

Polimorfismo de tamaño entre cromosomas homólogos, un caso extremo en *Alstroemeria pulchra* Sims. (Alstroemeriaceae), especie endémica de Chile

Size polymorphism between homologous chromosomes, an extreme case in *Alstroemeria pulchra* Sims. (Alstroemeriaceae), endemic species of Chile

CARLOS BAEZA^{1*}, OSCAR TORO¹, EDUARDO RUIZ¹, VÍCTOR FINOT², PEDRO CARRASCO¹ & NICOLÁS VILLALOBOS²

¹Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Departamento de Botánica, Casilla 160-C, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

²Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.

*cbaeza@udec.cl

ABSTRACT

Alstroemeria pulchra is a Chilean species where 3 subspecies are recognized: subsp. *lavandulacea*, *maxima* and *pulchra*. The chromosomes of populations of the subspecies *lavandulacea* and *pulchra* were studied and a marked size polymorphism was observed among the homologous of the first pair of chromosomes. This size polymorphism among homologous is one of the rarest reported thus far in the Angiosperm literature.

El género *Alstroemeria* incluye aproximadamente 80 especies endémicas de Sudamérica, con dos centros de diversidad (Chile y Brasil). En Chile, este género representa uno de los grupos más diversos de monocotiledóneas, con más de 50 taxones reconocidos o aceptados (36 especies, 11 subespecies y 10 variedades), de los cuales ca. del 82% son endémicos de la zona mediterránea de Chile central, uno de los hotspots de diversidad del mundo (Finot *et al.* 2018). Muñoz & Moreira (2003) reconocen numerosos “complejos” dentro del género, siendo uno de estos *Alstroemeria pulchra* Sims. En este complejo se reconocen tres subespecies: subsp. *pulchra* (Fig. 1A), subsp. *lavandulacea* Ehr. Bayer (Fig. 1B) y subsp. *maxima* Phil. Crecen desde el cerro Pan de Azúcar al sur de Coquimbo (29°59'S) hasta la cordillera de Nahuelbuta, en la Región de la Araucanía (37°44'S).

Los estudios citogenéticos en *Alstroemeria* son útiles para la delimitación taxonómica, ya que cada especie, subespecie o variedad se caracteriza por poseer un cariotipo único (Baeza *et al.* 2007). Estos estudios han contribuido a la delimitación de taxones a escalas inter e intraespecíficas, así como a la comprensión de los procesos cromosómicos que determinan la divergencia entre ellos (Baeza *et al.* 2007). En muchas especies de *Alstroemeria* se ha encontrado polimorfismo entre homólogos, tanto en el contenido de ADN nuclear como en la cantidad de bandas C de heterocromatina (Buitendijk & Ramanna 1996, Buitendijk *et al.* 1997). El mismo polimorfismo se ha

encontrado en la ubicación de genes ribosomales entre pares de homólogos mediante hibridación *in situ* por fluorescencia (Baeza *et al.* 2007). Sin embargo, la presencia de reportes de polimorfismo entre homólogos relacionados con el tamaño de ellos es rara tanto en *Alstroemeria* como en Angiospermas en general. Por lo tanto, el objetivo de esta comunicación es reportar el polimorfismo conservado en el tamaño de un par de cromosomas homólogos en dos de las subespecies de *A. pulchra*, endémica de Chile.

Se recolectaron dos poblaciones de *Alstroemeria pulchra*: una de la subsp. *lavandulacea* y otra de la subsp. *pulchra*. Los ejemplares fueron cultivados en invernadero de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas y vouchers fueron depositados en el herbario de la Universidad de Concepción (CONC): *Alstroemeria pulchra* Sims. subsp. *pulchra*. Región de Valparaíso. Prov. Marga Marga. Quebrada Estero Margarita, 122 m, 33°04'43"S-71°25'38"O, 7-X-2017, P. Carrasco 113. *Alstroemeria pulchra* Sims. subsp. *lavandulacea*. Región del Maule. Prov. Talca. Río Claro, 300 m al norte del puente Río Claro, desde el sur, km 216, 190 m, 35°10'53"S; 71°23'19"O, 9-XI-2013, C. Baeza 4393 a.

La metodología de trabajo consistió en disectar puntas de raíces de 1-2 cm de longitud a partir del material cultivado en invernadero, las cuales fueron cortadas y pretratadas con una solución de 8-hidroxiquinolina (2mM) por 24 h a 4 °C. Luego, se fijaron en una mezcla de etanol/

ácido acético (3:1) durante 24 h. Se realizaron aplastados de puntas de raíces efectuando previamente una hidrólisis ácida con HCl 0,5 N durante 17 min a 42°C. Luego se lavó el material y se tiñieron las puntas de raíz con orceína al 1%. Los cromosomas se fotografiaron en un microscopio Zeiss Axioskop con cámara de video incorporada. Las placas

metafásicas fueron medidas con la ayuda del programa computacional "MicroMeasure 3.3" (Reeves 2001). A partir de 20 placas metafásicas en *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* y 15 placas en *A. pulchra* subsp. *pulchra* (5 individuos como mínimo), se midieron los cromosomas del par de homólogos número 1.



FIGURA 1. Fotografías de *Alstroemeria pulchra*. A. *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. B. *A. pulchra* subsp. *pulchra*. / Photographies of *Alstroemeria pulchra*. A. *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. B. *A. pulchra* subsp. *pulchra*.

Ambas poblaciones presentaron $2n = 16$ cromosomas, con una fórmula cariotípica muy similar. Los resultados encontrados en ambas poblaciones evidencian un enorme polimorfismo en el tamaño de los homólogos del par de cromosomas número 1, tanto para *A. pulchra* subsp. *lavandulacea* (Fig. 2A recuadro) como para *A. pulchra* subsp. *pulchra* (Fig. 2B recuadro). La Figura 3 representa un gráfico de caja que muestra las diferencias en el tamaño de los homólogos del par cromosómico número 1 de las dos subespecies estudiadas.

El polimorfismo de tamaño entre homólogos ha sido pobremente documentado en Angiospermas. Esta situación se ha encontrado en especies de *Brachycome*, *Triticum*, *Tulpia*, *Secale*, *Allium* (Houben *et al.* 2000), *Scilla* (Greilhuber & Speta 1976), *Placea amoena* (Baeza & Schrader 2004) y *Chaetanthera pentacaenoides* (Baeza & Torres-Díaz 2006) y también ha sido muy poco observado en *Alstroemeria*. Solo Buitendijk *et al.* (1998) encuentran este tipo de polimorfismo en poblaciones de *Alstroemeria aurea* Graham (en el par cromosómico número 8) y en poblaciones de *A. ligtu* L. (par cromosómico número 6). Baeza *et al.* (2018) encuentran en *A. magnifica* Herbert var. *tofoensis* M. Muñoz polimorfismo en la longitud de los brazos entre los cromosomas homólogos del par 5, que también se expresa en términos de mayores niveles de magnitud en la variación de la desviación estándar relacionada con los valores de la longitud total de los cromosomas. El reporte actual es, sin

ninguna duda, el polimorfismo de tamaño entre homólogos más notable encontrado hasta ahora en *Alstroemeria*. En ambas subespecies la diferencia en magnitud de tamaño entre los homólogos del par cromosómico número 1 es muy evidente (Fig. 2, recuadros, Fig. 3). Esta diferencia también es demostrada con diferencias estadísticas significativas en comparaciones de largo de los cromosomas entre poblaciones ($K-WX^2 = 52.6063$, $df = 3$, $p < 0.001$) y entre homólogos. La conclusión es que los valores analizados desde cromosomas designados como similares (largo vs largo y corto vs corto) son estadísticamente similares, mientras que los homólogos (largo vs corto y largo vs corto) son diferentes. Ambas observaciones fueron calculadas usando un test de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis 1952) y un test post-hoc de Dunn (Dunn 1964), empleando el paquete estadístico *dunn.test* (Dinno 2017) en R v. 3.3.3 (R Core Team 2017).

En todas las especies investigadas de *Alstroemeria* hasta el momento el polimorfismo de tamaño se ha observado probablemente en la condición heterocigótica; no habría indicación de polimorfismo en la condición homocigota. La naturaleza de esta diferencia de compactación de la cromatina reside presumiblemente en el origen de regiones heterocromáticas, como se documenta en *Brachycome* (Houben *et al.* 2000), la que puede desempeñar un papel en la variación y el rearrreglo del genoma en plantas (Jones & Rees 1982, Navas-Castillo *et al.* 1987). Esta condición heterocigota representaría una ventaja selectiva para

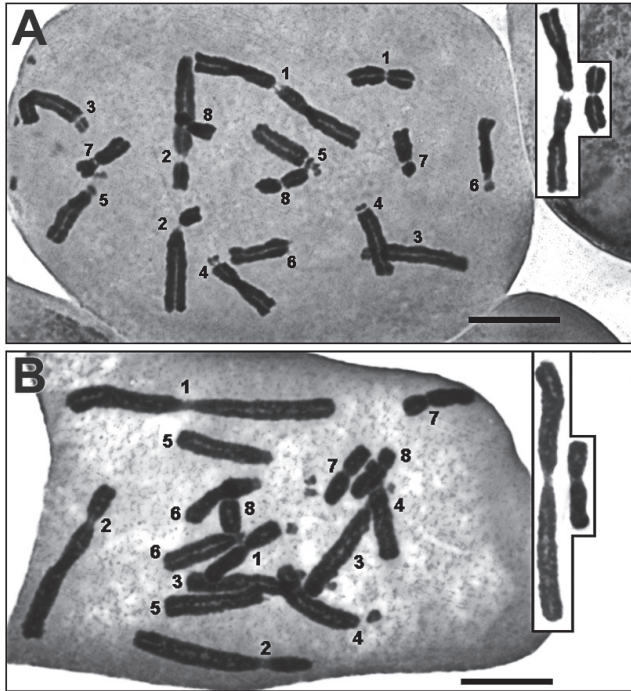


FIGURA 2. Placas metafásicas de *Alstroemeria pulchra*. A. *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. B. *A. pulchra* subsp. *pulchra*. Escala = 10 μm. / Metaphase plates of *Alstroemeria pulchra*. A. *A. pulchra* subsp. *lavandulacea*. B. *A. pulchra* subsp. *pulchra*. Scale = 10 μm.

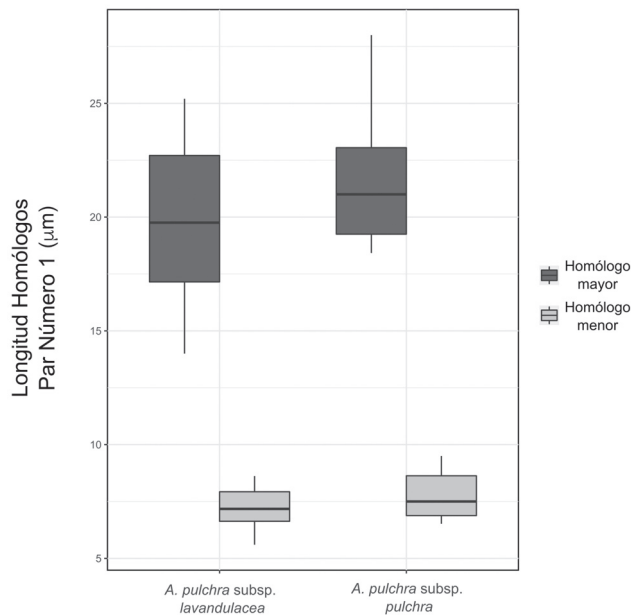


FIGURA 3. Gráfico de cajón del primer par de homólogos de *Alstroemeria pulchra* subsp. *lavandulacea* y *A. pulchra* subsp. *pulchra*. / Barplots of the first homologous chromosome pairs of *Alstroemeria pulchra* subsp. *lavandulacea* and *A. pulchra* subsp. *pulchra*

las especies de *Alstroemeria*, ya que reordenamientos cromosómicos rápidos, como las translocaciones desbalanceadas recíprocas Robertsonianas (Chacon *et al.* 2012), podrían dar lugar a una mayor capacidad de adaptación en especies sujetas a estrés ambiental (Levin 2002). Estos procesos estarían favoreciendo un continuo proceso de reestructuración y evolución cromosómica en los genomas de *Alstroemeria*, los que seguirían sucediendo de forma ininterrumpida en el presente (Sanso 2002). Sin embargo, este patrón no es suficiente para explicar la persistencia de polimorfismo homocigótico en los taxones estudiados de *A. pulchra*, el que de ser originado por rearrreglos debería presentar niveles distintivos de asimetría entre cromosomas homólogos (Levin 2002). Una posible explicación alternativa sería un origen por especiación híbrida, donde especies parentales hayan contribuido con cromosomas heterocigotos en su condición de largo total. Tal hipótesis contradeciría la falta de evidencia de hibridación viable en poblaciones naturales de *Alstroemeria*, a pesar de la reconocida facilidad de obtener híbridos cultivados vía técnicas de asistencia *in vitro* (Kristiansen 1995). Por lo mismo, se sugiere que mayores estudios deben realizarse sobre aspectos reproductivos de *A. pulchra*, además de obtener más datos desde otras poblaciones e individuos para corroborar la estabilidad del polimorfismo descrito.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por proyecto VRID N° 318/17, Código 217.111.063-1.0. También se agradece al Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción y al Proyecto Nueva Flora de Chile por todas las facilidades otorgadas para realizar este trabajo.

REFERENCIAS

- BAEZA, C., SCHRADER, O. 2004. Karyotype analysis of *Placea amoena* Phil. (Amaryllidaceae) by double fluorescence in situ hybridization. *Caryologia* 57: 209-214.
- BAEZA, C., SCHRADER, O., BUDAHN, H. 2007. Characterization of geographically isolated accessions in five *Alstroemeria* L. species (Chile) using FISH of tandemly repeated DNA sequences and RAPD analysis. *Plant Systematics and Evolution* 269: 1-14.
- BAEZA, C., TORRES-DÍAZ, C. 2006. El cariotipo de *Chaetanthera pentacaenoides* (Phil.) Hauman (Asteraceae). *Gayana Botánica* 63: 180-182.
- BAEZA, C., FINOT, V., RUIZ, E., CARRASCO, P., NOVOA, P., ROSAS, M., TORO-NÚÑEZ, O. 2018. Cytotaxonomic study of the Chilean endemic complex *Alstroemeria magnifica* Herb. (Alstroemeriaceae). *Genetics and Molecular Biology* 41: 434-441.
- BUITENDIJK, J., RAMANNA, M. 1996. Giemsa C-banded karyotypes of eighth species of *Alstroemeria* L. and some of their

- hybrids. *Annals of Botany* 78: 449-457.
- BUITENDIJK, J., BOON, E., RAMANNA, M. 1997. Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Annals of Botany* 79: 343-353.
- BUITENDIJK, J., PETERS, A., QUENE, R., RAMANNA, M. 1998. Genome size variation and C-band variation polymorphism in *Alstroemeria aurea*, *A. ligtu*, and *A. magnifica* (Alstroemeriaceae). *Plant Systematics and Evolution* 212: 87-106.
- CHACÓN J., SOUSA, A. BAEZA, C., RENNER, S. 2012. Ribosomal DNA distribution and a genus-wide phylogeny reveal patterns of chromosomal evolution in *Alstroemeria*. *American Journal of Botany* 99: 1501-1512.
- DINNO, A. 2017. dunn.test: Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums. R package version 1.3.4. <https://CRAN.R-project.org/package=dunn.test>.
- DUNN, O. 1964. Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 6: 241-252.
- FINOT, V., BAEZA, C., RUIZ, E., TORO, O., CARRASCO, P. 2018. Towards an Integrative Taxonomy of the genus *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) in Chile: A Comprehensive Review. In Bulent, S. (ed.). *Studies in Biodiversity*. Chapter 12: 229-265. InterchOpen. (<https://www.intechopen.com/books/selected-studies-in-biodiversity>).
- GREILHUBER, J., SPETA, F. 1976. C-banded karyotypes in the *Scilla hohenackeri* group *S. persica*, and *Puschkinia* (Liliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 126: 149-188.
- HOUBEN, A., WANNER, G., HANSON, L., VERLIN, D., LEACH, C., TIMMES, J. 2000. Cloning and characterization of polymorphic heterochromatic segments of *Brachycome dichromosomatica*. *Chromosoma* 109: 206-213.
- JONES, R., REES, H. 1982. B-chromosomes. Academic Press, London. 266 pp.
- KRISTIANSEN, K. 1995. Interspecific hybridization of *Alstroemeria*. *Acta Horticulturae* 420: 85-88.
- KRUSKAL, W., WALLIS, A. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47: 583-621.
- LEVIN, D. 2002. The role of chromosomal change in plant evolution. *Oxford Series in Ecology and Evolution*. Oxford University Press, New York. 230 pp.
- MUÑOZ, M., MOREIRA, A. 2003. *Alstroemerias de Chile. Diversidad, distribución y conservación*. Taller La Era, Santiago. 140 pp.
- NAVAS-CASTILLO, J., CABRERO, J., CAMACHO, J. 1987. Chiasma redistribution in presence of supernumery chromosome segments in grasshoppers on the size of the extra segment. *Heredity* 58: 409-412.
- R CORE TEAM. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- REEVES, A. 2001. MicroMeasure: a new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. *Genome* 44: 239-443.
- SANSO, A. 2002. Chromosome studies in Andean taxa of *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 451-459.

Recibido: 09.03.2018
Aceptado: 07.08.2018