

**NUMERO CROMOSÓMICO Y COMPORTAMIENTO MEIÓTICO DE *Z. mesochloa*
Herb. ex Lindl.**

Zappani, Luis Leandro E., Daviña, Julio R., Honfi Ana I.
leandrozappani@gmail.com

Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal. Laboratorio de Citogenética Vegetal. Instituto de Biología Subtropical (IBS, UNaM - CONICET), Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de Misiones, Rivadavia 2370, Posadas, Misiones.

RESUMEN

Zephyranthes es un género americano de la familia Amaryllidaceae, que cuenta con numerosos estudios cariotípicos, sin embargo, los estudios de comportamiento meiótico aun son insuficientes. Este género presenta algunas especies diploides, una gran cantidad de especies poliploides y una importante proporción de taxones con individuos aneuploides. *Zephyranthes mesochloa* es una especie de amplia distribución en el subtrópico sudamericano, con gran variabilidad respecto del número y constitución del cariotipo, cuyo número básico es $x=6$, y dispone de citotipos diploide, poliploides y aneuploides. Los objetivos de este trabajo son realizar una revisión bibliográfica de los estudios citogenéticos previos para la especie, determinar el número cromosómico de 2 poblaciones no estudiadas de Misiones y Corrientes y analizar por primera vez el comportamiento meiótico de un citotipo aneuploide de *Z. mesochloa*. Para ello, se realizaron preparados mitóticos con tinción Feulgen a partir de raíces y meióticos a partir de anteras coloreadas con carmín acético. Se encontraron dos citotipos, $2n = 12$ y $2n = 13$. El citotipo aneuploide posee un cromosoma metacéntrico adicional más pequeño, posiblemente un cromosoma B. En el análisis de la meiosis, en todas las CMP analizadas los cromosomas se comportan regularmente, formando $6 \text{ II} + 1 \text{ I}$, sugiriendo la existencia del cromosoma B en lugar de una trisomía del complemento normal.

Palabras Clave: *Zephyranthes*, aneuploidía, cromosoma B, meiosis.

INTRODUCCIÓN

Amaryllidaceae J.St.-Hil. es una familia de plantas mayormente bulbosas, de distribución principalmente tropical e incluye alrededor de 800 especies, agrupadas en 59 géneros (Meerow & Snijman, 1998). El género *Zephyranthes* agrupa aproximadamente 50 especies nativas de América, que habitan desde el SE de los EEUU hasta la Patagonia (Meerow & Snijman, 1998). En Argentina habitan 12 especies (Zuloaga, 2008). Existen numerosos estudios cariotípicos en este género, el cual cuenta con algunas especies diploides, una gran cantidad de especies poliploides y una importante proporción de taxones con individuos aneuploides (Yokouchi, 1963, 1964; Naranjo, 1969, 1974; Greizerstein & Naranjo, 1987; Daviña & Fernández, 1989). Por el contrario, los estudios de cromosomas meióticos y su comportamiento, son aún insuficientes (Daviña, 2001), en parte, debido a que al igual que en otros géneros de la familia, la microsporogenesis ocurre dentro del bulbo y por lo tanto estos deben ser sacrificados sin garantía de hallar los estadíos apropiados para el análisis. Para este género se han propuesto tres números básicos $x=5$ (Daviña y Fernández, 1989) y $x=6, 7$ (Darlington & Wylie, 1955).

Zephyranthes mesochloa Herb. Ex Lindl. es perenne, de flores campanuladas blancas que habita Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina. En nuestro país, ocupa una amplia zona que incluye Buenos Aires, Entre Ríos, Corrientes, Formosa, Misiones, Catamarca, Jujuy y Tucumán (Arroyo-Leuenberger, 1996).

Los objetivos de este trabajo son realizar una revisión bibliográfica de los estudios citogenéticos previos para la especie, determinar el número cromosómico de 2 poblaciones

no estudiadas de Misiones y Corrientes y analizar por primera vez el comportamiento meiótico de un citotipo aneuploide de *Z. mesochloa*.

METODOLOGÍA

El material de estudio fue coleccionado en dos localidades de las provincias de Misiones y Corrientes; parte del material fue herborizado y el resto se mantiene vivo en invernáculo. Los ejemplares de herbario se encuentran depositados en el herbario de la Universidad Nacional de Misiones (MNES). Los datos de colección de los materiales estudiados figuran en la tabla 1. La identificación taxonómica del material fue realizada por el autor en base a claves taxonómicas.

Procedencia	Legajo Coleccionista	2n
Misiones, Dpto. Capital, Posadas, Miguel Lanús, Ruta Nac. 12, Km 7. Lat. 27° 25' 53.086" S Long. 55° 53' 22.991" O Altitud: 107 msnm	Zappani, L. L. E. 1	2n=12,13
Corrientes, Dpto. Esquina, Esquina. Lat. 30° 00' 12,5" S Long. 59° 31' 34,7" O Altitud: 37 msnm	Daviña, J. R. & Honfi A. I. 649	2n=13

Tabla 1. Lista de materiales estudiados de *Zephyranthes mesochloa* Herb. ex Lindl.

Mitosis.

Para determinar el número cromosómico en mitosis se utilizaron meristemas de raíces obtenidas a partir de bulbos. El material fue pretratado con 8-oxiquinoleína 0,002 M durante 8 horas a 25°C, fijado en una mezcla de alcohol absoluto y ácido acético (3:1) durante 1 hora a temperatura ambiente y conservado en el mismo fijador a 4°C. La coloración se realizó mediante la técnica de Feulgen, que consiste en la hidrólisis ácida de las raíces con HCl 1N a 60°C por 10 minutos y tinción con reactivo de Schiff, durante 30 minutos en oscuridad. Las zonas meristemáticas fueron disgregadas en orceína acética 2% y posteriormente aplastadas. Los preparados fueron sellados con solución de goma y guardados a -20°C.

Meiosis.

Los bulbos recolectados a campo se cortaron para extraer los botones florales. Los botones fueron fijados en alcohol absoluto y ácido acético (3:1) durante 1 hora a temperatura ambiente y conservados en el mismo fijador a 4°C. Los botones fueron diseccionados para extraer las anteras. Las células madres del polen (CMP) fueron extraídas de las anteras en una gota de carmín acético al 2% y posteriormente aplastadas. Los preparados fueron hechos permanentes con terpentina de Venecia. Los bulbos cortados fueron trasplantados en arena para desarrollar nuevas plántulas, por multiplicación clonal. La viabilidad del polen se determinó mediante el método de coloración con carmín – glicerina (1:1), contando no menos de 1000 granos.

Análisis de imágenes.

Las fotografías fueron tomadas con microscopio óptico binocular Olympus CX31 y cámara Moticam 1000 1,3MP. Las fotografías se mejoraron utilizando el programa Adobe

Photoshop. Las mediciones para los cariogramas se realizaron con el programa MicroMeasure 3.3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios citogenéticos previos para *Z. mesochloa* se detallan en la tabla 2. Ésta es una especie con gran variabilidad en el número y constitución del cariotipo. Posee citotipos diploides ($2n = 2x = 12$), poliploides ($2n=4x=24$ y $2n=8x=48$) y aneuploides ($2n=13, 26, 39$), (Tabla 2).

Autores	Procedencia de la muestra	$2n$	Cariotipo	Meiosis
Sharma. & Gosh, 1954	-	48 (42,60,66,72)	-	-
Flory, 1968	-	39	-	-
Bhattacharyya, 1972	India. Cultivada. Jardín Botánico. Universidad de Calcuta.	24	-	-
Greizertein & Naranjo, 1987	Argentina. Cultivada. Cutler y Lonsdale (Kew) 23-136.	12 + 1B	$4m + 2sm + 6st + 1B (m)$	-
	Argentina. Cultivada. Kew 301-79-02636.	12	$2m + 10 sm$	-
	Argentina. Cultivada. Kew 301-79-02649.	26	$4m + 10sm + 12st$	-
Daviña & Fernández, 1989	Argentina. Corrientes. Dpto. Capital. Molina Punta.	12	$4m + 4sm + 4st$	6 II
Daviña et al., 2001	Paraguay. Dpto. Central. San Lorenzo.	12	-	-
Daviña, com. pers.	Argentina. Corrientes. Dpto. Santo Tomé.	24	-	-
	Argentina. Dpto. Capital. Parada Leis. Ruta Prov. 105, Km 17.	24	-	-

Tabla 2. Antecedentes cromosómicos de *Z. mesochloa* Herb. ex Lindl.

La población *Zappani 1*, resultó polimórfica con individuos con $2n = 12$ y $2n = 13$. El citotipo con $2n=12$ posee la misma constitución cariotípica que la encontrada por Daviña & Fernández (1989) de $4m + 4sm + 4st$. Los individuos con $2n=13$ disponen de la fórmula básica de $4m + 4sm + 4st + 1m$ y el cromosoma adicional es metacéntrico y es el más pequeño del complemento.

En la población Daviña 649 se encontraron hasta el momento, solamente individuos con $2n=13$ cromosomas. En todas las células madre del polen (CMP) analizadas, se observó que los cromosomas se comportan regularmente, formando 6 bivalentes (II) y 1 univalente (I). Sobre un total de 14 CMP óptimas se analizó la frecuencia y distribución de quiasmas por CMP y por II. Los datos del análisis de la meiosis se detallan en la tabla 3.

2n	Frec. de II/ CMP \pm ES		Proporción de quiasmas según posición (p \pm ES)			Frec. Qx/CMP \pm ES	Frec. Q/II \pm ES	CMP	VP
	Abiertos	Cerrados	P	I	D				
13	1,5 \pm 0,2	4,5 \pm 0,2	0	0,54 \pm 0,03	0,46 \pm 0,03	11,64 \pm 2,8	1,94 \pm 0,06	14	47 %

ES: error estándar, P: proximal, I: intersticial, D: distal, Qx: quiasma, VP: viabilidad polínica

Tabla 3. Análisis del comportamiento meiótico durante la microsporogenesis de *Z. mesochloa* D649

Sorprendentemente, los resultados obtenidos indican que el guarismo de $2n=13$ resultó con mayor frecuencia de la esperada en poblaciones de *Z. mesochloa* diploide. En todas las CMP estudiadas, el cromosoma adicional se comportó como univalente, separado del resto de los cromosomas del complemento. Durante la segregación en anafase I su comportamiento es errático, aunque generalmente se integra de modo intacto a uno de los núcleos telofásicos. Ocasionalmente, se observó que las cromátides hermanas segregan en anafase I. No se observaron puentes en anafase I y telofase I temprana ni migración rezagada. Estos datos indican que las microsporas resultantes pueden contener alternativamente 6 ó 7 cromosomas, hecho que puede explicar el mantenimiento de este cromosoma en la población.

Dos hipótesis son posibles para explicar el origen del citotipo $2n = 13$. La primera de ellas consiste en considerar que se corresponde a un cromosoma B, y la segunda a una aneuploidía derivada del complemento normal (trisomía). Las evidencias que sugieren mayor apoyo a la primer hipótesis son *i)* que el cromosoma adicional (*m*) posee un tamaño más pequeño que cualquier otro par del complemento, *ii)* se comporta invariablemente como un univalente y no aparea en meiosis con ningún otro cromosoma, e *iii)* posee un comportamiento aparentemente estable ya que siempre está incluido en uno de los núcleos telofásicos de la meiosis I.

CONCLUSIONES

Las poblaciones diploides de *Z. mesochloa* disponen de dos citotipos, $2n = 12$ y 13 , cuyos cariotipos difieren por la presencia en un cromosoma adicional. La fórmula cariotípica es de $4m + 4sm + 4st$ y $4m + 4sm + 4st + 1m$ respectivamente. El comportamiento meiótico y la frecuencia de quiasmas indican que existe un comportamiento cromosómico regular durante la microsporogénesis, la cual concluye formando un 47% de granos de polen viables. Nuevas metodologías aplicadas al análisis de estas poblaciones darán luz a las hipótesis formuladas.

REFERENCIAS

- Bhattacharyya, N. K. 1972. Chromosome inconstancy in *Zephyranthes mesochloa* Baker. Cytologia 37: 423-433.
- Darlington, S. D. & Wylie A. P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. I-XX, 1-520, London.
- Daviña J. R. & Fernández A. 1989. Karyotype and meiotic behaviour in *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) from Southamerica. Cytologia 54: 269-274.
- Daviña, J. R. 2001. Estudios citogenéticos en algunos géneros argentinos de Amaryllidaceae. Tesis Doctoral, 188 p.

Jornadas Científico Tecnológicas

- Daviña, J. R.; Honfi, A. I.; de Diana, D. F.; Fernández V.; Lirussi I.; Rovira A.; Molero J. 2001. Chromosome studies on plants from Paraguay. *Phyton* 2001: 215-224.
- Flory, W. S. 1968. Chromosome diversity in species and in hybrids, of Tribe Zephyrantheae. *The Nucleus* (Supl.) 11: 79-95.
- Greizerstein, E. J. & Naranjo, C. A. 1987. Estudios cromosómicos en especies de *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). *Darwiniana* 28 (1-4): 169-186.
- Meerow A. & Snijman D. A. 1998. "*Amaryllidaceae*". In Kubitzki, K. (ed.). III Flowering plants. Monocotyledons. *Liliana* (except *Orchidaceae*). Pp. 83-110. Springer.
- Naranjo C. A. 1969. Cariotipo de nueve especies Argentina de *Rhodophiala*, *Hippeastrum*, *Zephyranthes* y *Habranthus* (Amaryllidaceae). *Kurtziana* 5: 67-87.
- Naranjo, C. A. 1974. Karyotypes of four Argentine species of *Habranthus* and *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). *Phyton* 32 (1): 61-71.
- Sharma, A. K. & Ghosh, C. 1954. Further investigation on the cytology of the family Amaryllidaceae and its bearing on the interpretation of its phylogeny. *Genet. Iber.* 6: 71-100.
- Yokouchi, Y. 1963. Chromosome studies on *Zephyranthes* I. Karyotypes of *Z. candida*. *La Kromosomo* 55-56: 1811-1817.
- Yokouchi, Y. 1964. Chromosome studies on *Zephyranthes* II. Karyotype of *Z. carinata*. *La Kromosomo* 57-59: 1902-1909.
- Zuloaga, F. O., Morrone, O. & Belgrano, M. J. 2008. Catálogo de Las Plantas Vasculares Del Cono Sur: (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 107(1).

Subsidiado por ANPCYT, **PICT-BICENTENARIO** 2010-1297, Préstamo BID 2437/OC.