

Estudio citológico del Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) Y Yacón del campo (*Smallanthus macroscyphus*)

POR ANA M. FRÍAS DE FERNÁNDEZ*, MARÍA S. CARO **, MARÍA E. LOZZIA DE CANELADA* & ALFREDO GRAU ***

*Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251 (4000) Tucumán. Argentina. E-mail: fmlbot@tucbbs.com.ar

**Facultad de Ciencias Naturales e I.M.L., UNT. Miguel Lillo 205 (4000) Tucumán, Argentina. E-mail: sacar@cs.nat.unt.edu.ar

***LIEY, UNT, CC 34,4107.Yerba Buena, Tucumán. Argentina. E-mail: graua@tucbbs.com.ar

RESUMEN

Con los fines de estudiar las posibles relaciones de parentesco entre las especies: *Smallanthus sonchifolius* (yacón) y *Smallanthus macroscyphus* (yacón del campo) se analizaron los cariotipos y la meiosis de ambas especies. El cariotipo es simétrico con cromosomas telocéntricos en *S. macroscyphus* y subtelocéntricos en *S. sonchifolius*. La meiosis se presenta normal en *S. macroscyphus* y con algunas irregularidades en *S. sonchifolius*.

Los resultados citológicos (números cromosómicos, cariotipos, comportamiento meiótico de los cromosomas) y otros previos de tipo morfológico, hábitos de crecimiento, son consistentes con un origen híbrido de *S. sonchifolius* permitiendo sugerir que *S. macroscyphus* sería un probable progenitor de *S. sonchifolius*.

Palabras clave: Yacón, yacón del campo, *Smallanthus sonchifolius*, *Smallanthus macroscyphus*, citología, híbridos interespecíficos.

ABSTRACT

The karyotype and meiosis of *Smallanthus sonchifolius* (yacón) and *Smallanthus macroscyphus* (yacón del campo) were studied comparatively to evaluate the relationships between the two species. Karyotypes are predominantly symmetrical in both species, with submetacentric chromosomes in *S. sonchifolius* and telocentric chromosomes in *S. macroscyphus*. Taking in account the observed cytological characteristic (chromosome number, karyotypes, and meiotic behaviour) and other traits corresponding to morphological type and growing forms, it is appropriate to support that all of them are consistent with an hybrid origin of *S. sonchifolius*. It is probable that *S. macroscyphus* be an ancestor of *S. sonchifolius*.

Key words: Yacón, wild yacón, *Smallanthus sonchifolius*, *Smallanthus macroscyphus*, cytology, interspecific hybrids.

Introducción

El Yacón *Smallanthus sonchifolius* (Compositae, Heliantheae, Subtribu Melamponidae), es un cultivo de origen precolombino, cultivado en la región andina desde Colombia hasta Argentina que produce raíces tuberosas comestibles ricas en oligofructanos (Fukai et al., 1997) y compuestos antioxidantes (Yan et al., 1999).

El Yacón del campo (*Smallanthus macroscyphus*) una especie silvestre afín a *S. sonchifolius*, crece en los bosques y las selvas del noroeste de la Argentina y sur de Bolivia. Mientras que *S. sonchifolius* exhibe baja fertilidad del polen, alrededor del 30%, *S. macroscyphus* se caracteriza por una elevada fertilidad de polen asociada a producción normal de semillas sexuales (Grau & Slanis, 1996). Estudios citológicos previos mostraron para *Smallanthus sonchifolius* $2n = 32, 58, 60, 87$ (León, 1964; Salgado Moreno, 1996; Heiser, 1963; Talledo and Escobar, 1996; Ishiki et al., 1997) y para *Smallanthus macroscyphus* $2n = 32$ (Rozenblum et al., 1985; Frías et al., 1997).

En este trabajo se realizaron nuevos recuentos cromosómicos, estableciendo los cariotipos y analizando comparativamente la meiosis de *Smallanthus sonchifolius* y *Smallanthus macroscyphus* con el objetivo de evaluar su grado de parentesco.

Materiales y Métodos

Rizomas de *Smallanthus sonchifolius* fueron coleccionados en las localidades de la Misión (Salta) y Bárcena (Jujuy) donde la especie es cultivada. Rizomas de *Smallanthus macroscyphus* provienen de los bosques de la sierra de San Javier (Tucumán) y de la cuenca del río Bermejo (Salta). Los ejemplares testigos se depositaron en el Herbario LIL. Parte del material coleccionado se mantiene bajo cultivo en Horco Molle, Tucumán.

Las preparaciones para el estudio de la mitosis se realizaron utilizando ápices de raíz

ces pretratadas con 8-hidroxiquinoleína 0,002M durante 4 horas, fijadas en etanol y acético (3:1) y conservados en alcohol 70 % a 4° C. Para la meiosis se siguieron las técnicas convencionales. En ambos casos la coloración se realizó siguiendo la técnica de Feulgen.

Para la confección de los idiogramas se analizaron en promedio 15 metafases por especie, seleccionando las ocho mejores.

La nomenclatura utilizada para la descripción de los cariotipos es la propuesta por Levan et al. (1964).

La estimación de la asimetría de los cariotipos se realizó según la metodología propuesta por Romero Zarco, 1986. La fertilidad del polen fue determinada por el método de Alexander (1969).

Resultados

CARIOTIPOS

En *Smallanthus macroscyphus*, se observaron $2n = 32$ cromosomas. (Fig. 1) El tamaño de los 10 pares metacéntricos oscila entre 2,01 μm y 2,70 μm , los 4 pares submetacéntricos entre 2,04 μm y 2,37 μm y los dos pares telocéntricos restantes entre 1,74 y 1,77 μm . (Tabla 1)

En la Fig. 2 se muestra el cariotipo formado por $20 m + 8 sm + 4 t$ y el idiograma correspondiente.

Smallanthus sonchifolius muestra un complemento diploide de $2n = 58$ cromosomas (Fig. 3). El tamaño de los 16 pares metacéntricos oscila entre 1,80 μm y 3,12 μm , los 11 pares submetacéntricos entre 1,80 μm y 2,40 μm y los dos pares subtelo-céntricos miden 2,97 μm . (Tabla 2). En la Fig. 4 se muestra el cariotipo y el idiograma formado por $32m + 22 sm + 4 st$ observándose que el par 15 posee un par de microsátelites en los brazos cortos.

En la Tabla 3 se reúnen los parámetros cariotípicos totales de ambas especies. La longitud promedio total del cariotipo de *Smallanthus macroscyphus* es de 70,02 μm y el tamaño de los cromosomas oscila entre 1,74 y 2,70 μm . *Smallanthus sonchifolius* tiene

una longitud promedio total del cariotipo de 67,41 μm y el tamaño de los cromosomas oscila entre 1,80 μm y 3,12 μm .

ANÁLISIS DE LA MEIOSIS

Smallanthus macroscyphus (Baker ex Mathius) A. Grau. La meiosis se presenta regular siempre con formación de 16 bivalentes (Fig. 5). Las tetradas son normales con formación regular de granos de polen, con una fertilidad cercana al 100%, sin aparición de micronúcleos.

Smallanthus sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Robinson.

En las 25 células madres analizadas no se encontraron multivalentes formando siempre 29 bivalentes (Fig. 6). Las irregularidades meióticas más frecuentes observadas fueron: cromosomas rezagados, en metafase I y anafase I (Fig. 7); y en metafase II, anafase II (Fig. 8), telofase II (Fig. 9), acompañados o no por puentes. No se observaron asociaciones secundarias, se presentaron diadas y tetradas con micronúcleos (2%).

Discusión

Los estudios cromosómicos realizados en *Smallanthus sonchifolius* comprenden recuentos cromosómicos pertenecientes a material procedente de Ecuador, Bolivia, Perú y Argentina: Heiser, (1963) en material ecuatoriano da a conocer $2n=60$; León (1964) informa $2n=32$ en material de Perú; Talledo y Escobar (1996) $2n=60$; Salgado y Moreno (1996) e Ishiki (1997) $2n=58$ en clones de Ecuador, Bolivia, Perú y Argentina. Los recuentos realizados por nosotros serían los primeros en este material procedente de Argentina observándose $2n=58$ y confirmarían los recuentos previos realizados por Rozamblum et al (1985), Frías et al (1997a), Ishiki (1997).

El cariotipo de ambas especies es simétrico, con un predominio de cromosomas metacéntricos y submetacéntricos acompañados por pares telocéntricos en *Smallanthus macroscyphus* y subtelocéntricos en

Smallanthus sonchifolius. Por el contrario, Salgado Moreno (1996) estudiando el cariotipo de *Smallanthus sonchifolius* no observa cromosomas subtelocéntricos ni satélites.

Analizando el índice de asimetría A1, se observa que las variaciones intracromosómicas en *Smallanthus macroscyphus* y *Smallanthus sonchifolius* no presenta diferencias significativas. Esto se debe a que los cariotipos cuentan con más del 50% de cromosomas metacéntricos en ambas especies. En relación al índice A2 la diferencia es significativamente pequeña debido a que el tamaño de los cromosomas en ambas especies es semejante. (2,19 μm y 2,33 μm respectivamente). El incremento que se observa en *Smallanthus sonchifolius* se debe a su carácter poliploide.

Las variaciones que se presentan en las longitudes medias y simetría de los cariotipos dentro de la misma especie, en material proveniente de localidades diferentes, podrían ser el resultado de cambios estructurales y / o adición de material genético.

Las observaciones cariológicas realizadas en *S. macroscyphus* han revelado una mitosis y meiosis de desarrollo completamente normal y una viabilidad del polen del 100%. En *S. sonchifolius*, en cambio, la mitosis tiene un comportamiento en cierta medida atípico, con poca diferenciación de los centrómeros, lo que dificulta la determinación del índice centromérico. Por otro lado la meiosis presenta algunas irregularidades como ser aglutinación de los cromosomas (Fig. 6), cromosomas rezagados en metafase I y anafase I (Fig. 7). En los granos de polen se observaron diferencias e irregularidades. (Lozzia de Canelada, M.E. et al., 2000)

En relación a la naturaleza poliploide de *Smallanthus sonchifolius*, Ishiki (1997), propone que el yacón se habría formado por hibridación entre dos especies con cromosomas A (genoma A) y cromosomas B (genoma B), lo que significaría un origen alopoliploide que citológicamente daría lugar a una especie octoploide. Grau y Slanis

(1996) también sugieren la posibilidad de un origen alotetraploide, considerando a *S. macroscyphus* como uno de sus progenitores.

Por otro lado es interesante destacar que muchas especies silvestres de *Smallanthus* muestran una clara preferencia por habitats modificados y en la agricultura practicada por los pueblos se pudo además haber provisto de un nicho ideal a las especies relacionadas con el Yakón. En base a esto, es muy posible que los vacíos causados en los Andes por la agricultura implementada por sus pobladores en tiempos prehistóricos, hayan sido colonizados por dos o más especies de *Smallanthus*, las cuales al hibridarse originaron al antecesor del yakón. En la actualidad *S. macroscyphus* utiliza la misma estrategia al colonizar las tierras liberadas de los cultivos de caña de azúcar. De acuerdo a los resultados presentados en este trabajo consideramos que *S. macroscyphus* sería una de las especies progenitoras más probable de *S. sonchifolius*. Se llega a esta conclusión en base al análisis de los parámetros cuantitativos considerados para el estudio del cariotipo (número cromosómico, nivel de ploidía, tamaño y morfología de los cromosomas), como así también a la similitud de la morfología de las plantas, el hábitat de crecimiento y desarrollo de las mismas. (Grau et al, 1997)

Bibliografía

- Alexander, M.P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology* 44(3):117-122.
- Aybar M, A. N. Sanchez Riera, A. Grau, S.S. Sanchez. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolium* (yakón) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. In press.
- Frías A.M., A. Grau, M. E. Lozzia & M.S.Caro. 1997a. Citología del Yakón del campo (*Polymnia macroscypha*, Asteraceae, Heliantheae) I. Comportamiento meiótico. IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos, Cuzco. Perú.
- Frías A.M., A. Grau, M. E. Lozzia & M.S.Caro. 1997b. Estudio citológico del Yakón (*Polymnia sonchifolia*) y el Yakón del campo (*Polymnia macroscypha*) 28 Congreso Argentino de Genética. Tucumán. Argentina.
- Fukai Katsuhiko, Sachiko Ohno, Keiichi Goto, Fumio Nanjo and Yukihiko Hara. 1997. Seasonal fluctuations in fructan content and related enzyme activities in Yacon (*Polymnia sonchifolia*) *Soil Sci. Plant. Nutr.* 43(1):171-177
- Grau A. & A. Slanis 1996. Is *Polymnia silphoides* var. *Perennis* a wild ancestor of yakón. Resumos I Congreso Latino Americano de Raíces Tropicais. CERAT-UNESP, Sao Pedro, Brasil.
- Grau, A & J.Rea. 1997. "Yacon *Smallanthus sonchifolius*": 199-242. In "Andean roots and tubers: Ahípa, arracacha, maca and yakón. M. Hermann and J. Heller edit.
- Heiser, C. 1963. Numeración cromosómica de plantas ecuatorianas. *Ciencia y Naturaleza* 6:2-6
- Hunziker, J.H.; Wulff, A.F.; Xifreda, C.C. y Escobar, A. 1989. Estudios cariológicos en Compositae. V. *Darwiniana* 29 (1-4):25-39.
- Ishiki, K, V. X. Salgado Moreno and J. Arellano. 1997. Revision of chromosome number and karyotype of yakón (*Polymnia sonchifolia*). Resúmenes del primer taller Internacional sobre Recursos Fitogenéticos del Noroeste Argentino. INTA, Salta, Argentina.
- León, J. 1964. Plantas medicinales andinas. *Boletín Técnico* N° 6 IICA, Lima, Perú.
- Levan, A; K. Fredga & A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:205-220.
- Lozzia de Canelada, M. E. García de Albano, M. S. Caro, A. M. Frías de Fernández & A. Grau, 2000. La morfología de *Yakón* y *Yakón* del campo. Sus relaciones citológicas. *Lilloa* 40 (1).

Rozenblum, E., C. E. Waisman and J.H. Hunziker. 1985. Estudios cariológicos en Compositae. II. Darwiniana 26 (1-4):15-25.

Salgado Moreno, V.X. 1996. Evaluación y caracterización citogenética de 16 entradas de Jicama (*Polymnia sonchifolia* Poep. & Endl.) de Sudamérica. Tesis de Grado, Universidad Central del Ecuador.

Talledo, D. & M. Escobar. 1996. Caracterización cariotípica de germoplasma RTA. Laboratorio de Biología Celular y Genética. Memorias.

Wells, J. R. 1967. A new species of *Polymnia* (Compositae) : Heliantheae from Mexico. Brittonia 19: 391-394.

Yan, X., M. Suzuki, M. Ohnishi - Kameyama, Y. Sada, T. Nakanishi, & T. Nagata. 1999. Extraction and identification of antioxidants in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) . J. Agric. Food Chem. 47 (11) 4711- 4713.

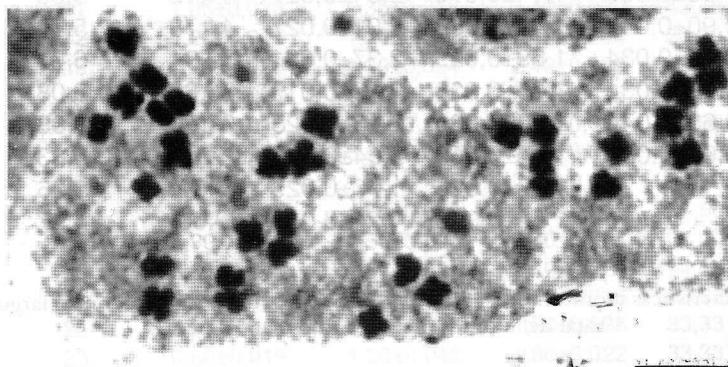


Fig. 1.- Metafase mitótica en *S. macroscyphus* $2n=32$ cromosomas. La escala representa 5 μ m.

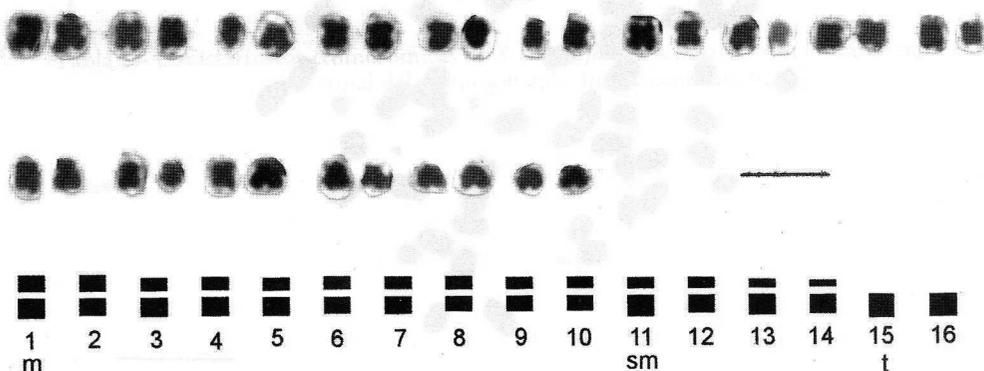


Fig. 2.- Cariotipo e ideograma de *S. macroscypha*. La escala representa 5 mm.

| Par cromosómico | Longitudes cromosómicas media ± error estandar | | | | Longitud relativa | Tipo cromos. |
|-----------------|---|------------|------------|-------|-------------------|--------------|
| | S | I | C | Ic(%) | | |
| 1 | 1,20±0,011 | 1,50±0,005 | 2,70±0,012 | 44,44 | 7,71 | m |
| 2 | 1,20±0,021 | 1,29±0,010 | 2,49±0,016 | 48,19 | 7,11 | m |
| 3 | 0,99±0,029 | 1,41±0,007 | 2,40±0,027 | 41,25 | 6,85 | m |
| 4 | 0,99±0,029 | 1,38±0,033 | 2,37±0,021 | 41,77 | 6,77 | m |
| 5 | 0,93±0,028 | 1,35±0,012 | 2,28±0,021 | 40,79 | 6,51 | m |
| 6 | 1,02±0,017 | 1,23±0,026 | 2,25±0,032 | 45,33 | 6,43 | m |
| 7 | 0,90±0,030 | 1,29±0,018 | 2,19±0,017 | 41,09 | 6,25 | m |
| 8 | 0,99±0,021 | 1,11±0,021 | 2,10±0,025 | 47,14 | 5,99 | m |
| 9 | 0,90±0,069 | 1,14±0,076 | 2,04±0,027 | 44,12 | 5,83 | m |
| 10 | 0,90±0,044 | 1,11±0,063 | 2,01±0,027 | 44,78 | 5,74 | m |
| 11 | 0,78±0,034 | 1,59±0,029 | 2,37±0,021 | 32,91 | 6,77 | sm |
| 12 | 0,78±0,031 | 1,35±0,030 | 2,13±0,019 | 36,62 | 6,08 | sm |
| 13 | 0,63±0,044 | 1,50±0,035 | 2,13±0,023 | 29,58 | 6,08 | sm |
| 14 | 0,60±0,030 | 1,44±0,010 | 2,04±0,026 | 29,41 | 5,83 | sm |
| 15 | | 1,77±0,026 | 1,77±0,029 | 0,00 | 5,06 | t |
| 16 | | 1,74±0,016 | 1,74±0,018 | 0,00 | 4,97 | t |

Tabla 1.- Características cromosómicas de *S. macroscypha*: s, brazo corto; l, brazo largo; c, longitud total del cromosoma; lc, índice centromérico

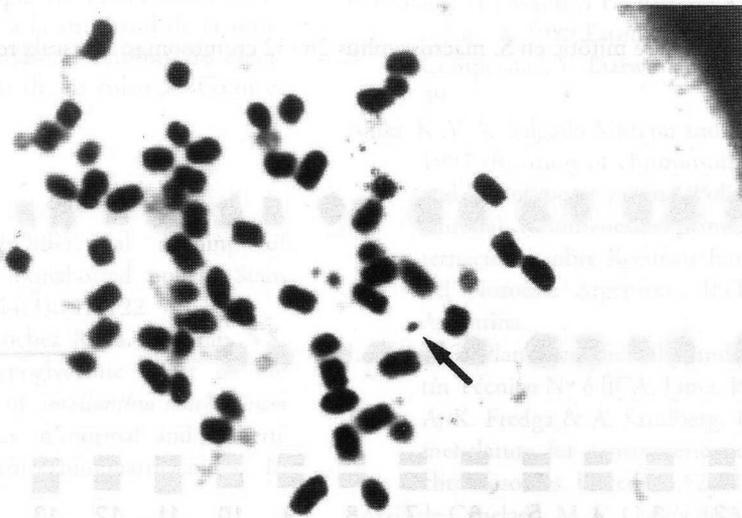


Fig. 3.- Metafase mitótica en *S. sonchifolius* $2n=58$ cromosomas. La flecha indica el satélite. La escala representa 5 μ m.

| Par cromosómico | Longitudes cromosómicas media ±error estándar | | | lc (%) | Longitud relativa | Tipo cromos. |
|-----------------|---|------------|------------|--------|-------------------|--------------|
| | s | l | c | | | |
| 1 | 1,20±0,019 | 1,92±0,119 | 3,12±0,115 | 38,46 | 9,26 | m |
| 2 | 1,20±0,010 | 1,56±0,058 | 2,76±0,051 | 43,48 | 8,19 | m |
| 3 | 1,20±0,021 | 1,56±0,047 | 2,76±0,059 | 43,48 | 8,19 | m |
| 4 | 1,05±0,026 | 1,68±0,021 | 2,73±0,042 | 38,46 | 8,10 | m |
| 5 | 1,20±0,017 | 1,50±0,011 | 2,70±0,012 | 44,44 | 7,12 | m |
| 6 | 1,20±0,023 | 1,20±0,045 | 2,40±0,027 | 50,00 | 7,12 | m |
| 7 | 1,20±0,019 | 1,20±0,026 | 2,40±0,011 | 50,00 | 7,12 | m |
| 8 | 1,20±0,017 | 1,20±0,027 | 2,40±0,027 | 50,00 | 7,12 | m |
| 9 | 1,20±0,021 | 1,20±0,039 | 2,40±0,019 | 50,00 | 7,12 | m |
| 10 | 1,20±0,014 | 1,20±0,038 | 2,40±0,038 | 50,00 | 7,12 | m |
| 11 | 1,05±0,028 | 1,35±0,018 | 2,40±0,030 | 43,75 | 7,12 | m |
| 12 | 1,20±0,017 | 1,20±0,019 | 2,40±0,000 | 50,00 | 7,12 | m |
| 13 | 1,20±0,026 | 1,20±0,054 | 2,40±0,029 | 50,00 | 7,12 | m |
| 14 | 1,20±0,021 | 1,20±0,023 | 2,40±0,015 | 50,00 | 7,12 | m |
| 15 | 0,90±0,010 | 0,90±0,017 | 1,80±0,029 | 50,00 | 5,34 | m |
| 16 | 0,90±0,028 | 0,90±0,027 | 1,80±0,027 | 50,00 | 5,34 | m |
| 17 | 0,90±0,019 | 1,50±0,023 | 2,40±0,023 | 37,50 | 7,12 | sm |
| 18 | 0,90±0,016 | 1,50±0,019 | 2,40±0,018 | 37,50 | 7,12 | sm |
| 19 | 0,90±0,013 | 1,50±0,023 | 2,40±0,025 | 37,50 | 7,12 | sm |
| 20 | 0,83±0,040 | 1,57±0,027 | 2,40±0,029 | 34,58 | 7,12 | sm |
| 21 | 0,60±0,019 | 1,20±0,031 | 1,80±0,026 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 22 | 0,60±0,016 | 1,20±0,036 | 1,80±0,028 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 23 | 0,60±0,019 | 1,20±0,045 | 1,80±0,022 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 24 | 0,60±0,014 | 1,20±0,028 | 1,80±0,031 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 25 | 0,60±0,013 | 1,20±0,045 | 1,80±0,032 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 26 | 0,60±0,027 | 1,20±0,037 | 1,80±0,019 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 27 | 0,60±0,030 | 1,20±0,046 | 1,80±0,029 | 33,33 | 5,34 | sm |
| 28 | 0,60±0,030 | 2,37±0,138 | 2,97±0,168 | 20,20 | 8,81 | st |
| 29 | 0,60±0,014 | 2,37±0,040 | 2,97±0,036 | 20,20 | 8,81 | st |

Tabla 2.- Características cromosómicas de *S. sonchifolius*: s, brazo corto; l, brazo largo; c, longitud total del cromosoma; lc, índice centromérico.

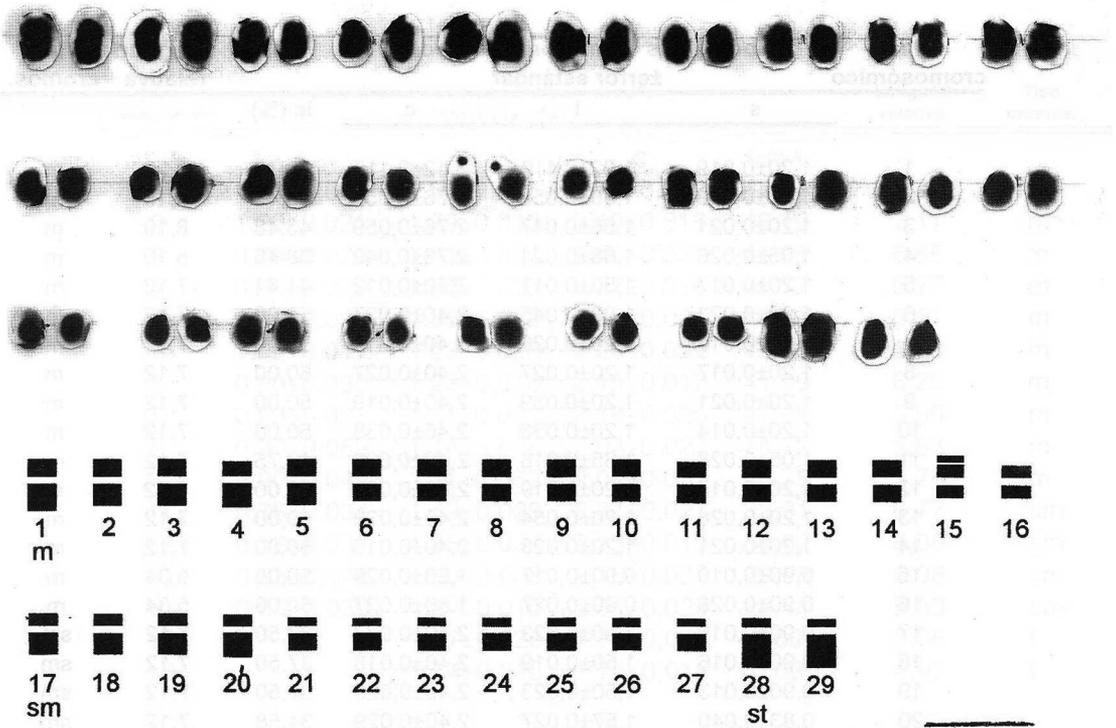


Fig. 4.-cariotipo e ideograma de *S. sonchifolius*. La escala representa 5 μ m.

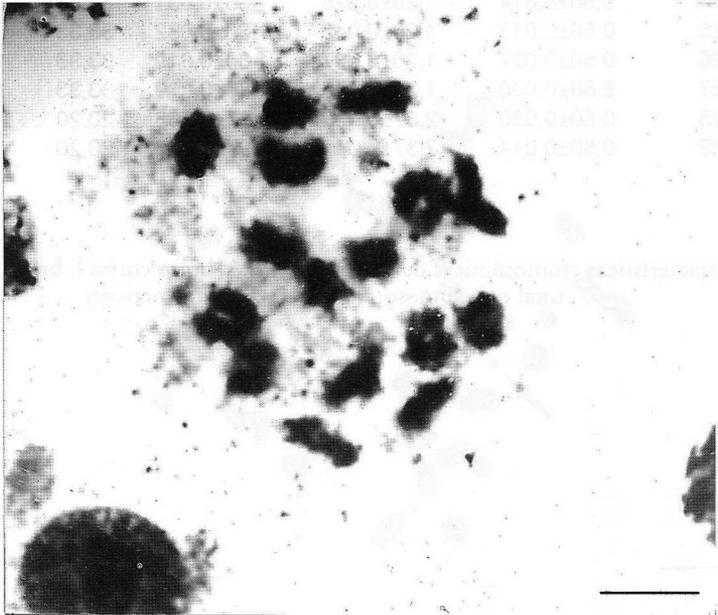


Fig. 5.- Diacinesis en *S. macroscyphus* n=16 bivalentes. La escala representa 5 μ m.

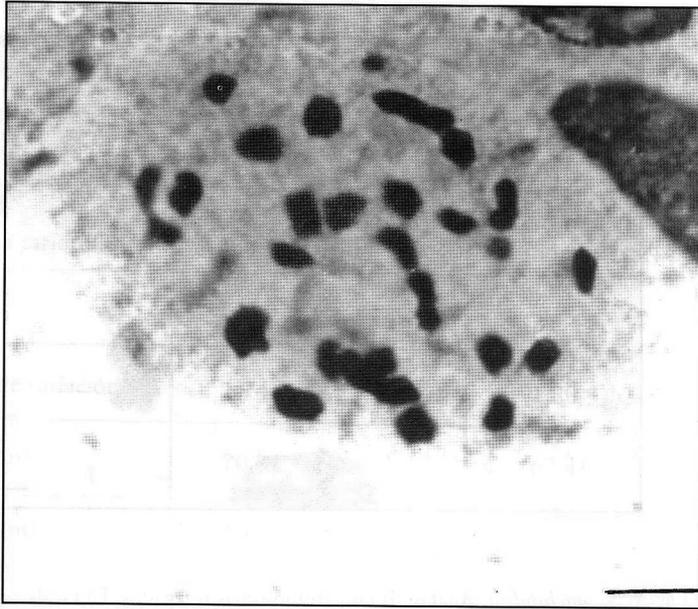


Fig. 6.- Prometafase en *S. sonchifolius*. La escala representa 5 mm.

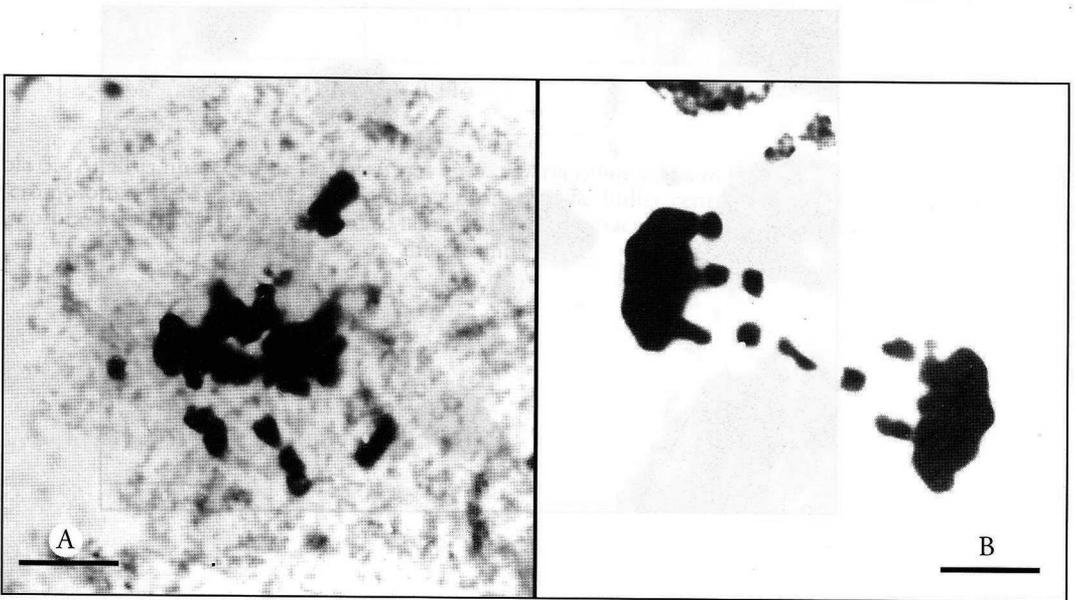


Fig. 7.- *S. sonchifolius*: a) Metafase I con cromosomas rezagados, b) anafase I con cromosomas rezagados. La escala representa 5 mm.

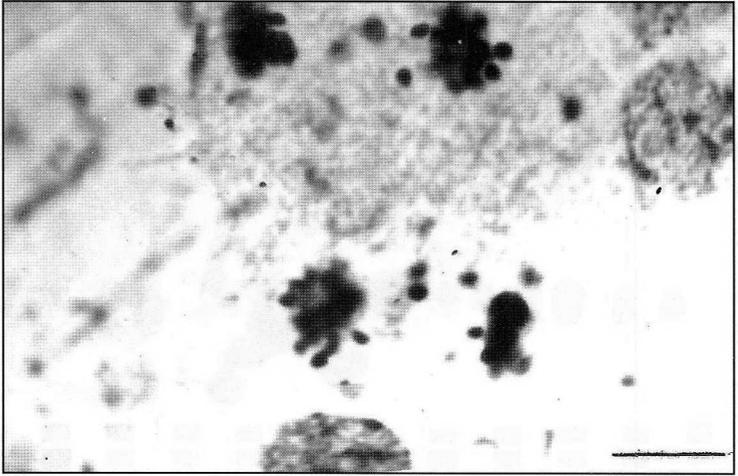


Fig. 8- *S. sonchifolius*: Anafase II con cromosomas rezagados. La escala representa 5 μ m.

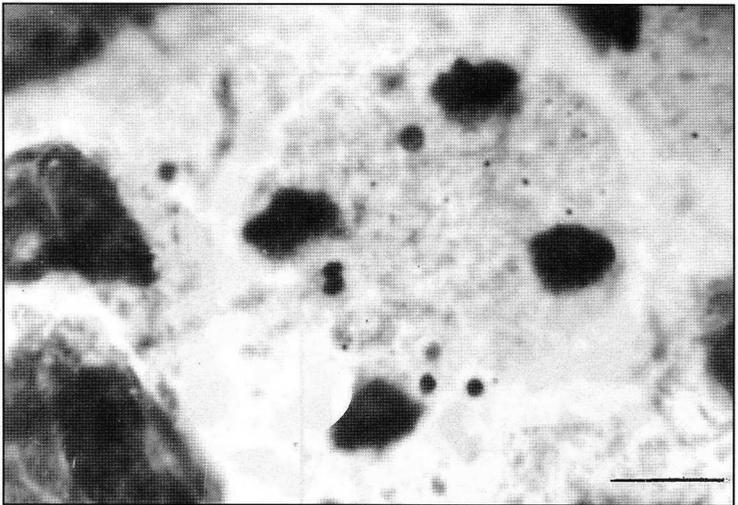


Fig. 9- *S. sonchifolius*: Telofase II con cromosomas rezagados. La escala representa 5 μ m.

| Datos | <i>S. macrocyphus</i> | <i>S. sonchifolius</i> |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| 2n | 32 | 58 |
| Fórmula cariotípica | 20m+8sm+4t | 34m+20sm+4st |
| Satélites | | par 15 |
| Rango de variación | 1,74-2,70 | 1,80-3,12 |
| LTC (μm) | 70,02 | 67,41 |
| LCM (μm) | 2,19 | 2,33 |
| IC | 35,46 | 40,17 |
| l/s | 1,51 | 1,60 |
| c/l | 0,64 | 0,58 |
| A1 | 0,341 | 0,337 |
| A2 | 0,115 | 0,176 |

Tabla 3.- Análisis numérico de los cariotipos en *S. macrocyphus* y *S. sonchifolius*. LTC: longitud total del cromosoma, LCM: longitud cromosómica promedio, IC: índice centromérico promedio, l/s: brazo largo/brazo corto, c/l long. total/ brazo largo medio, A1 variación intracromosómica; A2 variación intercromosómica.