

AVANCES EN EL ESTUDIO DEL ORIGEN DE *Arachis hypogaea* L. MEDIANTE CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS

García AV^{1,2}, AM Ortiz^{1,2}, GI Lavia^{1,2}. ¹Instituto de Botánica del Nordeste. ²Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agrimensura, Corrientes.
e-mail: alegarcia_89@hotmail.com

El cultígeno *A. hypogaea* es un alotetraploide $2n=4x=40$ (AABB) probablemente originado por hibridación interespecífica entre las especies diploides *A. ipaensis* y *A. duranensis*, y posterior unión de gametos no reducidos generados en el híbrido, fenómeno del cual aún no existen evidencias. El objetivo de este trabajo fue obtener híbridos mediante cruzamientos interespecíficos recíprocos entre *A. ipaensis* y *A. duranensis* a fin de obtener material que permitiera, mediante análisis citogenéticos, testear la hipótesis del origen del cultígeno vía poliploidización sexual. Se realizaron 220 cruzamientos en los periodos noviembre 2012/marzo 2013 y enero 2013/abril 2014; para ello, a fin de evitar la autopolinización, se castraron los botones florales de los progenitores femeninos y a la mañana siguiente se realizó la polinización con el progenitor masculino. En el 69,5% de los cruzamientos se utilizó *A. duranensis* como progenitor femenino, produciéndose clavos en un 51% de los mismos; mientras que, se obtuvo un 23,9% de clavos cuando *A. ipaensis* fue utilizada como madre. En las macetas ocupadas por las plantas madres correspondientes a *A. ipaensis* se detectaron siete plántulas producidas por la germinación de semillas que serían producto de los cruzamientos *A. ipaensis* x *A. duranensis*. Los resultados obtenidos permiten sugerir que: ambas especies son eficientes en la producción de clavos, la producción de clavos de *A. duranensis* es el doble de *A. ipaensis* y, la obtención de plántulas indica que las semillas producidas por *A. ipaensis* no presentan dormancia.

ACTIVIDAD DEL INTRÓN DE COX1 EN HÍBRIDOS SOMÁTICOS DE SOLANACEAS

Abbona CC, MV Sanchez-Puerta. ¹Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM), CONICET-UNCuyo. ²Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM-CONICET). FCA y FCEN, U.N. Cuyo.
e-mail: abbonacynthia@gmail.com

La transferencia horizontal de genes (THG) consiste en la transmisión de ADN de un organismo a otro que no forma parte de su descendencia. El caso más sobresaliente de THG entre angiospermas se refiere al intrón del gen mitocondrial *cox1* que ha sido transferido múltiples veces entre plantas. Se postula que este intrón codifica una endonucleasa que facilita su propagación a alelos del gen que carecen del mismo. Conocer la propagación del intrón permite tener una aproximación del intercambio génico que ocurre de manera natural entre distintas especies de plantas. El estudio de la actividad del intrón de *cox1* consistió en la fusión de protoplastos de dos especies de angiospermas, que logra introducir un genoma mitocondrial con el intrón de *cox1* junto a otro genoma mitocondrial carente del mismo. Las fusiones de protoplastos resultaron en híbridos citoplasmáticos, donde los genomas mitocondriales sufrieron delección de secuencias y recombinaciones intergenómicas. Mediante amplificación por PCR y ensayos de Southern Blot se testó la transferencia del intrón de *cox1* entre los genomas mitocondriales heterólogos. A través de PCR y secuenciación se observó la propagación del intrón, aunque por Southern Blot, el método menos sensible, no se detectó. La actividad del intrón en los distintos callos híbridos analizados fue observada con menor frecuencia a la esperada. Esto pudo deberse a la rápida segregación de los genes parentales en los callos híbridos que solo mantuvieron un alelo del gen *cox1*.

FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS OF DNA PLOIDY LEVEL DURING SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *Araucaria angustifolia*

Puttkammer CC¹, HPF Fraga¹, LN Vieira¹, MP Guerra. ¹Plant Developmental Physiology and Genetics Laboratory, Federal University of Santa Catarina.

e-mail: cputtkammer@gmail.com

Araucaria angustifolia (Bert) O. Kuntze is an endangered native subtropical conifer with ecologic and economic importance in Brazil. The application of tissue culture tools in this species, such as somatic embryogenesis, is one of the most promising techniques for its conservation and propagation. It has been suggested that embryogenic cultures (EC) subjected to prolonged periods in culture, especially when exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), may present mixoploid cell populations, which may increase the susceptibility to somaclonal variation. In this study we investigated the DNA ploidy levels in the megagametophyte, zygotic embryo (ZE) and the EC after prolonged subculture periods, exposed or not to 2,4-D. The plant material consisted of: a) megagametophyte derived from immature cones; b) early-globular ZE; c) EC after SE induction in the presence and absence of 2,4-D (21 days); c) EC after one year subculture periods in the presence and absence of 2,4-D. As expected, the megagametophyte presented ploidy number n and the ZE twice the ploidy level ($2n$). EC exposed to 2,4-D, both newly induced and subjected to several subculture cycles, had the same number of ploidy observed in ZE. Likewise, the EC not exposed to 2,4-D also showed the same ploidy level observed in ZE, both newly induced or after prolonged subculture periods. These results indicate that 2,4-D and prolonged periods in culture did not affect the ploidy levels of *A. angustifolia* EC, and also, indicated the maintenance on the ploidy level of EC in multiplication cycles for one year.

NÚMEROS CROMOSÓMICOS EN POBLACIONES NATURALES DE *Chrysolaena flexuosa* DEL SUDESTE BONAERENSE

Echeverría ML¹, MM Echeverría¹, EL Camadro^{1,2,3}. ¹Fac. de Cs. Agrarias, UNMdP. ²INTA. ³CONICET.

e-mail: lis_echeverria@hotmail.com

Chrysolaena flexuosa (Sims) H. Rob. (Vernonieae, Asteraceae), nativa de potencial valor ornamental, se distribuye desde el sur de Brasil hasta el centro de Argentina. De acuerdo a la bibliografía, el número cromosómico básico del género es $x=10$. En *C. flexuosa*, para la zona central de la distribución se han informado los números somáticos $2n=2x=20$ y $2n=2x=40$; para la zona marginal austral, hay un solo registro de Tandil, pcia. de Buenos Aires, de $n=ca. 30-32$. No se dispone de información sobre el número de plantas en las que se determinaron las ploidías mencionadas. Asimismo, el nivel de ploidía de las poblaciones del SE bonaerense ha sido escasamente estudiado. Por eso, se realizaron determinaciones del número cromosómico somático en cuatro poblaciones naturales procedentes de sierras del Sistema de Tandilia. En puntas de raíces de 4 o más plantas/población -previamente pretratadas por 3,5 h con 8-hidroxiquinoleína 0,002M, fijadas con alcohol absoluto y ácido acético glacial (v/v 3:1), hidrolizadas en HCl 1N a 62° C durante 12 min y coloreadas mediante la técnica de Feulgen- se encontró que los individuos analizados eran hexaploides ($2n=6x=60$). Debido a la semejanza morfológica de algunas especies de *Chrysolaena*, se considera que un estudio de citogeografía que abarque el norte y centro de la Argentina empleando un número representativo de individuos por población, sumado al análisis de tamaño y viabilidad de los granos de polen, contribuiría a la dilucidación del origen de los poliploides del género.

CV 5

VARIACIÓN CARIOTÍPICA EN *Calceolaria polyrhiza* CAV. SEGÚN BANDEO DE FLUORESCENCIA

Mermoud SR¹, A Cosacov¹, AN Sérsic¹, MC Acosta¹. ¹Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), Universidad Nacional de Córdoba-CONICET. C.C. 495, 5000, Córdoba, Argentina.

e-mail: mcacosta@imbiv.unc.edu.ar

Calceolaria polyrhiza crece en las regiones australes de Chile y Argentina. La especie posee una notable variación morfológica a lo largo de su amplio rango de distribución, y presenta cuatro morfotipos tradicionalmente considerados como especies distintas *polyrhiza*, *mendocina*, *lanceolata* y *prichardii*. Además, trabajos filogeográficos realizados en esta especie, permiten observar diferentes grupos genéticos estructurados geográficamente. En general, *Calceolaria* ha sido poco considerado en estudios citogenéticos, tanto así que solo existen trabajos que tratan sobre recuentos cromosómicos. El objetivo de esta contribución es caracterizar por primera vez la variabilidad intraespecífica de *C. polyrhiza* con bandeo de fluorescencia CMA (cromomicina)/DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindol). Se estudiaron 3 poblaciones pertenecientes al morfotipo *polyrhiza*, 2 de *prichardii* y 2 de *lanceolata*. Los individuos pertenecientes a los morfotipos *polyrhiza* y *lanceolata* presentaron $2n=2x=18$ cromosomas, mientras que el morfotipo *prichardii* presentó poblaciones con distintos niveles de poliploidía ($2n=4x=36$ y $2n=6x=54$). Por otro lado, los individuos analizados del morfotipo *polyrhiza* mostraron un par cromosómico que lleva regiones organizadores nucleolares (NOR) CMA+/DAPI-, mientras que los pertenecientes al morfotipo *lanceolata* presentaron dos pares de NORs. Las poblaciones poliploides de *prichardii* exhibieron 1 NOR por complemento haploide. El análisis cariotípico preliminar señala que existen diferencias cariotípicas que se condicen con la variación morfológica observada en la especie.

CV 6

ORIGEN Y ESTABLECIMIENTO DE NEOPOLIPLOIDES EN ZONAS DE CONTACTO 2X-4X DE *Turnera sidoides*

Kovalsky IE^{1,2}, FI Contreras³, VG Solís Neffa^{1,2}. ¹Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET). CC 209. 3400, Corrientes (Argentina).

²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE).

³Instituto de Investigaciones Geohistóricas (UNNE-CONICET).

e-mail: viviana@agr.unne.edu.ar

A fin de contribuir a la comprensión de los mecanismos de origen y establecimiento de neopoliploides en poblaciones naturales diploides, se estudiaron dos zonas de contacto 2x-4x del complejo autoploiploide *Turnera sidoides* ($x=7$). Se emplearon métodos de citogenética y de SIG a fin de: 1) analizar la frecuencia y distribución de los citotipos y productores de gametos masculinos y femeninos $2n$ a diferentes escalas espaciales; 2) evaluar la contribución efectiva de los gametos $2n$ al origen de neopoliploides y 3) estimar la tasa de formación de neopoliploides. Los resultados mostraron que aunque los citotipos están segregados espacialmente en las zonas de contacto, a escala de micrositio coexisten individuos $2x$ y $3x$ junto a productores de gametos masculinos y/o femeninos $2n$. La mayoría de los embriones $3x$ detectados se originaron a partir de la unión de gametos masculinos $2n$ + gametos femeninos n , aunque los originados a partir de gametos femeninos $2n$ tendrían una mayor ventaja en etapas posteriores del desarrollo. Las tasas de formación de neopoliploides estimadas, aunque bajas, concuerdan con los valores esperados en especies autoploiploides alógamas. La baja frecuencia de producción de gametos $2n$, el bloqueo triploide y la baja probabilidad de poliploidización sexual bilateral explicarían por qué no se hallaron sitios mixtos 2x-4x. El establecimiento de neopoliploides constituiría una etapa crítica, siendo su baja frecuencia el resultado de fallas en el establecimiento de los neopoliploides en las poblaciones diploides de *T. sidoides* y no de su baja tasa de formación.

RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE MITÓTICO Y LA TOLERANCIA A BAJAS TEMPERATURAS EN LA GERMINACIÓN DEL MAÍZ

Chorzempa SE¹, OS Perniola², C López¹, MC Molina^{2,3}. ¹Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ, Llavallol. ²Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, FCAyF-UNLP, Llavallol. ³CONICET.

e-mail: chorzempa2000@yahoo.com.ar

El objetivo de este trabajo fue analizar la relación entre la tolerancia a frío y el índice mitótico de líneas de maíz durante la germinación a bajas temperaturas, para evaluar la factibilidad de que el índice mitótico pueda ser utilizado en un futuro, como un parámetro de selección genética. Se evaluaron cinco líneas de maíz de ciclo corto e intermedio, procedentes de poblaciones recolectadas en Chubut (SC1 y SC3), en la Décima Región de Chile (SC4 y SC5), en Pergamino, Buenos Aires (SC9) y una línea de ciclo largo (Mo17) como testigo. El ensayo de germinación se realizó en papel plegado, bajo dos regímenes de temperatura: 15° C/8° C y 30° C/20° C día/noche, respectivamente. Las radículas de las semillas germinadas, aparecidas diariamente y de longitud no mayor a 5 mm, se separaron del cariopse y se fijaron en solución Carnoy (3:1 alcohol etílico/ácido acético). Antes del montaje del preparado microscópico, se trataron con ácido clorhídrico 5N entre 20 y 40 min y se tiñeron con hematoxilina acética (se utilizó citrato férrico como mordiente). El índice mitótico se calculó efectuando el cociente entre la cantidad de células en división mitótica y el número total de células observadas. Las líneas se diferenciaron significativamente en dos grupos en función de la diferencia entre los índices mitóticos obtenidos en ambos tratamientos térmicos. Las líneas SC1, SC3 y SC9, que constituyen uno de los dos grupos, no verían afectada su germinación por las temperaturas frías, ya que sus índices mitóticos no son significativamente diferentes entre bajas temperaturas y temperaturas normales.

TAMAÑO DEL GENOMA, NÚMERO DE CROMOSOMAS B Y PORCENTAJE DE HETEROCROMATINA EN POBLACIONES DE MAÍZ

Fourastié MF¹, L Poggio¹, J Cámara Hernández², G González¹.

¹IEGEBA-CONICET, LACyE (Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires). ²Cátedra de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

e-mail: florenciafou@yahoo.com.ar

Las poblaciones de maíz nativo exhiben importantes diferencias en tamaño del genoma y número de cromosomas B. En el presente trabajo se estudió el contenido de ADN, el porcentaje de heterocromatina de *knobs* y el polimorfismo numérico para cromosomas B de tres poblaciones de la raza Garrapata, colectadas en Jujuy (Argentina). Los resultados obtenidos mostraron variación entre las poblaciones estudiadas, en el tamaño del genoma (entre 5,01 y 6,47 pg), el número medio de cromosomas B que osciló entre 2,6 y 3,1 (con un rango entre 0 y 7) y el porcentaje de heterocromatina de los *knobs* que varió entre 4,31% y 5,75%. El análisis conjunto de estos resultados reveló que el contenido de ADN se relaciona positivamente con el porcentaje de heterocromatina y el número medio de cromosomas B. Por otro lado, se realizaron experimentos de FISH (Hibridación *in situ* Fluorescente) para revelar la composición de secuencias de cada uno de los *knobs* y se midieron distintos parámetros cariotípicos. Con estos resultados se construyeron los idiogramas representativos y se estimó la composición de secuencias de cada *knob* en cada población. Este estudio muestra las relaciones que existen entre el contenido de ADN, cromosomas B y heterocromatina, así como el valor de los caracteres cariotípicos en la caracterización de las poblaciones de maíz autóctono.

VARIACIÓN DEL TAMAÑO DEL GENOMA Y DE PARÁMETROS CARIOTÍPICOS EN MAÍCES GUARANÍES ARGENTINOS

Realini MF¹, L Poggio¹, J Cámara-Hernández², GE González¹. ¹IEGEBA-CONICET, LACyE, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. ²Cátedra de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

e-mail: mr_flor@hotmail.com

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) muestra variación intraespecífica en el contenido de ADN total. La variación en el valor C se debería fundamentalmente a diferencias en el porcentaje de heterocromatina que conforma los *knobs*, así como a la presencia diferencial de secuencias repetidas dispersas en el genoma: elementos transponibles, secuencias centroméricas, teloméricas y ribosomales. En este trabajo se presenta el tamaño del genoma en 13 poblaciones representativas de las razas del noreste argentino. Los valores de 2C oscilan entre 3,96 pg y 7,56 pg siendo los valores medios entre 4,62 pg y 6,29 pg. Estos resultados fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) detectándose diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas. Además, en 7 poblaciones se aplicaron las técnicas de bandeo DAPI y de Hibridación *in situ* Fluorescente (FISH) utilizando sondas de las secuencias *knobs* y ribosomales, se analizó la composición y porcentaje de heterocromatina de los *knobs* (entre ca. 5% y 16%) y se estimaron los parámetros cariotípicos. El análisis conjunto de estos resultados permitirá establecer hipótesis acerca de la naturaleza de los componentes genómicos que contribuyen a la variación del valor C y su relación con los parámetros cariotípicos.

CITOGENÉTICA DE ESPECIES DEL GÉNERO *Passiflora* L. DEL DIST. FÉLIX PÉREZ CARDOZO, DPTO. GUAIRÁ, PARAGUAY

Pereira Sühsner CD¹, AI Honfi², N Deginani³, MS Ferrucci⁴. ¹Lab. de Análisis de Recursos Vegetales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales -UNA, Paraguay. ²Lab. de Citogenética Vegetal, Instituto de Biología Subtropical, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales - UNaM, Argentina. ³Instituto de Botánica Darwinion, Labarden 200, Casilla de Correo 22, B1642HYD, San Isidro, Argentina. ⁴Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET), C.C. 209, 3400 Corrientes, Argentina.

e-mail: claudinha_7@hotmail.com

El presente trabajo tuvo por objeto caracterizar cariológicamente las especies del género *Passiflora* L. del Distrito Félix Pérez Cardozo, Guairá - Paraguay. La meiosis se estudió en células madres del polen (CMP) coloreadas con carmín acético 2% y la viabilidad del polen se estimó siguiendo la técnica de carmín: glicerina (1:1). Cinco especies fueron registradas en el distrito: *P. alata* Curtis, *P. caerulea* L., *P. edulis* Sims (subgénero *Passiflora*), *P. misera* Kunth y *P. suberosa* L. (subgénero *Delacoba*). Por primera vez, se da a conocer el número cromosómico gamético $n=9$ para *P. alata* y *P. caerulea*. Se han confirmado los números cromosómicos $n=9$ para *P. edulis* y *P. misera*. El comportamiento meiótico en todas las especies estudiadas fue normal, con segregación regular de los cromosomas. La asociación cromosómica frecuentemente encontrada en diacinesis y metafase I fue de bivalentes. Ocasionalmente, en *P. misera* se forma un cuadrivalente, que sugiere la presencia de una translocación en heterocigosis. Las pocas irregularidades meióticas observadas consistieron en cromosomas rezagados en anafase I y fases asincrónicas en meiosis II. La viabilidad de polen de las especies estudiadas es alta, entre 78,83% y 98,6%. Los resultados confirman $x=9$ como número básico para el subgénero *Passiflora* y están en contradicción con $x=6$ para el subgénero *Delacoba*. Este estudio es una importante contribución al conocimiento sobre la distribución, taxonomía y citogenética de las especies de *Passiflora* de Paraguay.

BANDEO CROMOSÓMICO FLUORESCENTE CMA/DA/DAPI EN *Paspalum indecorum* (MEZ)

Reutemann AV¹, JR Daviña¹, AI Honfi¹. ¹Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal (IBS-CONICET-UNaM), Universidad Nacional de Misiones, Rivadavia 2370, C.P.3300, Posadas.
e-mail: vreutemann@gmail.com

Paspalum indecorum es una especie subtropical del grupo Caespitosa, endémica del Sur de Paraguay, Sur de Brasil y Norte de Argentina, que posee interés forrajero. Es una especie de reproducción sexual, alógama por autoesterilidad y con meiosis regular. Se identificaron tres poblaciones diploides ($2n=2x=20$), en Candelaria, Misiones, Argentina, cuyos ejemplares de herbario se encuentran en MNES. Una de ellas (H1458) se usó para la caracterización cromosómica. Mediante técnicas convencionales clásicas y el uso de triple coloración con fluorocromos, se analizaron los cromosomas mitóticos. El cariotipo está compuesto por 20 cromosomas metacéntricos. Se pudieron identificar la presencia de microsátélites en el brazo corto de los pares metacéntricos 2 y 3. Uno de los pares presentó CMA0/DAPI+, y el otro CMA-/DAPI+, indicando que la heterocromatina asociada a los 4 satélites observados, es rica en AT. En al menos 12 cromosomas del complemento se observaron finas bandas pericentroméricas DAPI+. Se trata de una especie que posee muy poca cantidad de heterocromatina constitutiva.

ANÁLISIS CITOGENÉTICO EN GENOTIPOS DE *Trichloris crinita* (LAG.) PARODI (POACEAE)

Kozub C^{1,2}, ML Las Peñas^{3,4}, PF Cavagnaro^{1,3,5}, JB Cavagnaro^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Agrarias-Universidad Nacional de Cuyo. ²Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM)-CONICET. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ⁴Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV, CONICET-UNC). ⁵Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-E.E.A. La Consulta.
e-mail: carolinakozub@yahoo.com.ar

Trichloris crinita es una gramínea perteneciente a la subfamilia Chloridoideae, Poaceae. Es importante por su amplia distribución en el Monte, alta productividad y calidad forrajera. Con el objeto de caracterizar citotaxonómicamente a *T. crinita* se analizaron 10 genotipos originarios de distintas zonas del Monte (Mendoza, Catamarca, San Juan y La Pampa), utilizando bandeo CMA/DAPI y FISH con sondas de genes ribosomales 18S-5,8S-26S (pTa71) y 5S. Todos los genotipos mostraron células somáticas con 40 cromosomas ($2n=40$), con 2,5 μ m de longitud promedio y la mayoría metacéntricos. Dos cromosomas submetacéntricos fueron claramente distinguibles del resto. En todos los genotipos se identificó una banda CMA⁺/DAPI⁻ asociada a la región organizadora nucleolar (NOR) co-localizada con el sitio del gen ribosomal 18S-5,8S-26S. Las señales de hibridación para 18S-5,8S-26S fueron terminales, en algunos genotipos en la región del satélite y parte del cromosoma que lo porta. La señal 5S se localizó en la región centromérica en un par cromosómico, asinténico al 18S-5,8S-26S. Los resultados indican que el patrón de distribución de heterocromatina, la posición y número de genes ribosómicos es conservado entre los genotipos. Las dos señales para cada sonda y el par de cromosomas homólogos submetacéntricos identificados sugieren que *T. crinita* es diploide o -en concordancia con estudios reportando poliploidía en otras especies de esta subfamilia- paleopoliploide o alopoliploide (alotetraploide; $2n=4x=40$). Se requieren estudios adicionales para dilucidar el tipo de ploidía en *T. crinita*.

CV 13

BANDEO DAPI-CMA₃ EN ESPECIES E HÍBRIDOS DE LA SECCIÓN *Notosolen* (*Andropogon*, GRAMINEAE) DEL CONO SUR

Hidalgo MIM¹, EJ Greizerstein², GA Norrmann¹. ¹Faculta de Ciencias Agrarias (UNNE)-Instituto Botánica del Nordeste (IBONE), Corrientes, Argentina. ²Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ, Llavallol, Argentina. e-mail: mapyhidalgo@hotmail.com

La sección *Notosolen* Stapf, del género *Andropogon* L. está representada en el cono sur de Sudamérica por 3 especies 6x: *A. exaratus* Hack., *A. glaucophyllus* Ros., Arr. e Iza. y *A. barretoii* Norr. y Quarín. Se aplicó la técnica de bandeo DAPI/CMA₃ para revelar el número, distribución y composición de la heterocromatina constitutiva en especies e híbridos de esta sección. *A. barretoii* presenta en la mayoría de los cromosomas bandas teloméricas DAPI+/CMA₃+ las cuáles en 3 pares se encuentran en ambos telómeros mientras que en la mayoría están en uno de ellos; un par muestra una banda telomérica DAPI+/CMA₃-, un par bandas teloméricas DAPI+/CMA₃- para un brazo, presentando también 5 pares que no muestran bandas. *A. exaratus* exhibe bandas centroméricas DAPI+/CMA₃+ en 20 cromosomas. *A. barretoii* x *A. exaratus* muestra que 10 cromosomas no presentan señales y los restantes exhiben bandas centroméricas y teloméricas DAPI+/CMA₃+ en forma conjunta. *A. glaucophyllus* x *A. exaratus* muestra 32 cromosomas bandeados y 28 sin bandas. De ellos, 20 con bandas teloméricas DAPI+/CMA₃+ en 1 brazo; 4 bandas DAPI+/CMA₃+ centroméricas; 4 bandas teloméricas DAPI+/CMA₃+ en ambos brazos; 4 pares metacéntricos con bandas DAPI+/CMA₃+ a lo largo del cromosoma. *A. barretoii* x *A. glaucophyllus* presenta 20 cromosomas sin bandas y los 40 restantes tienen en su mayoría bandas teloméricas. Esta técnica aplicada por primera vez en las especies de esta sección y sus híbridos permitió la individualización cromosómica y por ello sería una herramienta útil para inferir relaciones genómicas con las especies e híbridos de otras secciones.

CV 14

POLYSOMATISM AND ITS IMPLICATION ON ORCHID MICROPROPAGATION BY MEANS OF PROTOCOL-LIKE BODIES

Fritsche Y¹, F Deola², MP Guerra². ¹Laboratorio de Fisiología do Desenvolvimento e Genética Vegetal, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. ²Laboratorio de Fisiología do Desenvolvimento e Genética Vegetal, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. ³Laboratorio de Fisiología do Desenvolvimento e Genética Vegetal, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. e-mail: yfritsche@gmail.com

In orchid micropropagation, several somatic tissues are used as explants such as leafs, meristems, floral stalks and others. Tough polysomatic tissues are common in vascular plants, the knowledge of the ploidy level of explants used in orchid micropropagation and the consequences of its use are usually neglected. In the present investigation, flow cytometry was used for access the ploidy level of explants and regenerant of the orchid *Cattleya tigrina* A. Rich (Orchidaceae) obtained from the induction of in vitro protocorm-like bodies (PLB). Nuclei from sample tissues were extracted, stained with fluorochromes and analyzed in a flow cytometer. The analysis of the explants showed that leaf tissues were polysomatic, containing cells with different ploidy levels within the same tissue. The analysis of regenerants obtained after PLB regeneration showed that all the samples used had twice the ploidy (4n) level of the explants (2n) used in PLB induction. The main hypothesis highlighted to explain this observation was that the first PLB originates from explant cells with 4C DNA content, resulting, after one endoreduplication cycle, in regenerants with doubled ploidy level as compared to the explants tissues. Complementary investigations are suggested to support this hypothesis. However, the obtained result suggests a ploidy instability of the proposed regenerative protocol, which can be seen either as beneficial or detrimental depending on the final objective.

UN MÉTODO SENCILLO PARA EL ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA CROMOSÓMICA EN PTERIDÓFITAS

Andrada AR¹, VA Paez¹, MS Caro¹, M Hernandez de Teran¹. ¹Fundación Miguel Lillo.

e-mail: paezvaleria@hotmail.com

La estructura y organización del complemento cromosómico de una especie se refleja en su cariotipo. En vegetales se han descripto numerosas técnicas para obtener cromosomas dispersos. El más utilizado de los métodos, es el *squash*, después que el tejido ha sido sometido a una hidrólisis ácida o tratamientos enzimáticos. También se ha empleado con frecuencia la suspensión celular o *splash* luego de una digestión enzimática y tratamiento hipotónico con una solución de KCl. La metodología incluye pretratamiento con 8-hidroxiquinoleína 0,002M a 4° C durante 24 horas, fijación con *farmer* y coloración con hematoxilina propiónica, orceína acética o DAPI. En este trabajo se realizó un estudio comparativo, en circinos de helechos, de los métodos de *squash*, *splash* y una combinación de ambos (con modificaciones). La técnica surge como una necesidad de estudiar las Pteridofitas, grupo poco explorado citogenéticamente por las características morfológicas y cuantitativas de los complementos cromosómicos. La combinación de ambas técnicas evidenció cromosomas dispersos con óptima coloración en todos los casos. Esta metodología permitió alcanzar resultados confiables en cuanto a la morfología cromosómica, aún cuando el número de cromosomas era elevado. Este método se convierte en una herramienta eficaz para el análisis detallado de la organización del complemento cromosómico y elaboración de los cariotipos. De hecho estos no son frecuentes en helechos y podrían contribuir a resolver problemas taxonómicos y/o revelar detalles de sus patrones de evolución cromosómica.

CARACTERIZACIÓN CITOLÓGICA DE PLANTAS DE AJO CULTIVADAS *IN VITRO*

Crede Y¹, M Gimenez¹, S García Lampasona^{1,2}. ¹Laboratorio de Biología Molecular, IBAM-CONICET. ²EEA Mendoza, INTA.

e-mail: sgarcia@fca.uncu.edu.ar

El cultivo *in vitro* de ajo (*Allium sativum* L.) permite obtener plantas libres de virus, produciendo mejores rendimientos. Sin embargo, en estas condiciones se pueden generar cambios en el número de cromosomas como consecuencia de los reguladores de crecimiento empleados. *A. sativum* es una especie diploide (2n=16) que presenta cromosomas metacéntricos de gran tamaño. Con el objetivo de determinar si el cultivo *in vitro* genera cambios en el número de cromosomas se utilizaron raíces de ajos libres de virus de la cultivar Sureño INTA y como control raíces de ajos cultivados en campo. Las raíces se trataron con 8-hidroxiquinoleína, se fijaron en etanol:ácido acético (3:1), se digirieron con celulasa y se tiñeron con orceína acética. El 83,33% de las plantas de cultivo *in vitro* fueron mixoploides. El 33,33% presentó tanto células diploides como haploides y el 50% células diploides, haploides y con la mitad del número cromosómico haploide (4 cromosomas). También se detectaron aberraciones cromosómicas y anomalías morfológicas en una de las plantas utilizada como control. Estos datos nos permitirían concluir que el cultivo *in vitro* de ajo ocasiona variaciones en el nivel de ploidía. Algunas aberraciones cromosómicas observadas en las condiciones de cultivo en campo podrían ser las responsables de variaciones morfológicas.

CV 17

EVALUACIÓN DE EFECTO ANTIMITÓTICO Y CITOTÓXICO POR DISTINTAS CONCENTRACIONES DE ALPERUJO EN *Allium cepa*

Hammann A¹, LA Sachetti¹, AG Rodriguez¹, LV Ybañez¹, MR Gordillo¹.

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

e-mail: sebastian883@hotmail.com

Los residuos oleícolas originan un grave problema por ser fitotóxicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar preliminarmente citotoxicidad y efecto antimitótico en plántulas de cebolla con tratamiento de alpeorujo. Se realizó germinación con análisis citogenético de semillas de *A. cepa* var. Angaco INTA crecidas en 5 placas de Petri, 20 semillas por placa. Se colectó datos a 48 h de crecimiento de radículas, a temp. 25° C. Se irrigó solo con H₂O destilada la muestra testigo y con diluciones de alpeorujo-agua destilada al 12,5% y 25% v/v. Se calculó el índice de germinación para valorar relación dosis-respuesta de la fitotoxicidad del sustrato. Mediante técnica de aplastamiento *Squash* se estudiaron las células. Los ápice radiculares fueron fijados en Carnoy etanol-ácido acético 3:1 hidrolizado en HCL 1N durante 15 min. a 60° C, tiñéndose las mismas con fucsina. Los índices obtenidos no marcaron diferencia significativa entre los tratamientos y testigo, diferencia marcada en tamaño, forma nuclear y apariencia de cromosomas. Para obtener índice de germinación (IG) se determinó: números de semillas germinadas en testigo como en los tratamientos, medición de la longitud de las radículas resultando IG 68,8 para tratamiento de 12,5% y de 136,8 para el de 25%. El valor obtenido en el tratamiento con 25%, no sugiere beneficio sino es un comportamiento relacionado al medio adverso en disponibilidad de oxígeno y difusión del agua.

CV 18

GIGANTE DE TARAUACÁ: A TRIPLOID PINEAPPLE FROM AMAZONIA

Scherer RF¹, D Olkoski¹, LVS Nicodem¹, RO Nodari¹, MP Guerra¹.

¹Graduate Program in Plant Genetic Resources, Plant Developmental Physiology and Genetics Laboratory, Federal University of Santa Catarina, Brazil.

e-mail: ramonrrs@gmail.com

Pineapple cultivars are normally diploids, however, some triploid plants have been found. These triploid cultivars present, among others traits, bigger fruits when compared to diploid ones. The “Gigante de Tarauacá” is a native pineapple genotype that produces big fruits (as much as 15 kg) in the region of Tarauacá, Acre State, Brazil. We hypothesized that this feature is related to polyploidy. Thus, we investigated the ploidy level of “Gigante de Tarauacá” by means of chromosome counting and flow cytometry, using the traditional diploid cultivar “Pérola” as a control. The chromosome counting was performed by means of Feulgen reaction and light microscopy, and the ploidy levels were compared by flow cytometry after the nuclei were isolated and treated with Propidium Iodide and RNase. The somatic chromosome numbers and ploidy levels identified by flow cytometry revealed the triploid nature of the “Gigante de Tarauacá” ($2n=3x=75$) and the diploid status of “Pérola” ($2n=2x=50$). To the best of our knowledge this is the first report of the triploid nature of the “Gigante de Tarauacá”.

GENOMIC STUDY IN COCONUT (*Cocos nucifera* L.)

Freitas Neto M¹, TNS Pereira², MG Pereira², SRR Ramos³. ¹Instituto Federal Fluminense. ²Universidade Estadual do Norte Fluminense. ³EMBRAPA Tabuleiros Costeiros.

e-mail: moniquefneto@gmail.com

The objective of this study was to characterize the genome of coconut genotypes, Dwarf and Tall genotypes, by conventional karyotyping, differential CMA/DAPI, fluorescence in situ hybridization (FISH) using telomere probes, and by determination of the DNA content via flow cytometry. The conventional karyotype root tips of plants from green dwarf coconut were pretreated with paradichlorobenzene during 10 h at 4° C. After, the root tips were fixed, digested by enzymes (20% pectinase and cellulase 2%), centrifuged and subsequently slides stained with Giemsa at 5%. The differential staining banding CMA/DAPI uses chromomycin A3 (CMA) that recognizes GC- rich sites, and 4',6 - diamidino - 2- phenylindole (DAPI), which recognizes AT -rich sites on chromosomes. The FISH technique identifies the position of DNA sequences on chromosomes by using telomeric probes. It was used 14 coconut genotypes, six from dwarf group and eight from tall group. By the conventional karyotype, the coconut has $2n=32$ chromosomes and the chromosome length ranged from 5.57 μm to 2.13 μm . The karyotype is asymmetric. The banding CMA/DAPI revealed terminal blocks present in two chromosome pairs coinciding with the nucleolus organizer regions (RON). FISH revealed bands exclusively terminals in the telomeric region of all chromosomes. It can be also inferred that the average of 2C DNA content of Tall group is 5.59 pg and the Dwarf group is 5.55 pg. The size of the genome of the species is 5.57 pg which in terms of base pairs correspond to 5.347 Mpb, considered a genome of medium size.

BANDEO CROMOSÓMICO EN DOS ESPECIES DEL GÉNERO *Habranthus* (AMARYLLIDACEAE)

Gianini Aquino AC, AI Honfi, JR Daviña. Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal (IBS-CONICET-UNaM), Rivadavia 2370, C.P.3300, Posadas, Misiones, Argentina.

e-mail: anita_gianini@hotmail.com

El género *Habranthus*, de distribución casi exclusivamente sudamericana, cuenta con alrededor de 25 especies en Argentina y presenta cinco números básicos $x=6, 7, 9, 11, 13$. Se estudiaron con tinción clásica y molecular los cromosomas mitóticos de *Habranthus pedunculatus* Herb. y *H. robustus* Herb. ex Sweet. *H. pedunculatus* presenta un complemento cromosómico diploide con $2n=2x=14$ cromosomas y fórmula cariotípica de 2 cromosomas metacéntricos (*m*), 6 submetacéntricos (*sm*) y 6 subtelocéntricos (*st*). La longitud total del complemento es de 73,77 μm y longitud cromosómica media es de 5,27 μm . El bandeo con CMA/DA/DAPI secuencial mostró bandas $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ en cuatro cromosomas. El primer par *m* presentó bandas terminales en ambos brazos cromosómicos, mientras en el brazo largo del par 6 *st*, se observaron bandas terminales asociadas al microsatélite. La heterocromatina constitutiva es rica en GC y alcanza 1,8 μm , representando tan solo el 2,47% del total del genoma. *H. robustus* posee $2n=2x=12$ y fórmula cariotípica haploide $3\ m + 2\ sm + 1\ st$. La longitud total del complemento es 106,13 μm y la longitud cromosómica media es de 8,92 μm . Las bandas $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ se localizaron en el brazo corto del par 5 *sm* asociada a un microsatélite. Además, se observaron bandas intersticiales $\text{DAPI}^+/\text{CMA}^-$ en los brazos cortos de los pares 2 y 3 metacéntricos. La heterocromatina constitutiva asciende al 2,94% del complemento total, mayoritariamente rica en AT.

CV 21

CV 22

CARACTERIZACIÓN CROMOSÓMICA DE *Habranthus cardenasianus* TRAUB E I.S. NELSON (AMARYLLIDACEAE)

Daviña JR¹, AI Honfi¹, LLE Zappani¹, M Navarro¹, EJ Martinez², E Tapia-Campos³, R Barba-Gonzalez³. ¹Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal (IBS-CONICET-UNaM) nodo Posadas, Universidad Nacional de Misiones. ²Instituto de Botánica del Nordeste (CONICET-UNNE), C.C. 209, 3400 Corrientes, Argentina. ³Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Biotecnología Vegetal (CIATEJ-CONACYT).
e-mail: juliordavina@gmail.com

Recientemente, se localizó una población de *Habranthus cardenasianus* de la Provincia de Salta, Argentina. Se trata de una especie de gran interés para la conservación como para el mejoramiento genético por sus cualidades ornamentales. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cromosómicamente a esta especie y para ello, se utilizaron técnicas clásicas convencionales, para determinar el número cromosómico, nivel de ploidía y cariotipo, en cambio mediante hibridación fluorescente *in situ* se localizaron los genes ribosomales. Por primera vez, se da a conocer que *H. cardenasianus* posee $2n=4x=24$, cuya condición tetraploide se basa en $x=6$. La fórmula cariotípica consiste en 12 cromosomas metacéntricos (m) y 12 submetacéntricos (sm). La longitud total del complemento haploide (LTCH) es de 88,92 μm y el tamaño genómico alcanza a 177,84 μm . El índice centromérico medio (*i*) es de 37,02, la longitud cromosómica media es de 7,41 μm , datos que indican que se trata de un cariotipo levemente asimétrico debido a que, pertenecen a la categoría 2A de Stebbins y además, porque poseen valores de asimetría intracromosómica (A_1) de 0,373 e intercromosómica (A_2) de 0,204 de Romero Zarco. La región heterocromática observada es CMA⁺DAPI⁺, y se ubican en 4 cromosomas. La hibridización *in situ* fluorescente mostró los sitios de hibridación de las sondas de ADN ribosómico, logrando con esto la identificación de cromosomas individuales. La caracterización citogenética obtenida permitirá monitorear e identificar materiales selectos para su conservación y planes de mejoramiento.

POLIMORFISMO PARA CROMOSOMAS B EN POBLACIONES DE *Zephyranthes mesochloa* (AMARYLLIDACEAE)

Zappani LLE, AI Honfi, JR Daviña. Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal (IBS-CONICET-UNaM), Rivadavia 2370, C.P.3300, Posadas, Misiones, Argentina.
e-mail: leandrozappani@fceqyn.unam.edu.ar

El género *Zephyranthes* agrupa aproximadamente 50 especies nativas de América tropical y subtropical que habitan desde el SE de Estados Unidos hasta la Patagonia. En *Zephyranthes* y géneros allegados los cromosomas B son muy frecuentes. *Zephyranthes mesochloa* es una especie de amplia distribución que presenta poblaciones diploides y tetraploides en base a $x=6$. Además, recientemente se han identificado poblaciones de *Z. mesochloa* que presentan polimorfismo para la presencia de un cromosoma B. Con el objetivo de estudiar la naturaleza de este cromosoma se utilizaron técnicas citogenéticas clásicas y moleculares mediante tinción CMA/DA/DAPI secuencial y bandeo C-DAPI en una población de *Z. mesochloa* de Posadas, Misiones. La población estudiada presentó individuos con $2n=12 + 0B$; $12 + 1B$; $12 + 2B$ y $12 + 3B$. El mantenimiento y acumulación de los cromosomas B en la población, podría estar facilitada por el comportamiento meiótico regular observado en el citotipo $2n=12 + 1B$. No se observaron bandas CMA⁺, DAPI⁺ o bandas C-DAPI sobre los cromosomas B, hecho que indica que el cromosoma B es de reciente origen y no ha sufrido aún procesos de heterocromatinización.