

COMUNICACIÓN BREVE

**LOCALIZACIÓN DEL SCAFFOLD
EN CROMOSOMAS METAFÁSICOS
DE CÉLULAS RADICALES DE *Aloe vera* L.
(ZÁBILA)**

Ángela Matos

Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias,
Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.
Correo electrónico: angi69@cantv.net

Resumen. Se localizó el *scaffold* en cromosomas metafásicos de células radicales de *Aloe vera* L. (zábila). Esta investigación muestra la presencia, por primera vez, del *scaffold* en los cromosomas metafásicos de *A. vera*, utilizando la técnica de tinción con plata y microscopía óptica. El *scaffold* se observó como una línea central oscura que se extiende de un extremo a otro del cromosoma, mientras que el resto de la cromatina presentó un color más claro. Se sugiere continuar las investigaciones con microscopía electrónica a objeto de obtener una descripción más detallada de esta estructura.

Palabras clave: *Aloe vera*, cromosomas, metafase, *scaffold*, zábila.

**SCAFFOLD LOCATION IN METAPHASIC
CHROMOSOMES IN RADICAL CELLS
OF *Aloe vera* L. (Aloe)**

Abstract. The present paper describes, for the first time, scaffold localization in metaphase chromosomes in radical cells of *Aloe vera* L. (Aloe), using the silver staining technique and light microscopy. The chromosome scaffold was observed as a black central line extending

Recibido: 16 Enero 2006 / Aceptado: 15 Junio 2006
Received: 16 January 2006 / Accepted: 15 June 2006

the full length of the chromosome, whereas the rest of the chromatin was lighter in color. Investigations using the electronic microscope should continue, in order to obtain a more detailed description of this structure.

Key words: *Aloe*, *Aloe vera*, chromosomes, metaphase, scaffold.

Aunque se conoce mucho acerca de la naturaleza y función de los componentes de los cromosomas, el arreglo de los materiales en los cromosomas metafásicos todavía es objeto de discusión (Howell y Hsu 1979, Belmont 2002). Existen tres modelos que han descrito la presencia de una línea central de fibras a lo largo del cromosoma. Uno de estos propone que estas fibras forman lazos que se encuentran unidos por proteínas no-histonas, las cuales constituyen la estructura axial conocida como *scaffold* o esqueleto cromosómico (Earnshaw y Laemmli 1984).

Los estudios realizados con microscopía electrónica han mostrado que el *scaffold* está constituido por dos proteínas principales: la SC1 (Mr = 170.000 daltons) y la SC2 (Mr = 135.000 daltons), además de cierto número de proteínas menores (Earnshaw y Laemmli 1984). Asimismo, se ha observado que las interacciones metaloproteicas son indispensables para mantener la estructura del *scaffold* y que éste se encuentra formado por una red de fibras laxas que ayudan a mantener la forma de los cromosomas en la metafase (Earnshaw y Laemmli 1984, Homberger y Koller 1988).

Pavlova y Zakian (2003), describen que las proteínas encargadas de mantener la estructura de los cromosomas durante la metafase forman parte de dos complejos: la cohesina y la condensina. El complejo de cohesina (complejo sinaptonémico) es responsable de la cohesión de los homólogos y de las cromátidas hermanas en la mitosis y meiosis, mientras que el complejo de condensina utiliza energía del ATP para inducir la formación de lazos en el ADN, lo que resulta en la formación del *scaffold* en los cromosomas mitóticos. Se ha sugerido que estos lazos se forman durante la replicación del ADN,

cuando las cadenas de esta molécula se separan en direcciones opuestas (Stack y Anderson 2001).

Se han descrito varias metodologías con la finalidad de observar la estructura del *scaffold* usando microscopía electrónica (Earnshaw y Laemmli 1984). Sin embargo, Satya-Prakash *et al.* (1980) describieron un método simple para su estudio en cromosomas mitóticos utilizando el microscopio óptico. De igual manera, Rufas *et al.* (1983, 1988) reportaron una metodología aún más sencilla para localizar estas estructuras en cromosomas mitóticos y meióticos usando tinción con plata.

La revisión bibliográfica llevada a cabo para la presente investigación mostró que hasta la fecha no existen estudios sobre el *scaffold* en cromosomas de *Aloe vera* (zábila). El objetivo de este trabajo es determinar la localización del *scaffold* en cromosomas mitóticos (metafásicos) de células radicales de *Aloe vera*, utilizando la técnica de tinción con plata y microscopía óptica.

Se utilizaron raíces de plantas de *Aloe vera* de aproximadamente 6 meses de edad, y se utilizó la metodología descrita por Matos y Molina (1997) y Matos *et al.* (1998). Las raíces se cortaron al alcanzar de 1 a 1,5 cm de longitud, y se colocaron en colchicina 0,05% durante 4 h en una nevera a 12°C. Posteriormente, las raíces se fijaron en Carnoy (etanol-ácido acético 3:1) por 24 h a 12°C. Al momento de montar las láminas microscópicas, se hizo el *squash* o aplastado con una gota de ácido acético 45%. Por último, se removió el cubreobjeto sumergiendo la lámina en ácido acético 10%, se dejó secar a temperatura ambiente y se coloreó con una gota de solución de AgNO₃ al 50%, luego se colocó en una estufa durante 2 horas a 65°C en cámara húmeda. Después de coloreadas, las láminas se lavaron con agua destilada y se secaron al aire. Se prepararon 10 láminas correspondientes a 10 meristemos y se analizaron 10 metafases por cada uno.

Los estudios microscópicos se realizaron usando un microscopio óptico marca Olympus y las microfotografías se tomaron con pe-

lículas Kodak 135 mm, blanco y negro, asa 100/21°, con un aumento de 1000X.

En la década de los 80 se pensaba que el *scaffold* era sólo producto de la dispersión de la cromatina en las cromátidas. Sin embargo, la observación relativa a que este esqueleto presentaba diferentes localizaciones en los cromosomas mitóticos y meióticos (Nokkala y Nokkala 1985) comprobó la verdadera existencia de esta estructura.

Se han empleado diferentes métodos para demostrar la presencia del *scaffold* en cromosomas metafásicos de mamíferos (Stubblefield y Wray 1971, Paulson y Laemmli 1977), y la mayoría de los estudios han utilizado la microscopía electrónica. En plantas, Wanner *et al.* (1991), usaron microscopía electrónica de *scanning* para la observación del *scaffold* en ápices radicales de avena, trigo y centeno.

En este trabajo se presentan los primeros resultados que evidencian la presencia del *scaffold*, perfectamente visible, en los cromosomas mitóticos metafásicos de *A. vera* (Fig. 1), usando tinción con plata y microscopía óptica, tal como lo describieron Rufas *et al.* (1983, 1988) en *Chortippus jucundis*, *Arcyptera microptera* y *Podesma pedestres* (Orthoptera, Acrididae), además de Howell y Hsu (1979), en diferentes tipos de células.

Howell y Hsu (1979), indican que este método tiñe el *scaffold* debido a que, aparentemente, las proteínas de esta estructura, similares a las proteínas de los NORs, tienen una alta afinidad por la plata.

Aunque en algunos casos, como en los cromosomas meióticos de mamíferos (Satya-Prakash *et al.* 1980), el esqueleto puede aparecer como una estructura débil, desintegrada y desorganizada. En *A. vera*, el *scaffold* de cada cromátida se extendió de un extremo a otro del cromosoma como una línea central oscura, mientras que el resto de la cromatina se observó teñida de un color más claro, tal como se ha descrito con anterioridad (Rufas *et al.* 1983, Rufas *et al.* 1988).

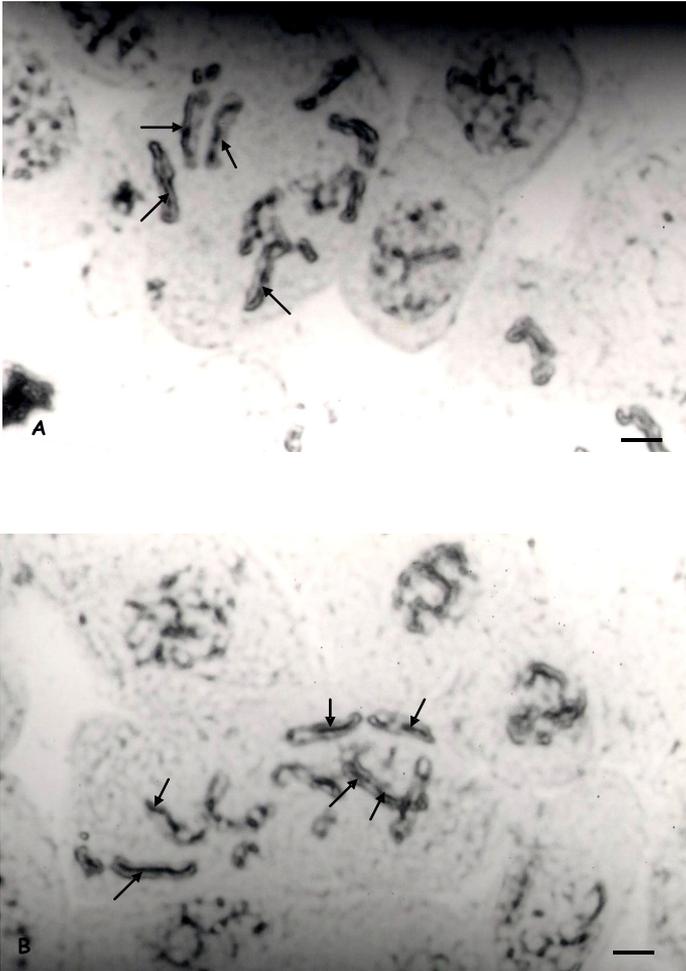


FIGURA 1A y B. Localización del *scaffold* en cromosomas metafásicos de *Aloe vera*. El esqueleto se observa como una línea central oscura a lo largo del cromosoma (→). La barra representa 8,8 μm .

RECOMENDACIONES

Se sugiere continuar las investigaciones con estudios que utilicen microscopía electrónica con el fin de obtener una descripción más detallada del *scaffold*, tanto en cromosomas metafásicos como meióticos.

LITERATURA CITADA

- BELMONT A. 2002. Mitotic chromosome scaffold structure: new approaches to an old controversy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99(25): 15855-15857.
- EARNSHAW W. C. y U. K. LAEMMLI. 1984. Silver staining the chromosome scaffold. *Chromosoma* 89: 186-192.
- HOMBERGER H. y T. KOLLER. 1988. The integrity of the histone-DNA complex in chromatin fibers is not necessary for the maintenance of the shape of mitotic chromosomes. *Chromosoma* 96(3): 197-204.
- HOWELL W. M. y T. C. HSU. 1979. Chromosome core structure revealed by silver staining. *Chromosoma* 73: 61-66.
- MATOS A. y J. MOLINA. 1997. Estudio citogenético en células radicales de *Aloe vera* L. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 14: 173-182.
- MATOS A., J. MOLINA y D. ACOSTA. 1998. Localización de NORs en cromosomas de *Aloe vera* L. (Aloaceae). *Acta Bot. Venezuelica* 21 (2): 1-9.
- NOKKALA S. y C. NOKKALA. 1985. Mitotic and meiotic behaviour of axial core structure of holokinetic chromosomes. *Hereditas* 103: 107-110.
- PAULSON J. R. y U. K. LAEMMLI. 1977. The structure of histone-depleted metaphase chromosomes. *Cell* 12: 817-828.
- PAVLOVA S. V. y S. M. ZAKIAN. 2003. Structural proteins of the SMC (Structural Maintenance of Chromosomes) family and their role in chromatin reorganization. *Russian Journal of Genetics* 39 (10): 1097-1111.
- RUFAS J. S., J. GIMÉNEZ-ABIAN, C. GARCÍA DE LA VEGA y J. GOSÁLVEZ. 1988. Recombination within extra segments: evidence from the grasshopper *Chorthippus jucundus*. *Chromosoma* 96: 95-101.
- RUFAS J. S., J. GOSÁLVEZ, G. GIMÉNEZ-MARTÍN y P. ESPONDA. 1983. Localization and development of kinetochores and a chromatic core during meiosis in grasshoppers. *Genetica* 61: 233-238.
- SATYA-PRAKASH K. L., T. C. HSU y S. PATHAK. 1980. Behaviour of the chromosome core in mitosis and meiosis. *Chromosoma* 81: 1-8.

- STACK S. M. y L. K. ANDERSON. 2001. A model for chromosome structure during the mitotic and meiotic cell cycles. *Chromosome Research* 9(3): 175-198.
- STUBBLEFIELD E. y W. WRAY. 1971. Architecture of the Chinese hamster metaphase chromosome. *Chromosoma* 32: 262-294.
- WANNER G., H. FORMANEK, R. MARTIN y R. G. HERRMANN. 1991. High resolution scanning electron microscopy of plant chromosomes. *Chromosoma* 100(2): 103-109.