




COMPORTAMIENTO MEIÓTICO EN VAINILLA (*V. planifolia* Jacks., ORCHIDACEAE)

Meiotic behavior in Vanilla (*V. planifolia* Jacks., Orchidaceae)

Lizette I. Almejo Vázquez¹, Lourdes G. Iglesias Andreu¹, Rosa María Escobedo Gracia-Medrano²

1. Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, Universidad Veracruzana. Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte. Av. de las Culturas Veracruzanos No. 101, CP.91090, Xalapa, Veracruz, México

2. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C, Calle 43 130, Chuburná de Hidalgo, CP.97205, Mérida, Yucatán, México.

* For correspondence: liglesias@uv.mx

Received: 24th August 2020. Returned for revision: 29th April 2021. Accepted: 20th May 2021.

Associate Editor: Milena Manzur

Citation/ citar este artículo como: Almejo-Vazquez LL, Iglesias-Andreu LG, Escobedo Gracia-Medrano R.M. Comportamiento Meiótico en Vainilla (*V. planifolia* Jacks., Orchidaceae) *Acta Biol Colomb.* 2022, 27(3): 464-467. <https://doi.org/10.15446/abc.v27n3.90810>

RESUMEN

El comportamiento meiótico es de gran importancia para el desarrollo de programas de mejoramiento genético, especialmente en especies como la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks.), que se ven severamente afectadas por diversos factores bióticos y abióticos derivados de su estrecha base genética. Por ello, el presente trabajo se planteó con el objetivo de evaluar el comportamiento meiótico del morfotipo comercial “Mansa” del municipio de Papantla de Olarte, Veracruz, México. Para ello, se colectaron botones florales de diferentes tamaños y se fijaron en Carnoy, utilizando la técnica de la calabaza, seguido de una tinción con acetocarmín al 2% (p/v) para observar claramente todas las etapas del proceso meiótico. Se observó un comportamiento meiótico normal y un número de cromosomas haploides ($n = 8$). Estos resultados pueden ser útiles para el desarrollo de programas de mejora de este cultivo.

Palabras Clave: Citogenética, cromosomas, meiosis, mejoramiento genético, Orchidaceae.

ABSTRACT

Meiotic behavior is of great importance for the development of genetic improvement programs, especially in species such as vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks.), which are severely affected by various biotic and abiotic factors derived from their narrow genetic base. Therefore, the present work was proposed with the objective of evaluating the meiotic behavior of the commercial morphotype “Mansa” from the municipality of “Papantla de Olarte” in Veracruz, Mexico. For this purpose, flower buds of different sizes were collected and fixed in Carnoy using the squash technique, followed by staining with 2% (w/v) acetocarmine to clearly observe all the stages of the meiotic process. Normal meiotic behavior and a haploid chromosome number ($n = 8$) were observed. These results may be useful for the development of breeding programs for this crop.

Keywords: Cytogenetics, chromosome, meiosis, genetic improvement, Orchidaceae.

El género *Vanilla* (Plum ex Miller), es uno de los más antiguos dentro de la familia Orchidaceae y el más representativo de la subfamilia Vanilloideae (Soto-Arenas, 1999). Aunque existen discrepancias en el número de especies se ha indicado que este género agrupa a 110 especies (Bory et al., 2008b; Soto-Arenas y Dressler, 2010), de las cuales solo tres (*V. planifolia* Jackson, *V. tahitensis* J. W. Moore y *V. pompona* Schiede)

resultan de importancia económica a nivel mundial. *V. planifolia* destaca, por su mayor valor económico, ya que de la misma se extrae la vainillina, compuesto aromatizante y saborizante, muy apreciado por las industrias alimenticias, farmacéuticas y cosméticas (Buccellato, 2018).

A pesar de que *V. planifolia* es originaria de México (Soto-Arenas, 1999), no se cuenta con un conocimiento preciso

sobre el comportamiento meiótico de esta especie, que pueda contribuir al desarrollo de los trabajos de mejoramiento genético que se realizan en el cultivo, sobre todo para obtener genotipos promisorios con resistencia a patógenos fúngicos, como *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* y con mayor tolerancia al estrés hídrico (Koyyappurath et al., 2016; Borbolla-Pérez et al., 2017).

Como se sabe, una de las barreras en los trabajos de hibridación se debe a alteraciones en el comportamiento de los cromosomas durante la meiosis, que pueden ocasionar la formación de gametos inviables; de igual forma es posible que el comportamiento mitótico anormal con aneuploidía somática y endorreplicación parcial, que se ha reportado en este cultivo pudiera afectar el proceso de microsporogénesis (Bory et al., 2008a; Lepers-Andrzejewski et al., 2011). Por ello se propuso desarrollar el presente trabajo, con el objetivo de evaluar el comportamiento meiótico del morfotipo comercial “Mansa” de *V. planifolia*, con la finalidad de identificar la existencia de posibles alteraciones meióticas, que pudieran incidir en el desarrollo de los programas de mejora genética, que actualmente se desarrollan en este cultivo.

Para observar las etapas del proceso meiótico se efectuó la colecta de un total de 120 botones de florales de diferentes tamaños del botón floral (0,5 a 1,0 cm) y se fijaron en Carnoy. del morfotipo “Mansa” de *Vanilla planifolia* proveniente de la plantación del “Tototnacapan”, ubicada en “Papantla de Olarte”, estado de Veracruz, México.

Los botones florales, se transfirieron a tubos tipo falcón conteniendo solución Carnoy (3:1 (v/v) etanol: ácido acético glacial), por 24 h. Luego éstos fueron almacenados en etanol (70 % v/v) y conservados, bajo condición de refrigeración, hasta su uso. Se empleó la técnica convencional de “squash, seguida de tinción con una solución de acetocarmín al 2 % (p/v). Las observaciones se realizaron en un microscopio óptico Axioplan, Carl Zeiss. Los meiocitos y las esporas fueron fotomicroografiados con objetivos 40x y de inmersión 100x, mediante una cámara digital de alta definición, AxioCam MRm, Carl Zeiss, instalada en dicho microscopio óptico.

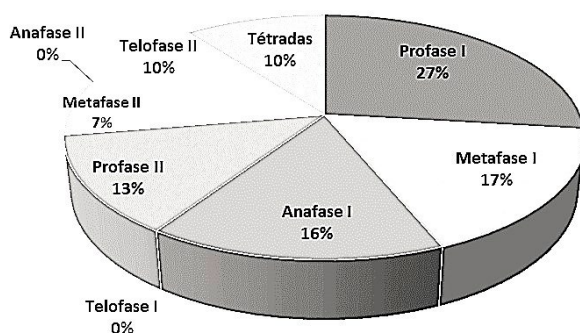


Figura 1. Porcentaje de células detectadas en los estadios meióticos observados.

Se analizaron un total de 3086 células madres del polen (CMP), en cada uno de los estadios meióticos y se encontró que solo un 26 % se encontraban en Profase I (Fig. 1). Resultó de interés constatar, que pese a que se analizó un amplio rango de tamaños de botones florales (de 0,8 a 1,2 cm), la mayoría de las células, se encontraban en la primera fase meiótica (Fig. 1). No fue posible detectar, en los botones florales colectados, células en los estadios de Telofase I y Anafase II. En la fase de Diacinesis, de la Profase I, se observó la presencia de un nucléolo; en otras células éste se observó, en la fase de Paquiteno.

Cabe significar que en algunas células examinadas se observaron, fases meióticas asincrónicas, en la Profase I (Fig. 2). De igual forma se constató la presencia de una célula con un cromosoma rezagado (Fig. 2, e1), sin embargo, éste fue el único registro de presencia de anomalía meiótica, en las células analizadas. Por ello se considera que esta especie, presenta, en general, un comportamiento meiótico regular, que culmina con la formación de cuatro microesporas de polen haploide (Fig. 2g).

Los resultados de los análisis meióticos realizados, concuerdan con las observaciones de Brown et al. (2017), en cuanto a que el genoma haploide de esta especie, presenta un proceso normal de microsporogénesis. Las 740 CMP examinadas, en los estadios de diacinesis y metafase I, revelaron la presencia de un número haploide de cromosoma de $n = 8$ (Fig. 1d). Brandham (1999), citado por Bory et al. (2008a), propuso la hipótesis de la existencia en *V. planifolia*, de un número cromosómico haploide $n = 8$, que puede resultar en una serie de $4x = 32$, $8x = 64$, lo cual explicaría la existencia del fenómeno de aneuploidía somática reportado por diversos autores (Nair y Ravindran, 1994; Bory et al., 2008a) en esta especie.

Por otro lado los resultados de meiosis normal y la elevada viabilidad del polen observada en este cultivo, confirman los resultados obtenidos en este morfotipo por Borbolla-Pérez et al. (2014), que constataron una alta viabilidad del polen, empleando técnicas de tinción y germinación *in vitro* del polen. Al igual que en *V. planifolia* en *V. × tahitensis* (Tahití) Lepers-Andrzejewski et al. (2011) detectaron un 92,4 % de granos de polen viables, con una morfología normal. Cabe sin embargo señalar que otros autores (Ravindran, 1979) han detectado mayores porcentajes de anomalías (17.0 a 38.2 %) en el comportamiento meiótico de los cromosomas de *V. planifolia*.

Se puede concluir de estos resultados, que el morfotipo “Mansa”, a partir del cual se han originado la mayoría de las accesiones de este cultivo en el mundo (Bory et al., 2008c) tienen la capacidad de producir gametos viables, que podrían utilizarse como donantes de polen, en los programas de mejoramiento que se desarrollan en este cultivo con el fin de obtener genotipos con mayor resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*.

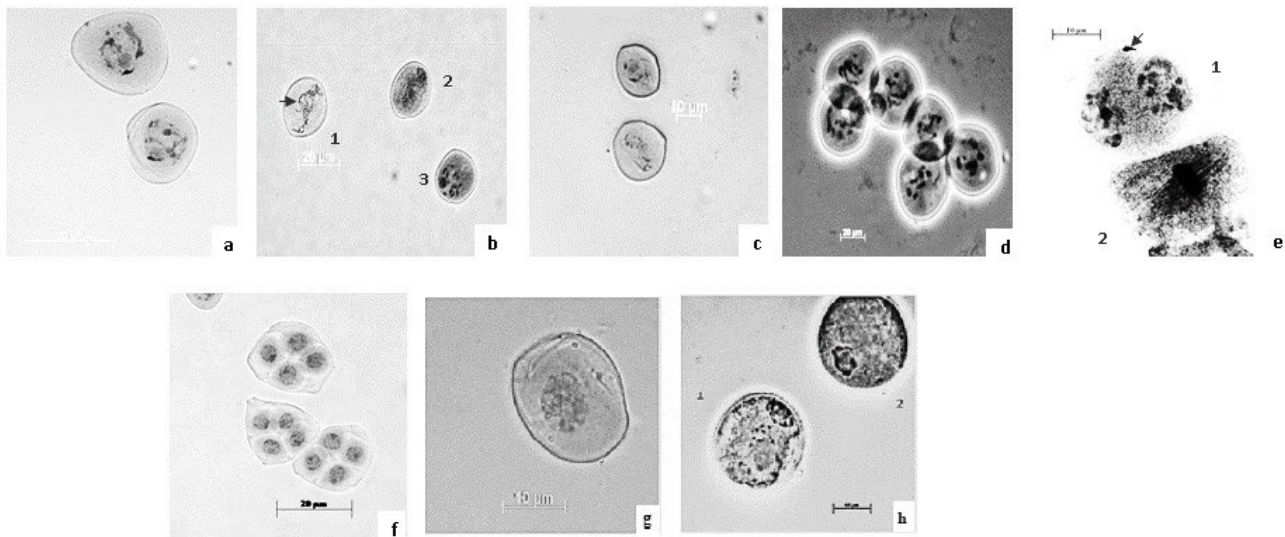


Figura 2. Etapas de la meiosis de *V. planifolia*. a) Leptoteno y Cigoteno, b1) Diploteno, b2) Paquiteno, b3) y c) Diacinesis, d) cumulo de células en Diacinesis y Metafase con 8 cromosomas, e1) Telofase I, (la flecha indica el cromosoma rezagado y e2) Anafase I, f) Tétradas, g) Microspora liberada de la Tétrada, h1) Microspora con dos núcleos el núcleo vegetativo (con un gran nucléolo) y el generativo (de menor tamaño y con mayor pigmentación); h2) Microspora.

AGRADECIMIENTOS.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento de la beca de maestría otorgada a la estudiante Lizette I. Almejo Vázquez.

CONFLICTOS DE INTERES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Borbolla Pérez, V., Iglesias Andreu, L.G., Luna Rodríguez, M., y Octavio Aguilar, P. (2017). Perceptions regarding the challenges and constraints faced for smallholder farmers of vanilla in Mexico. *Environment, Development and Sustainability*, 19, 2421-2441. <https://doi.org/10.1007/s10668-016-9863-y>.
- Borbolla Pérez, V., Iglesias-Andreu, L.G., Bello Bello, J.J., Luna Rodríguez, M., y Vovides, A.P. (2014). Caracterización palinológica y viabilidad del polen de *Vanilla planifolia* Andrews. I Seminario Internacional de Vainilla. Promoviendo la investigación, extensión y producción de vainilla en Mesoamérica (pp. 65-80.). En C. Araya-Fernández, R. Cordero-Solórzano, A. Paniagua-Vásquez, J. B. Azofeifa-Bolaños, (Eds.). Instituto de Investigaciones y Servicios Forestales, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Bory, S., Catrice, O., Brown, S., Leitch, I., Gigant, R., y Chiroleu, F. (2008a). Natural polyploidy in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). *Genome*, 5, 816-826. <https://doi.org/10.1139/G08-068>
- Bory, S., Grisoni, M., Duval, M.F., y Besse, P. (2008b). Biodiversity and preservation of *Vanilla*: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 551-571. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9260-3>
- Bory, S., Lubinsky, P., Risterucci, A.M., Noyer, J.L., Grisoni, M., Duval, M.F., y Besse, P. (2008c). Patterns of introduction and diversification of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) in Reunion Island (Indian Ocean). *American Journal of Botany*, 95(7), 805 - 815. <https://doi.org/10.3732/ajb.2007332>
- Brown, S.C., Bourge, M., Maunoury, N., Wong, M., Wolfe Bianchi, M., y Lepers-Andrzejewski, S. (2017). DNA Remodeling by strict partial endoreplication in orchids, an original process in the plant kingdom. *Genome Biology and Evolution (GBE)*, 9(4), 1051-1071. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx063>
- Buccellato, F. (2018). *Vanilla* in perfumery and beverage flavor. En D. Havkin-Frenkel, y F. C. Belanger (Eds). *Handbook of Vanilla Science and Technology* (pp. 367-373). Wiley, New York. <https://doi.org/10.1002/9781119377320.ch19>
- Koyyappurath, S., Atuahiva, T., Le Guen, R., Batina, H., Le Squin, S., Gautheron, N., Edel Hermann, V., Peribe, J., Jahiel, M., Steinberg, C., Liew, E.C.Y, Alabouvette, C.,

- Besse, P., Dron, M., Sache, I., Laval, V., y Grison, I.M. (2016). *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of *Vanilla*. *Plant Pathology*, 65(4), 612–625. <https://doi.org/10.1111/ppa.12445>
- Lepers Andrzejewski, S., Siljak Yakovlev, S., Brown, S. C., Wong, M., y Dron, M. (2011). Diversity and dynamics of plant genome size: an example of polysomaty from a cytogenetic study of Tahitian vanilla (*Vanilla x tahitensis*, *Orchidaceae*). *American Journal of Botany*, 98(6), 986-997. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000415>
- Nair, R.R., y Ravindran, P.N. (1994). Somatic association of chromosomes and other mitotic abnormalities in *Vanilla planifolia* (Andrews). *Caryologia*, 47, 65–73. <https://doi.org/10.1080/00087114.1994.10797284>
- Ravindran, P. (1979). Nuclear Behaviour in the Sterile Pollen of *Vanilla planifolia* (Andrews). *Cytologia*, 44, 391-396. <https://doi.org/10.1508/cytologia.44.391>
- Soto Arenas, M.A. (1999). *Filogeografía y recursos genéticos de las Vainillas de México*. Instituto Chinoín AC. [Informe Final]. SNIB-CONABIO, Proyecto J101. <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/Infj101.pdf>.
- Soto Arenas, M.A., y Dressler R.L. (2010). A revision of the Mexican and American species of *Vanilla* Plumier ex Miller with a characterization of their ITS region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana*, (3), 285-354. [http://lankesteriana.org/lankesteriana/Vol.9\(3\)/08%20Soto%20Arenas%20&%20Dressler.pdf](http://lankesteriana.org/lankesteriana/Vol.9(3)/08%20Soto%20Arenas%20&%20Dressler.pdf)