

## EVALUACIÓN CARIOTÍPICA DE SIETE ESPECIES DE *ALOE* L. (XANTHORRHOACEAE)

### Karyotypic evaluation of seven species of *Aloe* L. (Xanthorrhoeaceae)

Patricia VELÁSQUEZ VOTTELERD  
y José IMERY BUIZA

Universidad de Oriente, Escuela de Ciencias,  
Departamento de Biología, Laboratorio de Genética  
Vegetal, Apartado 245, Cumaná 6101. Venezuela  
joseimery@gmail.com

#### RESUMEN

Se analizó el cariotipo de *Aloe vera*, *A. maculata*, *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. zebrina*, *A. lutescens* y *A. jacksonii*. Los meristemas radicales fueron tratados con colchicina, Carnoy I, HCl, y teñidos con orceína acética. Se realizaron cariogramas y se establecieron relaciones fenéticas entre las especies. Todas presentaron cariotipos bimodales, las seis primeras con  $2n = 2 \times = 14$ , y *A. jacksonii* con  $2n = 4 \times = 28$  cromosomas. Los centrómeros se ubicaron en posición submedia-subterminal en los cromosomas grandes (L) y media-submedia en los pequeños (S). Las constricciones secundarias se localizaron en los brazos largos de  $L_1$  (*A. vera*),  $L_3$ - $L_4$  (*A. littoralis* y *A. jucunda*) y  $L_4$  (7 especies), y en los brazos cortos de  $S_1$  (*A. vera*, *A. maculata* y *A. jacksonii*). El análisis de agrupamiento mostró diferente similitud cariológica entre las especies estudiadas.

**Palabras clave:** *Aloe*, cariotipo, constricciones secundarias, cromosomas

#### ABSTRACT

Karyotype from the species *Aloe vera*, *A. maculata*, *A. littoralis*, *A. jucunda*, *A. zebrina*, *A. lutescens* y *A. jacksonii* were analyzed. Root tips were treated with colchicine, Carnoy I, HCl and stained with acetic orcein. Karyograms and phenetic relationships were established among species. Bimodal karyotypes were found in all species, the first six with  $2n = 2 \times = 14$  chromosomes, and *A. jacksonii* with  $2n = 4 \times = 28$ . Centromeres in L pairs were located in submedian-subterminal position and median-submedian position in S pairs. Secondary constrictions were localized on long arms of  $L_1$  (*A. vera*),  $L_3$ - $L_4$  (*A. littoralis* and *A. jucunda*) and  $L_4$  (7 species), and in short arms of  $S_1$  (*A. vera*, *A. maculata* and *A. jacksonii*). Cluster analysis showed different karyological similarity between the studied species.

**Key words:** *Aloe*, chromosomes, karyotype, secondary constrictions

#### INTRODUCCIÓN

El género *Aloe* L. (1753) agrupa a plantas perennes de hojas suculentas que se disponen formando rosetas en la base del tallo. Incluye aproximadamente 400 especies nativas de África, península de Arabia e islas del océano Índico (Smith & Van Wyk 2008), las cuales han sido naturalizadas y cultivadas extensamente en

muchas partes del mundo para su aprovechamiento en el campo de la medicina y la cosmética, así como también por su valor ornamental (Salmerón 2006). Por lo general, son diploides con un número cromosómico de  $2n = 14$  y poseen un cariotipo bimodal, con una estructura genómica básica ( $\times = 7$ ) de cuatro pares de cromosomas grandes ( $L$ ), uno submetacéntrico o acrocéntrico ( $L_1$ ) y tres acrocéntricos ( $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$ ), y tres pares de cromosomas acrocéntricos pequeños ( $S_1$ ,  $S_2$  y  $S_3$ ) (Brandham & Doherty 1998).

La citogenética ha contribuido a mejorar numerosas características de importancia económica al proporcionar atributos cariológicos de las especies vegetales para crear cultivos con mejor calidad en cuanto a biomasa, contenido nutricional y tolerancia a patógenos (Adetula *et al.* 2005). En el género *Aloe* se han realizado diversos estudios cariológicos básicos en algunas especies (Vij *et al.* 1980; Imery & Caldera 2002), incluyendo a *A. vera* (Sapre 1978; Matos & Molina 1997; Imery 2007), donde se mantiene la estructura bimodal del cariotipo (Brandham & Doherty 1998). Específicamente en Venezuela, Matos & Molina (1997) realizaron estudios en plantas de *A. vera* naturalizadas en los estados Zulia y Falcón, reportando que todos los cromosomas, tanto grandes como pequeños, eran submetacéntricos con longitudes que varían entre  $5,55 \mu\text{m}$  y  $17,76 \mu\text{m}$ . En el estado Sucre, Imery & Caldera (2002) compararon las características cromosómicas de cinco especies de *Aloe*, encontrando similitudes entre *A. arborescens* y *A. sucotrina*, seguidas por *A. vera* y separando a *A. chinensis* y *A. maculata* en un grupo aparte. Albornoz & Imery (2003), en un estudio citogenético de diversas poblaciones de *A. vera* en la península de Araya, reconocieron diferencias poblacionales para el grupo de cromosomas más pequeños.

En Venezuela, la explotación de *Aloe vera* ha aumentado significativamente, dando pie a la búsqueda de alternativas de procesamiento y mejora de cultivos (Imery & Cequea 2001; Imery 2012). Es necesario caracterizar citogenéticamente otras especies del género *Aloe* a fin de obtener información para la búsqueda de marcadores genéticos asociados a características de interés, tales como: tolerancia a plagas y enfermedades, mayor rendimiento foliar o reproductivo, elementos ornamentales, etc. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el cariotipo de siete especies de *Aloe* de diferentes hábitats y orígenes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 10 plantas de cada una de las siguientes especies, con su distribución y hábitat natural: *Aloe vera* (L.) Burm.f., Arabia y Sur del Mediterráneo; *A. maculata* All., El Cabo (Sudáfrica); *A. littoralis* Baker, Limpopo (Sudáfrica), Angola, Namibia, Botsuana, Zimbabue y Mozambique; *A. jucunda* Reynolds, Somalia; *A. zebrina* Baker, Limpopo (Sudáfrica), Angola, Namibia, Botsuana, Zimbabue y Mozambique; *A. lutescens* Groenew, Limpopo (Sudáfrica), Zimbabue y Mozambique; y *A. jacksonii* Reynolds, Somalia y Etiopía (Jacobsen 1955; Van Wyk & Smith 1996). Los representantes de estas siete especies son conservados

en el banco de germoplasma de especies suculentas (UDO-Biología), ubicado a 10°26'32" N, 64°09'14" O, en un bosque muy seco tropical de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, Venezuela. Los ejemplares de *A. vera* fueron recolectados originariamente de una población naturalizada en la península de Araya (10°36'34" N, 64°07'18" O); los de *A. maculata* y *A. jucunda* fueron originalmente adquiridos en un vivero comercial de la ciudad de Cumaná e identificados taxonómicamente según Sajeve & Costanzo (1994), Van Wyk & Smith (1996), y las cuatro especies restantes se introdujeron desde Mesa Garden (Nuevo México, EE.UU.) con certificación de identidad taxonómica y permiso fitosanitario N° 2666415 (USDA).

Para la evaluación cariotípica se empleó la metodología descrita por Matos & Molina (1997), con modificaciones de Imery (2007), como se describe a continuación:

El enraizamiento fue estimulado mediante poda radical y riego con el fertilizante Nitrofoska foliar (BASF Chemicals) a concentración mínima (1/15 X). Se recolectaron raicillas jóvenes de 2-2,5 cm de largo entre las 7:00-8:30 am y se pretrataron en solución de colchicina (0,05 % m.v<sup>-1</sup>) por 3 h a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Posteriormente, fueron colocadas en una solución fijadora de 3:1 etanol absoluto/ácido acético glacial (Carnoy I) por una hora a 4 °C, rehidratadas con agua destilada por 20 min, hidrolizadas con HCl (1 mol·l<sup>-1</sup>) durante 10 min y enjuagadas en agua destilada por 10 min. La zona meristemática de cada raicilla fue seccionada individualmente en una gota de agua destilada y teñida con dos gotas de orceína acética (2 % m.v<sup>-1</sup>) durante 3-4 min. Se aplicó "squash" o aplastamiento sobre el área de la tinción con el objeto de separar las células.

El análisis del cariotipo se realizó a partir de 10 placas metafásicas, tomando fotomicrografías a  $\times 1000$  en un microscopio Nikon modelo LABOPHOT-2, empleando una cámara digital HP Photosmart modelo E427, y analizadas luego en el programa Sigma Scan Pro 5 para la determinación digital de los siguientes atributos: número de cromosomas mitóticos, longitud del brazo corto (s) y del largo (l), longitud completa de cada cromosoma ( $L_c = s + l$ ), longitud del cariotipo ( $LT = \sum L_c$ ), longitud relativa ( $LR = L_c/LT \cdot 100$ ), e índice de relación de brazos "arm ratio" ( $r = l/s$ ). Se calculó el promedio y desviación estándar de cada variable cromosómica con  $n = 10$  metafases. Los cromosomas del cariotipo fueron organizados en orden decreciente de acuerdo a la longitud del brazo corto en cada cariotipo (Brandham 1971; Imery 2007) y clasificados según la posición del centrómero (Levan *et al.* 1964). Adicionalmente, se calcularon los índices de asimetría intra e intercromosómica ( $A_1$  y  $A_2$ ) propuestos por Romero-Zarco (1986) y se elaboraron dendrogramas a partir de los siguientes atributos: índice de asimetría  $A_1$  y  $A_2$ , índice "arm ratio", longitud total de cariotipo (distancia euclidiana-método de promedio simple entre grupos) y presencia/ausencia de constricciones secundarias (CS) en cromosomas mitóticos (índice de Jaccard), a través del programa estadístico SPSS 18.

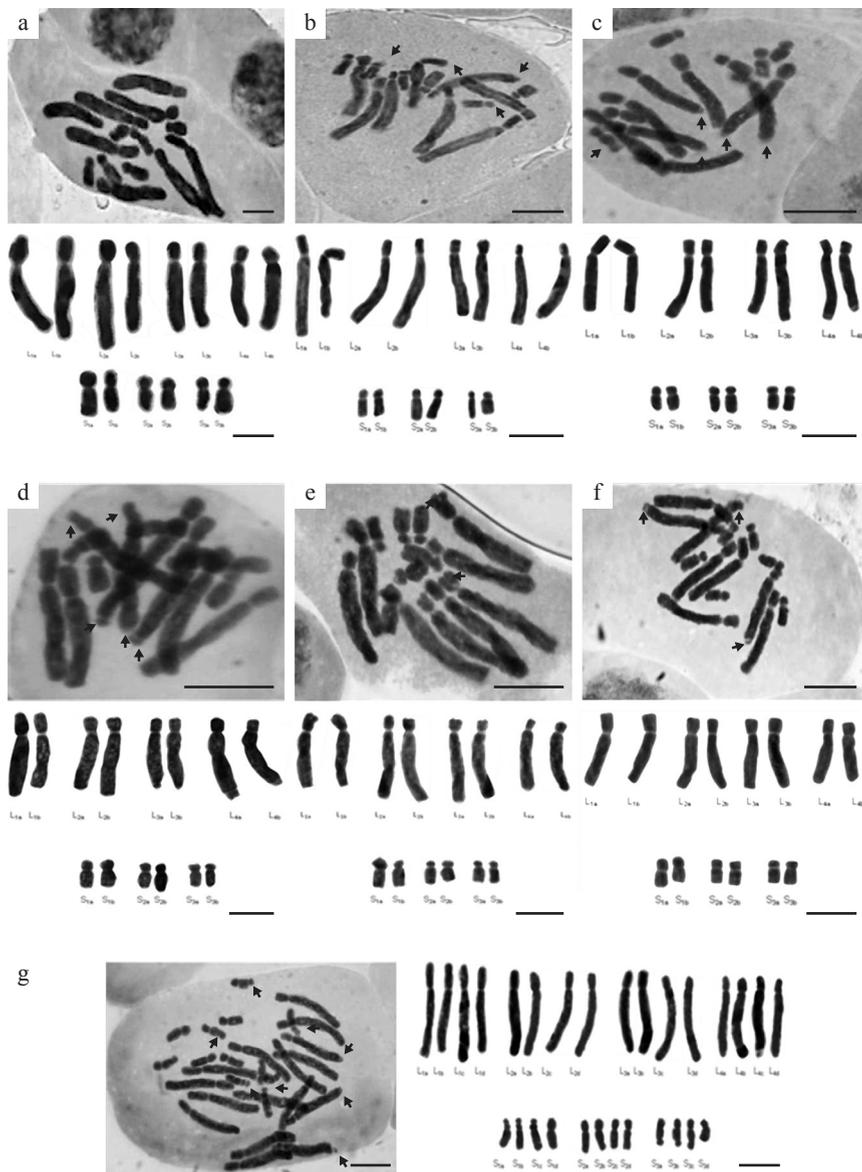
## RESULTADOS

Las siete especies de *Aloe* caracterizadas mostraron un número básico de cromosomas de  $\times = 7$ , seis de ellas con un complemento cromosómico diploide de  $2n = 2 \times = 14$  y sólo una, *A. jacksonii*, con un complemento tetraploide de  $2n = 4 \times = 28$  cromosomas (Fig. 1). El cariotipo es bimodal y está conformado por ocho cromosomas grandes (L), con un rango de longitud entre 12 y 15,02  $\mu\text{m}$ , y seis pequeños (S) con longitudes que varían desde 3,99 hasta 5,43  $\mu\text{m}$  (Tabla 1). Se observaron polimorfismos de longitud en brazos cortos y largos (Tabla 2, Fig. 1), menos acentuados en *A. littoralis* y *A. zebrina*. Las sumatorias de longitudes relativas de cromosomas L van de 79-81% (*A. jacksonii*, *A. littoralis*, *A. maculata*) a 80-82% (*A. lutescens*, *A. zebrina* y *A. jucunda*), a excepción de *A. vera* que tiene la menor longitud relativa de los cromosomas grandes (78 %) y la mayor de los cromosomas pequeños (22 %) (Tabla 1).

Con respecto a la longitud general del cariotipo, se pudo observar que no hay una variación amplia en las seis especies diploides, ya que comprenden valores entre 131,37  $\mu\text{m}$  y 138,87  $\mu\text{m}$ , siendo mayores en *A. lutescens*, *A. maculata*, *A. jucunda* y *A. littoralis* y menores en *A. zebrina* y *A. vera* (Tabla 1), formando dos grupos bien definidos en el dendrograma (Fig. 2a). *Aloe jacksonii* se separó del resto de las especies debido a su condición tetraploide.

Al comparar los valores del índice r ("arm ratio") en las seis especies diploides (Tabla 3, Fig. 2b), se notó que *A. vera* y *A. littoralis* forman un grupo, continuando con *A. lutescens* ( $2L_{(sm)} + 6L_{(st)} + 6S_{(sm)}$ ). Éste a su vez se separa del grupo constituido por *A. maculata*, *A. zebrina* y *A. jucunda* ( $8L_{(st)} + 6S_{(sm)}$ ). Si fuera posible relacionar a la especie tetraploide en este análisis fenético, probablemente estuviese incluida en el grupo de *A. vera* ( $2L_{(sm)} + 6L_{(st)} + 6S_{(sm)}$ ) y *A. littoralis* ( $2L_{(sm)} + 4L_{(st)} + 2S_{(m)} + 4S_{(sm)}$ ), debido a que en esta especie (*A. jacksonii*) los tres primeros  $L_1$  y la mayoría de los cromosomas S tienen el centrómero en posición submedia ( $L_{1d}$  es st), a excepción de los cromosomas  $S_{1a}$ - $S_{1b}$ - $S_{1d}$ , en los cuales su centrómero se ubica en la región media.

De manera general, las constricciones secundarias del cariotipo de las siete especies de *Aloe* (Fig. 1) están localizadas en la posición terminal de los brazos largos de los cromosomas  $L_1$  (*A. vera*),  $L_3$ - $L_4$  (*A. littoralis* y *A. jucunda*) o  $L_4$  (todas las especies) y de los brazos cortos del par  $S_1$  (*A. vera*, *A. maculata*, y *A. jacksonii*). Según el dendrograma de la Fig. 2c, *A. zebrina*-*A. lutescens* y *A. littoralis*-*A. jucunda* son consideradas aquellas especies con mayor similitud en la ubicación de sus constricciones secundarias. Las tres especies restantes se separan progresivamente del primer grupo, siendo la más divergente *A. vera*, la cual se relaciona débilmente con el segundo grupo. Adicionalmente, fue evidente la presencia de pseudoconstricciones en el cariotipo de la mayoría de las especies analizadas correspondientes a constreñimientos en la región submedia de brazos cortos de cromosomas grandes (Fig. 1b, d-f) y brazos largos de cromosomas pequeños (Fig. 1c, g).



**Fig. 1.** Cariotipos y cariogramas de cromosomas mitóticos. **a.** *Aloe vera*. **b.** *A. maculata*. **c.** *A. littoralis*. **d.** *A. jucunda*. **e.** *A. zebrina*. **f.** *A. lutescens*. **g.** *A. jacksonii*. Las flechas señalan constricciones secundarias y pseudoconstricciones en brazos cortos de L (b, d, e, f) y largos de S (c, g). Escala = 10  $\mu$ m.

**Tabla 1.** Longitud cromosómica (Lc) y longitud relativa (LR) de los cromosomas del complemento cromosómico de siete especies de *Aloe*.

Nº	<i>A. vera</i>		<i>A. maculata</i>		<i>A. littoralis</i>		<i>A. jucunda</i>		<i>A. zebrina</i>		<i>A. lutescens</i>		<i>A. jacksonii</i>	
	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)
L <sub>1</sub>	13,8±2,8	10,5±0,6	15,0±2,3	10,9±0,8	14,1±1,1	10,4±0,5	15,0±2,5	10,8±0,9	13,6±2,3	10,3±0,5	14,2±1,3	10,4±0,3	13,8±2,3	5,1±0,3
	13,7±1,9	10,4±0,7	14,1±1,8	10,2±0,8	13,8±1,3	10,2±0,5	14,3±3,3	10,3±1,1	13,8±2,9	10,5±1,2	14,2±1,2	10,4±0,3	14,7±3,5	5,4±0,5
L <sub>2</sub>	13,2±3,1	10,0±0,6	14,1±1,4	10,2±0,7	14,1±1,6	10,4±0,7	14,4±3,0	10,4±0,7	13,5±2,6	10,2±0,6	14,4±1,4	10,5±0,5	14,2±2,9	5,2±0,3
	12,8±1,5	9,7±0,4	14,1±1,5	10,3±0,5	13,8±1,5	10,2±0,6	14,2±2,9	10,2±0,9	13,5±2,7	10,3±0,8	14,0±1,5	10,2±0,4	13,7±2,1	5,1±0,2
L <sub>3</sub>	12,6±2,0	9,6±0,4	13,1±1,8	9,5±0,7	13,4±1,5	9,9±0,7	13,8±2,2	9,9±0,6	13,2±1,8	10,0±0,5	13,6±1,4	9,9±0,4	13,1±2,4	4,9±0,4
	12,8±2,6	9,7±0,6	13,5±1,9	9,8±0,7	12,9±0,9	9,6±0,7	14,0±2,8	10,1±1,1	13,0±2,1	9,9±0,9	13,8±1,6	10,0±0,4	13,4±3,0	5,0±0,6
L <sub>4</sub>	11,8±1,9	9,0±0,7	13,0±2,5	9,4±0,9	12,5±0,9	9,3±0,4	12,9±1,9	9,4±1,0	12,7±2,6	9,6±0,6	13,1±1,7	9,5±0,6	12,8±1,9	4,8±0,2
	12,0±1,9	9,1±0,6	12,6±2,3	9,2±1,1	12,5±1,0	9,3±0,6	12,9±2,0	9,3±0,6	13,0±2,3	9,9±0,7	12,8±1,4	9,3±0,5	12,5±2,0	4,6±0,2
S <sub>1</sub>	5,4±1,0	4,1±0,4	4,9±0,8	3,5±0,4	5,1±0,3	3,8±0,3	5,1±0,9	3,7±0,3	4,7±0,7	3,6±0,4	4,6±0,5	3,3±0,2	4,8±0,9	1,8±0,2
	5,2±1,0	3,9±0,2	5,0±0,7	3,6±0,4	4,9±0,4	3,6±0,3	5,2±0,8	3,7±0,2	4,3±0,9	3,3±0,4	4,7±0,6	3,4±0,3	4,9±0,5	1,8±0,1
													4,9±0,7	1,8±0,1
													4,7±0,6	1,8±0,1

Tabla 1. Continuación.

Nº	<i>A. vera</i>		<i>A. maculata</i>		<i>A. littoralis</i>		<i>A. jucunda</i>		<i>A. zebрина</i>		<i>A. lutescens</i>		<i>A. jacksonii</i>	
	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)	Lc (µm)	LR (%)
S <sub>2</sub>	4,9±0,9	3,7±0,3	4,8±0,5	3,5±0,3	4,8±0,5	3,5±0,2	4,6±0,9	3,3±0,3	4,1±0,8	3,2±0,5	4,7±0,6	3,4±0,2	4,9±0,6	1,8±0,1
	4,8±0,8	3,7±0,2	4,8±0,6	3,5±0,3	4,7±0,4	3,5±0,2	4,3±1,0	3,1±0,3	4,0±0,6	3,1±0,4	4,6±0,5	3,4±0,2	4,7±0,5	1,7±0,1
S <sub>3</sub>	4,3±1,1	3,3±0,3	4,5±0,9	3,2±0,3	4,2±0,3	3,1±0,2	4,3±0,9	3,1±0,3	4,0±0,7	3,1±0,2	4,3±0,5	3,1±0,3	4,5±0,6	1,7±0,1
	4,4±1,0	3,3±0,4	4,4±1,2	3,2±0,5	4,3±0,3	3,2±0,2	4,0±0,4	2,9±0,3	4,0±0,7	3,0±0,2	4,3±0,4	3,2±0,2	4,4±0,4	1,7±0,1
LT	131,6±18		137,7±13,5		135,2±9,3		138,9±19,7		131,4±18,3		137,3±13,3		269,4±38,7	

Valores indican promedio ± desviación estándar. N° = clasificación cromosómica según Brandham (1971); L = cromosoma grande; S = cromosoma pequeño; LT = longitud total del cariotipo.

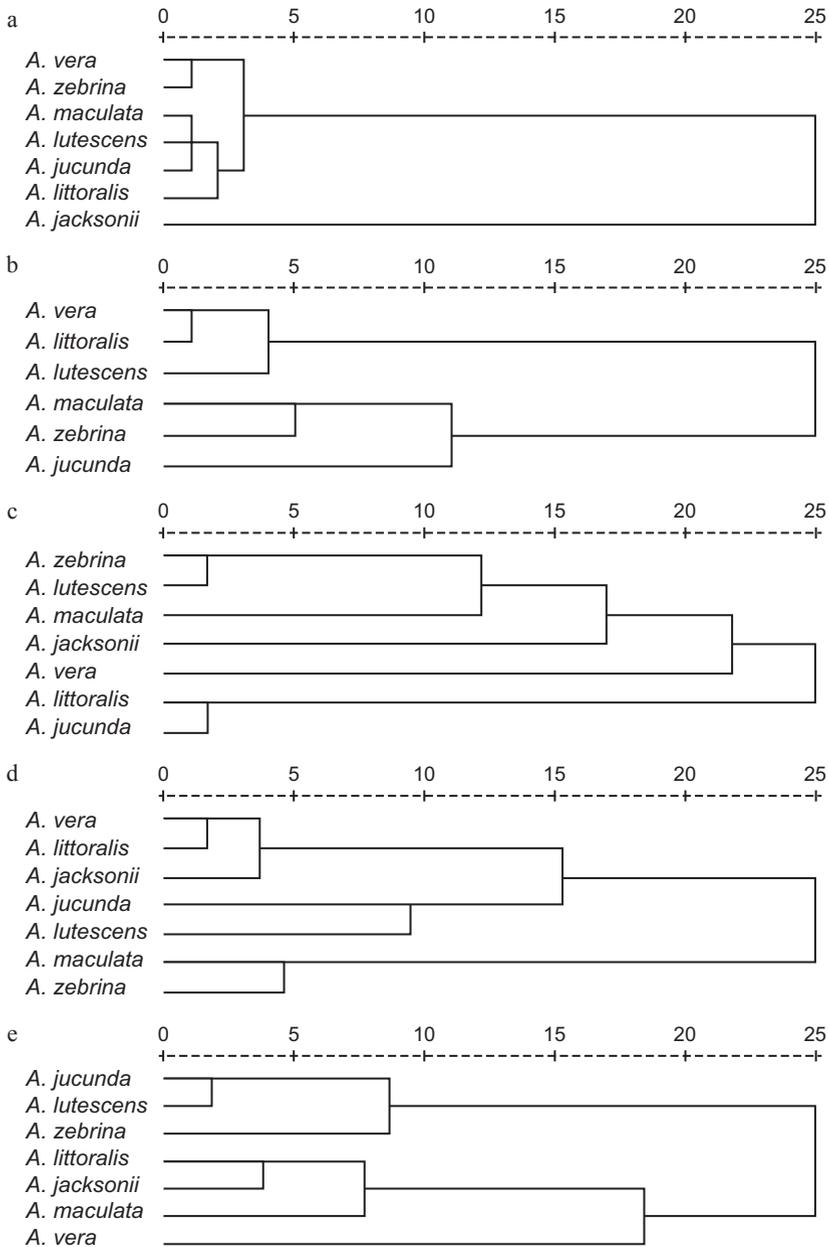
**Tabla 2.** Longitud de brazo corto (s) y largo (l) de los cromosomas del complemento cromosómico de siete especies de *Aloe*.

Nº	<i>A. vera</i>		<i>A. maculata</i>		<i>A. littoralis</i>		<i>A. jucunda</i>		<i>A. zebrina</i>		<i>A. lutescens</i>		<i>A. jacksonii</i>	
	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)
L <sub>1</sub>	3,8±0,9	10,0±2,1	3,7±0,4	11,3±2,0	3,6±0,3	10,5±0,9	3,7±0,7	11,4±2,1	3,4±0,6	10,2±1,8	4,0±0,4	10,2±1,0	3,9±0,5	9,9±2,0
	3,5±0,6	10,2±1,7	3,4±0,5	10,7±1,7	3,5±0,4	10,3±1,1	3,3±0,7	11,0±3,1	3,1±0,6	10,7±2,6	3,7±0,4	10,5±0,9	3,8±0,4	10,9±3,3
L <sub>2</sub>	3,0±0,7	10,2±2,6	2,9±0,4	11,2±1,5	3,2±0,4	10,9±1,3	2,9±0,5	11,5±2,6	2,6±0,6	10,9±2,1	3,2±0,2	11,2±1,3	3,1±0,5	11,0±2,5
	2,8±0,4	10,0±1,2	2,7±0,3	11,4±1,5	3,0±0,4	10,8±1,2	2,7±0,6	11,4±2,5	2,4±0,3	11,1±2,7	3,1±0,3	11,0±1,3	2,9±0,5	10,8±1,7
L <sub>3</sub>	2,6±0,3	9,9±1,8	2,5±0,4	10,6±1,7	2,8±0,3	10,5±1,3	2,6±0,5	11,2±1,9	2,2±0,3	10,9±1,7	2,9±0,3	10,7±1,1	2,7±0,4	10,4±2,2
	2,5±0,3	10,3±2,4	2,3±0,3	11,2±1,8	2,8±0,2	10,2±0,8	2,5±0,4	11,5±2,5	2,2±0,5	10,8±1,9	2,8±0,3	11,0±1,4	2,6±0,4	10,8±2,8
L <sub>4</sub>	2,3±0,5	9,5±1,6	2,0±0,4	11,1±2,3	2,6±0,2	9,9±0,8	2,2±0,3	10,7±1,6	2,0±0,3	10,7±2,4	2,5±0,3	10,6±1,5	2,3±0,4	10,5±1,6
	2,1±0,5	9,9±1,9	1,7±0,4	11,0±2,1	2,5±0,2	10,0±0,9	2,0±0,3	10,9±1,9	1,9±0,3	11,1±2,3	2,3±0,3	10,5±1,3	2,2±0,4	10,3±1,7
S <sub>1</sub>	2,0±0,4	3,4±0,8	1,6±0,2	3,2±0,7	2,0±0,2	3,2±0,3	1,8±0,3	3,3±0,6	1,5±0,3	3,2±0,4	1,7±0,2	2,9±0,3	1,9±0,3	2,9±0,9
	1,9±0,4	3,3±0,8	1,5±0,2	3,4±0,7	1,9±0,2	3,0±0,3	1,7±0,3	3,5±0,6	1,3±0,3	3,0±0,7	1,5±0,2	3,2±0,5	1,9±0,2	3,0±0,3
													1,8±0,2	3,1±0,6
													1,8±0,2	3,0±0,4

Tabla 2. Continuación.

Nº	<i>A. vera</i>		<i>A. maculata</i>		<i>A. littoralis</i>		<i>A. jucunda</i>		<i>A. zebрина</i>		<i>A. lutescens</i>		<i>A. jacksonii</i>	
	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)	s (µm)	l (µm)
S <sub>2</sub>	1,8±0,3	3,1±0,9	1,4±0,2	3,4±0,5	1,7±0,2	3,1±0,4	1,5±0,3	3,1±0,7	1,2±0,2	2,9±0,7	1,5±0,2	3,2±0,5	1,7±0,2	3,2±0,4
	1,7±0,3	3,1±0,7	1,3±0,2	4,5±0,6	1,6±0,1	3,1±0,3	1,4±0,2	2,9±0,9	1,1±0,2	2,9±0,5	1,4±0,2	3,2±0,4	1,7±0,2	3,0±0,4
S <sub>3</sub>	1,5±0,3	2,8±0,8	1,2±0,2	3,2±0,8	1,4±0,1	2,8±0,2	1,2±0,2	3,1±0,9	1,0±0,2	3,0±0,5	1,3±0,2	3,0±0,4	1,5±0,2	2,9±0,5
	1,4±0,3	3,0±0,8	1,1±0,2	3,3±1,1	1,4±0,1	3,0±0,2	1,1±0,2	2,9±0,3	1,0±0,2	3,0±0,5	1,2±0,2	3,2±0,3	1,5±0,2	3,0±0,3
													1,4±0,1	2,8±0,5
													1,3±0,2	2,8±0,6

Valores indican promedio ± desviación estándar. N° = clasificación cromosómica según Brandham (1971); L = cromosoma grande; S = cromosoma pequeño.



**Fig. 2.** Dendrogramas. **a.** Distancia entre especies de *Aloe* en función de registros de la longitud total del cariotipo. **b.** Índice r. **c.** Presencia/ausencia de constricciones secundarias. **d.** Índice de asimetría intracromosómica. **e.** Índice de asimetría intercromosómica.

**Tabla 3.** Índice “arm ratio” (r) y posición del centrómero (PC) de los cromosomas del complemento cromosómico de siete especies de *Aloe*.

Nº	<i>A. vera</i>		<i>A. maculata</i>		<i>A. littoralis</i>		<i>A. jucunda</i>		<i>A. zebrina</i>		<i>A. lutescens</i>		<i>A. jacksonii</i>	
	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC
L <sub>1</sub>	2,7±0,2	sm	3,1±0,4	st	2,9±0,2	sm	3,1±0,4	st	3,1±0,3	st	2,5±0,2	sm	2,5±0,3	sm
	2,9±0,3	sm	3,2±0,5	st	2,9±0,3	sm	3,4±0,8	st	3,5±0,7	st	2,9±0,2	sm	2,9±0,5	sm
L <sub>2</sub>	3,4±0,3	st	3,9±0,6	st	3,5±0,3	st	3,9±0,5	st	4,2±0,5	st	3,5±0,4	st	3,5±0,4	st
	3,6±0,2	st	4,3±0,6	st	3,6±0,2	st	4,2±0,5	st	4,7±0,9	st	3,6±0,2	st	3,7±0,3	st
L <sub>3</sub>	3,8±0,3	st	4,4±0,6	st	3,7±0,3	st	4,3±0,5	st	4,9±0,4	st	3,7±0,3	st	3,9±0,5	st
	4,1±0,4	st	5,0±0,6	st	3,7±0,3	st	4,6±0,5	st	5,0±0,7	st	4,0±0,4	st	4,2±0,5	st
L <sub>4</sub>	4,2±0,5	st	5,7±0,9	st	3,8±0,3	st	4,8±0,5	st	5,5±0,7	st	4,3±0,5	st	4,5±0,3	st
	4,7±0,7	st	6,8±1,4	st	4,0±0,4	st	5,5±0,7	st	6,0±1,2	st	4,6±0,7	st	4,7±0,4	st
S <sub>1</sub>	1,7±0,2	sm	2,0±0,4	sm	1,6±0,1	m	1,8±0,1	sm	2,2±0,3	sm	1,8±0,1	sm	1,5±0,4	m
	1,8±0,2	sm	2,3±0,4	sm	1,6±0,1	m	2,1±0,2	sm	2,4±0,4	sm	2,1±0,2	sm	1,6±0,1	m
													1,8±0,2	sm
													1,6±0,1	m

Tabla 3. Continuación.

Nº	<i>A. vera</i>		<i>A. maculata</i>		<i>A. littoralis</i>		<i>A. jucunda</i>		<i>A. zebrina</i>		<i>A. lutescens</i>		<i>A. jacksonii</i>	
	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC	r	PC
S <sub>2</sub>	1,8±0,4	sm	2,4±0,3	sm	1,8±0,1	sm	2,0±0,2	sm	2,5±0,4	sm	2,2±0,4	sm	1,8±0,2	sm
	1,9±0,2	sm	2,7±0,4	sm	1,9±0,2	sm	2,1±0,3	sm	2,6±0,4	sm	2,4±0,4	sm	1,8±0,2	sm
S <sub>3</sub>	1,9±0,2	sm	2,7±0,5	sm	1,9±0,2	sm	2,5±0,6	sm	2,9±0,3	sm	2,3±0,3	sm	1,9±0,2	sm
	2,1±0,3	sm	2,9±0,5	sm	2,2±0,2	sm	2,8±0,3	sm	2,9±0,5	sm	2,7±0,4	sm	2,0±0,2	sm
													2,0±0,2	sm
													1,9±0,2	sm
													2,1±0,2	sm

Valores indican promedio ± desviación estándar. N° = clasificación cromosómica según Brandham (1971); L = cromosoma grande; S = cromosoma pequeño; r = índice "arm ratio" (l/s); PC = posición del centrómero según la clasificación de Levan *et al.* (1964); sm = centrómero en posición submedia; st = centrómero en posición subterminal; m = centrómero en posición media.

Los índices de asimetría ( $A_1$  y  $A_2$ ) indican que todas las especies de *Aloe* estudiadas son asimétricas, pues poseen valores que se acercan o sobrepasan el punto medio del rango establecido (Tabla 4). Los cariotipos más asimétricos a nivel intracromosómico ( $A_1$ ) son *A. zebrina* y *A. maculata*, mientras que los más simétricos son *A. littoralis*, *A. vera* y *A. jacksonii*. El índice  $A_2$  refleja mayor asimetría intercromosómica en *A. zebrina*, *A. jucunda* y *A. lutescens*, mientras que *A. vera* presentó cromosomas menos asimétricos. Los dendrogramas basados en el primer índice (Fig. 2a) expresan similitud entre *A. vera* y *A. littoralis*, uniéndose progresivamente a *A. jacksonii* y al grupo formado por *A. jucunda*-*A. lutescens*, y muestran divergencia con un grupo aislado conformado por las especies más asimétricas (*A. zebrina*-*A. maculata*). Las similitudes cromosómicas en función al índice de asimetría intercromosómica ( $A_2$ ) dividen a las especies en tres grupos generales (Fig. 2b), con tendencias diferentes al anterior. El primero está constituido por *A. jucunda* y *A. lutescens*, que se unen a su vez con *A. zebrina*; el segundo representado por *A. littoralis*-*A. jacksonii*, relacionadas consecutivamente con *A. maculata*; el tercero, y el más divergente, sólo incluye a *A. vera*.

**Tabla 4.** Índices de asimetría intracromosómica ( $A_1$ ) e intercromosómica ( $A_2$ ) en las siete especies de *Aloe*.

Especie	Índice de asimetría	
	$A_1$	$A_2$
<i>A. vera</i>	0,604	0,441
<i>A. maculata</i>	0,690	0,473
<i>A. littoralis</i>	0,600	0,466
<i>A. jucunda</i>	0,659	0,488
<i>A. zebrina</i>	0,700	0,499
<i>A. lutescens</i>	0,639	0,486
<i>A. jacksonii</i>	0,614	0,462

Cálculos de  $A_1$  y  $A_2$  según Romero-Zarco (1986).

## DISCUSIÓN

La alta constancia del número y configuración del cariotipo en el género *Aloe* ha sido reportada por diversos autores (Sapre 1978; Brandham & Doherty 1998; Imery & Caldera 2002), considerando estas características como apomórficas dentro de la subfamilia Asphodeloideae (Treutlein *et al.* 2003). A excepción de *A. jacksonii*, el cariotipo de todas las especies estuvo conformado por 14 cromosomas, ocho grandes y seis pequeños. La baja frecuencia de poliploides en esta subfamilia ha sido referida en compilaciones del número cromosómico de varias

especies de *Aloe*, *Gasteria* y *Haworthia* (Snoad 1951; Riley & Majumdar 1979) y, específicamente en *Aloe*, Brandham (1971) reportó que apenas 6,2% de 113 especies analizadas son poliploides ( $3\times$ ,  $4\times$  y  $6\times$ ).

La clasificación cromosómica según la posición del centrómero comprendió cromosomas grandes submedianos (sm) o subterminales (st), y pequeños medios (m) o sm. En *Aloe vera* se ha descrito la presencia de un cromosoma grande sm, diferente del resto de los cromosomas grandes de su complemento diploide (Imery & Caldera 2002). En *A. littoralis*, *A. lutescens* y *A. jacksonii* también se evidenció la presencia del  $L_1$  con centrómero en posición sm; sin embargo, uno de los cromosomas del grupo  $L_1$  de *A. jacksonii* resultó ser polimórfico que, al igual que en poblaciones naturalizadas de *A. vera* en la península de Araya, pudo ser atribuido a posibles mutaciones estructurales como deleciones, inversiones pericéntricas desiguales y/o translocaciones experimentadas por individuos ancestrales, mantenidas en el tiempo gracias a su mecanismo de propagación asexual (Imery & Cequea 2008).

Los cromosomas pequeños en la mayoría de las especies fueron sm, y sólo en *A. littoralis* y *A. jacksonii*, el  $S_1$  fue clasificado como tipo m. Albornoz & Imery (2003) también encontraron cromosomas metacéntricos (m) en uno de los tres pares de cromosomas pequeños de *A. vera*. Es importante acotar que *A. jacksonii* también presentó polimorfismo en uno de los cromosomas del grupo  $S_1$  (sm en vez de m), pero a diferencia del caso anterior, este cambio cromosómico no puede ser explicado por eventos de pérdida de fragmentos cromosómicos, sino más bien por duplicaciones, inversiones o translocaciones. Brandham (1976) e Imery *et al.* (2008) argumentan que las especies poliploides son más resistentes a cambios genómicos en sus cariotipos que las especies diploides, indicando que ciertas mutaciones registradas en los híbridos experimentales triploides *A. vera*  $\times$  *A. maculata* no se observaron en los híbridos diploides, posiblemente por resultar deletéreas en etapa embrionaria.

Las constricciones secundarias en los géneros *Aloe*, *Astroloba*, *Gasteria* y *Haworthia*, todos con  $\times = 7 = 4L + 3S$ , están generalmente localizadas en los extremos de los brazos largos de cromosomas grandes, variando ligeramente de posición de una especie a otra (Snoad 1951; Brandham 1971). La existencia de constricciones secundarias en los  $L_1$  y  $L_4$  en *A. vera* y en el  $L_4$  en *A. maculata* ha sido reportada previamente (Sapre 1978; Vij *et al.* 1980; Imery & Caldera 2002), mientras que las constricciones secundarias en brazos cortos solo se hicieron notorias en 3 de 163 plantas de *A. vera* de la península de Araya (Albornoz & Imery 2003), y en un cromosoma del par  $S_1$  de *A. maculata* (Imery & Caldera 2002). En esta investigación, la presencia de constricciones secundarias en los brazos cortos de cromosomas  $S_1$  en *A. vera*, *A. maculata* y *A. jacksonii* fueron evidentes. Brandham (1971) reportó la presencia de este tipo de constricciones en variedades de *A. tenuior* y *A. scobinifolia*, considerándolas como excepcionales dentro de la tribu Aloineae (Liliaceae), cuyos géneros actualmente se ubican en la subfamilia Asphodeloideae (Xanthorrhoeaceae). El análisis de los ADN ribosomales en 28

especies de *Aloe* corrobora la existencia de estas secuencias, típicas de constricciones secundarias, sobre las regiones terminales de los brazos cortos en cromosomas S de cuatro especies, incluyendo a *A. vera* (Adams *et al.* 2000).

Matos *et al.* (1998) caracterizaron la presencia de Regiones Organizadoras del Nucléolo (NORs) en *A. vera* usando la tinción con nitrato de plata (Ag-NOR), detectándolas en brazos largos de los pares  $L_1$  y  $L_2$  y en brazos cortos de los pares  $L_1$ ,  $L_4$ ,  $S_2$  y  $S_3$ . Estos indicios no concuerdan con la ubicación de constricciones secundarias en reportes previos de Albornoz & Imery (2003) ni con los resultados de la actual investigación. Imery (2007) detectó posibles regiones Ag-NOR en la misma ubicación de las constricciones secundarias de *A. vera* y *A. maculata*.

Por otra parte, es frecuente la observación de constreñimientos adicionales, o lo que se ha denominado pseudoconstricciones, en la región intercalar de brazos cortos de cromosomas grandes y en la zona subterminal de brazos largos de cromosomas pequeños. Brandham (1971) hace mención a que no existen reportes de constricciones secundarias ubicadas en tales posiciones y sugiere que son producidas por un efecto de torsión entre cromátidas hermanas, con poca significancia en la estructura del cariotipo.

La uniformidad cromosómica sugerida para este grupo de plantas suculentas, obedeciendo a una marcada ortoselección cariotípica, enmascara la importancia de las variaciones particulares en la longitud de los brazos cromosómicos de cada grupo de homólogos (Imery & Caldera 2002). Bradham & Doherty (1998), en una interpretación de las variaciones morfométricas entre cromosomas del cariotipo de varias especies de la subfamilia Asphodeloideae, concluyeron que el incremento de las cantidades de ADN se da proporcionalmente en cromosomas grandes y pequeños, manteniendo la longitud relativa y bimodalidad del cariotipo en muchas de las especies, tal como se ha constatado para la longitud relativa obtenida en las especies aquí estudiadas. Sin embargo, las diferencias cariológicas observadas entre las especies, al igual que las reportadas por Imery & Caldera (2002) y Albornoz & Imery (2003), son claras evidencias de que la aparente ortoselección cariotípica existente en el género no se cumple en todos los aspectos que definen a sus cariotipos, especialmente los componentes individuales de longitud de los brazos cromosómicos.

Brandham (1969) correlacionó la presencia de pares cromosómicos heteromórficos con la ocurrencia de dos inversiones separadas, una paracéntrica y otra pericéntrica. La presencia de puentes dicéntricos entre homólogos, fragmentos acéntricos y la existencia de microsporas adicionales, indican anomalías de apareamiento, rupturas espontáneas, y posibles inversiones paracéntricas en *A. vera* (Imery & Cequea 2002), *A. maculata*, *A. littoralis*, *A. zebrina* y *A. jacksonii* (González 2008), por lo que no es arriesgado sugerir que dichos cambios estructurales probablemente tengan repercusiones en la distribución genómica y cariotípica de estas especies. Las plantas de *A. vera* naturalizadas en Suramérica poseen propagación exclusivamente vegetativa, originando poblaciones con muy poca variabilidad genética. Este tipo de reproducción trae como consecuencia el man-

tenimiento y acumulación de mutaciones que actúan como carga genética y van causando cambios progresivos en el cariotipo y organización genómica en estas especies, así como en aquellas que presenten el mismo fenómeno de autoincompatibilidad (Imery & Cequea 2008).

## AGRADECIMIENTOS

Al Herbario IRBR y al Dr. Carlos Leopardi por el apoyo prestado. Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por el financiamiento a través del proyecto CI-02-010101-1553-09.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adams, S., I. Leitch, M. Bennet, M. Chase & A. Leitch. 2000. Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (Asphodelaceae). *Amer. J. Bot.* 87(11): 1578-1583.
- Adetula, O., C. Fatokun & G. Obigbesan. 2005. Centromeric banding pattern of mitotic chromosomes in *Vigna vexillata* (TVnu73). *African J. Biotechnol.* 4(5): 400-402.
- Albornoz, A. & J. Imery. 2003. Evaluación citogenética de ocho poblaciones de *Aloe vera* L. de la península de Araya-Venezuela. *Ciencia* 11(1): 5-13.
- Brandham, P. 1969. Chromosome behaviour in the Aloineae. I. The nature and significance of E- type bridges. *Chromosoma* 27: 201-215.
- Brandham, P. 1971. The chromosomes of the Liliaceae: II. Polyploidy and karyotype variation in the Aloineae. *Kew Bull.* 25(3): 381-399.
- Brandham, P. 1976. The frequency of spontaneous structural change. In: Jones, K. & P. Brandham (eds.). *Current chromosome research*, pp. 77-87. North Holland Pub. Amsterdam.
- Brandham, P. & M. Doherty. 1998. Genome size variation in the Aloaceae, an angiosperm family displaying karyotypic orthoselection. *Ann. Bot.* 82 (Supplement A): 67-73.
- González, J. 2008. Microsporogénesis de cinco especies de *Aloe* L. (Aloaceae). Trabajo Especial de Grado. Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Imery, J. 2007. Caracterización genética de parentales e híbridos diploides [VS] y triploides [VVS] entre *Aloe vera* (L.) Burm.f. [2V, 4V] y *Aloe saponaria* Haw. [2S] (Aloaceae). Tesis Doctoral. Postgrado en Botánica. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Imery, J. 2012. *Aloe vera*. In: Singh, R. (ed.). *Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement*, pp. 847-884. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Imery, J. & T. Caldera. 2002. Estudio cromosómico comparativo de cinco especies de *Aloe* (Aloaceae). *Acta Bot. Venez.* 25(1): 47-66.

- Imery, J. & H. Cequea. 2001. Evaluación citogenética de la generación  $M_1V_2$  de tetraploides experimentales en sábila (*Aloe vera* L.). *Revista UDO Agrícola* 1(1): 29-33.
- Imery, J. & H. Cequea. 2002. Anormalidades cromosómicas en la microsporogénesis de *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Aloaceae). *Acta Bot. Venez.* 25(2): 143-152.
- Imery, J. & H. Cequea. 2008. Autoincompatibilidad y protandria en poblaciones naturalizadas de *Aloe vera* de la península de Araya, Venezuela. *Poli-botánica* 26: 113-125.
- Imery, J., M. Raymúndez & A. Menéndez. 2008. Karyotypic variability in experimental diploid and triploid hybrids of *Aloe vera* × *A. saponaria*. *Cytologia* 73(3): 305-311.
- Jacobsen, H. 1955. Succulent plants. *Description, cultivation and uses of succulent plants, other than cacti*. Williams and Norgate, London, UK.
- Levan, A., K. Fredga & A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Matos, A. & J. Molina. 1997. Estudio citogenético en células radicales de *Aloe vera* L. *Revista Fac. Agron. Univ. Zulia* 14: 173-182.
- Matos, A., J. Molina & D. Acosta. 1998. Localización de NORs en cromosomas de *Aloe vera* L. (Aloaceae). *Acta Bot. Venez.* 21(2): 1-9.
- Riley, H. & S. Majumdar. 1979. *The Aloineae; a biosystematic survey*. University Press of Kentucky, USA.
- Romero-Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.
- Sajeva, M. & M. Costanzo. 1994. *Succulents. The illustrated dictionary*. Timber Press. Oregon, USA.
- Salmerón, Y. 2006. Caracterización de la tolerancia a *Erwinia chrysanthemi* en 22 especies de *Aloe* (Aloaceae). Trabajo Especial de Grado. Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Sapre, A. 1978. Karyotype of *Aloe barbadensis* Mill.: a reinvestigation. *Cytologia* 43: 237-241.
- Smith, G. & B. Van Wyk. 2008. *Aloes in Southern Africa*. Struik Pub. Cape Town, South Africa.
- Snoad, B. 1951. Chromosome numbers of succulent plants. *Heredity* 5: 279-283.
- Treutlein, J., G. Smith., B. Van Wyk & M. Wink. 2003. Phylogenetic relationships in Asphodelaceae (Subfamily Aloioideae) inferred from chloroplast DNA sequences (rbcL, matK) and from genomic fingerprinting (ISSR). *Taxon* 52: 193-207.
- Van Wyk, B. & G. Smith. 1996. *Guide to the Aloes of South Africa*. Briza Pub. Pretoria, South Africa.
- Vij, S., M. Sharma & I. Toor. 1980. Cytogenetical investigations into some garden ornamentals. II. The genus *Aloe* L. *Cytologia* 45: 515-532.

