

# Evaluación citogenética de ocho poblaciones de *Aloe vera* L. de la Península de Araya-Venezuela

Ana Albornoz Aguilera y José Imery Buiza\*

Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente,  
Núcleo de sucre, Cumaná 6101. Apdo. 245

Recibido: 07-06-01 Aceptado: 31-10-02

## Resumen

El estudio citogenético de ocho poblaciones de *Aloe vera* de la Península de Araya, se realizó a partir de meristemas radicales tratados con colchicina, NaCl, Carnoy, HCl y orceína FLP. El cariotipo presentó un número cromosómico  $2n = 14$ , formado por ocho cromosomas grandes con promedios de 14,52 a 18,24  $\mu\text{m}$  y seis cromosomas medianamente grandes con promedios de 5,11 a 6,53  $\mu\text{m}$ . La clasificación según la posición del centrómero mostró una tendencia general subterminal (*st*) para los cromosomas grandes; submedia (*sm*) y media (*m*) para los cromosomas más pequeños. El análisis estadístico del índice cromosómico *r* (brazo largo/brazo corto) permitió reconocer diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre poblaciones para el grupo de cromosomas más pequeños. Estas diferencias sugieren la ocurrencia de posibles cambios estructurales que conllevan al arreglo de fragmentos cromosómicos en las unidades más pequeñas. El agrupamiento de las poblaciones de acuerdo al índice *r* para este grupo de cromosomas evidencian el incremento en la frecuencia de accidentes cromosómicos en poblaciones sometidas a condiciones ambientales similares y las posibles asociaciones con respecto a su origen y distribución.

**Palabras clave:** *Aloe vera*; cariotipo; cromosomas; poblaciones.

## Cytogenetic evaluation of eight populations of *Aloe vera* L. from Peninsula de Araya-Venezuela

### Abstract

Cytogenetic study of eight populations of *Aloe vera* from the Península de Araya, was carried out on root tip treated with colchicine, NaCl, Carnoy, HCl and orceine FLP. Karyotype presented a chromosome number  $2n = 14$ , formed by eight big chromosomes with averages from 14.52 to 18.24  $\mu\text{m}$  and six fairly big chromosomes with averages from 5.11 to 6.53  $\mu\text{m}$ . Chromosome classification according to centromere position showed a general tendency subterminal (*st*) for the big chromosomes; submedian (*sm*) and median (*m*) for the smallest chromosomes. Statistical analysis from chromosomic index *r* (large arm/small arm) allowed recognizing significant differences ( $p < 0.05$ ) among populations for the group of smaller chromosomes. These differences suggest the occurrence of possible structural changes that bear to the arrangement of chromosome fragments in the smallest units. Cluster analysis of the populations

\* Autor para la correspondencia. E-mail: jimeryb@cantv.net

from index  $r$  for this group of chromosomes evidences the increment in the frequency of chromosomal accidents in subjected populations to similar environmental conditions and the possible associations about its origin and distribution.

**Key words:** *Aloe vera*; chromosomes; karyotype; populations.

## Introducción

La sábila (*Aloe vera* L. = *A. barbadensis* Mill.), es una planta xerofítica oriunda de la región Nor-Occidental de África. Pertenece a la familia Aloaceae y al género *Aloe*, el cual abarca aproximadamente 350 especies distribuidas en regiones áridas y semiáridas de todo el globo (1).

En Venezuela, las especies de *Aloe* más conocidas e importantes comercialmente por su alto contenido de acíbar son *A. ferox*, *A. perryi* y *A. vera* (2, 3). Esta última se encuentra distribuida en forma silvestre y cultivada en las regiones peninsulares y llanuras costeras de los estados Falcón, Zulia, Lara, Anzoátegui y Sucre (4, 5).

La utilización de los datos cariológicos pone de manifiesto la variabilidad genómica de las especies, principalmente en el número y estructura de sus cromosomas. En la actualidad, los estudios citogenéticos se emplean como información taxonómica complementaria a los estudios morfológicos, anatómicos, polínicos, embriológicos, bioquímicos y moleculares (6).

Aún cuando *A. vera* ha sido ampliamente estudiada por la multiplicidad de propiedades nutritivas y terapéuticas que posee, es poco lo que se conoce en cuanto a la diversidad genética de los sabilares silvestres o cultivados. En este sentido, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar las características cromosómicas de ocho poblaciones de *A. vera* de la Península de Araya, como un estudio básico para determinar las posibles variaciones cromosómicas que permita dilucidar el origen y distribución de dichas poblaciones y para el reconocimiento de variabilidad genética potencialmente aprovechable en futuros programas de mejoramiento.

## Materiales y Métodos

Se eligieron al azar 20 plantas de cada una de las ocho poblaciones identificadas como 1: "Tras de la Vela", 2: "Cementerio", 3: "Manicuare", 4: "Los muertos", 5: "Tacariagua", 6: "La Tuna", 7: "Cerro Macho" y 8: "La Angoleta" (Figura 1). Estos individuos fueron trasladados al Departamento de Biología de la Universidad de Oriente y mantenidos bajo condiciones de vivero. Para la evaluación citogenética se colectaron de 10 - 20 ápices radicales a las 8:00 a.m., inmediatamente colocados en solución de colchicina (0,05% m/v) por dos horas, pasados a NaCl (0,03% m/v) durante 10 minutos y fijados en Carnoy (3:1 etanol y ácido acético glacial) por 24 horas. Al momento de utilizar los ápices radicales se sometieron a HCl (1 mol/l) por 25 minutos. Las muestras maceradas fueron coloreadas con orceína FLP (ácido fórmico, láctico, Propiónico) al 1,2% m/v por 4 minutos y posteriormente se realizó aplastamiento celular (7). Las observaciones al microscopio de luz se realizaron con los objetivos de 10 y 40X, localizando las células en metafase con disposición de cromosomas altamente condensados, dispersos y sin solapamiento de cromátidas.

Las fotomicrografías fueron tomadas con cámara de vídeo Cannon 8 mm incorporada a un microscopio de luz convencional Bausch & Lomb. La evaluación consistió en el conteo del número cromosómico en cada lámina, clasificación según posición del centrómero (8) y tamaño (9); además de la determinación de posibles variaciones estructurales en función de las alteraciones en la relación ( $r$ ) entre los brazos cromosómicos, empleándose un diseño estadístico de ANOVA simple (10). Para determinar la similitud entre poblaciones se utilizó la medida de afinidad de distancia media y el método

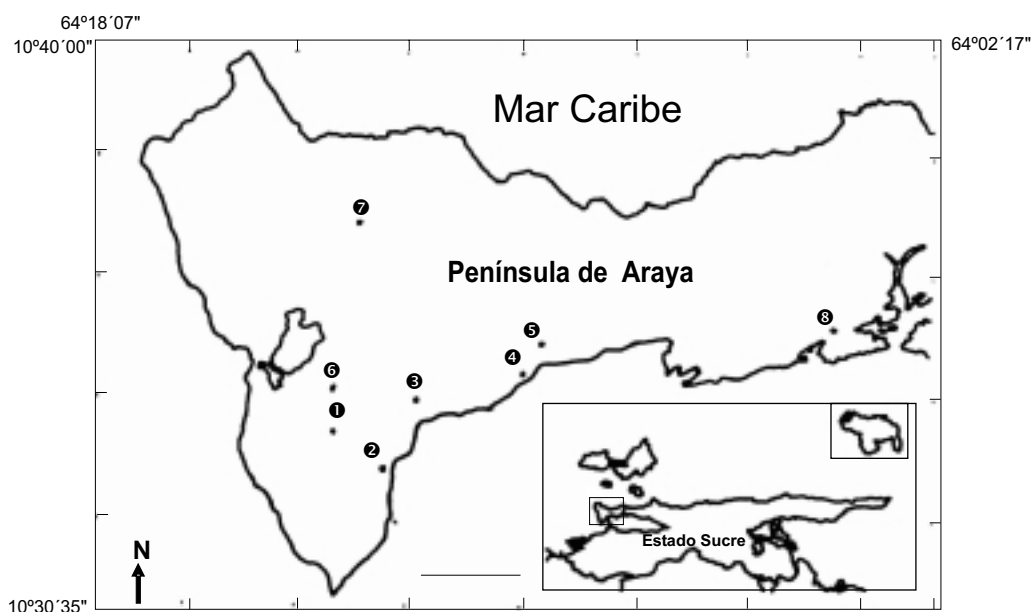


Figura 1. Ubicación de las poblaciones de *Aloe vera* en la Península de Araya. ❶: Tras de la Vela, ❷: Cementerio, ❸: Manicuare, ❹: Los Muertos, ❺: Tacarigua, ❻: La Tuna, ❼: Cerro Macho, ❽: La Angoleta. Barra = 4 km.

de agrupación de promedios simples. En este análisis las entidades estuvieron representadas por las poblaciones y los atributos por los índices  $r$  de los cromosomas con diferencias significativas entre poblaciones. A partir de esta agrupación se elaboró el dendrograma para ilustrar la distancia cromosómica entre poblaciones.

## Resultados

Las ocho poblaciones de *Aloe vera* presentaron un cariotipo bimodal formado por ocho cromosomas grandes (L) de longitud comprendida entre 14,52 a 18,24  $\mu\text{m}$  y seis cromosomas medianamente grandes (S) de 5,11 a 6,53  $\mu\text{m}$ . Las tendencias en la morfología cromosómica fueron de 75 a 96,3% de centrómeros ubicados en la región subterminal ( $st$ ) y 3,7 a 25% de región submedia ( $sm$ ) en los cuatro pares de cromosomas grandes. Para los cromosomas más pequeños, se observaron las tres tendencias:  $sm$ ,  $st$  y región media ( $m$ ), siendo el primer par

( $S_1$ ) el que presentó la mayor frecuencia  $sm$  con 61,3 a 65,6% en todas las poblaciones. El resto de los cromosomas ( $S_2$  y  $S_3$ ) presentaron frecuencias de 51,3 a 60,6% para la clasificación  $m$ ; 38,7 a 46,8%  $sm$  y 0,6 a 1,9%  $st$ .

El análisis estadístico de los promedios del índice  $r$  para cada cromosoma permitió reconocer diferencias significativas entre las poblaciones. La agrupación de acuerdo a la distancia media empleando los promedios de  $r$  en los tres pares de cromosomas S, evidenciaron la estrecha similitud cromosómica entre las poblaciones identificadas como 1,3 y 7 en un primer grupo y las poblaciones 2, 4 y 6 en un segundo grupo. Ambas agrupaciones mostraron moderada separación con respecto a la población 5 y mayor distancia en relación a la población 8 (Figura 2).

Excepcionalmente se observaron anomalías cromosómicas de tipo numérica y estructural en algunas muestras analizadas. En muy baja frecuencia se visualizaron

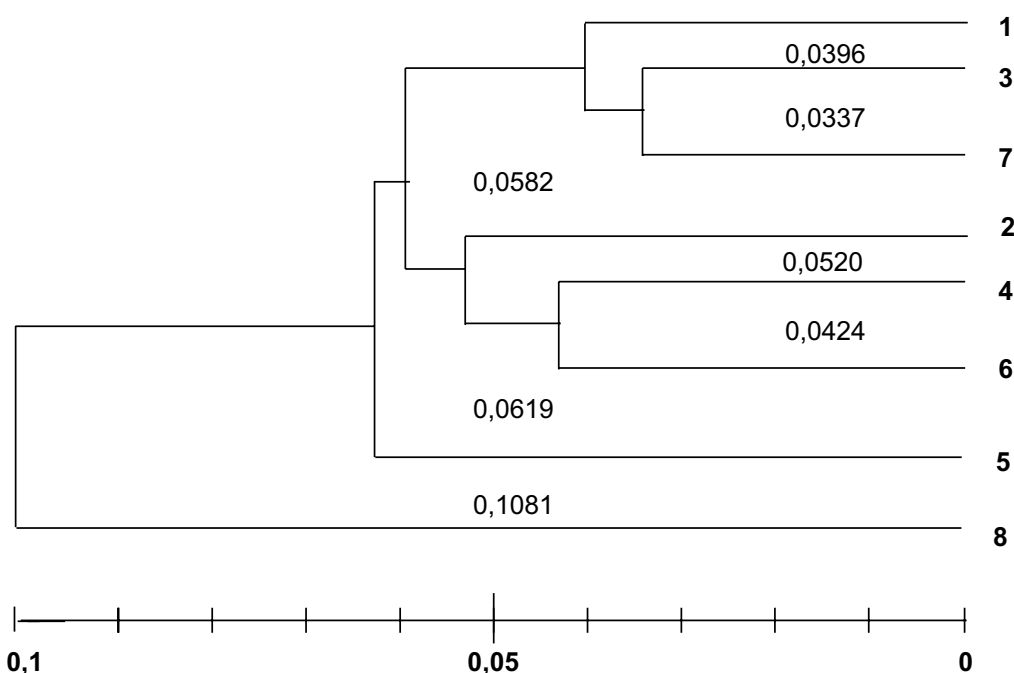


Figura 2. Dendrograma representativo de la distancia media entre poblaciones de *Aloe vera* de la Península de Araya, a partir de promedios simples del índice cromosómico  $r$ .

células poliploides  $2n=4x=28$  (Figura 3). En una fracción de tres plantas provenientes de diferentes poblaciones se presentaron satélites en el brazo corto de uno de los cromosomas S (Figura 4); a diferencia de células normales que presentaron satélites solo en los brazos largos de los pares cromosómicos  $L_1$  y  $L_4$  (Figura 5).

### Discusión

La evaluación cariotípica de las ocho poblaciones de *Aloe vera* refleja una clara estabilidad en cuanto al número cromosómico  $2n = 14$ . En este sentido, Brandham (11), señala que esta estabilidad es compartida por los géneros *Aloe*, *Gasteria* y *Haworthia* de la familia Aloaceae, los cuales presentan en su mayoría 14 cromosomas acrocéntricos.

Los dos grupos de cromosomas monocéntricos, conformados por ocho cromosomas grandes y seis medianamente grandes, coinciden con los señalados por Taylor (12);

Snoad (13); Sapre (14); Mata (15); Sapre (16); Matos & Molina (17); Brandham & Doherty (18); Imery (19). Sin embargo, Marshak (20) reportó un cariotipo para esta especie formado por tres pares de cromosomas grandes, un par de cromosomas intermedios y tres pares de cromosomas pequeños, señalando una diferencia en la longitud de uno de los cromosomas largos que permitía separar a esta especie de los otros integrantes de la familia.

En el presente trabajo, se determinó la clasificación *st* para algunos cromosomas de menor tamaño. Almasan *et al.* (21), los clasifican en cuatro grupos cromosómicos (*st*, *sm*, *m* y  $\dagger$ ). Vig (22) describió por primera vez la clasificación de metacéntricos en uno de los tres pares de cromosomas pequeños y la inestabilidad numérica en algunas raíces con líneas celulares normales y aneuploides. Imery (19), señala que el cariotipo de *A. vera* no presenta centrómeros en la región media ni terminal en ninguna de las muestras analizadas. Asimismo, su estudio pro-

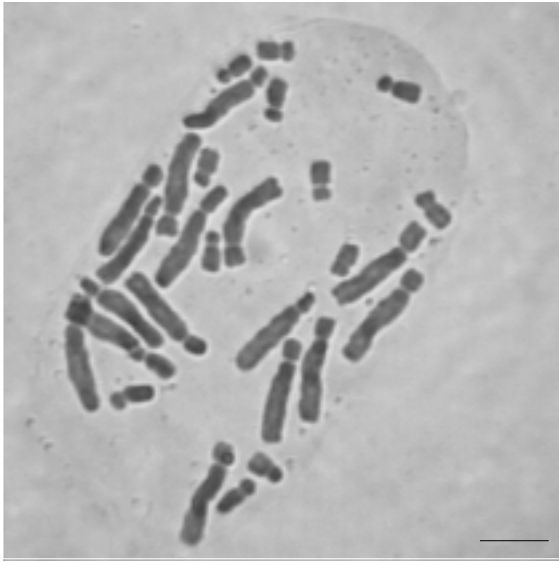


Figura 3. Cariotipo poliploide ocasional en meristemas radicales de *Aloe vera*. Barra = 10  $\mu$ m.

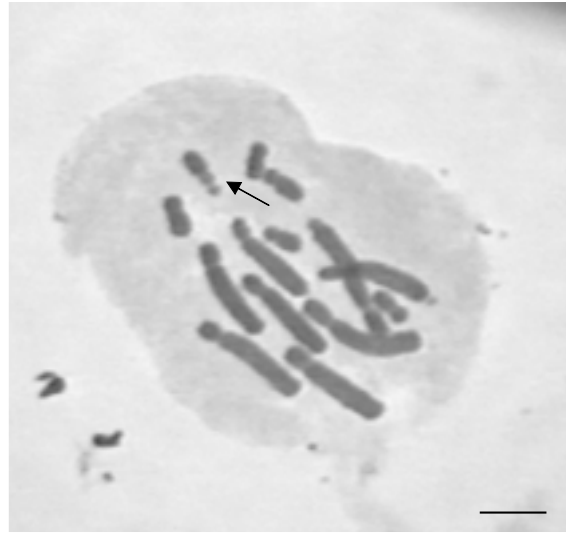


Figura 4. Cariotipo de *Aloe vera* señalando constricción secundaria ocasional en el brazo corto de un cromosoma medianamente grande. Barra = 10  $\mu$ m.

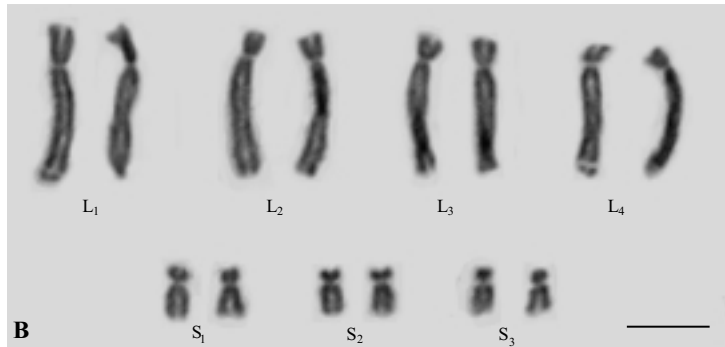
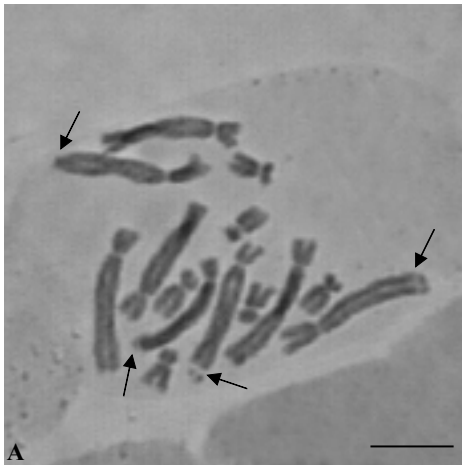


Figura 5. Cariotipo normal (A) de *Aloe vera* señalando posición de las constricciones secundarias en los brazos largos de los cromosomas grandes  $L_1$  y  $L_4$ . Cariograma (B) con ordenamiento de cromosomas grandes ( $L_1$ - $L_4$ ) y medianamente grandes ( $S_1$ - $S_3$ ). Barra = 10  $\mu$ m

pone la clasificación *sm* para el primer par de cromosomas grandes ( $L_1$ ); sin embargo, en el presente estudio, todos los cromosomas grandes presentaron clasificación *st*, lo que permite sugerir que las diferencias aquí observadas podrían ser atribuidas a posi-

bles cambios estructurales del tipo deleción, inversiones pericéntricas desiguales y/o translocaciones, experimentadas por individuos ancestrales a partir de los cuales se conformaron las poblaciones mediante propagación vegetativa (23).

Aunque las constricciones secundarias no se observaron en todas las células evaluadas, debido a la condensación de la cromatina durante metafase, pudo distinguirse la presencia de estas estructuras en los pares cromosómicos  $L_1$  y  $L_4$ . Esta condición se mantiene constante en un gran número de especies de la familia Aloaceae (24). En este estudio se observó además la presencia de una separación en el extremo del brazo corto de uno de los cromosomas medianamente grandes. Esta excepción también ha sido reportada por Brandham (11), lo cual permite inferir que sea el resultado de una translocación simple o recíproca desigual que provoque la adición de un fragmento proveniente de la sección terminal del brazo largo de uno de los cromosomas  $L_1$  o  $L_4$ .

Un estudio de tinción con nitrato de plata en cromosomas de *A. vera* realizado por Matos *et al.* (25) describe la presencia de regiones organizadoras del nucléolo (NORs) en los brazos cortos de los pares cromosómicos 1, 4, 6 y 7, indicados en el presente trabajo como los pares  $L_1$ ,  $L_4$ ,  $S_2$  y  $S_3$ , respectivamente. Coincidiendo con estos autores, es preciso dilucidar la presencia excepcional de bandas Ag-NORs en regiones cromosómicas no asociadas a constricciones secundarias en el cariotipo de esta especie. Esta controversial deberá ser investigada en el futuro, en base a numerosos estudios citogenéticos que sugieren de manera reiterada la ubicación de NORs a lo largo de las constricciones secundarias, en por lo menos un cromosoma del complemento diploide (26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33).

La duplicación del número de cromosomas observada en muy baja frecuencia en algunas plantas del presente trabajo, coinciden parcialmente con Vig (22), el cual reporta plantas de *A. vera* con variaciones numéricas que involucran dos pares de cromosomas adicionales en una sección quimérica de la raíz. En este sentido, Jackson (34) y Taylor (35), indican que el número cromosómico en una especie puede variar espon-

táneamente como consecuencia de accidentes en la maquinaria celular, sin que estos cambios conlleven obligatoriamente a diferenciaciones fenotípicas entre los miembros de una población; no obstante, si las alteraciones cromosómicas son lo suficientemente severas y actúan en combinación con otras fuentes de variación genética, es posible que se generen aislamientos reproductivos que permitan la acumulación de diferencias morfológicas y la formación de nuevas poblaciones.

Este estudio permitió evidenciar la ausencia de variaciones significativas entre poblaciones en función del índice  $r$  en los cromosomas grandes; no obstante, para los cromosomas medianamente grandes se reconocieron diferencias significativas entre las poblaciones. Estos resultados sugieren la ocurrencia de algunas mutaciones que involucren cambios de longitud en los brazos cromosómicos, reflejados en alteraciones de la posición del centrómero y por consiguiente en los valores del índice cromosómico  $r$ .

Sapre citado por Riley & Majumdar (24), observó una translocación entre los cromosomas  $L_1$  y  $L_4$  en una planta de *A. vera*, resaltando que este intercambio es claramente observable y resulta en apareamientos cuadrivalentes en metafase I. Estas variaciones pudieran estar sustentadas por la intensa condición de estrés a la que están sometidas las plantas en la zona, que ocasionen cambios en la disposición o reordenamiento de los genes como consecuencia de mecanismos fisiológicos adaptativos.

Explicar los mecanismos que mantienen la variación en poblaciones naturales ha sido uno de los factores preocupantes en muchas investigaciones genéticas. Se han relacionado a las poblaciones en función de la distribución geográfica y los factores ambientales que actúan como inductores de variación (36). Es importante considerar que el medio ambiente modifica el genotipo e interfiere directamente sobre el crecimiento y desarrollo de las especies, produciendo di-

ferentes ecotipos a partir de un mismo acervo génico que cambia con el transcurrir del tiempo (37,38). No obstante, un estudio de electroforesis de proteínas e isoenzimas, llevado a cabo para determinar diferencias genéticas entre *Aloe ferox* y *A. marlothii*, reveló baja variabilidad intra e interespecífica, atribuida a la escasa edad biogeográfica del género *Aloe* y la disminución de los efectos ambientales sobre especies xerofíticas que presentan tejidos suculentos (39).

Las agrupaciones formadas en función del índice *r* reflejan la dispersión y grado de similitud presente entre las poblaciones. La marcada separación de las poblaciones 5 y 8 en el dendrograma, sugiere que las condiciones ambientales juegan un papel determinante en las variaciones encontradas en los cromosomas más pequeños.

Comprender la dispersión de estas plantas en la zona peninsular del estado Sucre, ha sido un punto importante para conocer el posible origen de las mismas. Probablemente, las fuertes escorrentías, el ganado caprino (chivos) y el hombre, han permitido la distribución de estas plantas en la zona, donde se han asentado como bancos naturalizados. Desde este punto de vista, es posible relacionar a las poblaciones en función de las condiciones agroclimáticas. Las poblaciones 1, 2, 3, 6 y 7 se encuentran estrechamente asociadas, posiblemente por encontrarse más al oeste de la Península de Araya, en donde las condiciones de estrés hídrico y nutricional son más elevadas; a diferencia del resto de las poblaciones, aisladas en zonas con mayor disponibilidad de sombra, agua, materia orgánica, sedimentos, etc.

La asimetría bimodal de los cariotipos y las variaciones observadas en los cromosomas más pequeños, permiten sugerir que la especie *A. vera* no ha alcanzado su estabilidad cromosómica y que en algunas poblaciones aisladas existen alteraciones estructurales que evidencian reordenamiento de fragmentos cromosómicos, que se pueden

mantener constantes o no dependiendo de las condiciones del ambiente y permanecer entre las poblaciones por el mecanismo de propagación vegetativa característico de esta especie.

## Conclusiones

Las poblaciones de *Aloe vera* presentaron un número cromosómico  $2n = 14$ , formado por ocho cromosomas grandes y seis cromosomas medianamente grandes.

La clasificación para los cromosomas según la posición del centrómero mostró una tendencia general *st* para cromosomas grandes; *sm* y *m* para cromosomas medianamente grandes.

Las poblaciones que presentaron mayor grado de diversidad cromosómica fueron la población 1 (Tras de la Vela), población 5 (Tacarigua) y población 8 (La Angoleta).

Las variaciones observadas en los cromosomas medianamente grandes sugieren la ocurrencia de mutaciones que involucran una pequeña sección de los cromosomas.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al consejo de investigación de la Universidad de Oriente por el financiamiento de este trabajo a través del proyecto CI-5-1001-0900/99. Igualmente agradecen la valiosa colaboración prestada por el Profesor Williams Lampe durante las fases de microscopía y fotomicrografías.

## Referencias Bibliográficas

1. CARTER S. *Flora of tropical East Africa: Aloaceae*. Roy Bot Gard, Kew (England), pp. 1-4, 1994.
2. BASANTE W. Plan agronómico de sábila en la Península de Araya (Informe gubernamental), Cumaná (Venezuela), pp. 54, 1996.
3. DEVESA J. *Plantas con semillas* (Eds. Izo J., Barreo E., Bruguéz M., Costa M., Devesa J., Fernández F., Gallardo T., Lli-

- mona X., Salvo E., Talavera S., Valdés B.) McGraw-Hill, Madrid (España), pp. 379-580, 1997.
4. CORPORIENTE. Planificación para la Siembra de 150 hectáreas de Sábila en la Península de Araya Estado Sucre. (Trabajo de apoyo para el proyecto planta procesadora de Sábila). Cumaná (Venezuela), pp. 41, 1993.
  5. PEREIRA N., NARVÁEZ R. **Las recetas de oro de la sábila**. 2ª Ed. Venezuela. pp. 115, 1997.
  6. VALDÉS B. **Caracteres taxonómicos; Citología y Citogenética** (Eds. Izco J., Barreo E., Bruguéz M., Costa M., Devesa J., Fernández F., Gallardo T., Llimona X., Salvo E., Talavera S., Valdés B.) McGraw-Hill, Madrid (España), pp. 133-154, 1997.
  7. CEQUEA H. **Acta Científica Venezolana** 36:373-380, 1985.
  8. LEVAN A., FREDGA K., SANDBERG A. **Hereditas** 52: 201-220, 1964.
  9. STEBBINS G. **Chromosomal evolution in higher plant**. Addison- Wesley, Reading, Massachusetts (USA), pp. 97, 1971.
  10. SOKAL J., ROHLF J. **Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica**. H. Blume Edic., Madrid (España), pp. 832, 1979.
  11. BRANDHAM P. E. **Kew Bull** 25:381-399, 1971.
  12. TAYLOR W. **Amer J Bot** 11: 51-56, 1924.
  13. SNOAD B. **Heredity** 5:279-283, 1951.
  14. SAPRE A.B. **Cytologia** 41:253-259, 1976.
  15. MATA A. Estudio Citogenético de las Especies *Aloe ciliaris* Haw., *Aloe teniour* Haw., *Aloe variegata* L. y *Aloe vera* Linn. (Liliaceae) (Trabajo de ascenso), Universidad de Oriente, Cumaná (Venezuela), pp. 43, 1977.
  16. SAPRE A.B. **Cytologia** 43:237-241, 1978.
  17. MATOS A., MOLINA J. **Rev Fac Agron Univ Zulia** 14(2): 173-182, 1997.
  18. BRANDHAM P.E., DOHERTY M.J. **Ann Bot** 82(2): 67-73, 1998.
  19. IMERY J. Inducción de tetraploidía en *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Aloaceae) (M.Sc. Tesis), Universidad de Oriente, Cumaná (Venezuela), pp. 73, 2000.
  20. MARSHAK A. **Amer J Bot** 21:592-597, 1934.
  21. ALMASAN A., BARRION A., CASNE M., DE LA CRUZ G. **Phil Phil-Agricul** 74(2):261-264, 1991.
  22. VIG B. **Bull Torrey Bot** 95(3):254-261, 1968.
  23. ADAMS S.P., LEITCH I.J., BENNETT M.D., LEITCH A.R. **Chromosoma** 109:201-205, 2000.
  24. RILEY H., MAJUMDAR S. **The Aloineae a biosystematic survey**, University press, Kentucky (USA), pp. 177, 1979.
  25. MATOS A., MOLINA J., ACOSTA D. **Acta Bot Venez** 21(2): 1-9, 1998.
  26. LACADENA J., CERMEÑO M., ORELLANA J., SANTOS J. **Theor Appl Genet** 67: 207, 1984.
  27. ZADOO S., NARAIN P. **Cytologia** 52: 387-393, 1987.
  28. DOLEZEL J., CIHALIKOVA J., ZAKCHLENJUK O. **Stain Tech** 64(1): 9-13, 1989.
  29. VISERAS E., CABRERO J., TALAVERA M., CAMACHO J. **Cytobios** 68: 165-177, 1991.
  30. MOSCONE E., LOIDL J., EHRENDORFER F., HUNZIKER A. **Amer J Bot** 82(2): 276-287, 1995.
  31. NOGUEIRA C., RUAS P., RUAS C., FERRUCCI M. **Amer J Bot** 82(5): 646-654, 1995.
  32. CUELLAR T., VELHASSEN E., FERNÁNDEZ B., ORELLANA J., BELLA J. **Heredity** 76: 586-591, 1996.
  33. FRIEBE B., ENDO T., GILL B. **Chromosome-banding methods** (Eds. Fukui K., Nakayama S.), CRC Press, Boca Raton (USA), pp. 123-147, 1996.
  34. JACKSON R.C. **Ann Rev Ecol** 7:209-234, 1976.
  35. TAYLOR W. **Amer J Bot** 11: 51-56, 1924.



- 
36. CID R., PALOMINO G. *Cytologia* 61:343-348, 1996.
37. JENSEN W., SALISBURY F. *Botánica* 2<sup>da</sup> ed. McGraw-Hill, Madrid (España), pp. 762, 1988.
38. GADNER E., SIMMONS M., SNUSTAD D. *Principios de Genética*. 4<sup>ta</sup> ed. Limusa Wiley, México D.F. (México), pp. 649, 1998.
39. VAN DER BANK H., VAN WYK B., VAN DER BANK M. *Bioch Syst Ecol* 23(3):251-256, 1995.