

## CONTROL GENÉTICO DE LA PRODUCCIÓN DE POLEN $2n$ POR "HUSOS PARALELOS" EN PAPAS DIPLOIDES

Elsa L. Camadro; Rodimiro Ortiz; Masaru Iwanaga\*

### RESUMEN

Se utilizó un diseño de cruzamientos dialélicos para entrecruzar seis clones diploides productores de polen  $2n$  por "husos paralelos", con amplia base de variabilidad heredable. Las progenies fueron evaluadas por producción de polen  $2n$  en dos localidades en Perú. El porcentaje de las progenies que produjeron 1% o más de polen  $2n$  varió entre 36% y 86% en Huancayo y 14% y 83% en San Ramón; sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las 29 familias en las dos localidades. La Aptitud Combinatoria General (ACG), la Aptitud Combinatoria Específica (ACE) y los efectos maternos fueron significativos para el porcentaje de individuos que producían polen  $2n$  y la frecuencia media de producción de polen  $2n$  por familia, cuando se asumió la existencia de efectos fijos. Los valores de coincidencia de producción de polen  $2n$  en las generaciones de plántula y clonal fueron altos (78%-83%).

En cruzamientos recíprocos entre plantas "productoras" y "no productoras" de polen  $2n$ , aproximadamente un cuarto a un tercio de la descendencia produjo este tipo de polen. La producción de polen  $2n$  por "husos paralelos" tendría un control genético relativamente simple. Por ello, el carácter puede manejarse en el mejoramiento genético como si estuviera controlado por un solo gen.

*Palabras claves adicionales:* restitución de la primera división meiótica, gametos  $2n$ , poliploidización sexual.

Aceptado para publicación: marzo 1,1993

\* Ing. Agr, M.S., Ph.D. Científico visitante en el Centro Internacional de la Papa (CIP), Unidad Integrada E.E.A. Balcarce (INTA), FCA (UNMP) y CONICET, C.C. 256 (7620) Balcarce, Argentina; M.S., Ph.D. Dir. actual: IITA, Nigeria; M.S., Ph.D. Dir actual: IBPGR, Via delle Sette Chiese 142, 00145 Roma, Italia

## SUMMARY

### GENETIC CONTROL OF 2n POLLEN PRODUCTION BY "PARALLEL SPINDLES" IN DIPLOID POTATOES

A diallel mating design was used to intermit six diploid clones with a wide genetic base, that produced 2n pollen by "parallel spindles". The progenies were evaluated for 2n pollen production in two localities in Peru. The percentage of progenies which produced 1% or more 2n pollen varied from 36% to 86% in Huancayo and from 14% to 83% in San Ramón; however, statistically significant differences were not detected for the 29 families in either locality. General Combining Ability (GCA), Specific Combining Ability (SCA) and maternal effects were significant for the percentage of individuals with 2n pollen and the average frequency of 2n pollen production per family when fixed effects were assumed.

The coincidence values for 2n pollen production in the seedling and clonal generations was high (78% to 83%). In the reciprocal crosses among 2n pollen "producer" and "non producer" plants, approximately one-fourth to one-third of the progenies produced 2n pollen. The production of 2n pollen by "parallel spindles" is under a relatively simple genetic control. Therefore, the trait can be handled in a breeding program as if it were controlled by a single gene.

*Additional Index words:* first division restitution, 2n gametes, sexual polyploidization.

En la naturaleza, los poliploides pueden originarse por duplicación espontánea del complemento cromosómico somático (poliploidización asexual) o por el funcionamiento de gametos 2n (poliploidización sexual). Por definición, los gametos 2n son gametos o gametofitos con el número no reducido de cromosomas, que pueden ser producidos por eventos meióticos anómalos, el desarrollo de células apomeióticas del óvulo, o la duplicación cromosómica pre- o post-meiótica (11,1,5).

En las especies tuberosas silvestres y cultivadas del género *Solanum* se han observado varias alteraciones en el proceso meiótico que han sido inequívocamente asociadas con la producción de polen 2n. Una de ellas consiste

en la orientación paralela de los husos en anafase II de la microsporogénesis, en contraposición con los husos normales que se orientan en forma tal que sus vértices definen un tetraedro. Los husos paralelos pueden estar fusionados o no.

Algunos investigadores denominan "husos paralelos" tanto a los husos fusionados como a los no fusionados (13) mientras que otros distinguen dos tipos: "husos paralelos" (sin fusionar) y "husos fusionados" (17, 19).

Los husos paralelos han sido relacionados con la formación de díadas en el estadio de tetradas, y la producción de polen  $2n$  con núcleos genéticamente equivalentes a aquellos formados por restitución de la primera división meiótica (polen  $2n$  por RPD)(2).

Existe aún controversia entre diferentes investigadores con respecto a la relación entre la presencia de anomalías en los husos y la existencia de disturbios meióticos (15,6,8,13,17). Mok y Peloquin (13) y Veilleux y col. (19) han sugerido que "husos paralelos", "husos fusionados" y "husos tripolares" (que dan como resultado una tríada de dos microsporos  $n$  y uno  $2n$ ) podrían simplemente representar niveles de intensidad en la expresión de un mismo carácter.

Para poder explotar el potencial ofrecido por los gametos  $2n$  con núcleos genéticamente equivalentes a aquellos formados por restitución de la primera división meiótica en el mejoramiento genético, es importante conocer la herencia del (los) mecanismo(s) citológico(s) que llevan a la formación de este tipo de gametos.

Los datos genéticos obtenidos por Mok y Peloquin (13,14) con seis clones diploides de origen híbrido (*Solanum tuberosum* Grupo Phureja x haploide de *S. tuberosum* Grupo Tuberosum) dan sustento a la hipótesis de que la orientación paralela de los husos en anafase II está controlada por un gen mutante recesivo con penetrancia incompleta. Resultados similares han sido informados en alfalfa (10).

Existen indicaciones, sin embargo, de que el fondo genético y el ambiente pueden influenciar la expresión de la capacidad para producir polen  $2n$  por RPD.

Veilleux y Lauer (18) observaron que en *S. tuberosum* Grupo Phureja la expresión relativamente constante o variable de la producción de polen  $2n$  por RPD dependía del genotipo particular que se estaba investigando. Los genotipos constantes tenían el mismo nivel de expresión del carácter, independientemente del ambiente en el que eran cultivados. En los genotipos variables, por otro lado, se observaron diferencias en la producción de polen  $2n$  en lóculos, anteras y botones florales de una misma planta (19), lo que es indicativo de diferencias microambientales.

La temperatura (4) y el fotoperíodo (16) también afectan la frecuencia de polen  $2n$  producido por un genotipo.

Jacobsen (7) cultivó plantas de un clon diploide en diferentes lugares de un invernáculo e informó que, en un muestreo, esas plantas produjeron 0.4% a 31.0% de polen de tamaño grande. Este investigador postuló que la herencia del carácter "producción de polen  $2n$ " sigue un patrón poligénico, y que algunas progenies superan a la media parental.

En general, los estudios sobre la herencia de la producción de polen  $2n$  por RPD han sido realizados con pocos genotipos de estrecha base genética. Para obtener más información sobre la herencia de este carácter, se realizó un análisis dialélico con progenitores seleccionados en poblaciones con germoplasma silvestre y cultivado, que producían polen  $2n$  por el mecanismo de "husos paralelos".

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó un diseño de cruzamientos dialélicos que no incluyó las autofecundaciones (Método Experimental 3, de acuerdo a Griffing (3)) para entrecruzar seis clones diploides de origen híbrido. Estos clones habían sido seleccionados por resistencia a agentes bióticos y abióticos adversos, y producción de polen  $2n$  por el mecanismo de "husos paralelos" (Tabla 1).

Las semillas resultantes de los cruzamientos fueron puestas a germinar en bandejas. Las plántulas de tres semanas fueron trasplantadas en macetas Jiffy-7 y llevadas al campo cuatro semanas más tarde.

Las evaluaciones se realizaron en dos localidades en Perú: Huancayo (lat.:  $12^{\circ}07'05''$ ; alt.: 3280 m) y San Ramón (lat.:  $11^{\circ}08'05''$ ; alt.: 800 m). El diseño experimental utilizado en ambas localidades fue el de Bloques Completos Aleatorizados (BCA), con tres repeticiones de 30 plantas cada uno.

En floración, se tomaron muestras de polen que se colorearon sobre portaobjetos con carmín acético en glicerol (9) y se observaron con microscopio óptico. Las plantas que produjeron polen de tamaño heterogéneo, con 1% o más de polen de tamaño grande, fueron clasificadas como "productoras" de polen  $2n$ .

Diez genotipos por familia, en las tres repeticiones, se tamizaron por producción de polen  $2n$  dos veces en un período de tres semanas. Estos genotipos se cultivaron como clones en Huancayo y se evaluaron durante un segundo año.

Una muestra de las progenies del cruzamiento dialélico, clasificadas como "productoras" (P) y "no productoras" (NP) de polen  $2n$  se utilizaron como progenitores en cruzamientos recíprocos "P-NP" y "P-P". La descendencia de estos cruzamientos fue evaluada en dos localidades, Huancayo, Perú, y Balcarce (lat.:  $37^{\circ}45'05''$ ), Argentina.

**Tabla 1. Fuentes de germoplasma, reacción a agentes bióticos y abióticos adversos y frecuencia de producción de polen 2n en seis clones diploides utilizados en el análisis dialélico.**

Clon	Fuente de germoplasma <sup>1</sup>	Reacción a agentes bióticos y abióticos adversos	Frecuencia de polen 2n <sup>2</sup>
381328.18	.phu-stn .sps	Resistente al nematodo del nudo	M
381348.7	.phu-stn .sps .tbr	Resistente al nematodo del nudo	A
FH-122	.phu-stn	Resistente al tizón temprano	M
FH-92	.phu-stn	Tolerante al calor	B
MI-49.10	.tbr .adg .sps .chc .phu	Resistente a la marchitez bacteriana	A
MI-17.12	.adg .sps .phu	Resistente a la marchitez bacteriana	B

<sup>1</sup>phu=phureja; stn = stenotomun; sps=sparsipilum; tbr=tuberosum; adg=andigena; chc=chacoense, <sup>2</sup>B=baja (1-10%)M=media (11-29%); A=alta (>30%)

## RESULTADOS

En la Tabla 2 se presentan los resultados del tamizado por producción de polen 2n de las progenies generadas por el diseño de cruzamientos dialélicos. El porcentaje de las progenies que produjeron 1% de polen 2n o más varió entre 36% y 86% en Huancayo y entre 14% y 83% en San Ramón. El porcentaje de individuos que produjeron polen 2n fue más alto en Huancayo (59%) que en San Ramón (51%); sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las 29 familias.

Los valores de Aptitud Combinatoria General (ACG), Aptitud Combinatoria Específica (ACE) y efectos maternos fueron estadísticamente significativos para

el porcentaje de individuos que producían polen 2n y la frecuencia media de producción de polen 2n por familia, cuando se asumió la existencia de efectos fijos.

**Tabla 2. Porcentaje de plantas productoras de polen 2n en la descendencia de 29 familias cultivadas en Huancayo y San Ramón, Perú.**

Hembras	Machos						Hembra media
	381328.18	381348.7	FH-122	FH-92	MI-49.10	MI-17.12	
381328.17	...	71.0 <sup>1</sup>	6.0	48.0	69.0	68.0	64.5
	....	83.0 <sup>2</sup>	14.0	44.0	30.0	67.0	47.6
	....	77.0 <sup>3</sup>	40.0	46.0	49.5	67.5	56.0
381348.7	72.0	....	66.0	66.0	70.0	86.0	72.2
	7.0	....	62.0	67.0	31.0	52.0	55.8
	69.5	....	64.0	66.5	50.5	69.0	63.9
FH-122	36.0	61.0	....	53.0	71.0	54.0	54.8
	67.0	56.0	....	26.0	45.0	80.0	54.8
	51.5	58.5	....	39.5	58.0	67.0	54.9
FH-92	59.0	52.0	59.0	....	58.0	n.a.	57.0
	46.0	61.0	45.0	....	36.0	n.a.	47.0
	52.5	56.5	52.0	....	47.0	n.a.	52.0
MI-49.10	61.0	54.0	62.0	65.0	....	56.0	60.0
	60.0	56.0	65.0	47.0	....	22.0	50.0
	60.5	55.0	63.5	56.0	....	39.0	54.8
MI-17.12	44.0	55.0	42.0	39.0	44.0	....	45.0
	53.0	35.0	47.0	28.0	48.0	....	42.2
	48.5	45.0	44.5	33.5	46.0	....	43.5
Macho medio	54.5	58.6	59.3	54.1	62.1	66.3	....
	58.6	58.2	46.6	42.4	38.0	55.2	....
	56.5	58.4	52.8	48.3	50.3	60.6	....
Progenitor	59.5	65.4	57.1	55.4	61.0	54.4	58.9
	53.1	57.0	50.7	44.4	44.0	48.0	49.7
	56.3	61.2	53.9	49.9	52.5	52.1	54.3

<sup>1</sup>Huancayo; <sup>2</sup>San Ramón; <sup>3</sup>Huancayo y San Ramón

Los valores de coincidencia (expresados en porcentaje) para producción de polen 2n en dos muestras que se obtuvieron en plantas cultivadas a partir de semilla botánica (generación de plántula) y una muestra de la primera generación clonal se presentan en la Tabla 3. Para los datos agrupados, el porcentaje de coincidencia entre las dos muestras tomadas en la generación de plántulas fue 83% y el de las muestras tomadas en la generación de plántulas y en la primera generación clonal fue 78%. Once por ciento de los individuos que produjeron polen 2n en la generación de plántula produjeron sólo polen n en la primera generación clonal. Un porcentaje similar de plantas clasificadas como "no productoras" de polen 2n durante la generación de plántula produjeron polen 2n en la generación clonal.

**Tabla 3. Coincidencia (en porcentaje) de producción de polen 2n en genotipos muestreados durante las generaciones de plántula y clonal.**

		Machos			
Hembras	381328.18	381348.7	FH-122	FH-92	MI-49.10
381328.18	....	80 <sup>1</sup>	100	90	100
	....	78 <sup>2</sup>	88	91	100
	....	100 <sup>3</sup>	88	100	100
381348.7	90	....	90	67	80
	82	....	75	67	80
	70	....	80	100	100
FH-122	90	88	....	70	90
	50	100	....	50	60
	64	86	....	40	50
FH-92	90	100	50	....	89
	60	57	78	....	70
	80	33	77	....	89
MM9.10	70	100	54	75	....
	73	90	90	75	....
	100	80	80	75	....

Momento de muestreo (generaciones): <sup>1</sup>1ra de plántula-2da de plántula;

<sup>2</sup>1ra de plántula-clonal; <sup>3</sup>2da de plántula-clonal

En los cruzamientos recíprocos entre las plantas "productoras" y "no productoras" de polen 2n, aproximadamente un cuarto a un tercio de la descendencia produjo polen 2n dependiendo, respectivamente, de si ninguno de los progenitores producían polen 2n o sólo uno de ellos producía este tipo de polen (Tabla 4).

**Tabla 4. Número de plantas productoras de polen 2n en la descendencia de cruzamientos entre plantas "productoras" (P) y "no productoras" (NP) de polen 2n.**

Tipo de cruzamiento	N° de Familias	N° de plantas	N° de plantas c/polen 2n	% de plantas c/polen 2n
PxNP	6	146	56	38.0
NPxP	4	91	30	32.0
NPxNP	22	788	214	27.5

## DISCUSIÓN

Mendiburu y Peloquin (11) fueron los primeros en reconocer el valor de los gametos 2n formados por RPD en el mejoramiento genético. Estos investigadores observaron respuestas fuertemente heteróticas en progenies tetraploides derivadas de cruzamientos 4x x 2x: estas respuestas fueron atribuidas al mecanismo genético único por el cual se forman gametos diplandroides con núcleos genéticamente equivalentes a los formados por restitución de la primera división meiótica.

Para poder utilizar el polen 2n como herramienta en los programas de mejoramiento genético, es necesario que la producción de este tipo de polen esté bajo control genético y sea, por ello, un fenómeno recurrente. En todas las familias generadas mediante cruzamientos entre plantas que producían polen 2n a través del mecanismo "husos paralelos" se observaron, en frecuencias intermedias, plantas con este tipo de polen. Además, fue posible obtener con facilidad plantas productoras de polen 2n mediante cruzamientos aun entre plantas no productoras de estas familias. Todo ello permite sugerir que el mecanismo citológico de producción de polen 2n tiene un control genético relativamente simple. Sin embargo, los valores estadísticamente significativos de la ACE y los efectos maternos indican que la expresión de la capacidad para producir polen 2n está influenciada por el fondo genético y el ambiente interno, respectivamente.

Los valores de coincidencia obtenidos para la producción de polen 2n de cada familia fueron variables, pero relativamente altos en la mayoría de los casos. La variabilidad observada puede ser tomada como una indicación de las influencias ambientales en la expresión del (los) determinante(s) genéticos de este carácter. Debido a estas influencias, es difícil realizar mediciones precisas de las frecuencias máximas de producción de polen 2n de distintos genotipos a menos que, como señalaran Owen y col. (16), todos ellos tengan respuestas similares al ambiente en el cual se los cultiva.

Para poder aumentar la eficiencia de los cruzamientos  $4x \times 2x$  en la generación de tetraploides es necesario obtener más información sobre la influencia de los factores ambientales en el proceso meiótico. Pero aun cuando se desconozcan los mecanismos precisos de herencia de la capacidad para producir polen  $2n$ , es posible transmitir este carácter entre genotipos en forma relativamente sencilla mediante cruzamientos. Como McCoy (10) observara en alfalfa, este carácter puede ser manejado en los programas de mejoramiento genético como si estuviera controlado por un solo gen.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asker, S. 1980. Gametophytic apomixis. Elements and genetic regulation. *Hereditas* 93:277-293.
2. Camadro, E.L. 1986. Los gametos  $2n$  en el origen y la evolución de las angiospermas poliploides. *Mendeliana* 7 (2): 85-100.
3. Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austr. J. Biol. Sci.* 9: 463-493.
4. Haynes, K.G; Haynes, F.L.; Swallow, W.H. 1987. Variability of flowering and  $2n$  pollen production in diploid potatoes under high temperatures. *Am.Potato* 1.64:35-40.
5. Hermsen, J.G. TH. 1984. Mechanisms and genetic implications of  $2n$  gamete formation. *Iowa State J. Res.* 58 (4): 421-434.
6. Hoglund, M. 1970. Meiosis in *Solanum phureja*. *Hereditas* 66: 183-188.
7. Jacobsen, E. 1976. Cytological studies of diplandroid production in a dihaploid potato clone and its correlation with seed set in  $4x-2x$  crosses. *Z. Pflanzenzuchtg* 77:10-15.
8. Lam, S.L. 1974. Origin and formation of unreduced gametes in the potato. *J.Hered.* 65: 175-178.
9. Marks, G.E. 1954. An aceto-carminic glycerol jelly for use in pollen fertility counts. *Stain Tech.* 29: 277.
10. McCoy, T. J. 1982. The inheritance of  $2n$  pollen formation in diploid alfalfa *Medicago sativa*. *Can J. Genet. Cytol.* 24: 315-323.

11. Mendiburu, A.O.; Peloquin, S.J. 1976. Sexual polyploidization and depolyploidization: some terminology and definitions. *Theor. Appl. Genet.* 48:137-143.
12. Mendiburu, A.O.; Peloquin, S.J. 1977. The significance of 2n gametes in potato breeding. *Theor. Appl. Genet.* 49:53-61.
13. Mok, D. W.S.; Peloquin, S.J. 1975a. Three mechanisms of 2n pollen formation in diploid potatoes. *Can. J. Genet. Cytol.* 17: 217-225.
14. Mok, D.W.S.; Peloquin, S.J. 1975b. The inheritance of three mechanisms of diplandroid (2n pollen formation) in diploid potatoes. *Heredity* 35 (3): 295-302.
15. Müntzing, A. 1933. Studies on meiosis in diploid and triploid *Solanum tuberosum* L. *Hereditas* 17:223-245.
16. Owen, H.R.; Veilleux, R.E.; Haynes, F.L.; Haynes, K.G. 1988. Photoperiod effects on 2n pollen production, response to anther culture, and net photosynthesis of a diplandrous clone of *Solanum phureja*. *Am. Potato J.* 65:131-139.
17. Ramanna, M.S. 1979. A re-examination of the mechanisms of 2n gamete formation in potato and its implications for breeding. *Euphytica* 28: 537-559.
18. Veilleux, R.E.; Lauer, F. I. 1981. Variation of 2n pollen production in clones of *Solanum phureja* Juz. and Buk. *Theor. Appl. Genet.* 59: 95-100.
19. Veilleux, R.E.; McHale, N. A.; Lauer, F.I. 1982. 2n gametes in diploid *Solanum*: frequency and types of spindle abnormalities. *Can. J. Genet. Cytol.* 24: 301-314