

## Comportamiento cariológico de *Lolium perenne* Linn., *Lolium multiflorum* Lam. y de su $F_1$ .

POR EL ING. AGR. FULGENCIO SAURA (1)

### INTRODUCCIÓN

Cuando en una especie bajo estudio aparece esterilidad, es indudable que la cariología puede arrojar luz sobre el problema. En efecto, si bien no todos los casos de esterilidad se deben a un comportamiento irregular de los cromosomas durante la meiosis, con la consiguiente formación de gametas poco o nada viables, sin lugar a dudas, una meiosis irregular nunca puede llevar a la obtención de gametas tan viables como lo haría una meiosis normal.

Teniendo en cuenta esta circunstancia, habiendo observado algo de autoesterilidad en *Lolium perenne* y en *L. multiflorum* y conociendo el trabajo de Myers (1941) en el que registró una serie de anomalías en la microesporogénesis de *L. perenne* (el trabajo más importante realizado en esta especie, ya que en el análisis cariológico de 19 ejemplares, encontró distintas anomalías como micronúcleos, inversiones, etc.), surgió la idea de encarar el estudio de *L. perenne*, *L. multiflorum* y de los híbridos *L. perenne* x *L. multiflorum* y *L. multiflorum* x *L. perenne*, con el objeto de comprobar si las anomalías encontradas por Myers, se repetían en nuestro material.

Con este fin se estudió en metafase I el promedio de quiasmas por bivalente, número de quiasmas terminales y totales, coeficiente de terminación, bivalentes no orientados, bivalentes abiertos. En telofase I los cromosomas y cromátidas rezagados; en interfase las células con micronúcleos; en metafase II y telofase II las cromátidas no orientadas y las rezagadas, respectivamente; en cuartetos las células con micronúcleos.

Además de Myers (1941), otros autores trabajaron con las especies motivo de este estudio. Favorsky (1927) indicó  $n=7$  para *L. persicum*,

(1) Jefe del Laboratorio de Citología, Profesor de Genética y Fitotecnia.

*L. temulentum*, *L. linicola* y *L. perenne*. Nakajima (1930) coincide con los demás autores en dar  $n=7$  para *L. perenne*. Peto (1933) halló en *L. multiflorum*  $2n=14$ , Nielsen y Humphrey (1937) dieron  $2n=14$  para *L. multiflorum* y *L. perenne*. Shalygin (1941) obtuvo poliploides con colchicina, ya que las plantas obtenidas poseían 28 cromosomas ( $2n$ ) en *L. perenne* y *L. multiflorum*. También Myers (1945) obtuvo poliploidía en *L. perenne* realizando el estudio cariológico en ese autotetraploide.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Las plantas de *L. perenne* utilizadas se obtuvieron de semillas procedentes de la «Welsh Plant Breeding Sta., Penglais, Aberystwyth», de Gran Bretaña, mientras que *L. multiflorum* fué tomado de una muestra comercial. Ambos materiales fueron cedidos gentilmente por el señor profesor de forrajicultura, Ing. Agr. Gino A. Tomé.

Los híbridos se obtuvieron por castración a pinza. La polinización se efectuó colocando varios tallos de la planta utilizada como macho, en un frasquito con agua, recubriendo luego con una bolsa de papel. Este procedimiento es usado por G. Ledyard Stebbins y me fué aconsejado por el señor director del Instituto de Genética, Ing. Agr. José M. Andrés.

Para los estudios de meiosis se emplearon preparaciones obtenidas por el método habitual del carmín acético, previa fijación en Carnoy II. Para mitosis, las puntas de raicillas se fijaron en Craff y colorearon con cristal violeta.

Se analizaron 6 plantas de *L. perenne*, 4 de *L. multiflorum* y 17 de la F<sub>1</sub>. Todos los individuos tenían  $n=7$  y  $2n=14$  cromosomas.

Para simplicidad en la identificación de individuos, se emplea la siguiente denominación (la letra indica la especie o cruzamiento y el número, el individuo considerado):

- A. 1 a A. 6 plantas de *L. perenne*
- B. 1 a B. 4 » » *L. multiflorum*
- C. 1 a C. 9 » » *L. multiflorum* x *L. perenne* (1.7 x 2.10)
- D. 1 a D. 4 » » *L. multiflorum* x *L. perenne* (1.15 x 2.8)
- E. 1 a E. 4 » » *L. perenne* x *L. multiflorum* (2.8 x 1.14)

#### RESULTADOS OBTENIDOS

*Planta A. 1.* — El promedio de quiasmas totales y terminales por microsporocito en metafase I, es de 13,45 y 12,70 respectivamente, con lo que se obtuvo un coeficiente de terminalización de 0,94. El promedio de quiasmas por bivalente es de 1,92.

En metafase I, la proporción de células con bivalentes separados precozmente y de bivalentes abiertos, es decir con quiasmas en un solo brazo, es de 0,05 % y 15,71 % respectivamente.

De 200 células madres del polen (c. m. p.) revisadas en metafase I, el 8 % mostraba bivalentes no orientados, es decir fuera del ecuador de la célula.

En telofase I el 5,26 % de las células tenían cromátidas o cromosomas rezagados, mientras que en unas 100 células de interfase, no se halló una sola con micronúcleos.

De 166 microesporocitos en cuartetos, el 1,2 % tenía micronúcleos.

*Planta A. 2.* — En metafase I el 1,61 % de las CMP tenía bivalentes separados precozmente y el 4,69 % poseía bivalentes no orientados.

En telofase I se halló 10,26 % de los microesporocitos con rezagados, y el 2,02 % de las células en interfase mostró micronúcleos.

En metafase II el 3,22 % de las células madres tenía cromátidas fuera del ecuador; en telofase II el 20,83 % mostraba cromátidas rezagadas y en cuartetos el 3,27 % de los 214 microesporocitos, tenía micronúcleos.

Esta planta era heterocigota para por lo menos una inversión.

*Planta A. 3.* — El promedio de quiasmas por CMP (totales y terminales) es de 12 y 11,80, de modo que el coeficiente de terminalización es 0,98. Como promedio cada bivalente tiene 1,72 quiasmas.

Siempre en metafase I, el 10 % de las células poseía un bivalente separado precozmente y el 29,28 % de los bivalentes eran abiertos.

En 61 células observadas, el 8,95 % tenía bivalentes no orientados. De 169 microesporocitos estudiados en telofase I, el 2,31 % presentaba cromosomas o cromátidas rezagados y en interfase de 200 células solamente el 0,05 % tenía micronúcleos.

En metafase II, el 13,63 % de las CMP tenía cromátidas no orientadas y en cuartetos el 9,71 % mostró micronúcleos.

En anafase I se hallaron células con puente o puente y fragmento, lo cual indica que la planta es heterocigota para por lo menos una inversión. El 1,56 % de las células en telofase I tenía puente dicéntrico y fragmento.

*Planta A. 4.* — Esta planta mostró un coeficiente de terminación altísimo (0,99), ya que el promedio de quiasmas totales y terminales fué de 12,10 y 12,00. El promedio de quiasmas por bivalente fué 1,73; el 5 % de las CMP tenía bivalentes precozmente separados y no se observaron bivalentes no orientados. El 12,14 % de los bivalentes tenía quiasmas en un solo brazo.

En telofase I el 1,48 % de las células tenía rezagados y en interfase el 1,27 % presentaba micronúcleos.

En telofase II y cuartetos se registraron 2,13 % de células con cromátidas rezagadas y 2,11 % con células con micronúcleos.

*Planta A. 5.* — En metafase I solamente pudo estudiarse el % de CMP con bivalentes separados precozmente y con no orientados (1,66 y 10,61 % respectivamente).

Se halló 1,35 % de microesporocitos con rezagados en telofase I y 3,22 % con micronúcleos en interfase.

En cuartetos, el 4,47 % de las células tenía micronúcleos.

*Planta A. 6.* — El promedio de quiasmas por células, totales, terminales y coeficiente de terminalización, es, respectivamente: 13,30, 13 y 0,97. El promedio de quiasmas por bivalente es de 1,90.

No se hallaron bivalentes separados precozmente. El 13,57 % de los bivalentes era de tipo abierto y el 0,64 % de las células tenía bivalentes no orientados.

En 186 células de telofase no se hallaron cromosomas o cromátidas rezagados, pero en cambio el 2,15 % de ellas tenía puente de inversión o puente y fragmento. En anafase I también se hallaron puentes y puente más fragmento.

*Plantas B. 1 a B. 4.* — En *Lolium multiflorum* solamente se estudiaron unos pocos estados.

La planta B. 1 tenía 10 % de células madres del polen con micronúcleos. Las B. 2, 3 y 4 no tenían micronúcleos. Las cuatro plantas eran normales en telofase I, interfase, metafase II y telofase II.

*Planta C. 1.* — La pequeña cantidad de material fijado impidió llevar a cabo observaciones completas; ello es más lamentable todavía por el hecho de que lo poco observado mostró anomalías en cantidad. Así, el 82,44 % de las células en telofase I presentaba cromosomas o cromátidas rezagados y en cuartetos, el 54,71 % tenía micronúcleos. En telofase II más o menos la mitad de las células también presentaba elementos rezagados.

*Planta C. 2.* — En este individuo había pocas anomalías: 0,73 % de células en telofase I con retrasados y sin micronúcleos en interfase. No se registraron retrasadas en telofase II y en cuartetos, apenas el 0,99 % de las células tenía micronúcleos.

*Planta C. 3.* — El promedio de quiasmas totales en metafase I fué de 12,85 %, el de terminales 12,30 y el coeficiente de terminalización 0,96. El 5 % de las CMP tenía bivalentes precozmente separados y el 0,59 % poseía bivalentes no orientados. Se anotó 17,14 % de bivalentes abiertos.

No se registraron anomalías en telofase I ni en metafase II. En

telofase II había cromátidas retrasadas en el 1,55 % de los casos y en cuartetos el 5,55 % de las células mostró micronúcleos.

*Planta C. 4.* — Con un promedio de quiasmas totales de 12,35 y de terminales 12,15 se obtuvo un coeficiente de 0,98. No aparecieron bivalentes separados precozmente, pero el 1,75 % de las células tenía bivalentes no orientados. El 26,42 % de los bivalentes era de tipo abierto.

De 209 células en telofase I, el 3,24 % tenía elementos rezagados y 0,95 % tenía puente de inversión. En interfase 1,69 % de las CMP tenía micronúcleos.

En metafase II el 1,41 % y en telofase II el 7,44 % mostraron anomalías. En cuartetos el 7,97 % tenía micronúcleos.

*Planta C. 5.* — El promedio de quiasmas por CMP, totales y terminales, fué de 13,55 y 13,05 respectivamente, con lo que el coeficiente de terminización fué de 0,96. El promedio de quiasmas por bivalente era de 1,93. No se encontraron anomalías del tipo de bivalentes separados precozmente o de bivalentes no orientados. El porcentaje de bivalentes abiertos ascendió a 13,57 %.

En cuartetos se halló 2,52 % de células con micronúcleos.

*Planta C. 6.* — El promedio de quiasmas totales y terminales por CMP fué de 13,40 y 13,20, con lo que el coeficiente llegó a 0,98. Se obtuvo 1,91 como promedio de quiasmas por bivalente. No se observaron bivalentes separados precozmente y de 124 células en metafase I, se hallaron 0,80 % con bivalentes no orientados. En telofase I el 2,02 % poseía cromosomas o cromátidas retrasados.

De 3,51 % de células con anomalías en telofase II, se llegó a cuartetos con 1,26 % de células con micronúcleos.

*Planta C. 7.* — El promedio de quiasmas totales fué de 13,75, el de terminales 13,30 y el coeficiente 0,97. El promedio de quiasmas por bivalente fué de 1,96.

El 0,83 % de los microesporocitos tenía bivalentes separados precozmente y el 11,42 % de los bivalentes era de tipo abierto.

En telofase I se encontró 0,69 de células con rezagados y en telofase II ascendió a 23,53 %. En metafase II el 3,22 % tenía cromátidas no orientadas y el 8,71 % de las células en cuarteto, poseía micronúcleos.

*Planta C. 8.* — Se obtuvo la cifra 12,10 como promedio de quiasmas totales por CMP y la de 11,60 para terminales. El coeficiente de terminización fué de 0,95 y el promedio de quiasmas por bivalente 1,73.

El 20 % de las células en metafase I mostró bivalentes separados precozmente; en cambio no se observaron bivalentes no orientados. La proporción de bivalentes abiertos fué de 31,42 %.

El 30 % de las células en cuarteto, tenía micronúcleos.

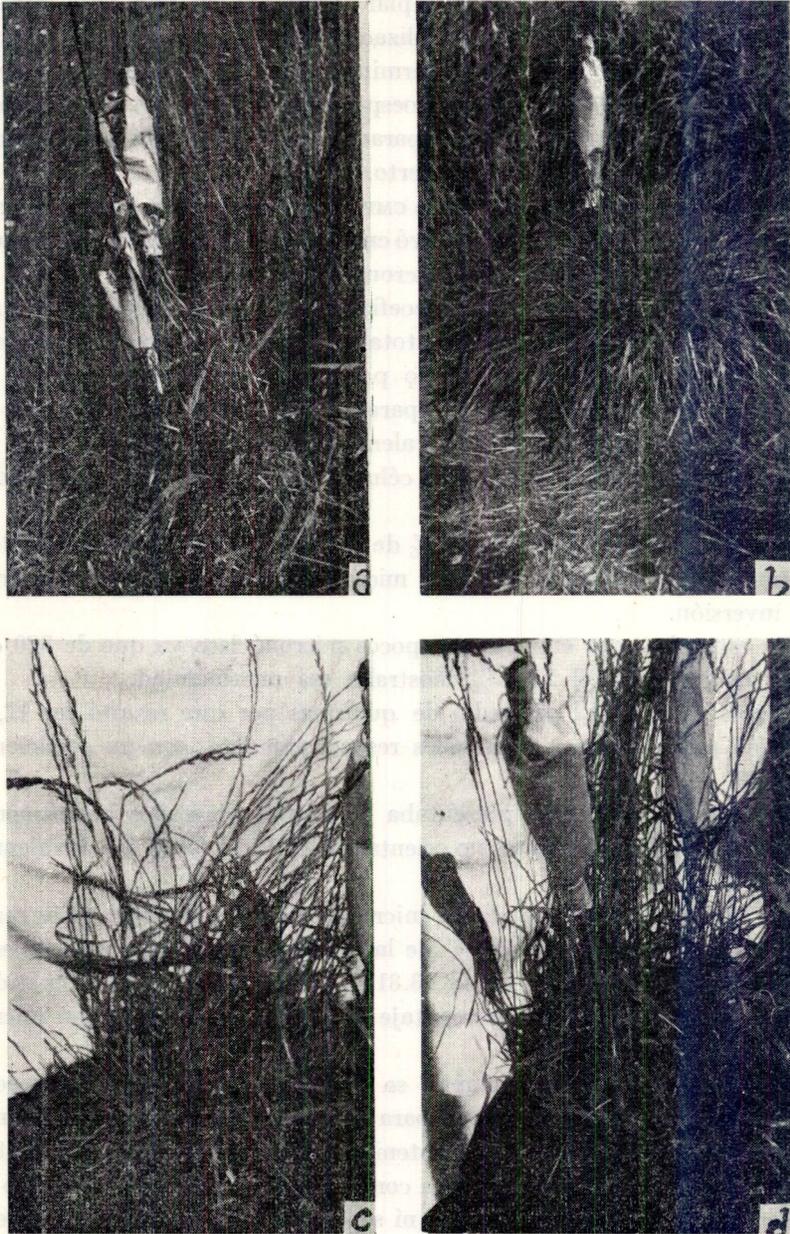


Fig. — a) *Lolium multiflorum*; b) *Lolium perenne*; (A. 1); *L. perenne* x *L. multiflorum*: (E. 2). Puede observarse que las plantas [de F<sub>1</sub> se asemejan a *L. multiflorum*; d) planta E. 4.

*Planta C. 9.* — El último ejemplar estudiado en esta serie, mostró un altísimo coeficiente de terminalización (0,99) ya que el promedio de quiasmas total es de 12,40 y de terminales 12,25. El promedio por bivalente era 1,77; el 1,96 % de los microesporocitos tenía bivalentes no orientados, el 5 % mostró bivalentes separados precozmente. La cuarta parte de los bivalentes era de tipo abierto.

En telofase I se halló 26,19 % de CMP con anomalías y aproximadamente lo mismo (28,85 %) se observó en telofase II. Los cuartetos presentaron 31,65 % de células con micronúcleos.

*Planta D. 1.* — Se obtuvo un coeficiente de terminalización de 0,99 ya que el promedio de quiasmas totales y terminales por microesporocito fué 12,70 y 12,55. El promedio por bivalente resultó 1,81. El 10 % de las células mostró bivalentes separados precozmente y 0,38 % con no orientados. El 10,41 % de los bivalentes era de tipo abierto.

En telofase I había 2,59 % de células con cromosomas o cromátidas rezagadas.

En telofase II se registró 1,49 % de células con cromátidas rezagadas, mientras que en el 0,75 % de los microesporocitos aparecieron puentes de inversión.

En esta planta se encontraron pocos micronúcleos ya que de 320 células en cuarteto, el 2,82 % mostraba esa anomalía.

*Planta D. 2.* — El promedio de quiasmas por CMP resultó ser 12,90 y 12,65 para totales y terminales respectivamente, con un coeficiente de 0,98.

El 5 % de las células presentaba bivalentes separados precozmente y el 0,59 % tenía bivalentes no orientados. El 17,14 % de los bivalentes era de tipo abierto.

En telofase I el 14,5 % de los microesporocitos tenía elementos rezagados y en interfase el 15,66 % de las células presentaba micronúcleos.

En telofase II se registró un 13,81 % de las células con cromátidas rezagadas mientras que el porcentaje de células en cuarteto con micronúcleos fué de 3,43 %.

*Planta D. 3.* — Como siempre, se trató de determinar el promedio de quiasmas totales y terminales, para en base a ellos hallar el coeficiente de terminalización; los valores obtenidos fueron respectivamente 12,80, 12,50 y 0,98. Cada bivalente tenía como promedio 1,82 quiasmas. No se hallaron bivalentes no orientados ni separados precozmente. El número de bivalentes abiertos fué de 23,57 %.

El 1,53 % de los microesporocitos en telofase I, tenía rezagados, mientras que en interfase no se observaron células con micronúcleos.

Tampoco se notaron anomalías en las 165 células estudiadas en

metafase II, pero sí en telofase II, desde que se obtuvo la elevada cifra de 63,04 % de células con cromátidas rezagadas. No se hicieron registros de cuartetos, pero el escaso material revisado demostró la presencia de micronúcleos.

*Planta D. 4.* — El promedio de quiasmas terminales era de 12,60; el de totales 12,90 y el coeficiente 0,98. El promedio de quiasmas por bivalente llegó a 1,84; no se observaron bivalentes separados precozmente; el 0,83 % tenía bivalentes no orientados y el 17,85 % de los bivalentes era de tipo abierto.

Esta planta resultó ser heterocigota para por lo menos una inversión, ya que de 248 células estudiadas, junto con 3,87 % de microesporocitos con cromosomas o cromátidas rezagadas, se encontró 4,61 % de células con puentes.

En telofase II había 26,67 % de células con cromátidas rezagadas y en cuartetos 13,33 % con micronúcleos.

*Planta E. 1.* — El promedio de quiasmas por CMP, de totales y terminales, es de 12,05 y 11,90 por lo que el coeficiente de terminalización es de 0,98. El promedio de quiasmas por bivalente es de 1,72 y el 0,92 % de las células tiene bivalentes separados precozmente. Una cifra similar se obtuvo para porcentaje de bivalentes no orientados.

La cuarta parte de los bivalentes (25,71 %) era de tipo abierto.

No se observaron anormalidades en telofase I, interfase ni en metafase II.

De 221 células en cuarteto, el 4,33 % tenía micronúcleos.

*Planta E. 2.* — Se tomaron las siguientes observaciones en metafase I. Promedio de quiasmas = 12,50 y 12,45; coeficiente de terminalización = 0,99. Promedio de quiasmas por bivalente = 1,78; no se observaron bivalentes separados precozmente ni no orientados. El 23,54 % de los bivalentes era de tipo abierto.

En metafase II se halló 3,26 % de las células con cromátidas no orientadas; en telofase II había 1,75 % con cromátidas rezagadas y en cuartetos el 6,84 % de las CMP tenía micronúcleos.

*Planta E. 3.* — Promedios de quiasmas = 13,25 y 12,90; coeficiente de terminalización = 0,97. Promedio de quiasmas por bivalente = 1,89.

El porcentaje de células con bivalentes separados precozmente y con no orientados es de 5 % y 0,80 %, respectivamente.

En telofase I no se registraron elementos rezagados, pero en cambio aparecieron 0,69 % de células con puente y fragmento, con lo cual demostraron ser heterocigotas para una inversión. En interfase, el 1,82 % de las células poseía micronúcleos.

No se observaron anormalidades en metafase II; tampoco hubo cro-

mátidas rezagadas en telofase II, pero un 0,61 % de las células mostraba puente de inversión. En cuartetos se halló 4,10 % de células con micro-núcleos.

*Planta E. 4.* — Los quiasmas totales, terminales y coeficiente de terminalización registrados, fueron: 13,40, 13,10 y 0,98. El promedio por bivalente resultó de 1,91. No se registraron bivalentes no orientados y un 0,96 % de los microesporocitos tenía bivalentes precozmente separados. Los bivalentes abiertos representaban el 12,85 % del total.

En telofase I no había elementos rezagados, pero el 3,81 % de las células tenía puentes de inversión. En cuartetos, 1,28 % tenían micro-núcleos.

Cuadro 1. Frecuencia de quiasmas, bivalentes separados precozmente y bivalentes abiertos (en metafase I)

Planta	Promedio de quiasmas por C.M.P.			Coeficiente de terminalización	Células con bivalentes separados precozmente %	Bivalentes abiertos %
	por bivalente	totales	terminales			
A.1	1,92	13,45	12,70	0,94	0,05	15,71
A.3	1,72	12,00	11,80	0,98	10,00	29,29
A.4	1,73	12,10	12,00	0,99	5,00	12,14
A.6	1,90	13,30	13,00	0,97	0,00	13,57
C.3	1,83	12,85	12,30	0,96	5,00	17,14
C.4	1,76	12,35	12,15	0,98	0,00	26,42
C.5	1,93	13,55	13,05	0,96	0,00	13,57
C.6	1,91	13,40	13,20	0,98	0,00	11,42
C.7	1,96	13,75	13,30	0,97	0,83	11,42
C.8	1,73	12,10	11,60	0,95	20,00	31,42
C.9	1,77	12,40	12,25	0,99	5,00	25,00
D.1	1,81	12,70	12,55	0,99	10,00	10,41
D.2	1,84	12,90	12,65	0,98	5,00	17,14
D.3	1,82	12,80	12,50	0,98	0,00	23,57
D.4	1,84	12,90	12,60	0,98	0,00	17,85
E.1	1,72	12,05	11,90	0,98	0,92	25,71
E.2	1,78	12,50	12,45	0,99	0,00	23,54
E.3	1,89	13,25	12,90	0,97	5,00	14,28
E.4	1,91	13,40	13,10	0,98	0,96	12,85

## DISCUSIÓN

Como puede apreciarse en el cuadro 1, no hay grandes diferencias en el promedio de quiasmas por bivalente, entre *L. perenne* y los híbridos; solamente los individuos D. 1 a D. 4 mostraron bastante uniformidad. En cambio los restantes ejemplares variaron entre 1,72 y 1,96. Parece que la variación es mayor entre individuos de un mismo grupo, que entre grupos. En cuanto a coeficiente de terminalización, bivalentes abiertos y bivalentes no orientados, pueden hacerse idénticas consideraciones, como se observa a continuación:

Grupo	Promedio de quiasmas por bivalente.	Coefficiente de terminalización	CMP con bivalentes abiertos	CMP con bivalentes no orientad.
A	1,72 a 1,92	0,94 a 0,99	12,14 a 29,29 %	0 a 10,61 %
C	1,73 a 1,96	0,95 a 0,99	11,42 a 31,42 %	0 a 1,96 %
D	1,81 a 1,84	0,98 a 0,99	10,41 a 23,57 %	0 a 0,83 %
E	1,72 a 1,91	0,97 a 0,99	12,85 a 25,71 %	0 a 0,92 %

Es dable observar que el promedio de quiasmas por bivalente no llega a 2. En general las plantas con mayor promedio de quiasmas coinciden con una menor proporción de bivalentes abiertos (con quiasmas en un

Cuadro 2. *Bivalentes no orientados en metafase I.*

Planta	CMP observadas	CMP con bivalentes no orientados
A.1	200	8,00
A.2	64	4,69
A.3	67	8,95
A.4	20	0,00
A.5	63	10,61
A.6	155	0,64
C.3	168	0,69
C.4	116	1,75
C.5	130	0,00
C.6	125	0,80
C.9	153	1,96
D.1	260	0,38
D.2	167	0,59
D.3	130	0,00
D.4	121	0,83
E.1	109	0,92
E.2	100	0,00
E.3	125	0,80
E.4	103	0,00

Total 2.376 células

solo brazo). Sin embargo, la planta D. 1 tiene el porcentaje más bajo de bivalentes abiertos y al mismo tiempo un promedio de quiasmas por bivalente de 1,81; ello se debe al alto número de células con bivalentes separados precozmente. Logicamente, las plantas con muchos bivalentes abiertos en general tienen menor promedio de quiasmas. En la mayoría de los casos, los bivalentes abiertos tienen un quiasma en un solo brazo y en muy pocas ocasiones se observaron dos quiasmas en un brazo.

El coeficiente de terminalización es muy alto, lo cual indica que casi todos los quiasmas se encuentran en los extremos de los cromosomas a esta altura de la meiosis, cosa perfectamente normal en la mayor parte

de las especies. Una gran proporción de los bivalentes tenía un quiasma en cada brazo, menos tenían dos y uno, y en muy contados casos se registraron dos quiasmas en cada brazo.

Para estas determinaciones se trabajó con 20 microesporocitos por cada planta.

En el cuadro 2 se registraron los bivalentes no orientados en metafase I. De las plantas estudiadas con ese objeto, se hallaron cinco normales (A. 4, C. 5, D. 3, E. 2 y E. 4). Las demás poseían bivalentes no orientados, es decir fuera del ecuador de la células, en proporciones de hasta el

Cuadro 3. Telofase I con cromosomas o cromátidas rezagadas e Interfase con micronúcleos

Planta	Telofase I		Interfase	
	CMP observadas	% CMP con cromosomas o cromátidas rezagadas	CMP observadas	% CMP con micronúcleos
A.1	19	5,26	100	0,00
A.2	39	10,26	99	2,02
A.3	176	3,97	200	0,05
A.4	137	1,48	161	1,27
A.5	74	1,35	31	3,22
A.6	182	0,00	159	1,26
C.1	131	82,44	—	—
C.2	136	0,73	—	—
C.3	164	0,00	—	—
C.4	216	3,24	118	1,69
C.6	247	2,02	106	0,00
C.7	146	0,68	—	—
C.9	84	26,19	—	—
D.1	116	2,59	—	—
D.2	35	14,30	87	15,66
D.3	196	1,53	31	0,00
D.4	258	3,87	—	—
E.1	106	0,00	128	0,00
E.3	143	0,00	165	1,82
E.4	101	0,00	—	—
	Total 2.706 células		Total 1.385 células	

10 % de los microesporocitos. En todos los casos se trataba de un solo bivalente no orientado en cada célula.

La presencia de micronúcleos en interfase y cuartetos, puede ser debida a cromosomas o cromátidas rezagados, es decir que en anafase no se mueven con igual velocidad que los restantes compañeros y entonces pueden no llegar a tiempo de formar parte de los núcleos hijos.

En telofase I generalmente se trata de un solo par de cromosomas afectado, de modo que puede observarse un cromosoma dirigiéndose lentamente (con relación a los demás) hacia cada polo; pero en la mayor parte

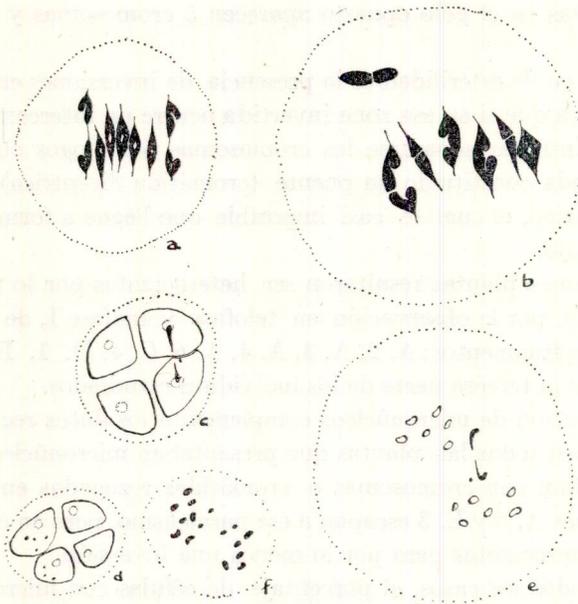


Figura 2. — a) planta A. 2, metafase normal, con siete bivalentes, x 750 b) planta A. 1, metafase I común bivalente no orientado, x 1.125; c) planta A. 1, cuarteto con puente de inversión, x 350; d) planta A. 2, cuarteto mostrando micronúcleos en dos células, x 350; e) planta A. 2, anafase I con un puente de inversión y fragmento, x 750; f) planta D 3, anafase I mostrando en un polo siete cromosomas y dos cromátidas y en el opuesto, cinco cromosomas y dos cromátidas, x 400

de los casos cada cromosoma se divide ecuacionalmente y las cromátidas van hacia los polos. En ocasiones excepcionales, por ejemplo en la planta C. 9, se observaron seis cromátidas retrasadas.

Alguna vez se observó en final de anafase o principio de telofase distintos números de cromosomas en cada polo. La fig. 2, f. ilustra una célula en anafase I en la planta D. 3, con 7 cromosomas y dos cromátidas en un polo, mientras en el polo opuesto aparecen 5 cromosomas y dos cromátidas.

Otro motivo de esterilidad es la presencia de inversiones en estado heterocigota, ya que si en esa zona invertida ocurre un intercambio de cromatina, al intentar separarse los cromosomas homólogos en anafase y telofase, queda constituido un puente (cromátida dicéntrica) y un fragmento acéntrico, el cual es casi imposible que llegue a formar parte de un núcleo hijo.

Las siguientes plantas resultaron ser heterocigotas por lo menos para una inversión, por la observación en telofase y anafase I, de cromátidas dicéntricas y fragmentos; A. 2, A. 3, A. 4, A. 6, C. 4, D. 1, D. 4, E. 3 y E. 4, es decir la tercera parte de los individuos estudiados.

La observación de micronúcleos complementa los datos registrados en telofase I; casi todas las plantas que presentaban micronúcleos en interfase, coincidían con cromosomas o cromátidas rezagadas en telofase I. Los individuos A. 6 y E. 3 escapan a ese paralelismo, pero en cambio acusaron ser heterocigotas para por lo menos una inversión.

En casi todos los casos, el porcentaje de células con micronúcleos en interfase es menor que el de microesporocitos anormales en telofase I, ya que muchos de los cromosomas o cromátidas rezagados pueden alcanzar a formar parte de las células hijas.

El número de cromátidas no orientadas en metafase II, varió entre una en una sola de las células hasta dos en cada una de las células resultantes de la primera división.

Posiblemente esas mismas cromátidas adelantadas en metafase II son las que aparecen retrasadas en telofase II, quizás por estar fuera del control normal de los cromosomas y cromátidas regulares.

En las dos plantas de *L. multiflorum* estudiadas, juntamente con los ejemplares C. 2 y E. 3, se registró el mínimo de cromátidas rezagadas (0) y en D. 3 el máximo (63,04 %). Lamentablemente no pudo hacerse un recuento numeroso en cuartetos en esta última planta, pero las pocas células revisadas demostraron la presencia frecuente de micronúcleos.

En algunos individuos se observaron puentes de inversión en telofase II (D. 1 y E. 3). Estos puentes en segunda división se deben a que en una planta heterocigota para una inversión, puede ocurrir un intercambio

simple dentro de la zona invertida y otro entre esa zona y el centrómero. Como resultado, en anafase I se verá un fragmento, pero no un puente porque la cromátida dicéntrica irá con sus dos centrómeros a un polo. En anafase y telofase II es posible ver un puente en una célula y el fragmento puede o no observarse en la hermana. En cuartetos aún es posible ver en ciertas circunstancias el puente, a veces ya roto (fig. 2, c).

Cuadro 4. Metafase II con cromátidas no orientadas, telofase II con cromátidas rezagadas y cuartetos con micronúcleos.

Planta	Metafase II		Telifase II		Cuartetos	
	CMP observadas	% CMP con cromátidas no orientadas	CMP observadas	% CMP con cromátidas rezagadas	CMP observadas	% CMP con micronúcleos
A.1	—	—	—	—	166	1,20
A.2	31	3,22	48	20,83	214	3,27
A.3	22	13,63	—	—	278	9,71
A.4	—	—	94	2,13	237	2,11
A.5	—	—	—	—	291	4,47
A.6	—	—	—	—	122	1,64
B.1	—	—	—	—	197	10,00
B.2	—	—	—	—	80	0,00
B.3	150	0,00	150	0,00	210	0,00
B.4	—	—	60	0,00	120	0,00
C.1	—	—	—	—	53	54,71
C.2	—	—	46	0,00	303	0,99
C.3	42	0,00	129	1,55	162	5,55
C.4	142	1,41	121	7,44	163	7,97
C.5	—	—	—	—	278	2,52
C.6	—	—	171	3,51	395	1,26
C.7	31	3,22	102	23,53	264	8,71
C.8	—	—	—	—	64	30,00
C.9	—	—	52	28,85	137	31,65
D.1	—	—	134	1,49	340	2,82
D.2	—	—	210	13,81	262	3,43
D.3	165	0,00	46	63,04	—	—
D.4	116	2,59	75	26,67	163	13,33
E.1	100	0,00	—	—	231	4,33
E.2	92	3,26	57	1,75	263	6,84
E.3	55	0,00	164	0,00	122	4,10
E.4	—	—	—	—	235	1,28
Tota células	946	—	1.659	—	5.350	—

La presencia de micronúcleos en los cuartetos, debe considerarse necesariamente como una causa de falta de fertilidad de las gametas, ya que como muy bien lo indica Love (1949) «los micronúcleos se han formado por cromosomas rezagados que no quedaron incluidos en los núcleos de polen joven; normalmente estos micronúcleos degeneran y se pierden».

Si consideramos que esos micronúcleos se deben a cromosomas que no alcanzaron a formar parte de un núcleo en los granos de polen y que la gameta masculina puede considerarse constituida casi exclusivamente por material nuclear, los cuartos con micronúcleos darán origen a gametas a las que les faltará los genes ubicados en esos micronúcleos (siempre que esos cromosomas retrasados pertenezcan a ese mismo núcleo y no a sus hermanos). Sin duda tal deficiencia génica será perjudicial y puede traducirse en esterilidad del polen.

Si bien por razones de brevedad, en el cuadro 4 solamente se mencionan «Cuartetos con micronúcleos», el registro se hizo con mayor detalle, ya que en cada planta se fué anotando el número de células que presentaban un micronúcleo en cada célula del cuarteto, dos en una y dos en

Cuadro 5. Fertilidad teórica de los granos de polen.

Planta	% de granos «fértiles»	Planta	% de granos «fértiles»
A.1	85,0	C.5	62,9
A.2	93,3	C.6	50,0
A.4	74,8	C.7	55,8
A.5	84,9	C.8	44,6
A.6	87,5	C.9	25,0
B.1	62,7	D.1	73,2
B.2	35,3	D.2	37,5
B.3	15,2	D.3	38,7
B.4	17,5	D.4	76,0
C.1	67,2	E.1	76,3
C.2	66,6	E.2	56,3
C.3	78,7	E.3	83,4
C.4	41,0	E.4	92,4

otra, uno y tres, uno, dos y uno, etc. En la planta D. 1, de las nueve células con micronúcleos, una tenía en un cuarto, uno en otro, cuatro en el tercero y cero en el último cuarto del mismo microesporocito.

La cantidad de CMP con micronúcleos varió en *L. multiflorum* desde 0 a 10 %; en *L. perenne* de 1,2 a 9,71 %; en los híbridos en que se empleó *perenne* como hembra desde 1,28 a 6,84 %; en una serie de híbridos en que se utilizó *multiflorum* como madre se obtuvo de 0 a 54,71 %, hallándose dos ejemplares con 30 y 31,65 %; en la segunda serie de 2,82 a 13,33.

De los estudios realizados se deduce que la presencia de micronúcleos se debe en primer lugar a un par de cromosomas que parecería estar fuera del control habitual en la meiosis. De tal modo en anafase I esos cromosomas quedan retrasados con respecto a los demás miembros del juego y en la mayoría de las ocasiones, se los puede ver dividiéndose ecuacionalmente en la placa ecuatorial de la célula, para dirigirse luego a los po-

los, siempre retrasados. En metafase II se los observa fuera del ecuador y en telofase II aparecen retrasados. Algunas de esas cromátidas pueden sin embargo llegar a los polos, a tiempo para formar parte de los núcleos hijos, pero otras no los alcanzan y constituyen micronúcleos observables en las células de los cuartetos.

Esas células pueden entonces tener cromosomas en defecto o en exceso, según la dirección seguida por los cromosomas en cuestión y por lo tanto llevarán genes en cantidades distintas de las normales, lo cual puede ser causa de infertilidad, por el desequilibrio génico producido.

En algunos casos puede estar involucrado en este proceso más de un par de cromosomas.

La fertilidad teórica de los granos de polen, medida con iodo, puede observarse en el cuadro 5. Se consideraron en la categoría Fértiles a los que mostraban más de la mitad del grano con reservas. Sin embargo es dudoso que muchos de los granos «fértiles» lleguen a germinar o fecundar. En realidad muy pocos granos eran completamente llenos; se hallaron de tres tamaños, siendo más abundantes los medianos y grandes.

Parecería que *Lolium multiflorum* es de comportamiento cariológico más normal que el resto del material estudiado, pero será necesario estudiar esta especie con mayor detenimiento. No hay grandes diferencias cariológicas entre *L. perenne* y los híbridos.

En lo que se refiere a hábito vegetativo, duración y forma de la lámina en los renuevos, los individuos de F1 se comportaron en forma similar a *L. multiflorum*.

#### RESUMEN

Se estudió el comportamiento cariológico de 27 plantas en *Lolium* (6 individuos de *L. perenne*, 4 de *L. multiflorum*, 4 híbridos de *L. perenne* x *L. multiflorum* y 13 de *L. multiflorum* x *L. perenne*).

Para el análisis de meiosis se empleó el método de carmín acético y para mitosis las puntas de raicillas se fijaron en Craif y colorearon con cristal violeta.

Se determinó en metafase I el promedio de quiasmas por bivalente, quiasmas totales, quiasmas terminales, coeficiente de terminalización, bivalentes no orientados, bivalentes abiertos y bivalentes separados precozmente.

En telofase I se registró la cantidad de CMP con cromosomas o cromátidas rezagadas y en interfase las células con micronúcleos.

En metafase II se observaron cromátidas no orientadas en muchos individuos; en telofase II cromátidas rezagadas y en cuartetos, micronúcleos.

Algunas de las plantas (9 de las 27 estudiadas) resultaron ser heterocigotas para por lo menos una inversión.

Se llega a la conclusión de que en este material, los micronúcleos se deben casi exclusivamente a un par de cromosomas que en anafase y telofase aparecen retrasados con respecto a los demás. Contribuyen así a la menor fertilidad del polen.

Desde el punto de vista cariológico parecería que no hay diferencias grandes entre *L. perenne* y los híbridos. En realidad existen diferencias mayores entre individuos de un mismo grupo que entre grupos. En cambio, *L. multiflorum* parece más normal que todo lo demás.

#### SUMMARY

The karyological behavior of 27 plants of *Lolium* (6 of *L. perenne*, 4 of *L. multiflorum*, 4 hybrids of *L. perenne* x *L. multiflorum* and 13 hybrids of *L. multiflorum* x *L. perenne*, has been studied.

The acetocarmine method has been used for meiosis; root tips were fixed with CRAF and stained with crystal violet, for mitosis.

Determinations has been made in metaphase I for average number of chiasmata by bivalent, total and terminal chiasmata, the coefficient of terminalization, non orientated bivalents, open bivalents, bivalents loosely attached.

Telophase I pollen mother cells were examined for lagging chromosomes and chromatids, and interphase P. M. C. for number of micronuclei.

In the second meiotic division, the study of lagging chromatids and quartets with micronuclei, has been made.

The presence of dicentric bridges and acentric fragments indicated that nine of the twenty seven plants were heterozygous for inversions.

In this material, the micronuclei were attributed principally to one pair of chromosomes lagging in anaphase and telophase. They contribute to low pollen fertility.

It seems to the author that there are not karyological differences between *L. perenne* and their hybrids. There are more differences among individuals of each group than among groups.

*L. multiflorum* seems more normal than the remaining plants.

The chromosome number for all plants is  $n=7$  and  $2n=14$ .

## BIBLIOGRAFIA

1. FAVORSKY, N., 1927. Vergleichende karyologische Untersuchungen einiger Arten von *Lolium*. Zeitschr. Wiss. Biol. Abt. E. Planta 3 (2/3): 282-91.
2. NAKAJIMA, G., 1930. On the chromosome number in some agriculture plants. Japan. J. Genet. 5:172-6.
3. PETO, F. H., 1933. The cytology of certain intergeneric hybrids between *Festuca* and *Lolium*. Jour. Genetics 28:113-56.
4. NIELSEN, E. and L. M. HUMPHREY., 1937. Grass studies. I. Chromosome number in certain members of the tribes Festuceae, Hordeae, Aveneae, Agrostideae, Chlorideae, Phalarideae and Tripsaceae. Am. J. Bot. 26:276-9.
5. SHALYGIN, I. N., 1941. Production of tetraploids in *Lolium* by treating germinating seeds with colchicine. Comp. Rend. (Doklady) Acad. Sci. U.R.S.S. 30:527-29.
6. MYERS, W. M., 1941. Variations in chromosome behavior during meiosis among plants of *Lolium perenne*. Cytología 11:388-406.
7. — 1945. Meiosis in autotetraploid *Lolium perenne* in relation to chromosomal behavior in autopolyploids. Bot. Gaz. 106:304-16.
8. LOVE, R. M., 1949. La citología como ayuda práctica al mejoramiento de los cereales. Rev. Arg. de Agron. 16:1-13.