

Análisis de la Evolución de los cromosomas Y de *Rumex acetosa* mediante el estudio del ADN satélite

Garrido-Ramos, M. A¹, Navajas-Pérez, R¹, Mariotti, B², Jamilena, M², de la Herrán, R¹, Ruiz-Rejón, C¹, Ruiz-Rejón, M¹.

¹Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada. 18071, Granada.

²Departamento de Biología Aplicada; Área de Genética; Escuela Politécnica Superior; Universidad de Almería; 04120, Almería.



Introducción

La especie *Rumex acetosa* (*Polygonaceae*) se caracteriza por presentar un cariotipo en el que las hembras tienen 2n=14 cromosomas (12 autosomas + XX) mientras que los machos poseen un cromosoma más, siendo 2n=15 (12 autosomas + XY₁Y₂). Este sistema complejo de determinación del sexo constituye un estado evolutivo muy avanzado para el caso de vegetales (Gutman y Charlesworth, 1998). Además, *Rumex acetosa* es un ejemplo clásico en el estudio de los cromosomas sexuales, ya que es el único caso descrito de degeneración de los cromosomas Y en vegetales. De hecho, ambos cromosomas Y aparecen completamente heterocromatinizados a consecuencia de la acumulación de secuencias de ADN repetido (Ruiz-Rejón et al., 1994). Es por ello que nos hemos planteado en este trabajo la posibilidad de comenzar a responder ciertas preguntas acerca del enigma que aún supone algunos aspectos de este proceso evolutivo. Para ello hemos caracterizado tres familias de ADN satélite presentes en el genoma de *Rumex acetosa* y en la especie también dioica *Rumex papillaris*, con el objeto de estudiar su patrón evolutivo y obtener algunas conclusiones acerca del origen y la evolución de los cromosomas sexuales en estas plantas.

Origen de las tres familias de ADN satélite

Se han caracterizado tres familias de ADN satélite presentes en el genoma de *Rumex acetosa* (Figura 1). La familia RAE180, presenta unidades repetitivas de 180 pares de bases y se encuentra localizada en dos loci autosómicos puntuales así como formando parte de la heterocromatina constitutiva de ambos cromosomas Y (Ruiz-Rejón et al., 1994; Shibata et al., 2000b). La familia RAYS1, de 930 pares de bases, forma parte exclusivamente de la heterocromatina de los cromosomas Y, por lo que es específica de machos, no encontrándose como tal en los individuos hembra (Shibata et al., 1999). Una tercera familia es la familia RAE730, con unidades monoméricas de 730 pares de bases, que se encuentra acumulada específicamente en segmentos supernumerarios heterocromáticos (Shibata et al., 2000b), que en las poblaciones españolas se encuentran fijados en condición de homocigosis en la sexta pareja del cariotipo.

La familia RAE180 no presenta homología significativa con ninguna de las otras dos familias de ADN satélite. En cambio, RAYS1 y RAE730 muestran valores de identidad medios de un 55%, existiendo zonas de alineamiento en las que esta identidad aumenta hasta el 70%. Además, hemos encontrado que ambas familias están constituidas a partir de subrepeticiones menores, de 120 pares de bases. Así, la familia RAE730 está formada a partir de 6 de estas subrepeticiones, mientras que la familia RAYS1 lo está a partir de 8 (Figura 2).

Hemos realizado un análisis filogenético de las subrepeticiones de 120 pares de bases y hemos encontrado que entre el satélite de 120 pares de bases ancestral y los actuales monómeros RAE730 y RAYS1, debió existir un satélite intermedio de 360 pares de bases. Dichos análisis revelan, asimismo, que la duplicación que dio lugar posteriormente a partir de ese satélite de 360 pares de bases, a cada uno de los dos satélites actuales ocurrió en momentos evolutivos diferentes, siendo el proceso muy anterior en el satélite RAYS1. La configuración final de los monómeros de esta última familia se explica por eventos adicionales de entrecruzamiento desigual. En la Figura 3 se resume el esquema evolutivo que proponemos desde un ancestral de 120 pares de bases hasta la configuración de los monómeros actuales.

Inferimos de estos datos, que los cromosomas Y de *Rumex acetosa* presentan dos tipos de heterocromatina, una que tiene un origen común con la otra región característica del genoma, como es la que constituyen los segmentos supernumerarios y otro tipo que está presente tanto en autosomas como en cromosomas Y. Ambos tipos de heterocromatina, sin embargo, no están relacionados entre sí.

SATÉLITE	TASA CAMBIO	DIST. INTERESPE C.	DIST. INTRAESP. (acet/papil)	SITIOS FIJADOS	ESTADOS DE TRANSICIÓN
RAYS1 (cromosomas Y)	13x10 ⁻⁹	0.053	0.049/0.045	6	176
RAE180 (cromosomas Y)	13x10 ⁻⁹	0.051	0.044/0.044	0	41
RAE730 (s. supernumerarios)	22x10 ⁻⁹	0.088	0.044/0.027	26	100

Tabla 1.- Tabla resumen de los datos del análisis evolutivo llevado a cabo para cada una de las tres familias de ADN satélite.

Evolución de los satélites

Aparte de caracterizar las tres familias de ADN satélite comentadas para *Rumex acetosa*, hemos realizado un estudio de su presencia en un grupo representativo de especies pertenecientes al género *Rumex*. Hemos comprobado que la única especie de las estudiadas que presentaba los tres satélites, era la especie, también dioica y con determinación compleja del sexo, *Rumex papillaris*. Ambas especies, *Rumex papillaris* y *Rumex acetosa*, se encuentran clasificadas en la sección *Acetosae*, del subgénero *Acetosae* y presentan una fuerte coherencia tanto a nivel molecular como a nivel morfológico. Conocemos, además, por datos del nivel molecular de los espaciadores entre genes ribosómicos (ITS), que compartieron un ancestro común hace 2 millones de años (ver Pöster 238). Ante el hecho de tener tres familias de ADN repetido presentes en dos especies muy emparentadas, y ante la presencia de secuencias acumuladas diferencialmente bien en cromosomas sexuales (cromosomas Y, en nuestro caso) bien en autosomas, hemos tratado de comprobar si la evolución de ambos tipos de satélite es diferente.

Y es que como es sabido, el ADN satélite se caracteriza por presentar una evolución concertada y rápida. Este tipo de evolución depende de diversos factores, pero principalmente de que funcionen los mecanismos de homogenización intraspecifica de sus secuencias, esto es, de que se produzca recombinación (Ugarkovic & Plohl, 2002). Por tanto, cabía preguntarse qué ocurre en el caso de ADNs satélite presentes en cromosomas donde no se produce recombinación (satélites presentes en los cromosomas Y).

El análisis comparativo de las secuencias de ADN satélite presentes en los cromosomas Y frente a las presentes en los autosomas revela que, en ausencia de recombinación, las tasas de cambio, así como las tasas de evolución concertada, son mucho menores (Tabla 1). Así, la tasa de cambio de las secuencias repetidas presentes en los cromosomas Y es aproximadamente la mitad de la observada para secuencias repetidas en autosomas. A su vez, esta tasa de cambio de secuencias repetidas en autosomas es unas cuatro veces superior para los valores calculados en secuencias de copia única (Gaut, 1998).

Aún así, observamos cierto grado de evolución concertada residual en las secuencias presentes en los cromosomas Y. En ausencia de eventos de recombinación, esta homogenización sólo puede ser debida a fenómenos de conversión génica, más concretamente conversión génica intracromosómica. Frecuentemente, se ha observado que estos fenómenos de conversión génica van aparejados a la aparición de distintas subfamilias de una misma familia de ADN satélite. Esto precisamente es lo que nosotros hemos encontrado para el satélite RAYS1, específico de machos. Hemos descrito para esta familia de ADN satélite la presencia de dos subfamilias: RAYS1-S y RAYS1-J, presentes en *Rumex acetosa*. Existen unos 70 sitios diagnósticos que se encuentran fijados para una u otra familia. Además, existen deleciones propias de RAYS1-S y de RAYS1-J. Estas observaciones han sido analizadas tanto a nivel molecular como citogenético, mediante experiencias de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (Figura 4). Nuestros datos moleculares demuestran que estas dos subfamilias no intercambian material y apoyan que los cromosomas Y no recombinan entre sí.

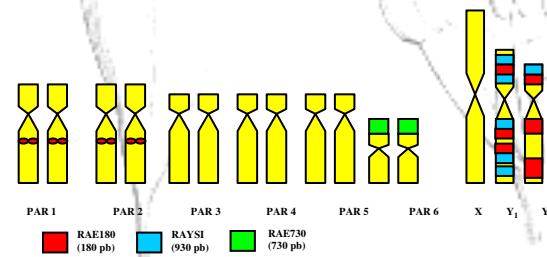


Figura 1.- Localización cromosómica de las distintas familias de ADN satélite analizadas.



Figura 2.- Alineamiento de las subrepeticiones de 120 pb que constituyen las unidades monoméricas RAE730 y RAYS1.

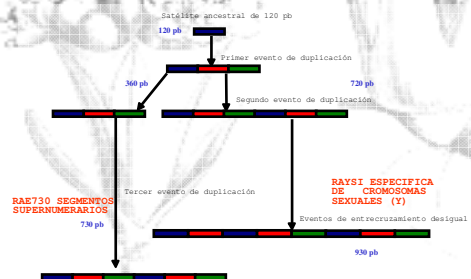


Figura 3.- Esquema propuesto para explicar la evolución de las secuencias RAYS1 y RAE730 actuales, a partir de una repetición de 120 pb.

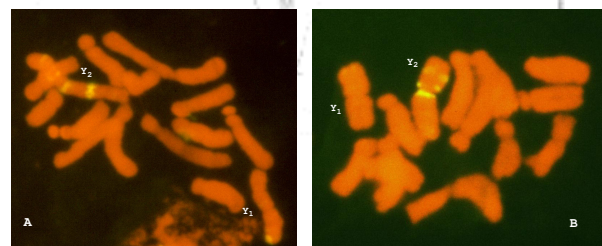


Figura 4.- Localización de la subfamilia RAYS1-S, presente en varios clusters en el cromosoma Y₁, así como en la región terminal del cromosoma Y₂ (4a). Localización de la subfamilia RAYS1-J, presente exclusivamente en el cromosoma Y₁ (4b).

Bibliografía

- Gaut, R. S. (1998). Evolutionary Biology 20:93-120.
- Gutman, D. S. & Charlesworth, D. (1998). Nature 391:1099-1014.
- Ruiz-Rejón, C., Jamilena, M., Garrido-Ramos, M., Parker, J. S. & Ruiz-Rejón, M. (1994). Heredity 72:209-215.
- Shibata, F., Hiramé, M. & Karori, Y. (1999). Chromosome 108:266-270.
- Shibata, F., Hiramé, M. & Karori, Y. (2000a). Chromosome research 8:229-236.
- Shibata, F., Hiramé, M. & Karori, Y. (2000b). Genome 43:391-397.
- Ugarkovic, D. & Plohl, M. (2002). EMBO 21(22):5855-5899.