MORFOLOGÍA CROMOSÓMICA Y COMPORTAMIENTO MEIÓTICO EN TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)

O. Grimaldo-Juárez[1]; A. García-Velázquez[1]; A. Peña-Lomelí[2]
[1]IREGEP, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. México. C.P. 56230
[2]Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. México. C.P. 56230

RESUMEN

El cariotipo en células de ápices radicales y el comportamiento cromosómico durante la meiosis en células madres de polen (CMP), fueron estudiados en 10 razas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Los resultados indicaron un número diploide de cromosomas 2n=2x=24. Con base en la posición del centrómero, los cromosomas fueron metacéntricos, submetacéntricos y subtelocéntricos indentificados en tres cariotipos: i) 4m + 6 sm + 2 st, ii) 4 m + 7 sm + 1 st y iii) 4 m + 5 sm + 3 st. Se observó polimorfismo en el número de cromosomas con satélite: cariotipo i) presentó uno a tres satélites, ii) presentó dos satélites, iii) mostró cuatro satélites. El tamaño de los cromosomas somáticos varió de 2.77 a 1.65 μm. En diacinesis, la frecuencia de bivalentes y univalentes varió entre razas (bivalentes 6.98 a 9.40; univalentes 8.78 a 9.14). La variación en frecuencia de quiasmas estuvo positivamente correlacionada (r= 0.96) con la de bivalentes y negativamente (r= -0.96) con la de univalentes. Aparentemente la frecuencia de univalentes no afectó la segregación normal de cromosomas en anafase I. La viabilidad del polen varió de 72.23 a 97.01% entre genotipos.

PALABRAS CLAVE: Cariotipo, meiosis, quiasmas, viabilidad de polen, Solanaceae.

CROMOSOMIC MORPHOLOGY AND MEIOTIC BEHAVIOR ON HUSK TOMATO (*Physalis ixocarpa* Brot.)

SUMMARY

Karyotype and meiotic chromosome behavior were studied in 10 races of husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.). The chromosome number in all genotypes was 2n=2x=24. Based on centromere position, there were metacentric (m), submetacentric (sm) and subtelocentric (st) chromosomes in three karyotypes : i) 4 m + 6 sm + 2 st; ii) 4 m + 7sm + 1 st and 4 m + 5 st + 3 st. It was observed a polymorphism in satellited chromosomes: Karyotype i) exhibited one or three sats, ii) exhibited two sats and iii) exhibited four sats. The chromosome size ranged from 1.65 to 2.77 μm. At diakinesis the observed frequency of bivalents varied among genotypes (bivalents 6.98 to 9.40; univalents 8.78 to 9.14). The variation in chiasmata frequency per nuclei was positively correlated (r= 0.96) with frequency of bivalents and negatively (r= - 0.96) with frequency of univalents. The high frequency of diakinesis univalents did not affect normal segregation of chromosomes during anaphase I. Pollen viability ranged from 72.23 to 97.01%.

KEY WORDS: Karyotype, meiosis, chiasmata, pollen viability, Solanaceae.

INTRODUCCIÓN

En México, el género *Physalis* comprende 36 especies, una de las cuales es *Physalis ixocarpa* Brot., económicamente importante por sus frutos que son empleados en la cocina mexicana. La adaptación ecológica de esta especie es amplia, prácticamente desde el nivel del mar hasta altitudes de 3 858 m, en climas secos, templados y húmedos (Santiaguillo *et al*., 1994). Su distribución geográfica en México comprende 26 estados de la República. *Physalis ixocarpa* muestra su mayor variabilidad en formas silvestre y cultivada en los estados de Jalisco, Michoacán y Puebla. En los últimos 30 años el tomate de cáscara ha sido uno de los cinco cultivos hortícolas con mayor demanda a nivel nacional (Anómino, 1993).

En el cultivo comercial del tomate de cáscara se emplean variedades criollas (Tamazula, Salamanca, Arandas, etc.) las cuales fueron desarrolladas por los agricultores (Peña, 1994). Existen solamente dos variedades producto del trabajo de fitomejoradores y son: 'Rendidora' y 'Rendidora Mejorada', las cuales son de porte bajo y más uniformes en hábito de crecimiento y tamaño de fruto (Montes y Aguirre, 1994).

En 1994, se inició la colección de genotipos cultivados y silvestres de tomate de cáscara por parte de la Universidad Autónoma Chapingo. Se incluyeron 140 accesiones, las cuales fueron agrupadas en 10 razas.

El alto grado de variabilidad genética y diferenciación dentro del plasma germinal examinado, puede atribuirse a su amplia distribución geográfica en donde ha sido sujeto a adaptaciones locales y a selección. En *Physalis* la especiación no se debe a cambios aneuploides (Menzel, 1951). La divergencia, tanto en tamaño como en asimetría de los complementos cromosómicos han acompañado a la evolución de *Physalis* (Menzel, 1951). Los análisis citogenéticos no han llamado la atención a los fitomejoradores y son muy escasos. Estudios previos en *Physalis ixocarpa* Brot. indicaron un número cromosómico diploide de 2n=2x=24 (Menzel, 1951; García, 1976; Hudson, 1983; Robles, 1990). Sin embargo, el conocimiento citogenético es un prerrequisito para el éxito en el fitomejoramiento.

En este estudio se investigó la morfología cromosómica y el comportamiento meiótico en tomates de cáscara silvestres y cultivados colectados recientemente con fines de mejoramiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Diez razas de tomate de cáscara, representando 140 colecciones dentro de la gran variabilidad de tomate de cáscara silvestre y cultivado (*Physalis ixocarpa* Brot.) fueron obtenidos del Banco de Germoplasma de Especies Nativas de la Universidad Autónoma Chapingo (Cuadro 1). Semilla colectada de poblaciones naturales fueron obtenidas a fin de asegurar que las muestras fueran típicas de los grupos presentes en México.

CUADRO 1. Genotipos de tomate de cáscara utilizados.

CLAVE	CLASIFICACIÓN	ORIGEN
1-05 Mich 03	Silvestre autofértil	Queréndaro, Michoacán
2-55 Jal 11	Silvestre autoincompatible	Tenamaxtlán, Jalisco
3-121 Mor 05	Milpero cultivado	Tetela del Volcán, Morelos
5-68 Jal 17	Arandas	Arandas, Jalisco
8-88 Nay 09	Tamazula	Ahuacatlán, Nayarit
10-119 Mor 05	Manzano	Tepetlixpa, México
11-125 Mex 15	Rendidora original	Zacatepec, Morelos
12-113 Mex 13	Rendidora mejorada (CHF1 – Chapingo)	Chapingo, México
14-114 Gto 05	Salamanca	Salamanca, Guanajuato
16-116 Pue 22	Puebla	Tecamachalco, Puebla

Las plantas de tomate fueron crecidas en invernadero durante el periodo de agosto a diciembre de 1995. Las plantas estuvieron establecidas cada 20 centímetros en surcos de 6 metros de largo por 60 centímetros de ancho. Las condiciones de cultivo fueron las siguientes: temperatura 27 ^{o}C, el riego se aplicó cada 7 días y la fertilización fue con la fórmula 200 – 100 – 50 (N-P-K).

Análisis citológico

Se germinaron 50 semillas en cajas petri con papel filtro humedecido. Los ápices radicales fueron tratados en solución acuosa 0.05 % de colchicina a 4 °C por 6 h, o en solución acuosa saturada de paradiclorobenceno a 17 °C por 3 h. Luego de este tratamiento, los ápices fueron fijados en etanol: ácido acético glacial (3:1 v/v) por 24 h. Los cariotipos de cada genotipo se obtuvieron del promedio de cinco células observadas en metafase con microscopio Zeiss FOMI III, las células se imprimieron en fotografías con película Kodalith. Los análisis de los cariotipos de los 10 genotipos se realizó mediante la comparación de la longitud, posición de centrómero y presencia de satélites o constricciones secundarias en los cromosomas (García, 1990).

La asociación de los cromosomas se estudió en células madres del polen (CMP) durante diacinesis. Las CMP fueron aisladas de anteras de botones florales jóvenes (7 a 8 días de desarrollo) previamente fijados en alcohol: ácido acético (3:1 v/v) por 24 h y transferidos luego a alcohol al 70%. Las células fueron sometidas a la técnica de aplastado en orceína propiónica 1.8% y se les dispersó golpeando suavemente sobre el cubreobjetos. De cada raza se estudió un total de 50 CMP.

La viabilidad del polen fue determinada por tinción con lactofenol azul de algodón al 1 %. La coloración completa de los granos de polen fue considerada como indicador de granos viables y los granos sin tinción o deformes se consideraron no viables. Las observaciones se realizaron en microscopio Carl Zeiss en 100 campos a 40x de objetivo; el total de granos observados fue de 1027 a 3805 entre los diferentes genotipos. El porcentaje de viabilidad del polen se determinó con base en la relación de los granos viables y el total de granos observados por genotipo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número cromosómico diploide de 2n=2x=24 encontrado en las plantas de este estudio (Figura 1) concuerda con el documentado en *Physalis ixocarpa* Brot. (Menzel, 1951; Hudson, 1983; García, 1990; Robles, 1990).

Los cromosomas de *Physalis* representados en los idiogramas en la Figura 2, son clasificados en metacéntricos (m), submetacéntricos (sm) y subtelocéntricos (st) según la nomenclatura de Levan *et al*. (1964). La frecuencia de los diferentes tipos de cromosomas en los cariotipos, con excepción de los metacéntricos (4), variaron de cinco a siete en los submetacéntricos y de uno a tres en los subtelocéntricos. Esta variación en los cromosomas se agrupó en tres cariotipos: 4m + 6sm + 2st, 4m + 7sm + 1st y 4m + 5sm + 3st. En los brazos largos de los cromosomas se observó constricciones secundarias o satélites, los cuales variaron en frecuencia (uno a cuatro) y posición dentro de los cariotipos. Entre los cromosomas de constricciones secundarias, el par cromosómico ubicado en la posición 1 por su mayor longitud, fue el único que mostró dichas constricciones en todos los cariotipos.

cado en la posición 1 por su mayor longitud, fue el único que mostró dichas constricciones en todos los cariotipos. La variación de los cariotipos en las características de los cromosomas se considera que son resultado del proceso evolutivo de la especie (Menzel, 1951).

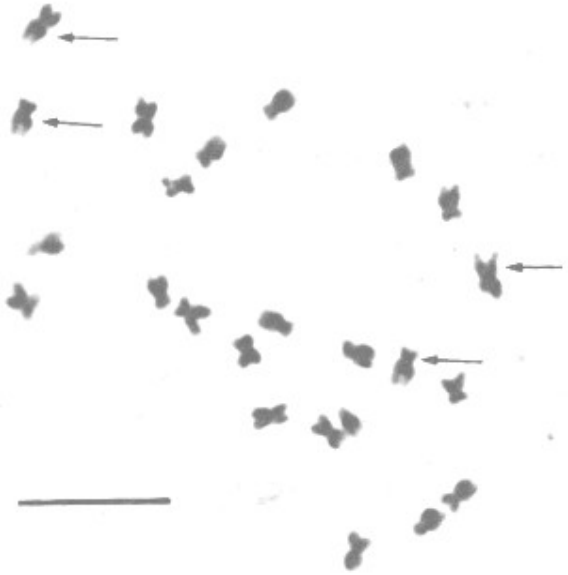

Figura 1. Número cromosómico diploide (2n = 24) en una célula del ápice radical de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). → cromosomas con satélite. Escala = 10 μm.

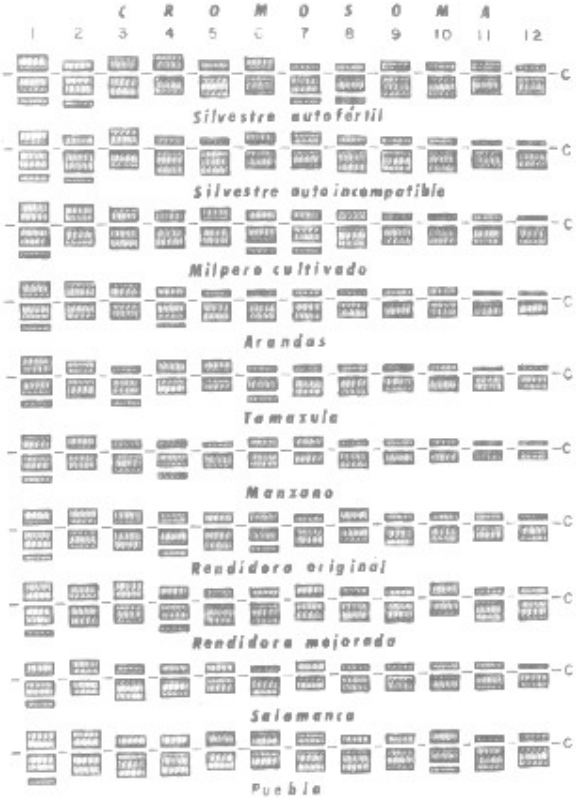

Figura 2. Ideogramas de 10 colecciones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). c = centrómero.

La longitud de los cromosomas somáticos varió de 1.65 a 2.77 μm (Cuadro 2). Esta variación fue clasificada estadísticamente en tres grupos diferentes de cromosomas (Tukey, $P \leq 0.05$). Uno de los grupos integrado por las colecciones Puebla, Rendidora Mejorada, Rendidora Original y Milpero Cultivado, mostró los cromosomas y genomios de mayor longitud (cromosomas: 2.36 a 2.77 μm, genomios: 25.62 a 33.22 μm). Un segundo grupo incluyó a Silvestre autoincompatible, Silvestre autofértil, Arandas y Tamazula que tuvieron longitudes de genomios de 21.80 a 25.08 μm. El tercer grupo integrado por Salamanca y Manzano, tuvo los cromosomas más cortos (1.65 a 1.66 μm) y genomios de menor longitud (19.88 a 20.04 μm). Estos resultados hacen suponer que entre las colecciones de tomate de cáscara existe variación en el número de genes contenidos en los cromosomas, ya que estos influyen en la condensación de los cromosomas (DuPraw, 1966). En estudios moleculares se reportan diferencias entre las colecciones Puebla, Milpero Cultivado, Silvestre autoincompatible y Rendidora Mejorado (Montalvo, 1998).

CUADRO 2. Longitud de genoma (μm) haploide X=12 en 10 colecciones de *Physalis ixocarpa* Brot.

GENOTIPO	LONGITUD DE GENOMA (μm)
Puebla	33.22 a[z]
Rendidora mejorada	28.77 a
Rendidora original	28.35 a
Milpero cultivado	25.62 a
Silvestre autoincompatible	25.08 b
Silvestre autofértil	23.86 b
Arandas	22.67 b
Tamazula	21.80 b
Manzano	20.04 c
Salamanca	19.88 c

[z] Valores con la misma letra son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

La asociación cromosómica en *Physalis* durante la meiosis (diacinesis) se presentó en bivalentes (Figura 3). La frecuencia de bivalentes varió de 6.98 a 9.40 por célula y la de univalentes de 5.72 a 10.04 (Cuadro 3). Los promedios más altos de bivalentes y más bajos de univalentes (9.14 II y 5.72 I), se obtuvieron en el genotipo Silvestre autofértil; en tanto que en los genotipos Manzano y Puebla, las frecuencias de univalentes fueron mayores que los bivalentes (10.04 I y 9.14 II). La variación de la asociación cromosómica no mostró relación con los cambios en la longitud del genomio.

La aparición de univalentes durante la meiosis afecta la formación de quiasmas y distribución de los cromosomas durante la anafase I (Sybenga, 1975). En esta investigación, la presencia de univalentes causó efectos sólo en la frecuencia de quiasmas por núcleo, ya que la segregación de los cromosomas en la anafase I fue normal, lo cual se confirmó con la alta viabilidad del polen (Cuadro 4).

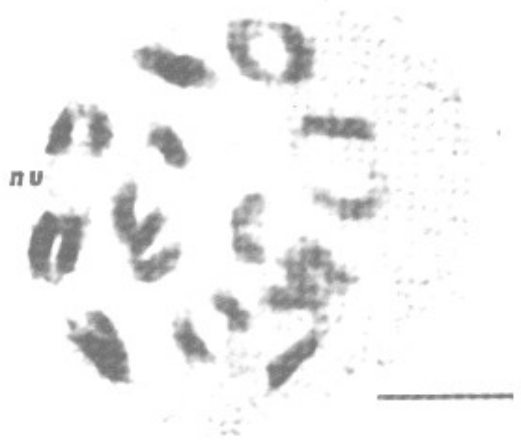

Figura 3. **Células madres del polen de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en diacinesis con 12 bivalentes. El nucleolo (nu) esta asociado con dos bivalentes. Escala = 10 μm.**

CUADRO 3. Promedio de configuraciones cromosómicas y frecuencia de quiasmas por célula e índice de recombinación (IR) en colecciones de *Physalis ixocarpa* Brot. 50 células en diacinesis fueron observadas en cada caso.

GENOTIPOS	NÚMERO DE CONFIGURACIONES		QUIASMAS POR CÉLULA	IR
	II	I		
Tamazula	8.78	6.44	11.40 a[2]	20.18
Silvestre autofértil	9.14	5.72	11.02 a	20.16
Arandas	8.34	7.32	10.26 b	18.60
Silvestre autoincompatible	8.10	7.80	10.24 b	18.34
Rendidora mejorada	8.20	7.60	10.16 c	18.36
Milpero cultivado	8.12	7.60	10.06 d	18.18
Rendidora original	7.44	9.12	9.24 d	16.68
Salamanca	7.44	9.12	8.54 d	15.98
Manzano	6.98	10.04	8.28 d	15.26
Puebla	6.98	10.04	8.04 d	15.02

[2] Valores con la misma letra son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

CUADRO 4. Viabilidad de polen (%) observada en 10 colecciones de *Physalis ixocarpa* Brot.

GENOTIPO	GRANOS DE POLEN OBSERVADOS	VIABILIDAD DE POLEN (%)
Silvestre autofértil	1027	72.23
Silvestre autoincompatible	2042	75.78
Milpero cultivado	2440	96.73
Arandas	2444	79.51
Tamazula	2463	97.01
Manzano	2352	94.56
Rendidora original	3464	87.39
Rendidora mejorada	2726	94.19
Salamanca	3805	93.56
Puebla	2268	94.24

La segregación normal de los cromosomas univalentes en *Physalis* es un fenómeno meiótico que requiere de estudios más detallados que permitan explicarla, ya que en otras especies como *Triticum durum* L., *Lolium perenne* L. y *Zea mays* L., los univalentes generalmente muestran distribución anormal. La disyunción es desigual hacia los polos y las cromátidas de los univalentes migran a polos opuestos. También, cuando los univalentes o fragmentos de estos muestran retraso en el movimiento hacia los polos, forman micronúcleos que son destruidos posteriormente, originándose desbalance cromosómico en el polen resultante (Mazia, 1961).

Las colecciones mostraron variación en la frecuencia de quiasmas por núcleo (8.04 a 11.40). Los promedios más altos en quiasmas (10.06 a 11.74) fueron en Silvestre autofértil, Silvestre autoincompatible, Milpero cultivado, Arandas, Tamazula y Rendidora mejorada; en tanto que en Manzano, Rendidora original, Salamanca y Puebla los promedios fueron de 8.04 a 9.24 por núcleo. Aunque la variación en la frecuencia de quiasmas fue estadísticamente diferente entre los genotipos (Cuadro 3), no existió relación con los cambios en el tamaño del genomio (haploide). Las diferencias en el número de quiasmas por unidad de longitud (μm), hace suponer que los cambios en la cantidad de ADN están acompañados por cambios en su composición. Rees y Durrant (1986) señalaron qué aumentos en la longitud de los genomios por la adición de ADN repetitivo, no forman quiasmas y pueden suprimir la recombinación de segmentos adjuntos.

Como frecuencias altas de quiasmas representan mayor grado de recombinación genética, los genotipos Tamazula, y Silvestre autofértil (11.21 quiasmas por núcleo) son considerados los de mayor recombinación genética, en relación con Rendidora original, Salamanca, Manzano y Puebla que tuvieron promedios de 8.52 quiasmas por núcleo. La variación del grado de recombinación de acuerdo Rees y Durrant (1986) se debe a la condición silvestre o selección o a ambas, ya que indican que las mayores recombinaciones cromosómicas están relacionadas con poblaciones de plantas en condición silvestre o bien con poblaciones que no han sido seleccionadas. Con base en estos resultados, se postula que las colecciones de tomate estudiadas han sido sometidas a diferentes grados de selección o mejoramiento por los productores principalmente.

CONCLUSIONES

Los cromosomas observados en *Physalis* fueron metacéntricos (m), submetacéntricos (sm) y subtelocéntricos (st), los cuales integraron tres cariotipos:

4m + 6sm + 2st, 4m + 7sm + 1st y 4m + 5sm + 3st.

Con base en la frecuencia de quiasmas por núcleo, los genotipos Tamazula y Silvestre autofértil se conside-

La variación de la frecuencia de quiasmas entre los genotipos no presentó relación con la longitud de los genomios.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo por facilitarnos las semillas de tomate de cáscara para llevar a cabo el presente estudio.

LITERATURA CITADA

ANÓNIMO. 1993. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo I. D. F., México. pp. 215-217.

DUPRAW, E. 1966. Evidence for a folder fibre organization in human chromosomes. Nature 209: 577-581

GARCÍA V., A. 1976. Citotaxonomía del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Avances en la Enseñanza y la Investigación 1975-1976. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. p. 34

GARCÍA V., A. 1990. Manual de Técnicas y Procedimientos de Citogenética Vegetal 3ra. Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. México. 144 p.

HUDSON, W. D., Jr. 1983. The relationship of wild and domesticated tomato, *Physalis philadelphica*, Lamark (Solanaceae). Ph. D. Thesis. Indiana University Bloomington, USA. 149 p.

LEVAN, A.; FEDGA, K.; SANDBERG, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

MAZIA, D. 1961. Mitosis and the physiology of cell division, pp. 77-394. *In*: The cell. Vol. III. J. Brachet and A. E. Mirsky (eds.) Ademic Press, New York. USA.

MENZEL, Y. M. 1951. The cytotaxonomy and genetics of *Physalis*. Proc. Am. Philos. Soc. 95(2): 132-183.

MONTALVO, H. 1998. Caracterización molecular y morfológica de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Maestro en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo, México. 111 p.

MONTES, H.; AGUIRRE R., J. R. 1994. Etnobotánica del tomate (*Physalis philadelphica* Lam.) Revista de Geografía Agrícola 20: 163-172.

PEÑA L., A. 1994. Hibridación en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Memoria de la XL Reunión Anual Programa y Resúmenes. Interamerican Society for Tropical Horticulture Campeche, Méx. p. 67.

RESS, H.; DURRANT A. 1986. Recombination and genome size. Theor. Appl. Genet. 73: 72-76.

ROBLES S., R .1990. Terminología Genética y Fitogenética. Ed. Trillas. D. F., México 163 p.

SANTIAGUILLO H., R.; LÓPEZ, M.; PEÑA, A.; CUEVAS J. A.; SAHAGÚN C. J. 1994. Distribución, colecta y conservación de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis* spp.) en México. Revista Chapingo Serie Horticultura 2: 125-129.

SYBENGA, J. 1975. Meiotic Configurations. Berlin Heidelberg, New York, USA. 251 p.