

Selección *in vitro* de genotipos de *Haworthia* con estabilidad cromosómica a través de análisis citogenéticos

Vélez-Torres, Marcelina¹  y Fernández-Pavía, Y. Leticia^{1*} 

¹ Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. C. P. 56264.

* Autor para correspondencia: mapale1@colpos.mx

Problema

Dentro de la familia Asphodelaceae se encuentra el género *Haworthia* con distintas especies de suculentas monocotiledóneas y perennes, que en su mayoría son endémicas de Sudáfrica. Su número cromosómico diploide es $2n=14$. La principal diferencia entre las especies comunes es el tamaño de las marcas blancas en las hojas. Se cultivan comercialmente como plantas ornamentales, pero los especímenes raros son muy difíciles de propagar, lo cual se ha atribuido a la poliploidía relacionada con inestabilidad cromosómica. En el cultivo *in vitro* de distintas especies de *Haworthia* se ha detectado inestabilidad cromosómica, es decir, cambios anormales en la estructura y número de cromosomas en la célula. Esta puede ser manifestada como: euploidía (aumento o disminución del conjunto completo de cromosomas); aneuploidía (pérdida o ganancia de cromosomas individuales); algún cambio en la morfología, homología, condición y posición cromosómica. Entre las causas que provocan tales condiciones se encuentran el uso de explantes con variaciones preexistentes en sus células somáticas, planta madre con quimeras, reguladores crecimiento en el medio de cultivo, fase de callo, número de subcultivos (a partir del quinto), aunque la respuesta del genotipo también juega un papel muy importante.

La inestabilidad cromosómica es una desventaja para el material vegetal micropropagado, ya que al llevarlo a la fase de aclimatación y posteriormente al establecimiento *ex vitro*, puede mostrar características distintas a las de la planta madre. Además, en el caso de emplear este tipo de material vegetal con fines de mejoramiento genético se complica la hibridación debido a las modificaciones que pudieron ocurrir en el genoma, las cuales afectarían el emparejamiento de cromosomas meióticos. Es decir, al intentar hacer el cruzamiento, durante la profase de la meiosis al momento de surgir el en-



Cómo citar: Vélez-Torres, M., & Fernández-Pavía, Y. L. (2023). Selección *in vitro* de genotipos de *Haworthia* con estabilidad cromosómica a través de análisis citogenéticos. *Agro-Divulgación*, 3(4). <https://doi.org/10.54767/ad.v3i4.229>

Editores académicos: Dra. Ma. de Lourdes C. Arévalo Galarza y Dr. Jorge Cadena Iñiguez.

Publicado en línea: Octubre 2023.

Agro-Divulgación, 3(4), Julio-Agosto. 2023. pp: 57-60.

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International



tre cruzamiento y recombinación, los cromosomas no encontrarán sus homólogos para aparearse, provocando la inviabilidad de la crucea.

Solución planteada

Una alternativa factible es determinar el número y la morfología de cromosomas en *Haworthia* cultivada *in vitro* durante las primeras etapas de subcultivos, con el fin de seleccionar genotipos estables a nivel cromosómico. Además, mediante la caracterización citogenética se identifica y se selecciona a los parentales compatibles para realizar hibridaciones dirigidas. El material no promisorio se elimina y se evita su avance a las otras etapas de multiplicación, aclimatación y establecimiento *ex vitro*. El Doctor Héctor González Rosas[†], realizó observaciones citológicas en tres variedades de *Haworthia* cultivadas *in vitro*: *H. fasciata* var. *major*, *H. limifolia* var. *ubomboensis* y *H. marumiana* var. *batesiana* (Figura 1) para determinar si la presencia de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo causaba cambios en los cromosomas.

Para lo anterior, se extraen segmentos con puntas de raíces rediferenciadas *in vitro* y se pretratan en una solución de 8-hidroxiquinoleína (2 mM) a 18 °C por 2 h. Posteriormente se fijan en solución Farmer [alcohol etílico y ácido acético (3:1)]. A continuación, se realiza el método de la tinción de Feulgen, consistente en realizar una hidrólisis con ácido clorhídrico (HCl 1N) (60 ± 1 °C) por 6 min, y transcurrido este tiempo se retira la disolución y se aplica el reactivo de Schiff (Fucsina) para la tinción. Después de reposo, se añade una gota de acetocarmín (2%) y se realiza el “aplastado”. Finalmente se observa bajo un microscopio y se cuentan los cromosomas (Figura 2).

Al realizar la evaluación, los resultados mostraron que cuando el medio de cultivo *in vitro* contuvo ácido naftalenacético (5.0 mg L^{-1}) y bencilaminopurina (1.0 mg L^{-1}), la estabilidad cromosómica permaneció constante en *H. marumiana* var. *batesiana* y *H. fasciata* var. *major* pues no cambiaron su número cromosómico de $2n=14$, por el contrario *H. limifolia* var. *ubomboensis* ni siquiera respondió a los tratamientos para su regeneración.

Cuando el medio de cultivo *in vitro* contuvo ácido 2,4-diclorofenoxiacético (5.0 mg L^{-1}) y cinetina (1.0 mg L^{-1}) se encontró inestabilidad cromosómica manifestada en

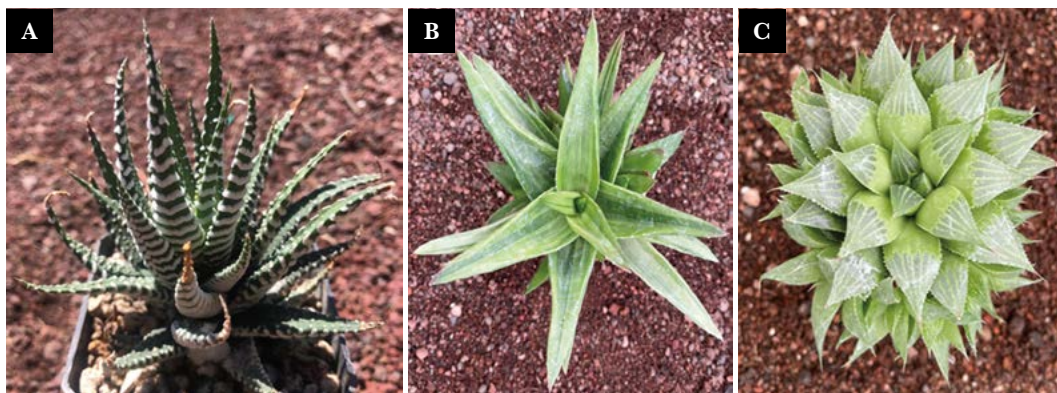


Figura 1. Diferentes especies de *Haworthia* de importancia ornamental: A: *H. fasciata* var. *major*; B: *H. limifolia* var. *ubomboensis*; C: *H. marumiana* var. *batesiana*.

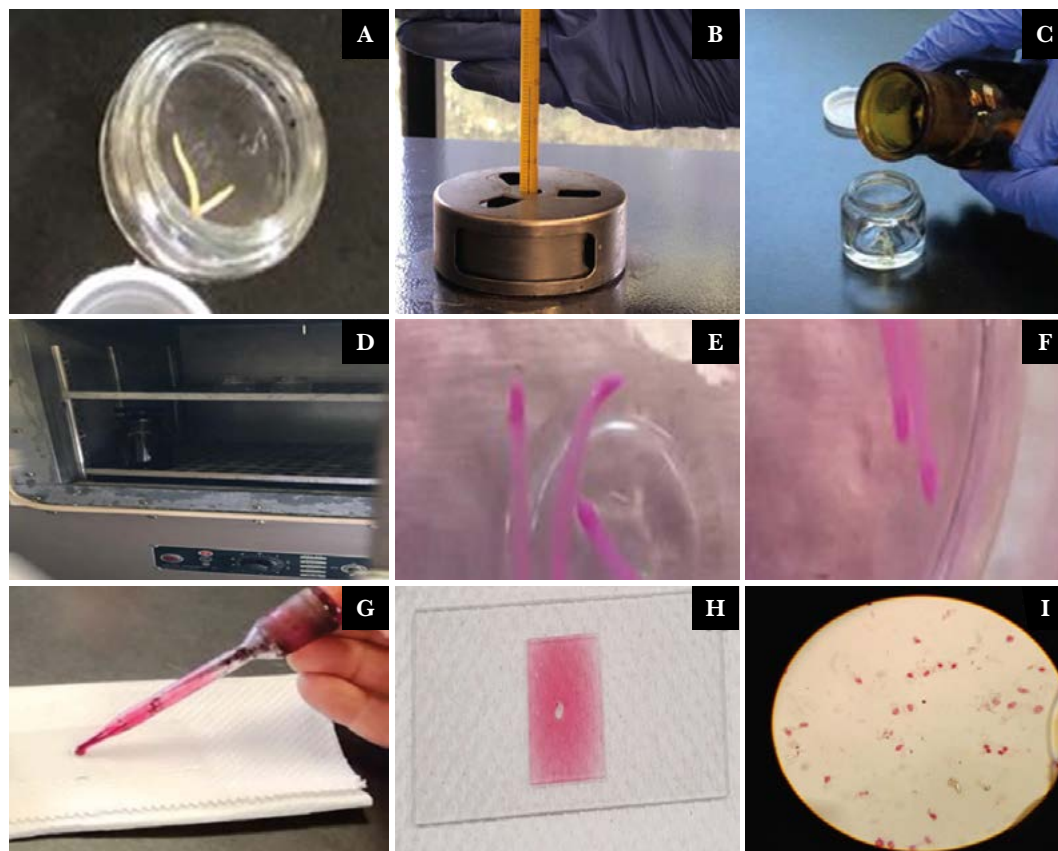


Figura 2. Técnicas para el aplastado de ápices de raíz de *Haworthia*: A: pretratamiento con hidroxiquinoleína (18 °C); B: ajuste de temperatura a 60 °C para hidrólisis; C: adición de HCl (1 N); D) Mantenimiento en estufa por seis minutos a 60 °C; E- F: puntas de raíces teñidas después del reposo con el reactivo Schiff; G: montaje de tejido y adición del acetocarmín; H: aplastado del tejido; I: observación bajo microscopio para conteo de cromosomas.

el cambio del número cromosómico como: poliploidía en *H. marumiana* var. *batesiana* con $2n=28$; aneuploidía en *H. fasciata* var. *major* con $2n=26$; y aneuploidía en *H. limifolia* var. *ubomboensis* con $2n=27$, mostrando la respuesta diferencial entre genotipos. Por lo anterior, es importante supervisar el material vegetal parental a nivel cromosómico y seleccionar al óptimo para su uso en las metodologías del mejoramiento genético, siendo ideal llevar a cabo esta práctica en etapas tempranas al inicio de un proyecto de propagación.

Las metodologías citogenéticas son una alternativa viable para detectar alteraciones en la estructura física y en el número de cromosomas de los diversos recursos genéticos vegetales, ya sea en un sistema de cultivo *in vitro* o *ex vitro*, a fin de seleccionar genotipos estables para su uso en programas de mejoramiento genético.

INNOVACIONES, IMPACTOS E INDICADORES

Nivel de innovación	Descripción	Transferido	Impacto		Indicador General de Políticas Públicas	Indicadores Específicos	Subindicador
			Sector	Ámbito			
Procesos	Propuesta de mejora de un método de propagación <i>in vitro</i> , al ofrecer material micropropagado genéticamente idéntico al genotipo original.	Sector productivo	Primario: Agricultura	Social	Ciencia y Tecnología	Competitividad	Capacitación a estudiantes de Licenciatura y Posgrado. Técnicos de Laboratorio
			Cuaternario: Procesos de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i)	Económico Ambiental Conocimiento	Económico Educación Responsabilidad Ambiental	Capacitación	
Innovación frugal	Se plantea una estrategia para evitar la pérdida de recursos económicos y ambientales en el desarrollo de genotipos indeseables						
Innovación de código abierto	Filosofía o metodología pragmática que promueve la redistribución libre y el acceso al diseño final de un producto y los detalles de su implementación						