

Distribución de la Variabilidad en Cinco Cultivares de Centeno (*Secale cereale* L.)¹

M.A. Di Renzo, D.E. Aiassa, M.A. Ibáñez*

ABSTRACT

Esterase isozymes were analyzed in three diploid cultivars and two autotetraploid cultivars of rye by starch gel electrophoresis. Twenty-one molecular forms were revealed and their frequencies recorded in each case. The Shannon Weaver Index was used to quantify variability and its distribution within and among cultivars; only 10% of total variation was due to differences among them. The comparison of similarity matrix values also indicated little difference between cultivars. In spite of the great variation observed overall, the cultivar uniformity might be due to a common origin. Two groups can be identified in the phenogram: one made by the two tetraploids plus 'Choiqué' and the other made by 'Invernador' and 'Insave.' These data are of interest in discovering similarities among cultivars and are valuable in plant breeding as they reveal genetic relationships existing among base populations.

INTRODUCCION

Los patrones de variación, producto de la descripción de la estructura genética de los cultivares, pueden ser útiles en esquemas de mejoramiento genético y en estrategias para conservar el germoplasma.

El análisis de las frecuencias isoenzimáticas da un índice de la variabilidad genética de las poblaciones, que permite seleccionar el nivel de variabilidad necesaria, acorde con las técnicas por emplear (7).

Con la aplicación de la técnica de electroforesis, los resultados difieren según el sistema reproductivo de la especie. En las autógamias líneas endocriadas y especies de reproducción asexual la máxima variabilidad se halla entre los grupos, razón por la cual éstos pueden ser caracterizados e identificados. En el

COMPENDIO

Se analizaron las isoenzimas de esterases en tres cultivares diploides y dos autotetraploides de centeno por medio de electroforesis en gel de almidón. Se encontraron 21 formas moleculares, cuyas frecuencias de aparición se registraron en todos los cultivares. Para cuantificar la variabilidad y su distribución dentro y entre los cultivares, se utilizó el índice de Shannon-Weaver, que permitió establecer que apenas un 10% de la variación total se halla entre los cultivares; de igual manera, al comparar los valores de la matriz de similitud, se concluyó que existe gran semejanza entre ellos. A pesar de la gran variación total observada, la uniformidad entre los cultivares podría atribuirse posiblemente a un origen común. En el fenograma pueden identificarse dos grupos: uno formado por los autotetraploides asociados a 'Choiqué' y el otro formado por 'Invernador' e 'Insave'. Los datos obtenidos son de interés para determinar las semejanzas de los cultivares utilizados y, en general, son útiles en programas de mejoramiento genético, pues ponen de manifiesto las relaciones que existen entre poblaciones que han de usarse.

caso de especies autógamias, los intercrucamientos producen una importante variabilidad que puede ser compartida por los distintos grupos, lo que dificulta su diferenciación. Así, en el centeno, que posee dos alelos de autoincompatibilidad (5, 14), se esperaría encontrar la máxima variabilidad dentro de los cultivares analizados.

Una medida de la variabilidad de las poblaciones es el índice de Shannon, utilizado originariamente para caracterizar la diversidad en comunidades ecológicas. Este índice fue empleado para estimar la variabilidad en poblaciones humanas (6) y en especies vegetales, como trigo (4), maíz (12) y centeno (1).

Los objetivos de este trabajo son determinar la cantidad y distribución de la variación isoenzimática en cinco cultivares de centeno, y establecer las relaciones de semejanza entre ellos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron cinco cultivares de centeno: tres diploides ('Choiqué', 'Invernador' e 'Insave') y dos autotetraploides ('Tetrapico' y 'Tetrachoiqué').

Se analizaron 60 plantas de cada cultivar. Parte de la hoja-bandera fue triturada en un mortero con 0.2 ml

¹ Recibido para publicación el 12 de diciembre de 1990. Trabajo financiado por el Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Córdoba (CONICOR) y la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SECYT) de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Arg.

* Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Estafeta Postal 9, 5800 Río Cuarto, Córdoba, Arg.

de buffer de gel, obteniéndose un extracto que fue absorbido en papel Whatman no. 3 (6 mm x 6 mm) que, luego, se insertó en el gel. Este se preparó con almidón al 13% en buffer triscítrico pH 7.6 (14 mM tris - 4 mM ácido cítrico), siendo el buffer de los electrodos 0.3 M borato de sodio pH 8.5. Cada corrida electroforética se realizó con un gradiente de 7 V/cm y tardó aproximadamente 3 h hasta que el frente borato recorrió 8 cm desde el origen o línea de inserción de las muestras. En cada gel se analizaron 17 muestras, de las cuales una o dos eran testigos cuyos zimogramas, ya conocidos, servirían como guías para una mejor ubicación de las bandas de las nuevas muestras.

La actividad se detectó cortando horizontalmente el gel y sumergiendo la capa inferior durante cuatro horas a 37°C, en una solución con 100 ml de buffer 0.2 M fosfato pH 6.8, 2 ml de una solución al 1% en acetona de alfa y betanaftilacetato como sustrato y 5 mg de Fast Garnet salt GBC como colorante. Se registraron las bandas y se calcularon, posteriormente, las frecuencias de aparición para cada cultivar.

Para determinar la variabilidad en los distintos cultivares se usó el índice de Shannon-Weaver:

$$H = - \sum_{i=1}^n P_i \ln P_i$$

donde P_i es la frecuencia de cada banda y n es el número de bandas

Se calcularon H_0 variabilidad de cada cultivar y \bar{H}_0 variabilidad promedio de los cultivares; además, al utilizar \bar{P}_i se obtuvo H_s -variabilidad total del conjunto de los cultivares.

Para realizar la comparación entre los cultivares se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson (r), con

el que se confeccionó una matriz de similitud. Con esta matriz se construyó un fenograma por medio del método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method) (2).

RESULTADOS

Se hallaron 21 formas moleculares anódicas, las que fueron numeradas correlativamente de acuerdo con la velocidad de migración desde el origen hacia el ánodo (Fig. 1). La única característica considerada fue la presencia de cada una de estas bandas, cuya frecuencia de aparición se halla en el Cuadro 1. No se tomaron en cuenta los diferentes colores producidos por los sustratos utilizados ni las diferencias en la intensidad del color.

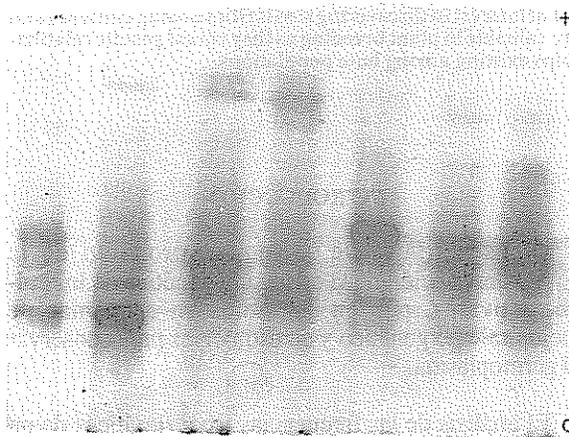


Fig. 1. Fenótipos isoenzimáticos de esterazas del cultivar Invernador.

Cuadro 1. Frecuencias de las isoenzimas de esterazas en cinco cultivares de centeno.

Cultivar	banda n°										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Tetrachoique	10	.08	.08	.03	.05	.60	.15	.08	.32	.22	.18
Tetrapico	34	.05	.08	.21	.13	.42	.13	0	.18	.18	.03
Choique	30	.20	.20	.13	0	.47	.27	.40	.07	.40	.07
Invernador	.35	.12	.03	.03	.38	.35	.03	.06	.35	.41	.06
Insave	.35	.19	.13	0	.13	.68	.16	.10	0	.52	.03
p_i	.29	.13	.10	.08	.14	.50	.15	.13	.18	.34	.07

(Cont. Cuadro 1.)

Cultivar	banda n°									
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Tetrachoique	33	35	10	50	18	08	05	10	0	.05
Tetrapico	13	34	03	42	29	03	0	29	13	.08
Choique	73	20	07	27	40	0	07	30	13	0
Invernador	09	59	03	0	52	0	06	.23	.03	03
Insave	28	58	0	29	41	03	06	.45	06	.08
P _i	31	41	05	30	36	03	05	27	07	04

Se halló un gran número de zimogramas diferentes, pero ninguno fue característico de algún cultivar en particular. Los cultivares tetraploides Tetrapico y Tetrachoiqué presentaron el mayor número de isoenzimas diferentes: 19 y 20, respectivamente.

Si bien las diferencias entre los cinco cultivares estudiados resultaron no significativas con la prueba de t, 'Choiqué' presentó la mayor variabilidad ($H_o = 0.427$), mientras que 'Invernador' fue el menos variable ($H_o = 0.350$) (Cuadro 2). La variabilidad total se dividió entre ($H_s - \bar{H}_o / H_s$) y dentro de los cultivares (\bar{H}_o / H_s), siendo la primera de un 10% y la segunda de un 90% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Estimaciones del índice de Shannon-Weaver para cada cultivar (H_o), promedio de todos los cultivares (\bar{H}_o) y del conjunto de cultivares (H_s).

Cultivar	H_o	E.E.(1)
Tetrachoique	380 ±	067
Tetrapico	377 ±	062
Choique	427 ±	052
Invernador	350 ±	056
Invase	388 ±	052

$$H_o = 384 \quad H_o/H_s = 9005(2)$$

$$H_s = 4265 \quad H_s - H_o/H_s = 0995(3)$$

(1) Error estándar de H

(2) Variabilidad dentro de cada cultivar

(3) Variabilidad entre los cultivares

La matriz de similitud (Cuadro 3) indica que la mayor semejanza se halla entre los cultivares tetraploides ('Tetrachoiqué' y 'Tetrapico') ($r = 0.66$); las mayores diferencias se hallan entre 'Invernador' y 'Tetrachoiqué' e 'Invernador' y 'Choiqué' ($r = 0.48$).

El fenograma con un ccc del 98% agrupa los cultivares por su similitud (Fig. 2). En él pueden identificarse dos grupos: uno formado por los tetraploides, a los que se asocia 'Choiqué', y el otro formado por 'Invernador' e 'Insave'.

DISCUSION

Los resultados provistos por las técnicas de electroforesis en plantas y animales se han utilizado, frecuentemente, para describir la cantidad y patrones de variabilidad genética de las poblaciones y el grado de divergencia entre ellas y entre las especies (3).

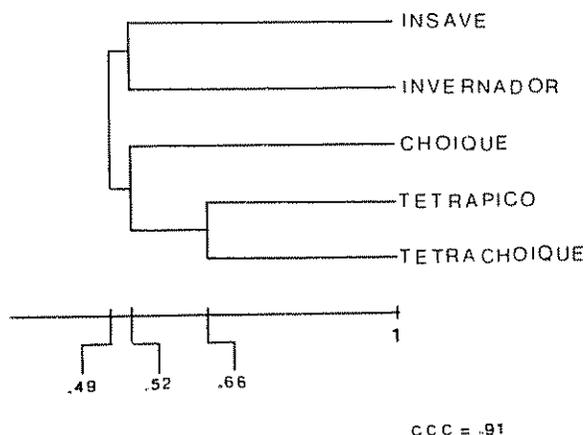


Fig 2. Fenograma de similitud construido por la técnica del ligamiento promedio (UPGMA), (2).

Cuadro 3. Matriz de similitud entre cinco cultivares de centeno calculado con el coeficiente momento-producto de Pearson.

	I	II	III	IV	V
I Tetrachoque	0				
II Tetrápico	66	0			
III Choique	56	49	0		
IV Invernador	48	49	48	0	
V Insave	51	53	50	52	0

Las esterases que han servido como útiles marcadores dentro de las especies, son un grupo heterogéneo de enzimas de baja especificidad de sustrato (11). En las especies vegetales se presentan en un alto número y en diferentes tejidos. Las enzimas híbridas generalmente no se observan, a excepción de dos en maíz y una en *Pinus ponderosa*; este hecho sugiere que las enzimas son por lo común monómeros (3).

En centeno se ha observado un complejo patrón de bandeado en extractos de hojas. Mediante técnicas de isoelectroenfoque se pudo determinar que intervienen en su regulación genética diez *loci* hasta con cinco alelos codominantes por *locus* y que todas las esterases detectadas son monómeros (13, 15). Dado que en el presente trabajo se usó electroforesis en gel de almidón, no se pudieron transponer los datos referidos al control genético, pero, considerando la estructura cuaternaria, se infiere que cada banda es producto de la acción de un alelo diferente. Esta contribución mejora la confiabilidad de los cálculos, ya que no existen bandas híbridas, producto de la interacción intra- o intergenética.

Debido a que el carácter medido (isoesterasas) se halla regido genéticamente, los resultados obtenidos son un reflejo de la variabilidad genética de los grupos sometidos a estudio.

Se encontraron tres zonas de migración anódica (An I, An II y An III) (Fig. 1) y una importante variabilidad intrapoblacional, hecho que coincide con los resultados de Puchalski y Molski (8). Mediante la partición del índice de Shannon se pudo probar que el 90% de la variación total proviene de la relación H_0/H_s , que indica que se da dentro de los cultivares y que sólo un 10% es atribuible a diferencias entre ellos. Estos resultados, que contribuyen a la descripción de la estructura

genética de la población, evidencian una gran uniformidad entre los cultivares. La similitud entre los cultivares de centeno de orígenes distintos se ha confirmado mediante el uso de otros sistemas isoenzimáticos (10).

Al comparar entre sí los coeficientes de diversidad (H) de cada cultivar mediante la prueba de t, se confirma que la amplia variabilidad observada es compartida entre ellos, lo que justifica la dificultad de su identificación o caracterización (9).

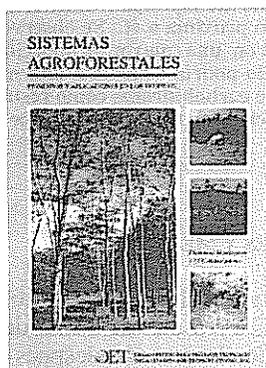
De igual modo, los valores de la matriz de similitud, que apenas oscilan entre 0.48 y 0.66, indican una gran semejanza entre los cultivares y que las relaciones existentes entre estos grupos, obtenidos con base en las isoenzimas (caracteres que presentan una muestra al azar del genoma), podrían usarse como un criterio más para decidir las poblaciones que se han de escoger para ciertos programas de mejoramiento.

LITERATURA CITADA

1. AIASSA, D.; DIRENZO, M.; TIRANTI, I. 1990. Variación isoenzimática en líneas endocriadas de centeno (*Secale cereale* L.). Mendeliana. (En prensa).
2. CRISCI, J.V.; LOPEZ ARMENGOL, M.F. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Washington, DC, OEA. Monografía no. 26 - Serie Biología. 132 p.
3. GOTTLIEB, L.D. 1981. Gene number in species of Astereae that have different chromosome numbers. Proceedings of the National Academy of Sciences 78:3726-3729.
4. JAIN, S.K.; QUALSETI, G.O.; BHATT, G.M.; WU, K.K. 1975. Geographical patterns of phenotypic diversity in world collections of durum wheats. Crop Science 15:700-704.
5. KRANZ, A.R. 1979. Especies silvestres y formas primitivas de centeno (*Secale cereale* L.). Córdoba, Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Agronomía y Veterinaria. 61 p.
6. LEWONTIN, R. 1972. The apportionment of human diversity. Evolutionary Biology 6:381-392.
7. ORTON, T.J. 1983. Application of isozyme technology in breeding cross-pollinated crops. In Isozymes in plant genetics and breeding. S.D. Tanksley, T.J. Orton (Eds.). Amsterdam, Elsevier. Part A, p. 363-376.
8. PUCHALSKI, J.; MOLSKI, B. 1975. Esterases variability within some Polish rye cultivars. Hodowla Roslin Aklimatyzacja I Nasiennictwo Zeszyt 5:470-485.
9. RAMIREZ, L.; PISABARRO, G. 1985. Isozyme electrophoretic patterns as a tool to characterize and classify rye (*Secale cereale* L.) seed samples. Euphytica 34:793-799.

10. RAMIREZ, L.; PISABARRO, G.; PEREZ DE LA VEGA, M. 1985. Isozyme genetic similarity among rye (*Secale cereale* L.) cultivars. *Journal of Agricultural Science* 105:495-500.
11. SCANDALIOS, J.G. 1968. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: A review. *Biochemical Genetics* 3:37-79.
12. SCHLATTER, A.R. 1987. Variaciones de isoenzimas en razas argentinas de maíz. Mag. Sc. Tesis. Escuela de Graduados, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 59 p.
13. SCHMIDI-STOHN, G.; WEHELING, P. 1983. Genetic control of esterase isozyme in rye (*Secale cereale* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 67:149-153.
14. TRANG, G.S.; WRICKE, G.; WEBER, W.E. 1982. Number of alleles at the incompatibility loci in *Secale cereale* L. *Theoretical and Applied Genetics* 63:248-254.
15. WEHELING, P.; SCHMIDI-STOHN, G. 1984. Linkage relationships of esterase loci in rye (*Secale cereale* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 67:149-153.

LIBRO RECOMENDADO



US\$30.00

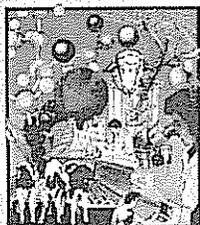
Sistemas Agroforestales: Principios y Aplicaciones en los Trópicos. F. Montagnini et al. Organización de Estudios Tropicales. 622 p. ISBN 9968-9717-0-7.

Este libro de texto trata con amplitud, en sus ocho capítulos, aspectos ecológicos y descriptivos de los principales sistemas agroforestales. Estos constituyen una respuesta positiva ante el avance de la deforestación y el deterioro ambiental.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.

LIBRO RECOMENDADO

LOS BANCOS GENÉTICOS
Y LA
ALIMENTACIÓN MUNDIAL



US\$12.00

Los Bancos Genéticos y la Alimentación Mundial. D. Plucknett, N. Smith, J. Williams y N. Anishetty. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura/Centro Internacional de Agricultura Tropical. 260 p. ISBN 92-9039-200-2.

Traducción de la versión inglesa *Gene Banks and the World's Food*. Trata uno de los temas de mayor interés actual como es la biotecnología. Su mensaje es claro: la conservación y el aprovechamiento del acervo genético en beneficio de la humanidad sólo serán posibles a través del esfuerzo global de científicos y políticos.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.