

Citogenética en tres especies de Verbenaceas

Cytogenetic in three Verbenaceae species

A. B. Andrada¹, A. Pastoriza y L. V. Martínez Pulido

Resumen

Se realizó un estudio citogenético en *Aloysia polistachia* (Gris.) Mold., *Aloysia grattisima* (Gill. et Hook) Tronc. y *Lippia fissicalyx* Tronc.; con el objeto de analizar el cariotipo y valorar la fertilidad a través del comportamiento meiótico y viabilidad del grano de polen. El estudio de los cromosomas mitóticos y meióticos se realizó utilizando hematoxilina al 2% y como mordiente citrato férrico al 1%. Para la determinación de viabilidad del grano de polen se usó el reactivo de Mutzing. El análisis de los cromosomas mitóticos arrojó los siguientes resultados: Para *A. polistachia*, $2n=36$, para *A. grattisima*, $2n=54$ y para *L. fissicalyx*, $2n=60$; con cromosomas pequeños, lo que dificulta el estudio del cariotipo. Los números cromosómicos encontrados indican que *A. polistachia* y *L. fissicalyx* son tetraploides y *A. grattisima* hexaploide. En el análisis de células madre del polen, se observaron divisiones anormales, con presencia de univalentes, multivalentes, puentes y cromosomas rezagados. En el análisis de viabilidad del grano de polen se obtuvo para *A. polistachia* un 54,73% de granos de polen normales y un 45,27% anormales. En *A. grattisima*, un 7,59% fueron normales y un 92,41% anormales y en *L. fissicalyx*, un 17,6% fueron normales y un 82,4% anormales. De las irregularidades meióticas encontradas se deducen los problemas de fertilidad.

Palabras claves: Verbenaceas, cariotipo, fertilidad, poliploidía, *Aloysia* sp..

Abstract

A cytogenetic study in *Aloysia polistachia* (Gris) Mold., *Aloysia grattisima* (Gill. Et Hook) Tronc. and *Lippia fissicalyx* Tronc. was carried out in order to analyze the kariotype and evaluate the fertility through the mitotic and meiotic behaviour and pollen grain viability. The study of the mitotic and meiotic chromosomes was performed using hematoxilyn at 2% and ferric citrate at 1% as mordant. The Mutzing reactive was used in order to determine viability of pollen grain. The analysis of the mitotic chromosomes showed the following results: for *A. polistachia* $2n=36$, for *A. grattisima* $2n=54$ and for *L. fissicalyx* $2n=60$; with small chromosomes, which make difficult the study of the kariotype. It was

Recibido el 04-05-1998 • Aceptado el 23-06-1998

1. Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Cátedra de Genética Vegetal. Av. Roca 1900. 4000. E-mail: herrera!andrada@untmre.edu.ar. Tucumán, Argentina.

found that the chromosomic number is tetraploid in *A. polistachia* and in *L. fissicalyx* and hexaploide in *A. grattísima*. The results of pollen grain viability obtained were: 54, 73% of normal and 45,27% of abnormal pollen grain for *A. polistachia*; 7,59% of normal and 92,41% of abnormal pollen grain for *A. grattísima* and 17,6% of normal and 82,4% of abnormal pollen grain for *L. fissicalyx*. As conclusion, fertility problems were deduced of the analysis of the chromosomes behaviour during meiosis where were observed multivalents, univalents, lag-gard chromosomes and bridges in Anafase I.

Key words: Verbenaceae, kariotype, fertility, polyploidy, *Aloysia* sp.

Introducción

La familia Verbenaceae J. St. Hilaire posee una amplia distribución geográfica, bien representada en regiones subtropicales y templadas de América y Africa. Comprende alrededor de 90 géneros y 3000 especies (3,4).

Diversas especies de esta familia son particularmente abundantes en la Argentina y en los países vecinos y algunas de ellas características de zonas áridas y semiáridas. Poseen propiedades medicinales, estimulantes y son ricas en aceites esenciales, por lo que su uso en la industria es promisorio.

El cultivo de estas planta aromáticas medicinales en nuestro país requiere de estudios ecológicos y agrícolas debido a que no se conocen aún las condiciones de desarrollo, métodos de siembra, cuidados culturales, formas de cosecha y condiciones apropiadas para su secado y conservación (8). Además, nuestra flora indígena puede proporcionar valioso material para la obtención de alcaloides y otros principios activos que pueden tener aplicación en farmacología, cosmética y medicina.

Si bien existe un notable y creciente interés en la conservación y utilización racional del recurso que las mismas representan; es muy poco lo que se conoce citogenéticamente acerca de ciertas especies, entre las que se encuentran *Aloysia polistachia* (Gris.) Mold. (n.v. burro), *Aloysia grattísima* (Gill. et Hook) Tronc. (n.v. cedroncillo) y *Lippia fissicalyx* Tronc. (n.v. poleo) (9, 10). Por ello, resulta interesante determinar la presunta variabilidad para una posible difusión en zonas áridas y semiáridas.

Darlington y Wyle (6) establecen como número básico para *Aloysia* $x=9$ y para el caso de *Lippia*, éste se encuentra en discusión, mencionando $x=8?, 9?$, pero no se citan los números cromosómicos de ninguna de las especies citadas. Por otro lado, Fillipa (7) encontró que el número gamético para *Lippia* es $n=15$.

El objetivo del presente trabajo es realizar un estudio citogenético de las especies citadas: determinación del número cromosómico, análisis del cariotipo y valoración de la fertilidad a través del comportamiento meiótico y viabilidad del grano de polen.

Materiales y métodos

El material objeto de este estudio fue recolectado en diferentes localidades de la Provincia de Tucumán. El material examinado de *A. grattissima* provino de la localidad de "El Mollar", Dpto. Tañi del Valle, el de *L. fissicalyx* de "Amaicha del Valle", Dpto. Tañi del Valle y el de *A. polistachia* de la Ciudad de S. M. de Tucumán.

La recolección se hizo cuando las plantas se encontraban en floración, se herborizó un ejemplar de cada especie para su identificación sistemática y se llevaron plantas en macetas para su cultivo cerca del lugar de trabajo.

El estudio de los cromosomas mitóticos se realizó en meristemas radicales, que se extrajeron directamente de las plantas colocadas en macetas, a temperatura ambiente y condiciones de alta humedad. Las raicillas se pretrataron durante 2 horas 30 minutos en una solución saturada de para diclorobenceno, luego se fijaron en 3:1 (alcohol absoluto: ácido

acético). Los preparados microscópicos se hicieron aplastando los meristemas en hematoxilina al 2% , utilizando como mordiente citrato férrico al 1% (1, 2).

El estudio de los cromosomas meióticos se hizo fijando flores jóvenes en una solución de Newcomer. Se observaron distintas fases de la meiosis en células madre del grano de polen (CMP) , utilizándose el mismo colorante que se empleó para el análisis de los cromosomas mitóticos.

Para la determinación de viabilidad del grano de polen se utilizó el reactivo de Mutzing (5). Para ello, se hicieron hervir flores cercanas a la antesis, con granos de polen maduros, se extrajeron las anteras, se las colocó en una gota de colorante y se dejó al menos 12 horas para dar tiempo a que tome bien la coloración. Se consideraron normales los intensamente teñidos y anormales los débilmente teñidos o incoloros.

Resultados

El análisis de los cromosomas mitóticos arrojó los siguientes resultados: Para *A. polistachia* se obtuvo $2n=36$, para *A. grattissima* $2n=54$ y para *L. fissicalyx* $2n=60$ (figura 1). El estudio del cariotipo se vió dificultado debido al elevado número de cromosomas y tamaño reducido de los mismos, el cual varió entre $0,5\mu$ y 2μ .

En el análisis de células madre del polen, se observaron divisiones

anormales, con presencia de univalentes, multivalentes, puentes y cromosomas rezagados (figura 2).

El análisis de viabilidad del grano de polen dió los siguientes resultados: En el caso de *A. polistachia* se contaron un total de 1957 granos, de los cuales 54,73% fueron normales y 45,27% anormales. En *A. grattissima*, de un total de 685 granos , 7,59% fueron normales y 92,41% anormales y en *L. fissicalyx* de un total de 1244

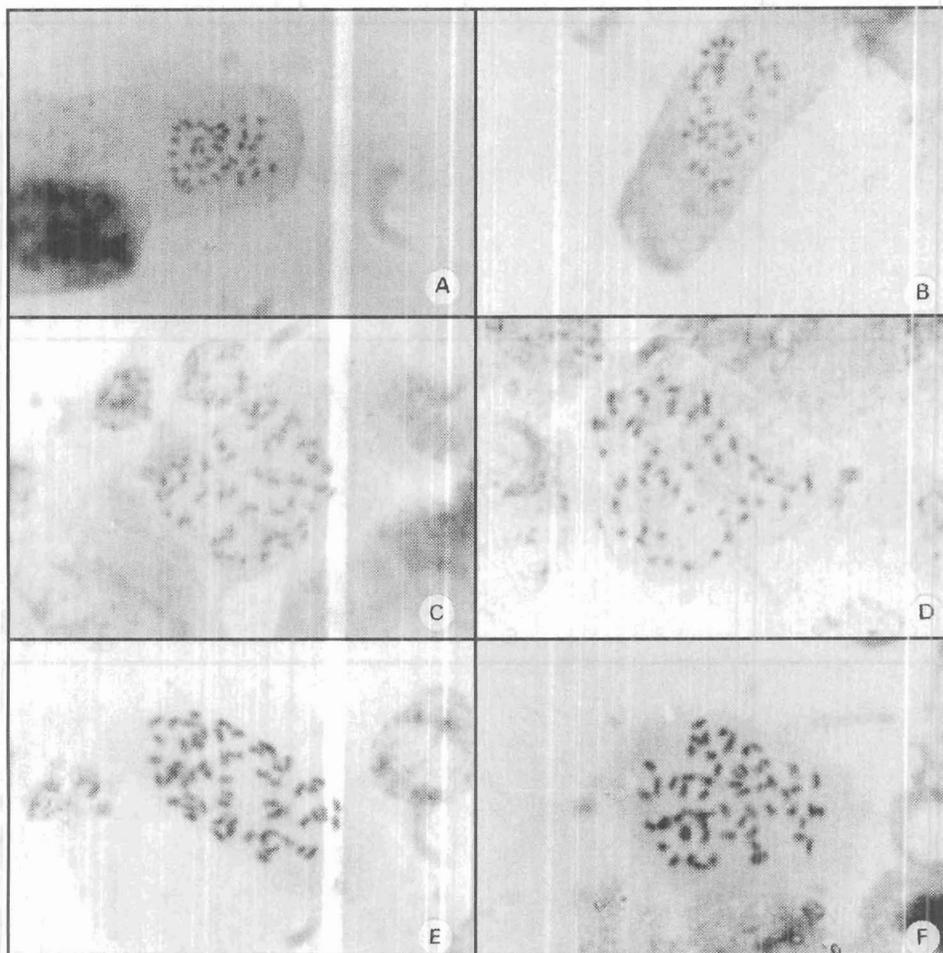


Figura 1. Cromosomas somáticos obtenidos de meristemas radicales. Aprox. 1500 x. A) y B) *A. polistachia* ($2n=36$). C) y D) *A. grattisima* ($2n=54$). E) y F) *L. fissicalyx* ($2n=60$). Fotografías originales obtenidas por los autores.

granos 17,6% fueron normales y 82,4% anormales (figura 3), siendo muy

escasa la producción de polen en éstas dos especies.

Discusión

El número cromosómico encontrado en *Aloysia*, indica que *A. polistachia* es tetraploide y *A. grattisima* hexaploide. En el caso de

L. fissicalyx indica que es un tetraploide y además, que existe concordancia con respecto al número gamético $n=15$ citado por Fillipa (7).

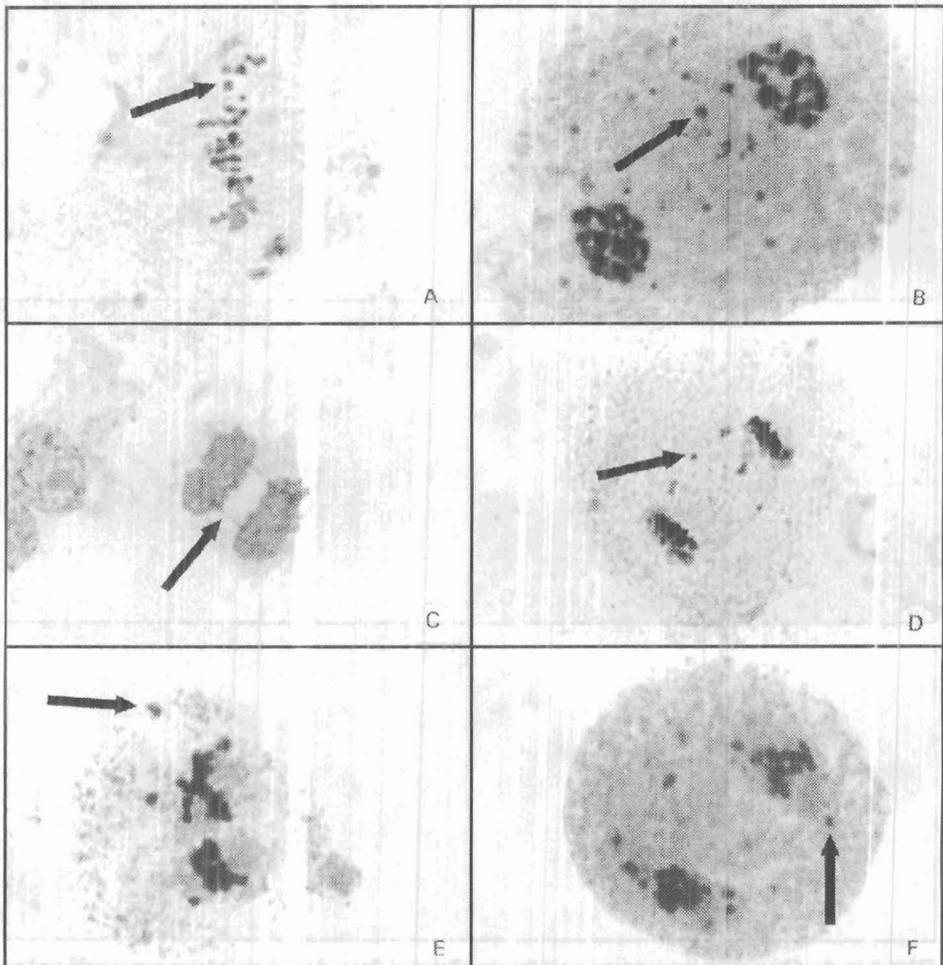


Figura 2. División meiótica. Aprox. 1200 x. A) Metafase I en *A. grattisima* con presencia de univalente indicado por la flecha. B) Telofase I en *A. polistachia* con varios monovalentes (flecha). C) y D) *L. fissicalyx*: presencia de puentes y cromosomas rezagados respectivamente (flechas). E) y F) *L. fissicalyx*: Profase II con micronúcleos (flechas). Fotografías originales obtenidas por los autores.

Cabe destacar, que de la observación de los cromosomas de *A. grattisima* se infiere que esta especie presenta un complemento asimétrico, con un grupo con tamaño promedio de $0,5 \mu$ y otro grupo con promedio de 2μ .

Con respecto al estudio de los cromosomas meióticos se deduce que la fertilidad se ve severamente afectada como consecuencia de una división extremadamente irregular, con presencia de multivalentes,

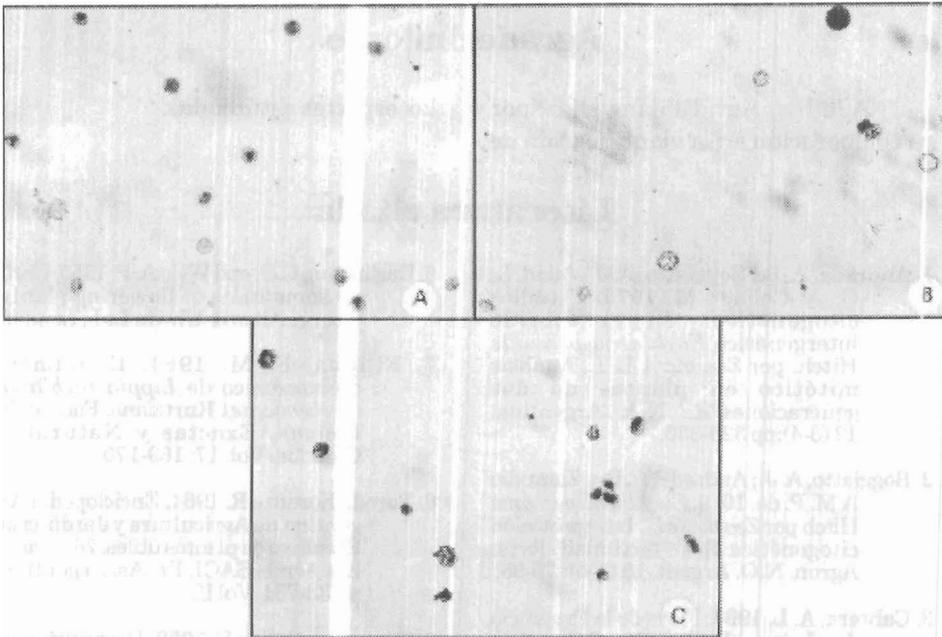


Figura 3. Granos de polen normales (coloreados) y anormales (sin colorear). Aprox. 150 x. A) *A. polistachia* B) *A. grattissima*. C) *L. fissicalyx*. Fotografías originales obtenidas por los autores.

univalentes, rezagados y puentes en Anafase I (figura 2).

Según Troncoso (9) a veces es difícil la separación entre *L. turbinata* Gris. y *L. fissicalyx* Tronc., sugiriendo la existencia de híbridos naturales interespecíficos, y si se considera que de acuerdo con Fillipa (7) el número cromosómico de *L. turbinata*, la especie más cercana a *L. fissicalyx* es de $2n=30$, los autores del presente trabajo no descartan la posibilidad de que se trate de una forma tetraploide de *L. turbinata*, lo que será investigado en un trabajo futuro.

La aparición de series poliploides

parece haber sido uno de los fenómenos más importante en la evolución de las especies y uno de los mejor conocidos. Cabe preguntarse cómo es que ante esta desventaja, han conseguido establecerse e incluso estar ampliamente distribuidas. Es sabido que los tetraploides se adaptan a condiciones ambientales más severas, por lo que parece probable que su valor selectivo compense, en exceso, sus deficiencias en reproducción, recurriendo para su multiplicación a mecanismos apomíticos, por lo que deben sacrificar su evolución a expensas de su adaptación.

Agradecimiento

A la Ing. Agr. Bibiana Díaz, por las especies estudiadas.
su colaboración en la identificación de

Literatura citada

1. Andrada, A. B.; Boggiatto, A. J., Auad, L. G. y Collado M. 1975. Estudios citogenéticos en el híbrido intergenérico *Euchlaena perennis* Hitch. por *Zea mays* L. I. Análisis mitótico en plantas de dos generaciones. R.A.N.A. Argentina. 12 (3-4):pp 323-330.
2. Boggiatto, A. J.; Andrada, A. B. y Zamudio A.M. P. de. 1979. *Euchlaena perennis* Hitch por *Zea mays* L.. Interpretación citogenética de su fertilidad. Rvta. Agron. N.O. Argent. 16 (1-4): 75-88.
3. Cabrera, A. L. 1993. Flora de la Provincia de Jujuy. Parte IX. Colección científica del INTA. p. 47-52.
4. Botta, S.M. 1979. Las especies argentinas del gr. *Aloysia* (*Verbenaceae*). Darwiniana. Rep. Arg. Vol 22 (1/3):67-108.
5. D'Ambrogio de Argüeso. Manual de Técnicas Histológicas. 1986. Cátedra de Botánica Agrícola Facultad de Agronomía de la U.B.A. Ed. Hemisferio Sur. p. 66-67.
6. Darlington, C.D. and Wyle A. P. 1955. Chromosome Atlas of flowering plants. George Allen & Unwin Ltd., London.
7. Filippa, E. M. 1984. El número cromosómico de *Lippia turbinata* (*Verbenaceae*). Kurtziana. Fac. de Cs. Físicas, Exactas y Naturales, Córdoba. Vol. 17: 169-170.
8. Parodi, Lorenzo R. 1964. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. El cultivo de plantas útiles. 2da. parte. Ed. Acme. SACI. Bs. As. Argentina. p.733-734. Vol II.
9. Troncoso, Nélica S. 1952. Descripción de algunas especies nuevas o críticas de *Lippia* de la Flora Argentina. Darwiniana. Rep. Arg. 10(1): 69-89.
10. Troncoso, Nélica S. 1974. Los géneros de *Verbenáceas* de Sudamérica extratropical (Argentina, Chile, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Sur de Brasil). Darwiniana. Rep. Arg. 18.(3-4): 295-413.