

ESTUDIO CITOLÓGICO EN POBLACIONES DIPLOIDES Y POLIPLOIDES DEL GÉNERO *Tripsacum*

Esau del Carmen Moreno-Pérez, Armando García-Velázquez y Carlos Hugo Avendaño-Arrazate

RESUMEN

El género *Tripsacum* (*Poaceae*) tiene afinidad filogenética con el maíz y se distribuye ampliamente en América. El número básico de cromosomas es $x=18$ y existen poblaciones naturales desde diploides ($2n=2x=36$) hasta hexaploides ($2n=6x=108$). Las plantas de este género se reproducen de manera sexual y asexual y, en poliploides, ocurre la apomixis. Se realizó un estudio citológico en plantas con diferente nivel de ploidía. En espigas se hizo análisis de la meiosis, y de semillas se obtuvieron plántulas a las cuales se determinó el número cromosómico en ápices radicales y por cuantificación de ADN mediante citometría de flujo. Se encontraron poblaciones constituidas únicamente por triploides o tetraploides, y otras que contienen una mez-

cla de diploides hasta hexaploides. En diacinesis, los cromosomas de los diploides se asocian en bivalentes; en los triploides se forman univalentes, bivalentes y trivalentes; mientras que en tetraploides en univalentes, bivalentes, trivalentes y cuadrivalentes. En profase II, los diploides forman, en alta frecuencia, grupos cromosómicos segregantes de 18; los triploides desde 21 hasta 33; y los tetraploides desde 32 hasta 38. El número de cromosomas en progenies de plantas diploides fue $2x=36$ y $3x=54$; de triploides, $3x=54$, $4x=72$, $5x=90$ y $6x=108$; y de tetraploides, $4x=72$, $5x=90$ y $6x=108$. Los resultados indican que los diploides tienen un origen sexual y que los triploides y tetraploides posiblemente sean apomíticos facultativos.

Introducción

El género *Tripsacum* agrupa gramíneas con afinidad filogenética con el maíz, un cultivo de importancia mundial para la alimentación humana. Las plantas de *Tripsacum* se distribuyen en América, pero la mayor diversidad de especies se encuentra en México (Berthaud y Savidan, 1989). De acuerdo con DeWet *et al.* (1981) y Berthaud *et al.* (1992), existen poblaciones de *Tripsacum* desde diploides ($2n=2x=36$ cromosomas) hasta hexaploides ($2n=6x=108$ cromosomas). Además, estas plantas se reproducen tanto sexual como asexualmente (en forma vegetativa) y en los poliploides ocurre la apomixis (Burson *et al.*, 1990; Leblanc *et al.*, 1995), entendiéndose

ésta como una forma de reproducción asexual, pero a través de semilla (Berthaud, 2001), carácter con posibilidad de incorporarse al maíz (Savidan, 2001).

Colecciones de *Tripsacum* hechas en México muestran que los triploides existen en alta frecuencia. Un análisis preliminar del grano de polen de algunas plantas mostró que forman polen fértil, de manera que en la segregación cromosómica posiblemente se forman esporas (gametos) $x=18$ y $2x=36$, que dan lugar a granos de polen y óvulos viables.

En meiosis I, los cromosomas homólogos de los triploides normalmente se asocian en trivalentes, bivalentes y univalentes; esto es, que al término de la diacinesis, se juntan tres, dos o un solo

cromosoma, respectivamente, o bien solamente se forman univalentes y, en anafase, los univalentes se dirigen aleatoriamente a cualquiera de los polos de la célula, lo que da lugar a una variación cromosómica y, por tanto, a gametos estériles (Jackson y Casey, 1980). En las plantas triploides de *Tripsacum*, aunque numéricamente la segregación de los cromosomas sea variable, los gametos podrían estar genéticamente balanceados y ser fértiles. Si esto ocurriera, en la semilla originada de triploides se esperaría encontrar aneuploides, que son plantas que no necesariamente contienen juegos completos de cromosomas o bien poseen cromosomas adicionales, en este caso a los tres juegos cromosómicos (Jackson y Casey,

1980). Pero si ocurriera que solo forman semilla triploide, entonces podría pensarse que los triploides tienen un origen apomítico (Leblanc *et al.*, 1995).

En *Tripsacum* también existen poblaciones netamente tetraploides, lo cual es posible si las plantas forman gametos masculino y femenino diploides $2n$, o bien si los individuos que se forman son apomíticos y producen semilla de origen diplospórico únicamente (Berthaud, 2001).

Con base en lo anterior, el presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de entender cómo se originan y de qué manera se mantienen los diploides, triploides y tetraploides en las poblaciones naturales de *Tripsacum*.

PALABRAS CLAVE / Apomixis / Citología / Gametogénesis / Ploidía / Polen / *Tripsacum* /

Recibido: 22/12/ 2008. Modificado: 22/10/2009. Aceptado: 25/10/2009.

Esau del Carmen Moreno-Pérez. Ingeniero Agrónomo, Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), México. Maestría y Doctorado, Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Profesor-Investigador, UACH, México. Dirección: Departamento de Fitotecnia, UACH. Km. 38.5. Carretera México- Texcoco. Chapingo, Texcoco, Estado de México, 56230. México. e-mail: esaump10@yahoo.com.mx

Armando García-Velázquez. Ingeniero Agrónomo, UACH. México. Maestría, COLPOS, México.

Doctorado, Universidad de Kyoto, Japón. Profesor-Investigador, COLPOS, Montecillo, México. e-mail: garciav@colpos.mx
Carlos Hugo Avendaño-Arrazate. Ingeniero Agrónomo, UACH, México. Maestría y Doctorado en Genética, COL-

POS, México. Investigador, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Rosario Izapa, México. e-mail: avendano.carlos@inifap.gob.mx

CYTOLOGICAL STUDY IN DIPLOID AND POLIPOID POPULATIONS OF THE *Tripsacum* GENUS

Esaú del Carmen Moreno-Pérez, Armando García-Velázquez and Carlos Hugo Avendaño-Arrazate

SUMMARY

The *Tripsacum* (*Poaceae*) genus has phylogenetic affinity with maize and is widely distributed in America. The basic number of chromosomes is $x=18$, and there are natural populations ranging from diploids ($2n=2x=36$) to hexaploids ($2n=6x=108$). The plants of this genus reproduce sexually and asexually and, in polyploids, apomixis occurs. A cytological study was conducted in plants with different ploidy level. Analysis of meiosis was made in tassels, and seedlings were obtained whose chromosomal number was determined in root tips and by DNA quantification using flow cytometry. Populations made up only of triploids or tetraploids were found, and others containing a mixture from di-

ploids to hexaploids. During diakinesis, diploid chromosomes associate in bivalents; in triploids, univalents, bivalents, and trivalents are formed; and in tetraploids, univalents, bivalents, trivalents, and quadrivalents are formed. In prophase II, the diploids form with high frequencies segregating chromosomal groups of 18; the triploids, groups from 21 to 33; and tetraploids, from 32 to 38. The chromosomal number in progenies of diploid plants was $2x=36$ and $3x=54$; of triploids $3x=54$, $4x=72$, $5x=90$, and $6x=108$; and from tetraploids, $4x=72$, $5x=90$, and $6x=108$. Results indicate that the diploid individuals have sexual origin and the triploids and tetraploids may be apomictic.

ESTUDO CITOLÓGICO EM POPULAÇÕES DIPLÓIDES E POLIPLÓIDES DO GÊNERO *Tripsacum*

Esaú del Carmen Moreno-Pérez, Armando García-Velázquez e Carlos Hugo Avendaño-Arrazate

RESUMO

O gênero *Tripsacum* (*Poaceae*) tem afinidade filogenética com o milho e se distribui amplamente na América. O número básico de cromossomos é $x=18$ e existem populações naturais desde diplóides ($2n=2x=36$) até hexaplóides ($2n=6x=108$). As plantas deste gênero se reproduzem de maneira sexual e asexual e, em poliplóides, ocorre a apomixia. Realizou-se um estudo citológico em plantas com diferente nível de ploidia. Foi realizada análise em espigas da meiose e das sementes foram obtidas plântulas nas quais se determinou o número cromossômico em ápices radicais e por quantificação de DNA mediante citometria de fluxo. Encontraram-se populações constituídas unicamente por triplóides ou tetraplóides, e outras que contêm uma mistura de

diplóides até hexaplóides. Em diacinese, os cromossomos dos diplóides se associam em bivalentes; nos triplóides se formam monovalentes, bivalentes e trivalentes; enquanto que em tetraplóides em monovalentes, bivalentes, trivalentes e tetraivalentes. Na profase II, os diplóides formam, em alta frequência, grupos cromossômicos segregantes de 18; os triplóides desde 21 até 33; e os tetraplóides desde 32 até 38. O número de cromossomos em progênies de plantas diplóides foi $2x=36$ e $3x=54$; de triplóides, $3x=54$, $4x=72$, $5x=90$ e $6x=108$; e de tetraplóides, $4x=72$, $5x=90$ e $6x=108$. Os resultados indicam que os diplóides têm uma origem sexual e que os triplóides e tetraplóides possivelmente sejam apomícticos facultativos.

Materiales y Métodos

Las poblaciones (Pob.) estudiadas fueron originarias de diferentes localidades y estados de México: Pob. 38 de Amatitán, Jalisco ($20^{\circ}52'N$, $103^{\circ}45'O$, 1250msnm), Pob. 39 de Tequila, Jalisco ($20^{\circ}55'N$, $103^{\circ}51'O$, 1200msnm), Pob. 40 de Jalisco, Nayarit ($21^{\circ}24'N$, $104^{\circ}45'O$, 1130msnm), Pob. 41 de Hostotipaquillo, Jalisco ($21^{\circ}03'N$, $104^{\circ}15'O$, 1200msnm), Pob. 49 de Zumpango del Río, Guerrero ($17^{\circ}50'N$, $093^{\circ}35'O$, a 650msnm) y Pob. 131 de Santa María del Oro, Nayarit ($21^{\circ}22'N$, $104^{\circ}34'O$, 950msnm), tal como se muestran en la Tabla I.

Para determinar la variación en ploidía de individuos de cada población, se recolectaron semillas de plantas individuales en el sitio de localización de las Pob. 38, 39, 40 y 41 y de plantas obtenidas mediante multiplicación vege-

tativa (macollos) de las Pob. 38, 39 y 41, desarrolladas en una colección de *Tripsacum* del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en Tlaltizapán, Morelos, México. Para el análisis de la meiosis y polen, se

recolectaron espigas en antesis de plantas diploides, triploides y tetraploides de las Pob. 38, 39, 41, 49 y 131 desarrolladas en Tlaltizapán, Morelos. No se incluyó la pob. 40 de la colección del CIMMYT para el primer análisis en virtud

TABLA I
ORIGEN DE LAS DIFERENTES POBLACIONES DE *Tripsacum* ESTUDIADAS

Población	Origen del material	Semilla de material vegetativo (Tlaltizapán, Morelos) para evaluación de plántulas	Semilla colectada en sitio de origen para evaluación de plántulas	Niveles de ploidía para evaluación de meiosis	Poblaciones originadas
38	Amatitán, Jalisco	Si	Si	2x, 3x, 4x	4x
39	Tequila, Jalisco	Si	Si	2x, 3x, 4x	2x, 3x, 4x, 5x, 6x
40	Jalisco, Nayarit	No	Si	NE	4x
41	Hostotipaquillo, Jalisco	Si	Si	2x, 3x, 4x	3x
49	Zumpango del Río, Gro.	Si	No	2x, 3x, 4x	NA
131	Sta. María del Oro, Nayarit	Si	No	2x, 3x, 4x	NA

NE: no se evaluó la meiosis, NA: no se analizó la progenie.

de que no se disponía de este material y tampoco se usó para el estudio de la meiosis y viabilidad del polen, ya que para esto se eligieron solo aquellas poblaciones que tuvieran los tres niveles de ploidía (diploides, triploides y tetraploides). Los recuentos cromosómicos se hicieron en células de ápices radicales, pretratados durante 2,5h con una solución compuesta por 0,1g de colchicina; 0,05g de 8-hidroxi-quinoleína y 90 gotas de sulfóxido de dimetilo en 200ml de agua destilada, y coloreados durante cinco días con orceína acética 2%. Posteriormente se hirvieron en ácido acético 45% por 30s, se separó la masa celular y se colocó sobre un portaobjetos con una gota de ácido acético 45%; entonces, se hicieron los recuentos cromosómicos en células metafásicas y en ocasiones, en profase tardía (García, 1990), pero la ploidía de la mayor parte de las plántulas se determinó por cuantificación del ADN mediante citometría de flujo, haciendo cortes finos de una fracción de hoja, agregándole 2µl de solución buffer/ml de Hoescht 33342 (Galbraith *et al.*, 1983).

Para el análisis meiótico, las espigas fueron fijadas en Farmer (alcohol etílico 96° y ácido acético glacial 3:1 v/v) durante 48h; después, se pasaron a alcohol etílico 70° y se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta el momento de su análisis. Para colorear cromosomas se utilizó el método del carmín propiónico propuesto por García (1990). En diacinesis se observaron las asociaciones cromosómicas y en profase II se hicieron los recuentos de disyunción cromosómica.

Para el análisis de la fertilidad del polen, se recolectaron

TABLA II
NIVEL DE PLOIDÍA EN PLANTAS OBTENIDAS POR SEMILLA EN EL SITIO DE COLECTA DE DIFERENTES POBLACIONES DE *Tripsacum*

Población	Nº de plantas analizadas	Nivel de ploidía (2n)				
		2x	3x	4x	5x	6x
38	52			52 (100%)		
39	163	56 (34,4%)	12 (7,4%)	93 (57,0%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)
40	57			57 (100%)		
41	14		14 (100%)			

TABLA III
FRECUENCIA DE UNIVALENTES, BIVALENTES, TRIVALENTES Y CUADRIVALENTES (I, II, III Y IV) DURANTE DIACINESIS EN PLANTAS DE DISTINTA PLOIDÍA DE LAS POBLACIONES 39 Y 49 DE *Tripsacum*

Población	2n	Plantas analizadas	Células analizadas	Asociación cromosómica			
				I	II	III	IV
39	2x	3	150	24	2688		
39	3x	4	61	644	599	480	
49	3x	2	9	72	72	90	
39	4x	4	80	141	1654	29	556
Total	2x	3	150	24 (1%)	2688 (99%)		
	3x	6	70	716 (37%)	671 (34%)	574 (29%)	
	4x	4	80	141 (7%)	1654 (69%)	29 (1%)	556 (23%)

espigas con anteras maduras, las cuales fueron conservadas en alcohol etílico al 96 % en refrigeración (5°C). Los granos de polen fueron teñidos con yodo-yoduro de potasio y las observaciones se hicieron en un microscopio compuesto a 100X, en 10 campos por preparación.

Dada la naturaleza del estudio, los resultados fueron interpretados desde un punto de vista biológico, por lo que únicamente a los resultados de las asociaciones cromosómicas, se les aplicó una prueba de χ^2 para conocer el grado de dependencia de dichas configuraciones con el nivel de ploidía y la proporción con que éstas ocurren.

Resultados y Discusión

Como resultado de la polinización abierta en el sitio de colecta, se encontró que las poblaciones 38 y 40 solo originaron plantas tetraploides; la Pob. 41 únicamente triploides; mientras que en la Pob. 39, 34,4% fueron diploides, 7,4% triploides, 57,0% tetraploides, 0,6% pentaploides y 0,6% hexaploides (Tabla II).

La prueba de χ^2 indicó que la asociación cromosómica de univalentes, bivalentes, trivalentes o cuadrivalentes, depende del nivel de ploidía que presentan las poblaciones. En el caso de los cromosomas homólogos de plantas diploides de la población 39,

básicamente se asocian como bivalentes. De 2712 observaciones, menos del 1% fueron univalentes (Tabla III) y según la prueba estadística utilizada, ésta se ajusta a una proporción de 99:1 de bivalentes y univalentes, respectivamente. En cambio, las células meióticas de triploides mostraron frecuencias similares de univalentes (37%), bivalentes (34%) y trivalentes (29%), sin que éstas correspondan a una proporción 1:1:1 de cada configuración. Estos resultados indican que en triploides, los cromosomas homólogos no siempre se asocian en bivalentes más univalentes, sino que en ocasiones también ocurren tres univalentes. En tetraploides, predominan las asociaciones

bivalentes (69%) seguidas de las cuadrivalentes (23%), mientras que las univalentes y trivalentes solo representan 8%. Con base en estas observaciones, se puede señalar que *Tripsacum* con 2n=4x=72 cromosomas se comportan citológicamente como auto-tetraploides, de acuerdo con la clasificación de poliploides propuesta por DeWet (1980). Sin embargo, por el hecho que se haya encontrado univalentes y trivalentes, existe la posibilidad de que estas plantas también puedan originarse como alopoliploides segmentarios de acuerdo con Stebbins (1947).

En profase II las plantas diploides de la población 39 formaron una alta frecuencia (91,8%) de células con 18 cromosomas, y solamente 8,2% de las células presentaron 16, 17 y 19 cromosomas (Tabla IV). Por lo tanto, en los bivalentes, la segregación predominante es en igual proporción a cada uno de los polos; mientras que los univalentes no siempre segregan a polos opuestos, ocasionalmente ambos se dirigen a un polo. La frecuencia de células con 17 cromosomas es más del doble que con 19, lo que sugiere que

TABLA IV
SEGREGACIÓN CROMOSÓMICA EN PROFASE II EN PLANTAS DIPLOIDES DE *Tripsacum* DE LA POBLACIÓN 39

Nº de muestra	Nº de células observadas	Número cromosómico segregante			
		16	17	18	19
1	151	1	9	138	3
2	156	3	10	141	2
3	192	1	7	179	5
Total	499	5	26	458	10
%	100	1,0	5,2	91,8	2,0

en ocasiones, uno de los univalentes se pierde durante la anafase I.

En plantas triploides se observó variación en el número de cromosomas en células meióticas desde 21 hasta 33 y la mayor frecuencia (32,1%) fue con 27 cromosomas (Tabla V). La mayor frecuencia de células con menos cromosomas en relación con las de más de 27 cromosomas indica que en muchas células se pierde un número variable de cromosomas durante la anafase.

Dado que el número base haploide de *Tripsacum* es $x=18$, es un hecho que en los triploides muchas microsporas y, por lo tanto, los gametos que se forman contienen uno o más cromosomas por duplicado. Lo mismo podría ocurrir con la meiosis en el lado femenino si ésta ocurriera, de tal forma que en una planta de origen sexual derivada del cruzamiento entre triploides habría casos con cromosomas por cuadruplicado, que tendrían amplias posibilidades de que en la meiosis los pares de cromosomas homólogos formaran cuadrivalentes. Como solamente se observaron univalentes, bivalentes y trivalentes, citológicamente esto puede demostrar que las semillas triploides de *Tripsacum* no tienen un origen sexual, sino apomítico.

En tetraploides los números cromosómicos segregantes van de 32 a 39 (Tabla VI), variación atribuible a la ocurrencia de multivalentes como sugieren Jackson y Casey (1980). La mayor frecuencia fue de 36 cromosomas (73,2%), lo cual se explica si los bivalentes y cuadrivalentes segregan un cromosoma a cada polo en los bivalentes y dos a cada

TABLA V
SEGREGACIÓN CROMOSÓMICA EN PROFASE II EN PLANTAS TRIPLOIDES DE *Tripsacum* EN DISTINTAS POBLACIONES

Población	Plantas analizadas	Número cromosómico segregante												
		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
39	4	3	15	29	39	51	57	123	36	11	17	3	1	
41	1			1	1	2	3	5						
49	3	3	9	8	20	25	22	66	28	13	6	2	2	
131	1	1	3	10	12	19	10	40	8	15	4	1	2	1
Total	9	7	27	48	72	97	92	234	72	39	27	6	4	2
%	100	1,0	3,7	6,6	9,9	13,3	12,6	32,1	9,9	5,3	3,7	0,8	0,5	0,3

TABLA VI
SEGREGACIÓN CROMOSÓMICA EN PROFASE II EN PLANTAS TETRAPLOIDES DE LAS POBLACIONES 38 Y 39 DE *Tripsacum*

Población	Plantas analizadas	Número cromosómico segregante								
		32	33	34	35	36	37	38	39	
38	8	9	12	86	62	719	41	36	1	
39	11	9	22	112	83	829	45	48	1	
Total	19	18	34	198	145	1548	86	84	2	
%	100	0,8	1,6	9,4	6,8	73,2	4,1	4,0	0,1	

TABLA VII
FERTILIDAD DEL POLEN EN PLANTAS DE *Tripsacum* DE DIFERENTE PLOIDÍA Y POBLACIÓN DE ORIGEN

Población	2n	Plantas analizadas	Granos de polen		
			Normal (%)	Estéril (%)	Total
39	2x	4	5512 (94,0)	352 (6,0)	5864
39	3x	2	1899 (89,5)	223 (10,5)	2122
49	3x	2	2230 (94,9)	119 (5,2)	2349
41	3x	2	2312 (91,2)	222 (8,8)	2534
38	4x	7	7763 (92,6)	624 (7,4)	8387
39	4x	7	8145 (97,5)	210 (2,5)	8355
39	2x	4	5512 (94,0)	352 (6,0)	5864
39, 49 y 41	3x	6	6441 (91,9)	564 (8,1)	7005
38 y 39	4x	14	15908 (95,0)	834 (5,0)	16742

TABLA VIII
NÚMERO CROMOSÓMICO EN PROGENIES DE *Tripsacum* DE DIFERENTE PLOIDÍA Y POBLACIÓN DE ORIGEN

Lugar de desarrollo	Población	Progenies	2n	Nivel de ploidía en la progenie					
				2x	3x	4x	5x	6x	Aneuploides
PSL	39	21	2x	201	5				
PR	39	3	2x	15	3				
PSL	39	4	3x		25	1	1	2	
PR	39	2	3x		58	1	3		
PSL	41	9	3x		89				16
PR	41	3	3x		16	1	2		
PSL	38	10	4x			84		6	
PR	38	2	4x			22		4	
PSL	40	48	4x			278		14	
PSL	39	36	4x			209	12	91	
PR	39	6	4x			31	1	5	
Total		24	2x	216	8				
		18	3x		188	3	6	2	16
		144	4x			624	13	120	

PSL: poblaciones desarrolladas en el sitio de localización, PR: población desarrollada vegetativamente en la colecta de *Tripsacum* del CIMMYT en Tlaltizapán, Morelos.

polo en los cuadrivalentes.

También se observa que la proporción de células con menos de 36 cromosomas es mayor que con más de 36, debido posiblemente a la pérdida de algunos univalentes, tal como se indicó con los diploides y triploides.

El análisis del polen indicó que las plantas diploides produjeron 94% de granos de polen fértil (Tabla VII). En diacinesis, básicamente se formaron bivalentes y, por lo tanto, esporas con 18 cromosomas que dieron lugar a granos de polen fértil. Los granos de polen estériles se pueden atribuir a microsporas que contienen menos de 18 cromosomas, al abortar por no tener completo su genomio.

El polen de plantas triploides generalmente es estéril debido a irregularidades en la meiosis, principalmente por la presencia de univalentes y trivalentes (McClintock, 1929; Jackson y Casey, 1980). Sin embargo, aunque en los triploides de *Tripsacum* analizados también se encontraron univalentes, trivalentes y variación en los grupos cromosómicos segregantes, en 7005 granos de polen de las poblaciones 39, 41 y 49, en promedio 91,9% fue fértil (Tabla VII).

Si se considera que los tres cromosomas de cada juego de homólogos preferentemente se asocian en bivalentes más univalentes y en trivalentes, es posible que una alta proporción de microsporas contengan al menos un genomio completo de cromosomas. Con ello, aun con números cromosómicos diferentes, las microsporas podrían estar genéticamente balanceadas para dar lugar a granos de polen fértil.

En los individuos tetraploides de las poblaciones 38 y 39, más del 92,0% de los granos de polen observados resultaron fértiles (Tabla VII), aunque

en profase II, el 73,2% de las células contienen 36 cromosomas, pero la proporción de polen normal fue en promedio de 95,0%. Esto sugiere que una alta proporción de los gametos aneuploides que se forman también son fértiles.

Al determinarse el número cromosómico de plántulas obtenidas de semilla recolectadas de plantas diploides en la población 39, 96,4% fueron diploides y 3,6% triploides (Tabla VIII).

Los *Tripsacum* diploides se reproducen sexualmente (Burson *et al.*, 1990; Leblanc *et al.*, 1995). Para esto en ambos lados, femenino y masculino, debe ocurrir la meiosis y la formación de gametos viables con $n=18$ cromosomas. El cruce entre éstos da lugar a semilla sexual ($n+n$) con $2n=36$ cromosomas.

La alta proporción de semilla diploide observada indica que en las plantas diploides ocurre la meiosis en ambos gametos, masculino y femenino, lo cual evidencia que éstas se reproducen sexualmente. Alrededor de las plantas diploides también crecían tetraploides, por lo que los embriones triploides pudieron originarse del cruzamiento entre gametos haploides ($n=18$) y diploides ($2n=36$) provenientes de plantas diploides y tetraploides, respectivamente.

En plantas diploides de otros géneros (*Solanum* y *Rhoeo*) se forman gametos no reducidos por núcleos de restitución (Conicella *et al.*, 1991; García, 2001), mecanismo que también pudiera ocurrir en los diploides de *Tripsacum* y así formar plantas triploides $3n$, en este caso, $2n+n$ si el gameto no reducido ocurriera en el lado femenino o $n+2n$ en el masculino.

En progenies de los triploides de la población 41 recolectada en el sitio de localización, se observó 84,8% de triploides y 15,2% de aneuploides en 105 plántulas analizadas (Tabla VIII). La segregación cromosómica en el lado masculino varió de 21 a 33 cromosomas, por lo que se esperaba que una semilla de origen sexual entre triploides tuviera como

máximo 66 cromosomas. Los aneuploides contenían entre 81 y 87 cromosomas, lo cual puede explicarse si en el lado femenino no ocurre la meiosis y todos los gametos son no reducidos ($3n$) y fecundados por gametos masculinos con 27 a 33 cromosomas. En este caso, los triploides encontrados deben ser de origen apomítico y la ocurrencia de aneuploides explica en qué forma sucede la apomixis facultativa en *Tripsacum*. También existe la posibilidad de que en estas plantas se formen gametos femeninos no reducidos ($3n$) por núcleos de restitución.

La población 39 consta de diploides, triploides, tetraploides, pentaploides y hexaploides. Si en el lado femenino de los triploides se forman solamente gametos $3n$ no reducidos, es posible explicar la formación de semilla con embriones tetraploides, pentaploides y hexaploides, por la fecundación de los gametos femeninos $3n$ por gametos masculinos n , $2n$ y $3n$ de plantas diploides, tetraploides y hexaploides, respectivamente.

Las plantas triploides de *Tripsacum* en la colección del CIMMYT estaban rodeadas de diploides y tetraploides, lo que explica que en su progenie se hayan encontrado una tetraploide y dos pentaploides, en este caso $3n+n$ y $3n+2n$, respectivamente.

Las plantas tetraploides de la población 39 produjeron progenies tetraploides, pentaploides y hexaploides (Tabla VIII). Al ocurrir la meiosis en la célula madre de la megaspora, de tetraploides se forman gametos $2n$ y debido a que junto a éstas crecían diploides, entonces se esperaría la formación de triploides. Sin embargo, en la semilla de tetraploides no se encontraron plantas triploides, lo cual indica que las células que forman sacos embrionarios en las plantas tetraploides de esta población posiblemente no llevan a cabo la meiosis, o que se forman gametos no reducidos por núcleos de restitución. Bajo esta consideración, las progenies pentaploides y hexaploides se explicarían como

resultado de la fecundación de los gametos femeninos tetraploides no reducidos por gametos masculinos x provenientes de los diploides y $2x$ de los tetraploides.

Las poblaciones 38 y 40 recolectadas en el sitio de localización solo contienen tetraploides, y en sus progenies 91,7% de tetraploides y 8,3% de hexaploides en la población 38, y 95,2% y 4,8% en la 40. Esto se explica como resultado de que todas las plantas tetraploides forman gametos no reducidos y consecuentemente, los hexaploides serían producto de la fecundación de gametos femeninos no reducidos por los gametos $2n$ de las mismas plantas.

Conclusiones

Las plantas diploides de *Tripsacum* se reproducen sexualmente. En las triploides y tetraploides, la microsporogénesis ocurre normalmente, pero la megasporogénesis posiblemente no se lleva a cabo, por lo que se infiere que la semilla de estas plantas tiene un origen apomítico.

El hecho que las plantas triploides generen progenies triploides, tetraploides, pentaploides, hexaploides y aneuploides, y que las tetraploides además de tetraploides generen pentaploides y hexaploides, evidencia que ocurre doble fecundación; de donde se deduce que toda la semilla poliploide en su origen es producto de la doble fecundación. Es decir, que los triploides primigenios son originados de las plantas diploides, y que los tetraploides, pentaploides, hexaploides y aneuploides se forman posteriormente, mediante la fecundación de gametos femeninos no reducidos.

REFERENCIAS

Berthaud J (2001) Apomixis and the Management of Genetic Diversity. En Savidan Y, Carman JG, Dresselhaus T (Eds.) *The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering*. CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR). México. pp. 8-23.

Berthaud J, Savidan Y (1989) Genetic resources of *Tripsacum* and gene transfer to maize. En Mujeeb-kazi A, Sitch LA (Eds.) *Review of Advances in Plant Biotechnology*. 2nd Int. Symp. Genetic Manipulation in Crops. CIMMYT/IRRI. México DF y Manila, Filipinas. pp. 121-130.

Berthaud J, Leblanc O, Moreno E, Vera B, Savidan Y (1992) Screening for apomixis in *Tripsacum* progenies. ORSTOM/CIMMYT *Tripsacum* project, México. *Apomixis Newslett.* 6: 18-19.

Burson LB, Voigt PW, Sherman RA, Dewald CL (1990) Apomixis and sexuality in eastern gamagrass. *Crop Sci.* 30: 86-89.

Conicella C, Barone A, Del Giudice A, Frusciant L, Monti LM (1991) Cytological evidences of SDR-FDR mixture in the formation of $2n$ eggs in a potato diploid clone. *Theor. Appl. Genet.* 81: 59-63.

DeWet JM (1980) Origin of polyploids. En Lewis HW (Ed.) *Polyploidy*. Plenum. Nueva York, EEUU. pp. 3-15

DeWet JM, Timothy DH, Hilu KW, Fletcher GB (1981) Systematics of South American *Tripsacum* (Gramineae). *Am. J. Bot.* 68: 269-276.

Galbraith DW, Harkins KR, Maddox JM, Ayres NA, Sharma DP, Firoozabady AE (1983) Rapid flow cytometric analysis of cell cycle intact plant tissue. *Science* 220: 1100-1140.

García VA (1990) *Técnicas y Procedimientos de Citogenética Vegetal*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 144 pp.

García VA (2001) Two desynaptic mutants of *Rhoeo spathacea* (commelinaceae). *Cytologia* 66: 269-274.

Jackson RC, Casey J (1980) Cytogenetics of polyploids En Lewis HW (Ed.) *Polyploidy*. Plenum. Nueva York, EEUU. pp. 17-44.

Leblanc O, Peel M, Carman J, Savidan Y (1995) Megasporogenesis and megagametogenesis in several *Tripsacum* species (Poaceae). *Am. J. Bot.* 82: 57-63.

McClintock B (1929) A cytological and genetical study of triploid maize. *Genetics* 14: 180-222.

Savidan Y (2001) Transfer of apomixis through wide crosses. En Savidan Y, Carman JG, Dresselhaus T (Eds.) *The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering*. CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR). México. pp. 153-167.

Stebbins GL (1947) Types of polyploids: Their classification and significance. *Adv. Genet.* 1: 403-429.