas.

Grupo 2. Formado por cinco pares de cromosomas homólogos. Cromosomas 3 y 4 muestran solamente una banda telomérica.

Cromosoma 5, fácilmente identificable por la ausencia de bandas heterocromáticas.

Cromosoma 6, presenta una banda pericentromérica.

Cromosoma 7, mostró bandas teloméricas, de igual tamaño, en ambos brazos.

Grupo 3. Constituido por dos pares de cromosomas homólogos pequeños (cromosomas 8 y 9), que presentan 2 bandas teloméricas.

En base a los resultados obtenidos en este estudio observamos que por medio del bandeo C se ha caracterizado el complemento diploide de esta especie. En el cariotipo de *Citrus volkameriana* se pone también en evidencia las dife-

rencias de bandeo de los cromosomas que forman el primer par permitiendo individualizarlos. Esta heterocigosidad para el bandeo cromosómico ya fue sugerida para otros géneros de plantas (Wiemarck, 1975; Vosa, 1990; Guerra, 1993).

En esta especie, según nuestros estudios citológicos, el polimorfismo de bandeo confirma la diferenciación estructural expresada en una inversión paracéntrica, como lo observado en Metafase I de *Citrus volkameriana* (Frías de Fernández, 1995).

Bibliografía

- AGARWAL P. K., 1987a. «Cytogenetical investigations in *Rutaceae* I. Meiotic studies in four *Citrus* species of hybrid origin». *Cytologia* **52**: 753-756.
- —, 1987b. «Cytogenetical investigations in *Rutaceae* II. Meiotic studies in three intergeneric hybrids of *Citrus*». *Cytologia* **52**: 757-760.
- BANERJI I., 1954. «Morphological and cytological studies on *Citrus grandis* Osbeck». *Phytomorphology* **4**: 390-396.
- FRÍAS DE FERNÁNDEZ A. M.; M. E. L. DE CANELADA; M. S. CARO & J. L. FOGUET, 1995. «Estudio citogenético en *Citrus* I. Comportamiento meiótico en *Citrus volkameriana* Pasq. y *Citrus reshni* Hort. ex Tan.». *Lilloa* **38** (2): 157-166.
- FRÍAS DE FERNÁNDEZ A. M.; M. E. L. DE CANELADA

- & M. S. CARO, 1995. «Estudio citogenético en *Citrus* II. Análisis cariotípico de *Citrus volkameriana* Pasq. y *Citrus reshni* Hort. ex Tan.». En prensa.
- GUERRA M. S., 1985. «Cytogenetics of *Rutaceae* III. Heterochromatin patterns». *Caryologia* **38** (3-4): 335-346.
 - —, 1987. «Cytogenetics of *Rutaceae* IV. Structure and systematic significance of the interphase nuclei». *Cytologia* **52**: 213-222.
 - —, 1993. «Cytogenetics of *Rutaceae* V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA/DAPI staining». *Heredity* **71**: 234-241.
 - IWAMASA M. & N. NITO, 1988. «Cytogenetics and the evolution of Modern Cultivated *Citrus*». *Proc. Int. Soc. Citriculture* **1**: 265-275.
 - LIANG G., 1988. «Studies on the Giemsa C-Banding patterns of some *Citrus* and its related genera». *Acta Genet. Sin.* **15** (6): 409-415.
 - NAITHANI S. P. & S. S. RAGHUVANSHI, 1958. «Cytogenetical studies in the genus *Citrus*». *Nature* **181**: 1.406-1.407.
 - —, 1963. «Cytogenetical studies in *Citrus*. Part I». *Genetica* **33**: 301-312.
 - SHARMA A. K. & A. K. BAL, 1957. «Chromosome studies in *Citrus* I». *Agron. Lusitana* **19** (2): 101-126.
 - SUMNER A. T., 1972. «A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin». *Expl. Cell Res.* **75**: 304-306.
 - VOSA C. G., 1990. «The importance of chromosome banding in evolutionary studies». *Acad. Nac. Cs. Ex. Fis. Nat. Buenos Aires. Monografía* **5**: 63-69.
 - WEI W.; Y. CHENG; R. LI & Y. DUAN, 1988. «Studies on the evolution of *Citrus* based on karyotype and Giemsa C-banding patterns». *Acta Hort. Sin.* **15** (4): 223-228.
 - WEIMARCK A., 1975. «Heterochromatin polymorphism in the rye karyotype as detected by the Giemsa C-banding technique». *Hereditas* **79**: 293-300.