

Estudio citogenético en *Citrus* II: análisis cariotípico de *Citrus volkameriana* Pasq. y *Citrus reshni* Hort. ex Tan.

por A. M. Frías de Fernández¹; M. E. Lozzia de Canelada¹ y María S. Caro²

1. Fundación Miguel Lillo. Área Botánica.

2. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán. Adscripta a Fundación Miguel Lillo.

Summary

«Cytogenetic studies in *Citrus*. II. Karyotypic analysis of *Citrus volkameriana* Pasq. and *Citrus reshni* Hort. ex Tan.» Karyotypic analysis of *Citrus volkameriana* Pasq. and *Citrus reshni* Hort. ex Tan. have been reported for the first time in Tucumán. Both taxa exhibit ($2n=18$) metacentric chromosomes and symmetrical karyotypes, with differences of increasing size of their chromosomes. Two large pairs, five median pairs and two smaller pairs of chromosomes have been found in both species. Furthermore, *Citrus volkameriana* Pasq. showed some polymorphism with effects on the first pair of chromosomes and an increasing length of the karyotype. Using the results reported here, both species can be easily characterized.

Key words: Cytogenetics, *Citrus volkameriana*, *Citrus reshni*, karyotypic analysis.

Introducción

En un trabajo anterior (Frías de Fernández *et al.*, 1995) se describió el comportamiento meiótico de dos especies del género *Citrus* (*C. volkameriana* y *C. reshni*) relacionadas por su condición apomítica, poliembriónica y por el mismo nivel de ploidía (Agarwal, 1987; Iwamasa *et al.*, 1988).

En la presente contribución se dan a conocer los cariotipos de *Citrus volkameriana* y *Citrus reshni*, especies de las cuales no conocemos que se hallan realizado estos estudios, constituyendo por lo tanto el primer aporte sobre las mismas.

Materiales y métodos

Para el presente estudio se emplearon plantas de *C. volkameriana* y *C. reshni*, provenientes de

cultivos de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes, de Tucumán.

Para la confección de los cariotipos se analizaron preparaciones convencionales de puntas de raíces que se pretrataron durante 12 horas con alfa-bromonaftaleno. Se fijaron en alcohol-acético (3:1) y la coloración se realizó con carmín acético o con Feulgen, realizándose el montaje en orceína acética.

Para la confección de los cariotipos se aplicó la nomenclatura de Levan *et al.* (1964). Los ideogramas se construyeron sobre 10 placas metafásicas en base a las longitudes promedios de ambas especies.

Resultados

Ambas especies estudiadas son diploides con

Tabla 1 Medidas e Índices de los cromosomas de *C. volkameriana* en μm . Según Levan (1964)

Par cromosómico	Longitudes cromosómicas (media \pm desv. estand.)				Tipo cromosómico	LR
	s	l	c	Ic		
1	1,07 \pm 0,22	1,34 \pm 0,21	2,41 \pm 0,15	45	m	15,83
2	1,01 \pm 0,17	1,20 \pm 0,16	2,21 \pm 0,22	42	m	14,50
3	0,91 \pm 0,11	1,12 \pm 0,12	2,03 \pm 0,09	44	m	13,30
4	0,88 \pm 0,12	1,10 \pm 0,18	1,98 \pm 0,10	44	m	13,00
5	0,83 \pm 0,006	0,83 \pm 0,006	1,66 \pm 0,01	50	m	10,90
6	0,74 \pm 0,085	0,81 \pm 0,08	1,55 \pm 0,18	47	m	10,10
7	0,61 \pm 0,108	0,68 \pm 0,086	1,29 \pm 0,13	47	m	8,48
8	0,48 \pm 0,0025	0,55 \pm 0,096	1,03 \pm 0,18	46	m	6,77
9	0,45 \pm 0,026	0,49 \pm 0,075	0,94 \pm 0,20	47	m	6,18

s= longitud del brazo corto; l= longitud del brazo largo; c= longitud total del cromosoma; Ic= índice centromérico; tipo cromosómico; LR= longitud relativa.

un número básico de $n=9$, número éste característico del género.

En la tabla 1 se muestran los datos de las longitudes promedio de: brazo corto, brazo largo; longitud total del cromosoma, índice centromérico, tipo cromosómico y longitud relativa (LR) de la especie *C. volkameriana*.

El cariotipo de *Citrus volkameriana* está compuesto por nueve pares de cromosomas metacéntricos (fig. 1). El tamaño de los cromosomas oscila entre 2,51 y 0,94 μm , lo que nos permitió diferenciarlos en tres grupos (fig. 2).

En el primer grupo, constituido por dos pares de cromosomas, observamos que los homólogos del primer par no son iguales, presentando una diferencia significativa, ya que uno de ellos (1) mide 2,51 μm , mientras que su homólogo (1') presenta una longitud de 2,32 μm . El grupo 2 lo forman cinco pares de cromosomas homólogos con longitudes que varían entre 2,03 y 1,29 μm . En el tercer grupo, los dos pares de cromosomas que lo componen son los más pequeños del conjunto total de cromosomas del complemento diploide de *C. volkameriana*, presentando un rango de variación que oscila entre 1,03 y 0,94 μm . La longitud promedio to-

tal de *C. volkameriana* es de 15,22 μm .

La tabla 2 muestra las longitudes promedio de: brazo corto, brazo largo, longitud total del cromosoma, índice centromérico, tipo cromosómico y longitud relativa de *C. reshni*.

El cariotipo de *C. reshni* está compuesto por nueve pares de cromosomas metacéntricos (fig. 3). La longitud promedio total del cariotipo es de 13,84 μm , y el tamaño de sus cromosomas oscilan entre 2,09 y 1,05 μm , lo que permitió ordenarlos en tres grupos (fig. 4).

En el primer grupo, que está formado por dos pares de cromosomas homólogos, las longitudes promedio oscilan entre 2,10 y 1,80 μm . En el segundo grupo los cromosomas tienen longitudes que oscilan entre 1,70 y 1,38 μm y está constituido por 5 pares de cromosomas homólogos. En el tercer grupo los valores están en el orden de 1,20 a 1,05 μm y lo componen 2 pares de cromosomas homólogos. Las dos especies tienen cariotipo simétrico con diferencias graduales de tamaño entre los cromosomas del complemento diploide.

Discusión

Los primeros datos sobre citogenética y evolu-

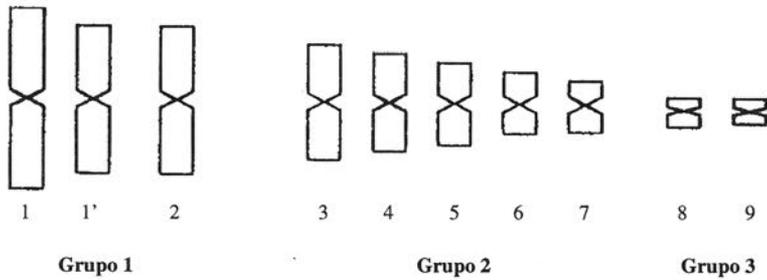
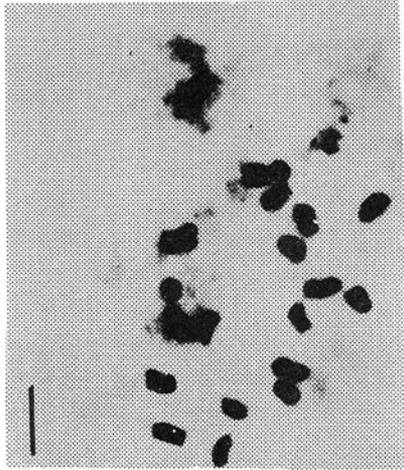


Fig. 1. Metafase mitótica de *Citrus volkameriana* $2n=18$ cromosomas. La escala representa 5 μ .

Fig. 2. Ideograma de *C. volkameriana* (1 y 1') cromosomas heteromórficos del primer par de homólogos con diferencias de longitudes altamente significativas.

ción del género *Citrus* nos dicen que la diploidía es la regla general en el género que nos ocupa, teniendo $n=9$ y $2n=18$. Es así que la gran diversidad de caracteres que prevalecen en las especies del género *Citrus*, se han desarrollado dentro del nivel diploide, pasando a través de mutaciones génicas, cambios estructurales, hibridaciones con reproducciones

sexuales, vegetativas y apomícticas (Iwamasa and Nito, 1988).

A pesar que las dos especies estudiadas están relacionadas por el número y tamaño de sus cromosomas hemos encontrado diferencias significativas en los cariotipos. *Citrus volkameriana* se caracteriza por el polimorfismo que afecta al primer par de cromosomas homólogos. En

Tabla 2 Medidas e Índices de los cromosomas de *C. reshni* en μ m. Según Levan (1964)

Par cromosómico	Longitudes cromosómicas (media \pm desv. estand.)				Tipo cromosómico	LR
	s	l	c	Ic		
1	1,02 \pm 0,009	1,07 \pm 0,116	2,09 \pm 0,19	48	m	15,10
2	0,91 \pm 0,074	0,92 \pm 0,126	1,83 \pm 0,21	49	m	13,20
3	0,85 \pm 0,064	0,85 \pm 0,124	1,70 \pm 0,17	50	m	12,20
4	0,80 \pm 0,077	0,80 \pm 0,128	1,60 \pm 0,21	50	m	11,50
5	0,75 \pm 0,084	0,75 \pm 0,133	1,50 \pm 0,18	50	m	10,80
6	0,72 \pm 0,085	0,72 \pm 0,135	1,44 \pm 0,14	50	m	10,40
7	0,69 \pm 0,091	0,69 \pm 0,135	1,38 \pm 0,10	50	m	9,90
8	0,62 \pm 0,104	0,63 \pm 0,142	1,25 \pm 0,17	49	m	9,03
9	0,51 \pm 0,120	0,54 \pm 0,153	1,05 \pm 0,11	48	m	7,58

s= longitud del brazo corto; l= longitud del brazo largo; c= longitud total del cromosoma; Ic= índice centromérico; tipo cromosómico; LR= longitud relativa.

metafase I de la meiosis de *Citrus volkameriana* (Frías de Fernández *et al.*, 1995) observaron un bivalente heteromórfico en el 60% de las células analizadas. La presencia de una inversión paracéntrica es la causa de este heteromorfismo, situación ésta avalada por la presencia de un puente y fragmento en anafase I. Similarmente en la metafase I presentada por Moscoso *et al.* (1972) en la Chironja, se observa la presencia de un bivalente heteromórfico en el 60-65% de las células.

En muchos cultivares de citrus han sido detectados cambios estructurales como ser translocaciones e inversiones. Naithani and Raghuvanshi (1963) y Raghuvanshi (1962) han encontrado puentes y fragmentos en 8 formas de citrus. Nakamura (1934, 1942) observó que existe gran afinidad entre los híbridos intergenéricos de *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunella*; Naithani y Raghuvanshi también reconocen una estrecha similitud entre los cromosomas de *Citrus* y *Poncirus*.

Nosotros hemos observado un completo apareamiento de los 9 bivalentes en la meiosis del cruzamiento de *C. volkameriana* x *C. reshni*.

C. volkameriana se caracteriza también por una longitud mayor de su cariotipo (15,22 μ m) en contraste con *C. reshni* que mide (13,84 μ m).

Por otro lado, *C. volkameriana* y *C. reshni* comparten igual número cromosómico (2n=18), similitud morfológica (cromosomas metacéntricos) y diferencias graduales de tamaño entre los cromosomas de su complemento.

Otras especies de este género de las cuales disponemos datos citológicos (Sharma and Bal, 1957; Guerra, 1993), coinciden en la simetría cariotípica y en la morfología de sus cromosomas que son metacéntricos y submetacéntricos.

Es nuestra opinión, que de todos los cambios estructurales que puedan haber estado comprometidos los cromosomas, las inversiones tuvieron un papel importante en los procesos de especiación del género *Citrus*.

Bibliografía

- AGARWAL P. K., 1987. «Cytogenetical Investigations in Rutaceae. I. Meiotic studies in four *Citrus* species of hybrid origin». *Cytologia* 52: 753-756.
- FERNÁNDEZ A. M. DE; M. E. L. DE CANELADA; M. S. CARO & J. L. FOGUET, 1995. «Estudio citogenético en *Citrus*. I. Comportamiento meiótico en *Citrus volka-*

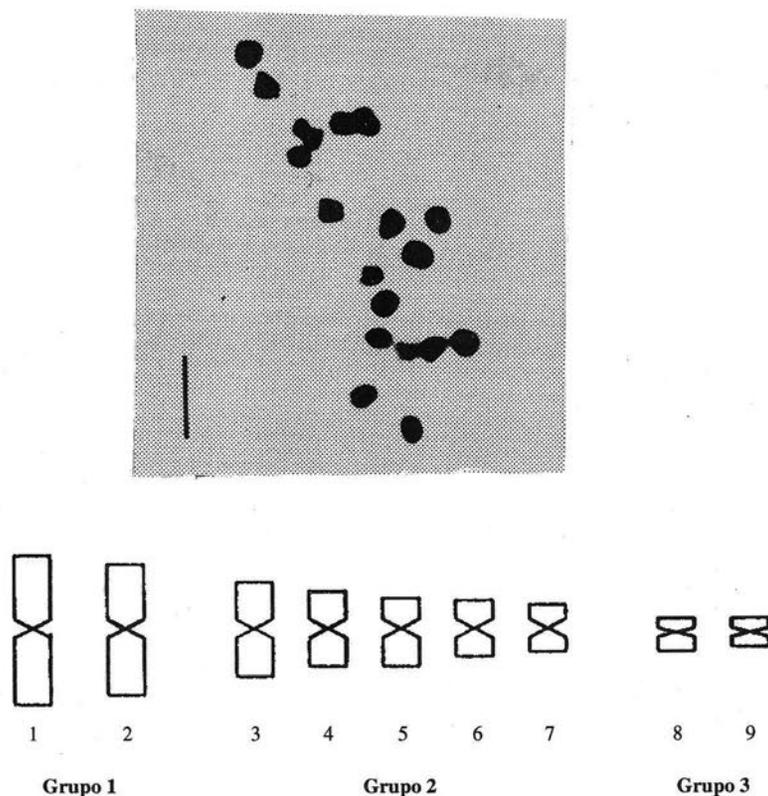


Fig. 3. Metafase mitótica de *Citrus reshni* $2n=18$ cromosomas. La escala representa 5 μ m.

Fig. 4. Ideograma de *C. reshni*.

meriana Pasq. y *C. reshni* Hort. ex Tan.». *Lilloa* **38** (2): 157-166.

- GUERRA M., 1993. «Cytogenetics of *Rutaceae*. V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA/DAPI staining». *Heredity* **71**: 234-241.
- IWAMASA M. & N. NITO, 1988. «Cytogenetics and the Evolution of Modern Cultivated *Citrus*». *Proc. Int. Soc. Citriculture I*: 265-275.
- LEVAN A.; K. FREDGA & A. SANDBERG, 1964. «Nomenclature for centromeric position on chromosomes». *Hereditas* **52**: 205-220.
- MOSCOSO C. G. & K. G. SHAMBULINGAPPA, 1972. «Cytological studies on Chironja». *The Journal of Agriculture of University of Puerto Rico* **LVI** (4): 426-431.
- NAITHANI S. P. & S. S. RAGHUVANSHI, 1963. «Cytoge-

netical studies in *Citrus*. Part I». *Genetica* **33**: 301-312.

- NAKAMURA M., 1934. «Cytological studies in the genus *Citrus*. II. The chromosome number, pollen sterility and the formation of abnormal pollen tetrads». (In Japanese with English summary.) *Studia Citologica* **6**: 162-178.
- —, 1942. «Cytological studies in the genus *Citrus*. III. Further data on the chromosome numbers». (In Japanese with English summary.) *J. Hort. Assoc. Japan* **13**: 30-41.
- RAGHUVANSHI S. S., 1962. «Cytogenetical studies in genus *Citrus*. IV. Evolution in genus *Citrus*». *Cytologia* **27**: 172-188.
- SHARMA A. K. & A. K. BAL, 1957. «Chromosomes studies in *Citrus*. I». *Agronomia Lusitana* **19** (2): 101-126.