

LA APLICABILIDAD DE LA CITOGÉNÉTICA EN *ZEA MAYS* L.: GENES MUTANTES MEIÓTICOS

Creuci Maria Caetano ¹

RESUMEN

Los eventos de micro y megasporogénesis comprenden tres etapas secuenciales pero muy distintas, pre-meiosis, meiosis y pos-meiosis, cuyo producto final son células haploides o gametas. La meiosis es la de más larga duración.

Es un proceso altamente integrado, lo que sugiere un control génico muy estricto e independiente de cada paso, con el fin de garantizar su estabilidad. Además, en plantas como el maíz, la alogamia garantiza una meiosis normal, por el grado de heterocigosis. Sin embargo, los pasos meióticos pueden ser alterados por la presencia de genes mutantes que afectan la formación de los gametos y reducen, por tanto, la fertilidad de la planta.

El término mutante meiótico (*mei* gene) describe una mutación que afecta drásticamente el patrón del comportamiento cromosómico durante la pre-meiosis (mitosis pre-meiótica), la meiosis o la pos-meiosis (mitosis del polen).

En el presente trabajo se hace una revisión del proceso meiótico teniendo como modelo el maíz, y luego enfatiza la importancia de la citogenética en la evaluación de la diversidad y la variabilidad genética, y de la estabilidad meiótica de los genotipos.

Palabras claves: comportamiento cromosómico, genes mutantes, meiosis, variabilidad genética, *Zea mays* L.

¹ Citogenetista, Ph.D en Ciencias Biológicas, consultora para el IPGRI Américas
cmcaetano@cgiar.org, mrhcaetano@yahoo.com.br.

ABSTRACT

Micro and megasporogenesis comprise three sequential but distinct stages, premeiosis, meiosis and postmeiosis, which culminates in the production of haploid cells or gametes. Meiosis is the stage of longest duration. There is a highly integrated process, suggesting a strict and independent genetic control at each key step, in order to guarantee meiotic stability. In addition, allogamous plants such as maize have a degree of heterozygosity that insures normal meiosis. However, meiotic steps may be altered by the presence of mutant genes, which seriously affect gamete formation and therefore impairing plant fertility. The term meiotic mutant (*mei* gene) describes a mutation that drastically modifies the pattern of chromosome behavior from the beginning of premeiosis to the restart of postmeiotic mitosis in pollen grains (postmeiosis). The present paper is a review on meiotic process in maize, and emphasizes importance of cytogenetics to evaluate genetic diversity and variability, and meiotic stability of genotypes.

Key words: chromosome behavior, *mei* genes, meiosis, genetic variability, *Zea mays* L.

INTRODUCCIÓN

La Citogenética (citología + genética) es por esencia una ciencia de investigación, que tiene por objeto el estudio de los aspectos genéticos observables mediante la microscopía. Su inicio ocurrió luego de redescubiertos los principios mendelianos de heredabilidad, cuando en 1903 Sutton y Boveri propusieron, de forma independiente, la Teoría Cromosómica de la Herencia. Su gran impulso se dio a partir de 1920, y desde entonces ha progresado rápidamente.

Los principios genéticos establecidos con base en la Citogenética Vegetal han aportado significativamente a la Citotaxonomía, Evolución, Mejoramiento y más recientemente, a la Biotecnología y a la Conservación de los Recursos Fitogenéticos.

Así, a nivel citogenético se puede evaluar la diversidad y la variabilidad genética, a través de un conjunto de técnicas que permiten el análisis de los genomas en distintos niveles de complejidad. Estos datos representan una herramienta valiosa para la caracterización de una especie, especialmente si se consideran en adición datos morfológicos y biogeográficos.

La evaluación del comportamiento cromosómico durante la meiosis (normalidad y/o irregularidades en la segregación), caracterización del cariotipo, a través del número y morfología de los cromosomas y la posición del centrómero, localización y caracterización de la heterocromatina constitutiva, el aspecto del núcleo interfásico, el número y posición de las RONS (regiones organizadoras del nucleolo) son datos según los cuales pueden hacerse análisis comparativos de especies.

Esto posibilita distinguir características derivadas o exclusivas de cada especie y características básicas o comunes a todas o a la mayor parte de las especies. Tal conocimiento es extremadamente valioso para basar programas de mejoramiento, para introgresión de caracteres agronómicos deseables y para formación de híbridos viables.

Problemas relacionados a la posición sistemática también pueden ser elucidados, una vez que los estudios citotaxonomicos permiten trazar la filogenia de especies domesticadas o de aquellas con uso potencial. El cariotipo es una característica mucho más propia de la especie, porque es prácticamente insensible a las variaciones ambientales o fisiológicas, al contrario de los parámetros morfológicos y bioquímicos. Además, junto al contenido de ADN y al número de cromosomas satelitados, permite estudios seguros de especies o grupos vegetales.

El análisis del comportamiento meiótico permite verificar el nivel de estabilidad meiótica de determinado genotipo. Anormalidades meióticas pueden llevar a la producción de gametos inviábiles y, en consecuencia, resultar en baja productividad. En los programas de mejoramiento, el uso de materiales que presentan inestabilidad meiótica es problemático para la selección, reduciendo su eficiencia, así como para la uniformidad y la pureza del futuro cultivar (Love, 1949, 1951). La inestabilidad meiótica puede ser responsable por la decadencia del cultivar en el campo (Jensen, 1965).

Aunque no sea el único, la ausencia o una baja frecuencia de anomalías meióticas es uno de los factores relacionados a la adaptabilidad de un genotipo, garantizando un desempeño estable en las diferentes condiciones ambientales. Según Moraes-Fernandes (1982), este es el factor necesario para que la transmisión regular de las características agronómicas deseables sea mantenida.

Por sus innumerables características favorables, el maíz está entre las especies consideradas modelos para los estudios genéticos y citogenéticos. Además, de ser bien investigado genéticamente, incluso a nivel molecular, es conveniente para observaciones de los eventos meióticos (Golubovskaya, 1989).

Por lo tanto, se presenta una revisión de la citogenética en maíz, con énfasis en su aplicabilidad en los estudios de los mutantes meióticos (*maí* genes). Los mutantes aquí descritos tienen origen espontáneo, y su comportamiento ha sido evaluado en distintos genotipos cultivados en suelos ácidos, en el Planalto Central Brasileño.

La importancia del cultivo del maíz (*Zea mays* L. *mays*). El maíz ya era conocido por los habitantes del continente americano mucho antes de la llegada de los europeos. Un carácter sagrado traducía la relación de supervivencia hombre-maíz en las culturas de la América Pré-colombina, puesto que ese maíz, siendo domesticado, no podía reproducirse sin la interferencia humana, y el hombre, a su vez, dependía estrictamente de este cereal como fuente de alimento. A su regreso a España, en 1493, Colón llevó semillas de maíz.

Como se ha mostrado el más productivo de todos los cereales, su cultivo rápidamente se difundió, siguiendo las rutas de los portugueses. Actualmente, el maíz es el alimento básico mejor establecido en todo el globo. Solamente el trigo y el arroz exceden en producción total y área de siembra. Sin embargo, en productividad por unidad de área el maíz ocupa el primer lugar (Galinat, 1979).

La cultura del maíz se destaca no solamente debido al gran valor económico y al inmenso potencial que presenta, sino también en razón de los conocimientos científicos relacionados con esta especie (Paterniani y Campos, 1999). El acentuado monoecismo permite un fácil control sobre las polinizaciones en el maíz, lo que lo torna el organismo vegetal favorito en investigaciones genéticas y citogenéticas (Galinat, 1979).

Clasificación botánica del maíz. De acuerdo con Paterniani y Campos (1999) y Paterniani et al., (2000) el maíz es una gramínea (familia *Poaceae*) de la tribu *Maydeae*, del género *Zea* y de la especie *Z. mays* L., identificado taxonómicamente como *Zea mays* L. *mays*, para distinguir de su pariente silvestre más cercano, el teosinte.

Esta tribu se caracteriza por el monoecismo (flores unisexuadas, generalmente en inflorescencias masculinas y femeninas, separadas en las mismas plantas). La mayor separación espacial entre la inflorescencia femenina y la masculina resulta en alogamia con prácticamente 100% de reproducción cruzada.

La tribu *Maydeae* presenta cinco géneros asiáticos y dos americanos, *Tripsacum* y *Zea*. El género *Tripsacum* presenta especies perennes en México, América Central y sur de los Estados Unidos, como *T. floridanum* y *T. dactyloides*, cuyos números cromosómicos son múltiplos de $x=18$, lo que puede indicar un posible origen ancestral con número básico primario $x=9$. *Knobs* cromosómicos terminales son comunes en esas especies de *Tripsacum*, excepto *T. australe*, única especie suramericana con $2n=36$, que no posee *knobs*. Especies tetraploides son $2n=4x=72$. A su vez, en el género *Zea*, *Z. mays mays*, *Z. mays mexicana*, *Z. mays parviglumis* y *Z. mays luxurians*, que son anuales, y *Z. mays diploperennis*, que es perenne, presentan $2n=2x=20$ cromosomas. Solamente *Zea mays perennis* presenta $2n=4x=40$ cromosomas, y es perenne.

Origen del maíz. Es un cereal esencialmente americano, pues aquí se encuentran los parientes silvestres más cercanos (teosinte y tripsacum). Además, fuera de América no hay fósiles ni evidencias lingüísticas, históricas o pictóricas de maíz. Evidencias indican que el maíz fue domesticado hace 8.000 y 10.000 años, siendo el principal cultivo de importantes civilizaciones pré-colombinas, desde Canadá hasta Argentina (Machado y Paterniani, 1998).

Varias teorías han buscado explicar el origen del maíz, destacándose:

- a. Evolución divergente: las especies de la tribu *Maydeae* más relacionadas entre sí, maíz, teosinte y tripsacum, tienen un ancestro común, hoy extinto (Weatherwax, 1954).
- b. Origen a partir del teosinte: evidencias citológicas y genéticas indican que el maíz es derivado directamente del teosinte (Galinat, 1977, 1979 y Beadle, 1977, 1978), por evolución simple. Ambos poseen número haploide igual a 10 cromosomas, grande homología entre sus cromosomas, y se cruzan fácilmente resultando en descendientes fértiles. En las generaciones siguientes se obtienen tipos similares al maíz y al teosinte, con diferencias genéticas relativamente pequeñas (Machado y Paterniani, 1998).

c. Origen a partir de *Zea tunicata*: en esta especie, cada grano está individualmente envuelto por pequeñas pajas semejantes a las que cubren a la mazorca. El maíz tunicado habría evolucionado, por domesticación, hasta el actual. El cruzamiento entre maíz y *tripsacum* originaría al teosinte (Mangelsdorf *et al.*, 1964). En Mangelsdorf (1974) esta misma hipótesis fue abandonada.

White y Doebley (1998) presentaron, a la luz de algunas de estas líneas de investigación sobre la evolución del maíz, una revisión donde se discuten la estructura y el origen de su genoma, el papel de los transposones en su evolución, y la base genética para las diferencias morfológicas entre el maíz y su ancestro silvestre el teosinte.

Domesticación y dispersión del maíz. El maíz es la planta cultivada con el más elevado grado de domesticación, por lo que ha perdido completamente la característica de supervivencia sin la interferencia del hombre. El alto nivel de heterocigosidad genética permitió a la especie una rápida respuesta a presiones selectivas por parte tanto del hombre como del ambiente (Galinat, 1979).

La selección inicial condujo a la disminución del número de mazorcas por planta, favoreciendo el aumento del tamaño de la mazorca (Paterniani y Campos, 1999). De su diseminación por el hombre pré-colombino durante sus migraciones o intercambio con otros grupos, emergieron razas geográficas, como el maíz adaptado a diferentes condiciones de crecimiento o altitud. Como consecuencia de la selección natural y humana, hubo una gran diversificación de la especie, reconociéndose actualmente cerca de 250 razas (Galinat, 1979; Paterniani y Campos, 1999).

Razas de maíz y diversidad genética de la especie. Según Anderson y Cutler (1942) el concepto raza define un conjunto de individuos emparentados, con suficientes características comunes para permitir su reconocimiento como un grupo. Para Brieger, *et al.*, (1958), raza es cualquier grupo de poblaciones con un número suficiente de caracteres comunes, mantenidos por reproducción panmítica y ocupando áreas definidas.

Un concepto sintético define raza como un grupo de individuos con un número significativo de genes en común. Como dentro de cada raza pueden ser identificadas variedades, *Z. mays* L. es altamente poli típica, con gran variabilidad genética (adaptaciones climáticas y variaciones seleccionadas por el hombre).

Paterniani y Goodman (1977) indican que la gran diversidad genética de la especie puede ser considerada ejemplo de evolución, que corresponde a cambios en las frecuencias génicas a lo largo de las generaciones. Los factores que contribuyen para esos cambios son selección, mutación, oscilación genética, migración e hibridación. Wellhausen *et al.*, (1952), aunque reconociendo el papel de la selección, afirman que la hibridación es el factor principal para el desarrollo de razas.

Para Weatherwax (1942) y Brieger *et al.*, (1958) la selección practicada por culturas (civilizaciones) americanas fue primordial para el desarrollo de las razas, lo que se evidencia por las preferencias específicas de diferentes grupos étnicos.

Estudios citogenéticos en maíz. La meiosis comprende un complejo conjunto de eventos citogenéticos que involucra el apareamiento de cromosomas homólogos, sinapsis o recombinación génica, formación de quiasma y crossing-over, segregación cromosómica, división reduccional y citocinesis (Golubovskaya, 1989 y Ross *et al.*, 1997), originando cuatro productos haploides. De esta forma, el número de cromosomas de una especie se mantiene constante de generación a generación.

La normalidad de estos eventos es garantizada por innumerables mecanismos de control de la expresión génica, que obedecen a principios básicos en todos los organismos multicelulares (Alberts *et al.*, 1997). Una meiosis regular es esencial para la formación de gametos viables (Golubovskaya, 1989).

La premisa básica de que la meiosis es genéticamente determinada fue establecida a partir de estudios en la década de 20 (Darlington, 1929, 1932; Sapegin, 1932 y Sokolov, 1934 citados por Golubovskaya, 1979), mientras las primeras descripciones de mutantes meióticos han sido realizadas por Beadle (1930), en maíz, y por Gowen y Gowen (1922) y Gowen (1928, 1933), en *Drosophila melanogaster*.

METODOLOGÍA

Los materiales evaluados consisten de dos poblaciones y varias de sus líneas endogámicas, híbridos simples y dobles de maíz, cultivados en suelos de sabana ('cerrado') en el Planalto Central Brasileño, Estado de Goiás.

Estos suelos se caracterizan por elevada acidez, causada sobre todo por el exceso de aluminio. En uno de los sitios de siembra se hizo la corrección del pH del suelo, en el segundo se mantuvo el índice original, inadecuado para el cultivo del maíz. Una de las poblaciones es seleccionada para acidez de suelo.

Se emplean las metodologías descritas por Belling (1926) y McClintock (1929) y adaptadas por Dempsey (1993). Las inflorescencias masculinas son fijadas en solución de Farmer (alcohol acético 3:1) durante 24 horas en temperatura ambiente. Luego se las transfieren a nueva Farmer o a alcohol al 70%, y se almacenan en baja temperatura.

La preparación de las placas sigue la técnica de aplastamiento. Luego se remueven las anteras, se las deposita en un porta-objetos con una gota del colorante propio carmín o acetocarmín al 1%. Enseguida se las cortan con una espátula de Lecron o bisturí, y con un estilete de punta fina se liberan las células madres del polen (CMPs). Se quitan los fragmentos de pared. El material es entonces cubierto con una laminilla (cubre-objetos), calentado levemente por dos a tres veces en llama de mechero de alcohol. El conjunto es presionado suavemente entre dos hojas de papel filtro.

Son considerados, por planta, determinado número de microsporocitos por fase meiótica (ej. 100), incluyendo desde la profase I a tétrada de microsporas. El conteo de tétradas de microsporas da el índice meiótico (porcentaje de cuartetos viables). El índice de viabilidad de polen es obtenido usando el mismo propio-carmín o aceto-carmín al 1% o el reactivo de Alexander (para maíz, véase Kindiger 1993). Cada genotipo se evaluó preferencialmente con repeticiones (un número igual de plantas). Se registraron la frecuencia de células normales y anormales, estableciéndose el promedio y su respectivo error estándar. CMPs con anomalías meióticas se fotografiaron en blanco y negro, en objetivos de 40x y 100x, ocular 10x.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

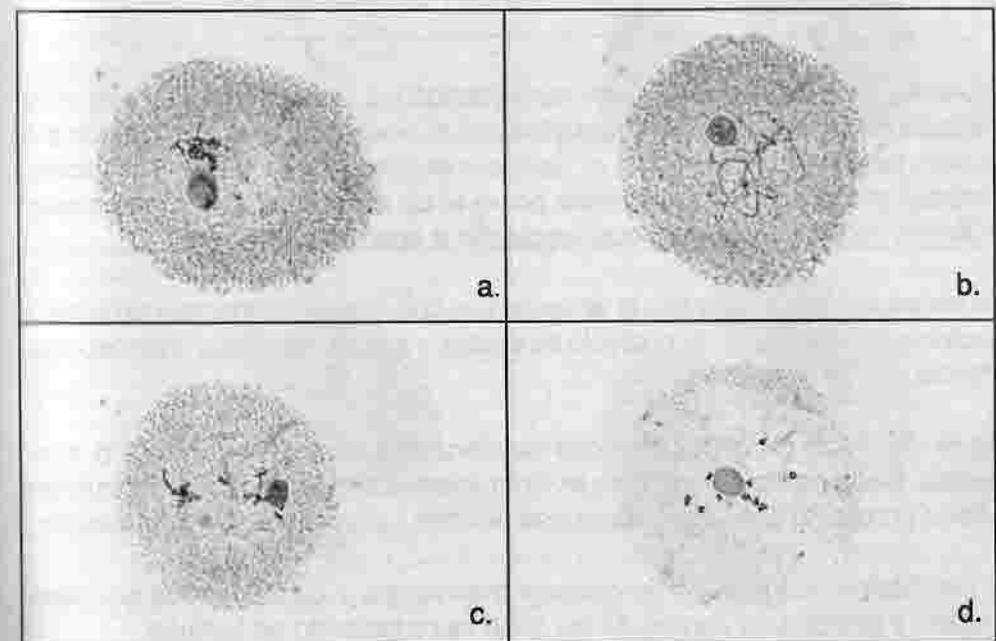
La meiosis es una división celular con una etapa disyuncional (meiosis I, donde ocurre la separación del par de cromosomas homólogos) y otra reduccional, similar a la mitosis (meiosis II, de separación de las cromátidas hermanas), culminando en la producción de cuatro núcleos haploides (n).

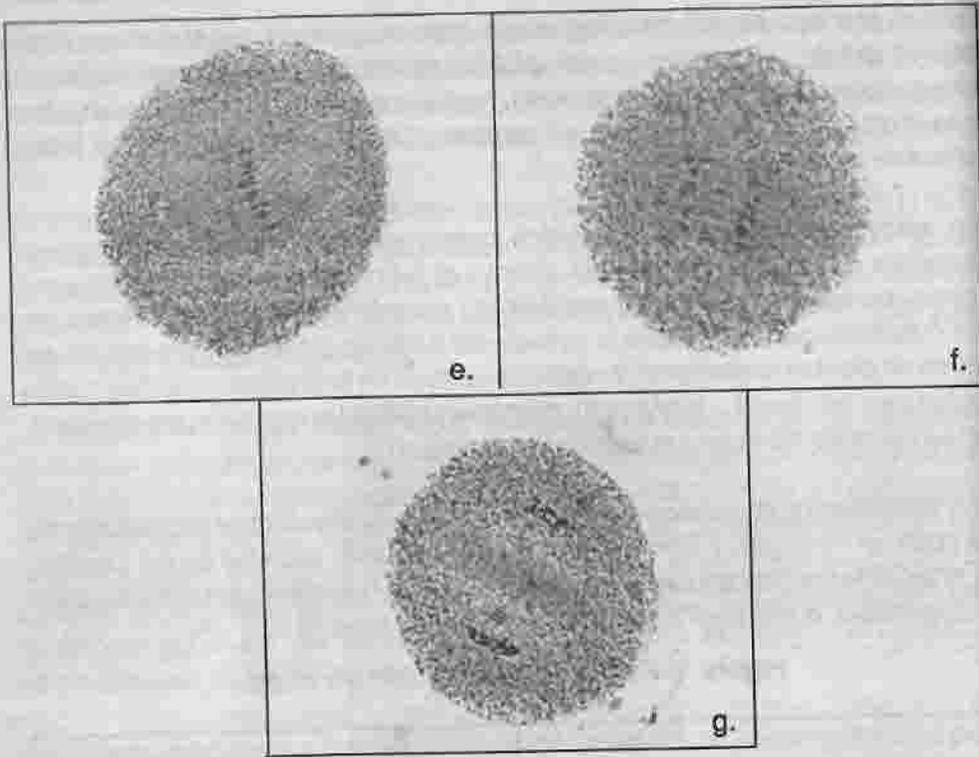
Todo el proceso de microsporogénesis (gametogénesis vegetal masculina) incluye desde la replicación del ADN durante las mitosis pre-meióticas (pre-meiosis), pasando por la meiosis, hasta la completa formación del polen (pos-meiosis). En las Figuras 1 y 2 se presentan, respectivamente, las fases normales de meiosis I y II.

Sin embargo, la secuencia meiótica puede ser alterada por mutaciones. Mutantes meióticos (*mei* genes) alteran drásticamente el comportamiento normal de los cromosomas y resultan en esterilidad del polen. Pueden ser pre-meióticos (actúan durante la síntesis del ADN, en las mitosis pre-meióticas. Raros en plantas superiores), sinápticos (actúan en la profase I), de disyunción (actúan en anafase I a telofase II), macho-estériles (la mayoría pos-meiótico, actúa después de la segunda división meiótica).

Son identificados por observaciones citológicas, evidencias genéticas, aborto de polen o de óvulo, y alteraciones en el desarrollo general de las plantas. Pueden tener origen espontáneo en poblaciones naturales, ser inducidos por mutagénesis, o resultados de hibridación interespecífica.

Figura 1. Fases de la meiosis I en maíz.





Profase I (a-d). Inicia con el leptoteno (donde los cromonemas ya son más distintos el uno de los otros, orientados con el cinetocoro a un mismo lado del núcleo, formando el "bouquet", el nucleolo es grande y la membrana nuclear distinta), el zigoteno se caracteriza por el inicio de la sinapsis en una o más regiones de los homólogos, que empiezan a acortarse (a).

En paquiteno (b) se completa la sinapsis. Los bivalentes representan el número haploide de la especie. El nucleolo es visible, y se distinguen los cromosomas organizadores de nucleolos.

En el diploteno (c) las cromátidas comienzan a repelerse, en uno o más puntos. Cada punto de contacto es un quiasma, donde hubo recombinación génica ('crossing over'). Los quiasmas pueden ser intersticiales y terminales.

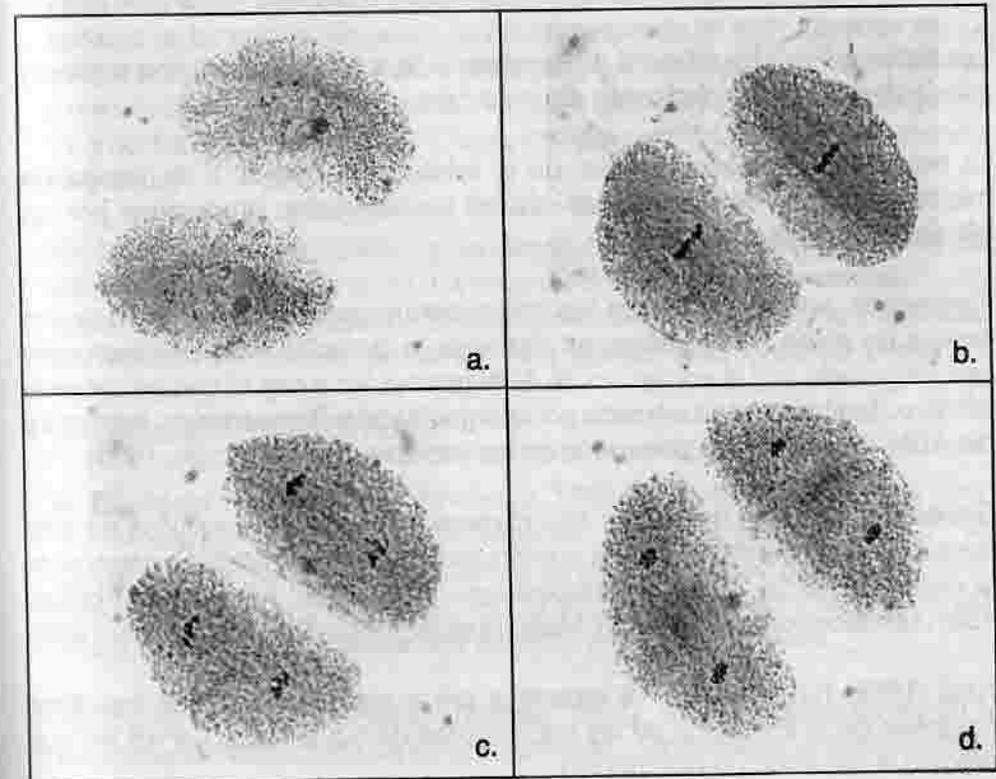
En la diacinesis (d), los cromosomas más cortos y condensados son bien visibles y posibles de conteo. El nucleolo va reduciendo en tamaño.

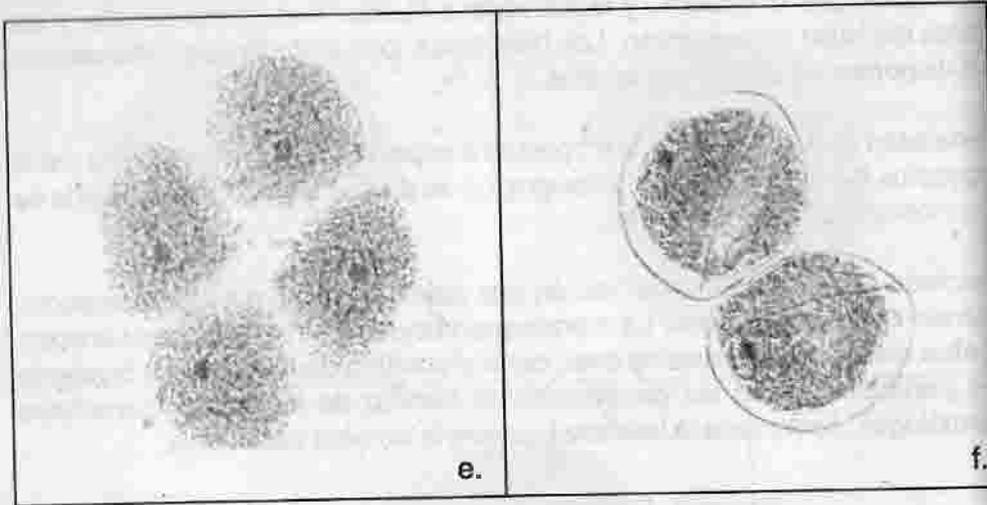
Metafase I (e). El nucleolo y la membrana nuclear han desaparecido, y las fibras del huso se organizan. Los bivalentes, con la máxima condensación, se disponen en la placa ecuatorial.

Anafase I (f). Los homólogos empiezan a separarse en dirección a los polos opuestos del huso, originando dos grupos de díadas con número haploide de cromosomas. Fase muy corta.

Telofase I (g). Los cromosomas en sus polos forman un grupo compacto, siendo dos núcleos hijos. La membrana nuclear y el nucleolo reaparecen. Como resultado del crossing over, cada cromátida derivada de un bivalente en particular puede ser genéticamente distinta de las de los parentales homólogos. Terminada la telofase I, ocurre la primera citocinesis.

Figura 2. Fases de la meiosis II en maíz





La intercinesis (intervalo entre las divisiones I y II) es muy corta o no ocurre.

Las profase II (a), metafase II (b), anafase II (c) y telofase II (d) son similares a los estados correspondientes de la mitosis.

La segunda citocinesis, al final de la telofase II, origina a la tétrada de microsporas (e), un cuarteto de células uninucleadas, producidas por las células madre del polen.

Finalmente, a la liberación de las microsporas sigue la maduración de los granos de polen (f). En especies diploides la duración está positivamente correlacionada con el contenido de ADN por núcleo y con el tiempo del ciclo mitótico. También es influenciada por la organización cromosómica, estructura del ADN, y patrones de desarrollo de las especies (véase Singh, 1993).

Genes mutantes en maíz. Un alto número de mutantes meióticos ha sido descrito en la especie, lo que ha contribuido a elucidar el proceso general de la meiosis (Beadle, 1932a; Golubovskaya, 1979, 1989; Albertsen y Phillips, 1981; Golubovskaya *et al.*, 1993; Maguire *et al.*, 1993; Staiger y Cande, 1993).

Kaul (1988) ha reportado 18 mutantes pre y meióticos, 27 pos-meióticos (después de la liberación de las microsporas de las tétradas), y 45 *ms* que afectan el desarrollo esporogénico.

Caetano-Pereira *et al.*, (1997, 1998a) reportaron la ocurrencia espontánea de mutantes meióticos en genotipos homocigotos y heterocigotos de maíz, cultivados en el Planalto Central Brasileño, Estado de Goiás. Estos genes, de origen espontáneo, presentaron siempre características adicionales a aquellas descritas en la literatura. Estos mutantes son:

- ***afd W23***: (absence of first division; Golubovskaya y Mashnenkov, 1975), que sustituye la primera división meiótica por mitosis (Figura 3 - a). La profase I es ausente. Los 20 univalentes en metafase I recuerdan a cromosomas C-mitóticos. En anafase I, 20 cromátidas migran hacia cada polo. Como los cinetocoros se han dividido en la primera división, las cromátidas se mueven al azar en anafase II, causando completa esterilidad masculina y femenina. Los genes *as*, *dy*, *dys1*, *dys2* son similares al *afd W23*, y todos también responsables por ausencia o interrupción de sinapsis.
 - ***po***: (polymitotic; Beadle, 1928, 1933), provoca mitosis supranumerarias durante la formación de polen, sin duplicación de ADN (Figura 3 - b). La meiosis es normal pero microsporas sufren mínimo cuatro divisiones (meiosis-like divisions; divisiones extras), sin replicación. También ocurre fragmentación cromosómica. Causa macho-esterilidad total y la femenina es parcial.
 - ***dv***: (divergent; Clark, 1940), causa segregación cromosómica anormal por afectar el huso (Figura 3 - c). La meiosis es normal hasta metafase I. Los husos no convergen hacia los polos (husos divergentes). En vez de tétradas normales, se forman políadas. Los genes *ms28*, *ms43* y *mei025* (Golubovskaya & Sitnikova, 1980) tienen comportamiento similar al *dv*. Completa esterilidad de polen.
 - ***el***: (elongate chromosomes; Rhoades, 1956 y Curtis, 1983), origina anomalías principalmente en la segunda división meiótica (Figura 3 - d). Se caracteriza por la desespiralización de cromosomas en las dos anafases. Resulta en células no reducidas, aborto de óvulos, y las semillas son $2n=20$, $2n=30$, $2n=25$ a 33. Genera una serie de plantas poliploides.
- Así como el *el*, el *st* (sticky; Beadle, 1937) origina alteraciones en la organización estructural de los cromosomas (adherencias cromosómicas).

- **va:** (variable sterile; Beadle, 1932b), lleva a citocinesis irregulares o defectuosas (Figura 3 - e). Mutante parcialmente fértil. Plantas *va/va* son normales hasta profase I. La ausencia de citocinesis es frecuente en telofase I. Puede causar también irregularidades en la forma celular. Resulta en gametos $2n = 20$ y $2n = 40$. Los genes *ms8* y *ms9* son similares al *va*.
- **pamA344:** (plural abnormalities of meiosis; Golubovskaya y Mashnenkov, 1976), resulta en anormalidades conjuntas no específicas de la meiosis (Figura 3 - f). Igualmente, el *ms17* causa varios efectos en la meiosis.

Otros nuevos mutantes han sido descritos en líneas endogámicas de maíz, siendo:

Mutante que causa degeneramiento cromatínico progresivo, acompañado por fusiones celulares en las etapas iniciales de la profase I (Figura 3 - g). (Caetano-Pereira *et al.*, 1999)

Mutante que lleva a la formación de granos de polen anómalos, siguiendo fusiones celulares en la profase I, pero sin causar desintegración del material cromatínico (Figura 3 - h). (Caetano-Pereira *et al.*, 1999).

Tres mutantes que afectan la sinapsis, detectados a partir de la diacinesis (desinápticos, *ds*), cuyo producto meiótico es constituido por políadas completamente anómalas o tétradas con microsporas presentando micronúcleos y, por tanto, desbalanceados genéticamente (Figura 3 - i). (Caetano-Pereira *et al.*, 2000). Aunque genes desinápticos (*ds*) han sido reportados en maíz, estos tienen características muy particulares.

La desinapsis consiste en la terminación precoz de quiasmas, llevando a la separación temprana de los homólogos. En este caso, el apareamiento y la recombinación génica ocurren.

Mutante del tipo asináptico (*as*), detectado en paquiteno. Un gene *as* afecta total o parcialmente el apareamiento de los homólogos en los estados iniciales de la profase meiótica (asinapsis). Esto resultó mucho más drástico, porque fue acompañado de segregación cromatídica, no-descondensación cromosómica y mitosis prematuras del polen, en fase de tétrada, antes de la duplicación del ADN (Figura 3 - j). (Caetano *et al.*, 2001a).

Mutante que causa citocinesis precoz y adicional al final de la metafase I resultando, después de las citocinesis subsecuentes, en políadas. Los gametos producidos son inviables debido al fraccionamiento anormal de los cromosomas (Figura 3 - k). (Caetano *et al.*, 2001b)

Mutante que lleva a la formación de husos múltiples asociados a citocinesis anormal en ambas las divisiones meióticas. Después de una profase I aparentemente normal, bivalentes no se congregan en uno sino en varios mini-husos en la metafase I. La citocinesis local es inducida por la presencia de uno o pocos bivalentes. En meiosis II persisten las fallas en la congregación de cromosomas, resultando en citocinesis adicionales (Figura 3 - l). (Caetano y Pagliarini, 2001).

Además de estos mutantes, anormalidades meióticas múltiples de diversos orígenes han sido observadas en nuestros estudios, destacándose las siguientes: fragmentación cromosómica (Figura 4 - a), (Caetano-Pereira *et al.*, 1995a), adherencia cromosómica (Figura 4 b - c), (Caetano-Pereira *et al.*, 1995b) alteración en la citoarquitectura de microsporocitos (Figura 4 d-e), (Caetano-Pereira e Pagliarini, 1996) citomixis (Figura 4 - f), (Caetano-Pereira e Pagliarini, 1997), sincicios (Figura 4 - gh) (Caetano-Pereira *et al.*, 1998a) y mixoploidía (Figura 4i), (Caetano-Pereira *et al.*, 1998b).

La fragmentación cromosómica puede ocurrir por fallas en el mecanismo de reparo que se procesa durante G2-P del ciclo celular, removiendo lesiones del ADN que normalmente ocurren y pueden originar aberraciones cromosómicas durante la condensación de la cromatina y movimientos de cromosomas en las divisiones subsecuentes.

La adherencia cromosómica es una intensa aglomeración de la cromatina a partir del paquiteno. La misma impide la segregación regular de los cromosomas y, como consecuencia, los productos meióticos son generalmente anormales.

Alteraciones en la citoarquitectura, a su vez, tienen implicaciones a nivel de citoesqueleto, mientras citomixis se refiere a la transferencia de cromatina de una a otra célula a través de canales citoplasmáticos.

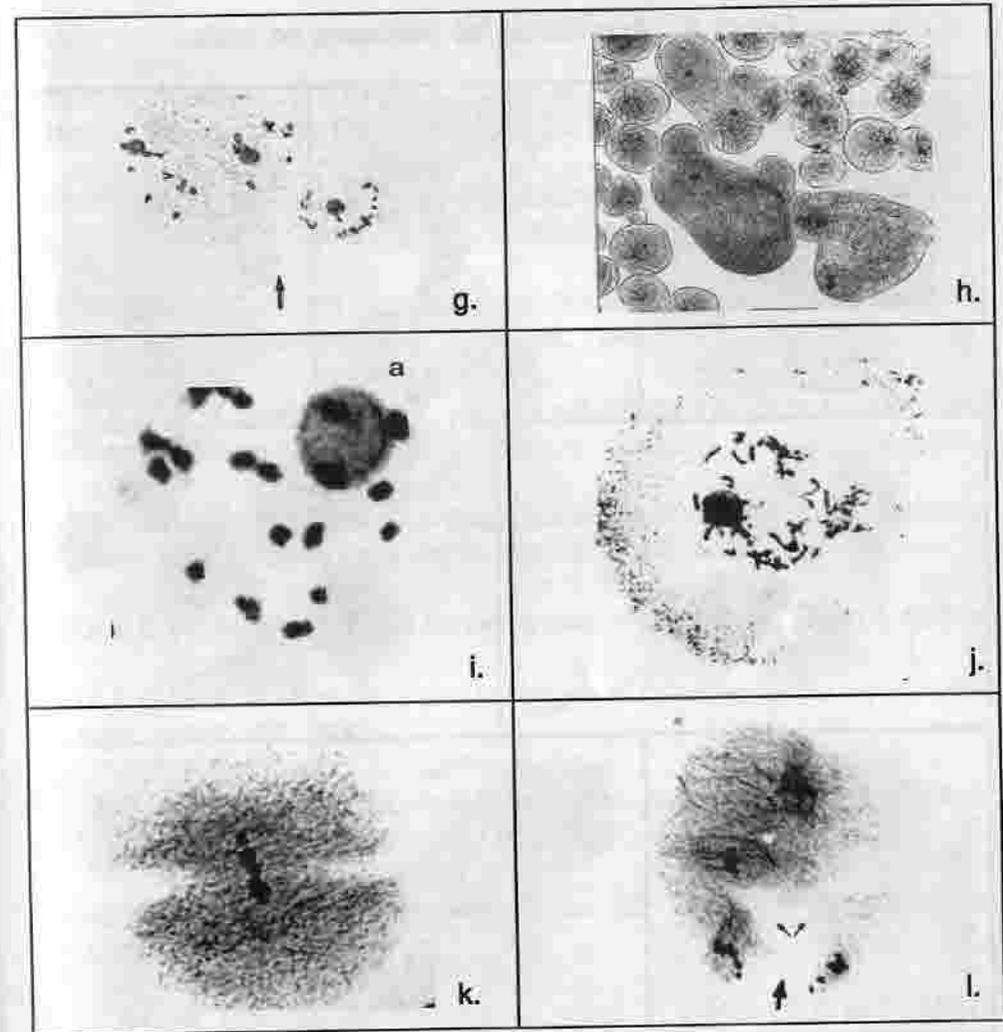
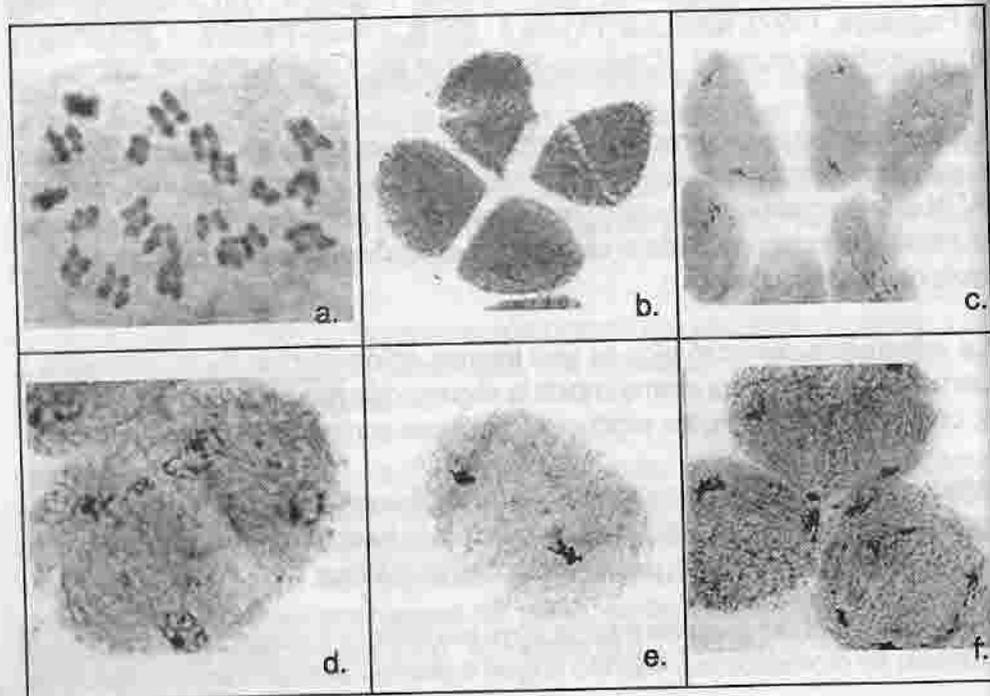
Esta migración del genoma o parte suya por citomixis causa desviación en el número de cromosomas, dando origen a plantas aneuploides o poliploides.

Sincicios pueden ser formados por no-formación de pared celular en las mitosis pre-meióticas (sincicio arquesporrial), por fusión de CMPs causadas por la disolución de la pared celular durante la profase meiótica (sincicio por fusión) o por la migración de la cromatina de una a otra CMP (sincicio migracional).

Finalmente, por mixoploidia se entiende la existencia de diferentes números euploides de cromosomas en meiocitos de un taxón, con implicaciones evolucionarias y prácticas.

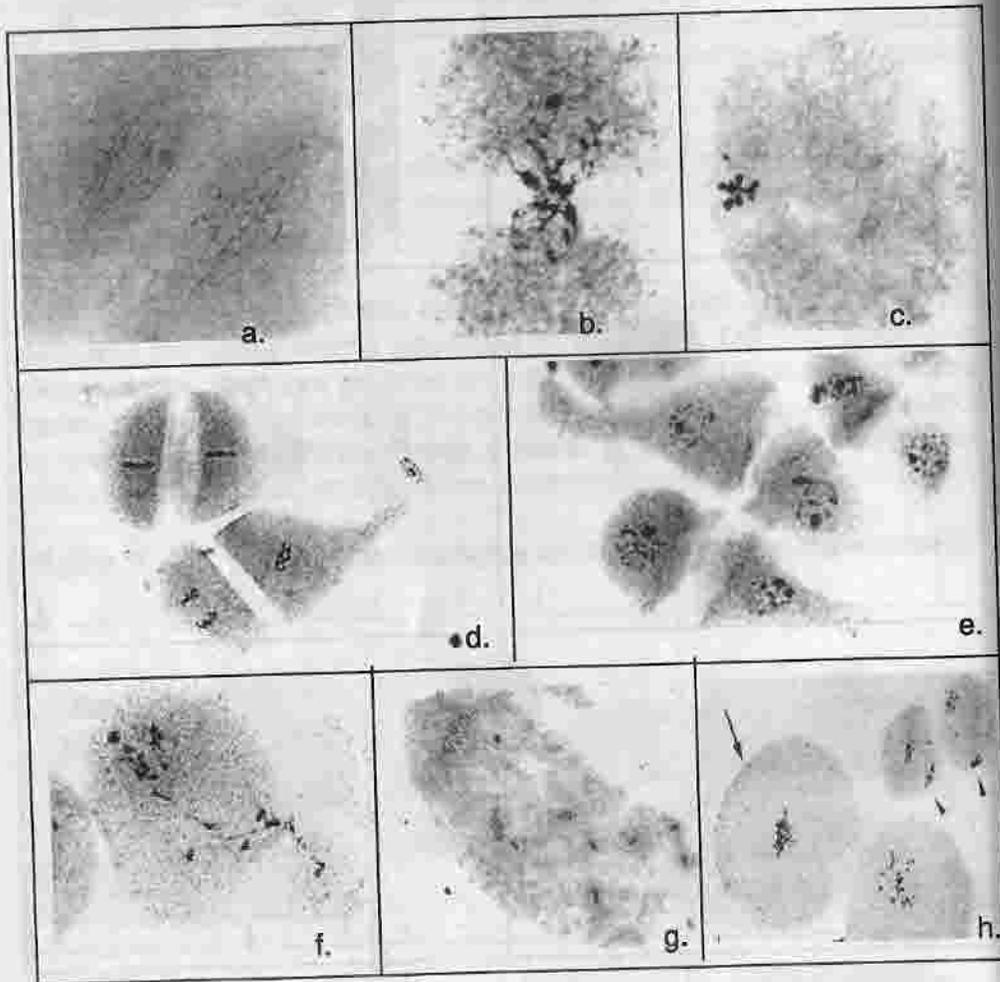
Todas estas mutaciones citadas comprometen la productividad de las plantas afectadas, por causar macho-esterilidad parcial o total. Del mismo modo, las anomalías meióticas generan un gran número de tétradas y productos finales de meiosis inviables. El conocimiento del comportamiento meiótico de una especie, por tanto, puede orientar la selección de determinado germoplasma para uso en programas de mejoramiento.

Figura 3. Comportamiento citológico de algunos genes *mei* en maíz.



(a) gen *afd W23*. (b) gen *po*. (c) gen *dv*. (d) gen *el*. (e) gen *va*. (f) gen *pam A344*. (g) gen que causa degeneramiento cromatínico progresivo acompañado de fusiones celulares. (h) gen que lleva a la formación de granos de polen anómalos. (i) gen *ds*. (j) gen *as*. (k) gen que causa citocinesis precoz y adicional en metafase I. (l) gen que origina a husos múltiples asociados a citocinesis extras.

Figura 4. Anormalidades meióticas en maíz.



(a) fragmentación cromosómica. (b-c) modalidades de adherencia cromosómica: adherencia (b), pínosis (c). (d-e) alteración en la citoarquitectura de los microsporocitos. (f) citomixis. (g) sincicios. (h) mixoploidía.

BIBLIOGRAFIA

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J.D. Molecular Biology of the Cell. New York, Garland Publ. Inc. 1997.
- ALBERTSEN M.C., PHILLIPS R.L. Developmental cytology of 13 male sterile loci in maize. *Can. J. Genet. Cytol.* 23: 195-208. 1981.
- ANDERSON E., CUTLER H.C. Races of *Zea mays*: I. Their recognition and classification. *Ann. Mo. Bot. Gar.* 29: 69-88. 1942.
- BEADLE G.W. A gene for supernumerary mitosis during spore development in *Zea mays*. *Science* 70: 406-407. 1928.
- BEADLE G.W. Genetical and cytological studies of mendelian asynapsis in *Zea mays*. *Mem. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta.* 129: 1-28. 1930.
- BEADLE G.W. Genes in maize for pollen sterility. *Genetics* 17: 413. 1932a.
- BEADLE G.W. A gene in *Zea mays* for failure of cytokinesis during meiosis. *Cytologia* 3: 142-155. 1932b.
- BEADLE G.W. Polymitotic maize and the precocity hypothesis of chromosome conjugation. *Cytologia* 5: 118-130. 1933.
- BEADLE G.W. The mystery of maize. *Proc. 32nd Am. Corn and Sorghum Res. Conf.* 32: 1-5. 1977.
- BEADLE G.W. Teosinte and the origin of maize. In: Walden D.B. (ed.). *Maize Breeding and Genetics*. New York, John Wiley and Sons, 8:113-141. 1978.
- BELLING J. The iron-acetocarmine method of fixing and staining chromosomes. *Biol. Bull.* 50: 160-162. 1926.
- BRIEGER F.G., GURGEL J.T.A., PATERNIANI E., BLUMNSCHEIN A., ALLEONNI M.R. Races of Maize in Brazil and other Eastern South American Countries. Washington DC, Natl. Acad. Sci. Natl. Res. (Council Publ. 593). 1958.

- CAETANO-PEREIRA C.M., PAGLIARINI M.S. Unusual shapes of maize microsporocytes. *Nucleus* 39:107-110. 1996.
- CAETANO-PEREIRA C.M., PAGLIARINI M.S. Cytomixis in maize microsporogenesis. *Cytologia* 62: 351-355. 1997.
- CAETANO C.M., PAGLIARINI M.S. A new meiotic abnormality in *Zea mays*: multiple spindles associated with abnormal cytokinesis in both divisions. *Genome* 44: 865-871. 2001.
- CAETANO-PEREIRA C.M., TASCHETTO O.M., DEFANI-SCOARIZE M.A., PAGLIARINI M.S. Spontaneous chromosome fragmentation in maize microsporocytes. *Cytologia* 60: 297-301. 1995a.
- CAETANO-PEREIRA C.M., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M., MARTINS E.N. Influence of aluminum in causing chromosome stickiness in maize microsporocytes. *Maydica* 40: 325-330. 1995b.
- CAETANO-PEREIRA C.M., DEFANI-SCOARIZE M.A., PAGLIARINI M.S. Spontaneous occurrence of *mei* genes *afd* and *po* in Brazilian maize populations. *Arq. Biol. Tecnol.* 40: 271-277. 1997.
- CAETANO-PEREIRA C.M., DEFANI-SCOARIZE M.A., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M. Syncytes, abnormal cytokinesis and spindle irregularities in maize microsporogenesis. *Maydica* 43: 235-242. 1998a.
- CAETANO-PEREIRA C.M., TASCHETTO O.M., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M. Spontaneous mixoploidy in maize anthers. *Cytologia* 63: 305-309. 1998b.
- CAETANO-PEREIRA C.M., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M. Cell fusion and chromatin degeneration in an inbred line of maize. *Genet. Mol. Biol.* 22: 69-72. 1999.
- CAETANO-PEREIRA C.M., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M. Three different patterns of desynapsis in maize microsporogenesis. *Maydica* 45: 309-317. 2000.
- CAETANO C.M., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M. Complete absence of

- synapsis during meiosis in maize lines grown on acidic soils. *Maydica* 46: 141-146. 2001.
- CAETANO C.M., PAGLIARINI M.S., BRASIL E.M. A case of precocious and additional cytokinesis in maize microsporogenesis. *Nucleus* 44: 1-6. 2001.
- CLARK F.L. Cytogenetic studies of divergent meiotic spindle formation in *Zea mays*. *Am. J. Bot.* 27: 547-559. 1940.
- CURTIS CA. Mapping of *dv* and *el*. *Maize Genet. Coop. News Lett.* 57: 32. 1983.
- DEMPSEY E. Traditional analysis of maize pachytene chromosomes. In: Freeling M. and Walbot V. (eds.). *The Maize Handbook*, New York, Springer-Verlag New York Inc., pp. 432-441. 1993.
- GALINAT W.C. The origin of corn. In: Sprague G.F. (ed.). *Corn and Corn Improvement*. Madison, Amer. Soc. Agron. 1977.
- GALINAT W.C. Botany and origin of maize. In: Ciba-Geigy Agrochemicals Technical Monograph. *Maize*. Basle, Switzerland, Ciba-Geigy Ltd. pp. 6-12. 1979.
- GOLUBOVSKAYA I.N. Genetic control of meiosis. *Int. Rev. Cytol.* 58: 247-290. 1979.
- GOLUBOVSKAYA I.N. Meiosis in maize: *mei* genes and conception of genetic control of meiosis. *Adv. Genet.* 26: 149-192. 1989.
- GOLUBOVSKAYA I.N., MASHNENKOV A.S. Genetical control of meiosis. I. *mei*-mutation in maize *afd 1*. *Genetika* 11: 11-17. 1975.
- GOLUBOVSKAYA I.N., MASHNENKOV A.S. Genetical control of meiosis. II. Desynaptic mutant in maize. *Genetika* 12: 7-14. 1976.
- GOLUBOVSKAYA I.N., GREBENNIKOVA Z.K., AVALKINA N.A., SHERIDAN W.F. The role of the *ameiotic 1* gene in the initiation of meiosis and in subsequent meiotic events in maize. *Genetics* 135: 1151-1166. 1993.

- GOWEN J.W. Mutation, chromosome nondisjunction and the gene. *Science* 68: 211-212. 1928.
- GOWEN J.W. Meiosis as a genetic character in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Zool.* 65: 83-106. 1933.
- GOWEN M.S., GOWEN J.W. Complete linkage in *Drosophila melanogaster*. *Am. Nat.* 56: 286-288. 1922.
- JENSEN, N.F. Population variability in small grains. *Agron. J.* 57: 153-162. 1965.
- KINDIGER B. A staining procedure for pollen grain chromosomes of maize. In: Freeling M. and Walbot V. (eds.). *The Maize Handbook*. New York, Springer-Verlag New York Inc., pp. 476-480. 1993.
- LOVE, R.M. La citología como ayuda práctica al mejoramiento de los cereales. *Rev. Argent. Agron.* 16: 1-13. 1949.
- LOVE, R.M. Varietal differences in meiotic behavior of Brazilian wheats. *Agron. J.* 43: 2-6. 1951.
- MACHADO C.T. DE T., PATERNIANI M.L.S. Origem, domesticação e difusão do milho. In: Soares A.C. *et al.*, (orgs.). *Milho Crioulo: Conservação e Uso da Biodiversidade*. Rio de Janeiro, AS-PTA. pp. 21-27. 1998.
- MAGUIRE M.P., RIESS R.W., PAREDES A.M. Evidence from a maize desynaptic mutant points to a probable role of synaptonemal complex central regions components in provision for subsequent chiasma maintenance. *Genome* 36: 797-807. 1993.
- MANGELSDORF P.C. *Corn its Origin, Evolution and Improvement*. Cambridge, Massachusetts. 1974.
- MANGELSDORF P.C., MCNEISH R.S., GALINAT W.C. Domestication of corn. *Science* 143: 538-545. 1964.
- MCCLINTOCK B. A method for making acetocarmine smears permanent. *Stain Technol.* 4: 53-56. 1929.

- MORAES-FERNANDES, M.I.B. Estudo da instabilidade meiótica em cultivares de trigo: efeito genotípico, relação com fertilidade e seleção de plantas estáveis. *Pesq. Agropec. Bras.* 17: 1177-1191. 1982.
- PATERNIANI E. Diversidade genética e raças de milho no Brasil. In: Soares A.C. *et al.*, (orgs.). *Milho Crioulo: Conservação e Uso da Biodiversidade*. Rio de Janeiro, AS-PTA. pp. 28-31. 1998.
- PATERNIANI E., GOODMAN M.M. *Races of Maize in Brazil and Adjacent Areas*. Mexico City, International Maize and Wheat Improvement Center. 1977.
- PATERNIANI E., CAMPOS M.S. Melhoramento do milho. In: Borém A. (ed.). *Melhoramento de Espécies Cultivadas*. Viçosa, Editora UFV, pp. 429-485. 1999.
- PATERNIANI E., NASS L.L., SANTOS M.X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: Udry C.V. e Duarte W. (orgs.). *Uma História Brasileira do Milho: O Valor dos Recursos Genéticos*. Brasília, D.F., Paralelo 15, pp. 11-41. 2000.
- RHOADES M.M. Genetic control of chromosomal behaviour. *Maize Genet. Crop News Lett.* 30: 38-42. 1956.
- STAIGER C.J., CANDE W.Z. Cytoskeletal analysis of maize meiotic mutants. In Ormrod J.C., Francis D. (eds.) *Molecular and Cell Biology of the Plant Cell Cycle*, The Netherlands, Kluwer, Dordrecht, pp. 157-171. 1993.
- WEATHERWAX P. The Indian as a corn breeder. *Proc. Indiana Acad. Sci.* 51: 13-21. 1942.
- WEATHERWAX P. *Indian Corn in Old America*. New York, The McMillan Co.
- WHITE S., DOEBLEY J. 1998. Of genes and genomes and the origin of maize. *TIG* 14: 327-332. 1954.