

Estudios citotaxonómicos en especies de *Argemone*

Lozzia, María E.; Aldo R. Andrada y María E. Cristóbal

Instituto de Genética, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251 (4000), Tucumán, Argentina.
e-mail: melozzia@yahoo.com.ar.

RESUMEN — Lozzia, María E.; Aldo R. Andrada y María E. Cristóbal, 2006. "Estudios citotaxonómicos en especies de *Argemone*". *Lilloa* 43 (1-2). *Argemone* (Fam. Papaveraceae) es un género americano con diversidad en sus caracteres morfológicos cuya delimitación ha originado controversia entre los autores.

Se analizaron citogenética y morfológicamente una población del llamado "cardo santo". Se diferenciaron cuatro taxones que se denominaron tipos I, II, III y IV por el color y características de flores y frutos y que presentan números cromosómicos y comportamiento meiótico diferente. Las características morfológicas observadas en material fresco permiten homologar los tipos mencionados con las especies descriptas en trabajos anteriores: I = *A. mexicana*; II = *A. subfusiformis*; III = *A. ochroleuca*, el tipo IV = *Argemone* sp. Los estudios citológicos reconocen a *A. mexicana* como diploide con $n = 14$; el tipo II, hexaploide con $n = 42$ cromosomas y meiosis regular; el III triploide con $n = 18-20$ cromosomas y meiosis irregular con trivalentes y univalentes; el IV sería un triploide con $n = 19-23$ cromosomas y meiosis muy irregular, polen estéril y pocas semillas. Los tres últimos recuentos se dan a conocer por primera vez.

PALABRAS CLAVES: *Argemone*, cardo santo, Papaveraceae, citogenética.

ABSTRACT — Lozzia, María E.; Aldo R. Andrada y María E. Cristóbal, 2006. "Cytotaxonomic studies in species of *Argemone*". *Lilloa* 43 (1-2). *Argemone* (Fam. Papaveraceae) is an American genus with great diversity in their morphological characteristics which have originated controversy. A population of the named "holy thistle" was cytogenetically and morphologically analyzed. Four taxa have been distinguished by their fruits and flowering colours. They were denominated: types I, II, III and IV which present chromosomal numbers and a different meiotic behaviour. The morphological characteristics observed in fresh material have allowed to homologate these types with those described in previous works: type I = *A. mexicana*, type II = *A. subfusiformis*, type III = *A. ochroleuca*, type IV = *Argemone* sp. The cytological observations let us to recognize the following: *A. mexicana* as a diploid with $n = 14$, type II as a hexaploid with $n = 42$ with a regular meiosis, type III as a triploid with $n = 18-20$ with an meiosis irregular with trivalent and univalent chromosomes, the type IV as a triploid with $n = 19-23$ with a very irregular meiosis, sterile pollen, scarce seeds. The last three recounts were known for the first time.

KEYWORDS: *Argemone*, saint thistle, Papaveraceae, cytogenetic.

INTRODUCCIÓN

El género *Argemone* pertenece a la familia *Papaveraceae*. Sus especies son nativas del continente americano y se distribuyen en zonas tropicales y subtropicales. Ownbey (1961) realizó una revisión del género reconociendo dos áreas de dispersión, una en América del Norte y otra en América del Sur. Para el territorio sudamericano menciona las especies: *A. rosea*, *A. hunnemannii*, *A. crassifolia*, *A. mexicana* y *A. subfusiformis* (esta última con dos subespecies; *A. subfusiformis* subsp. *subfusiformis* y *A. subfusiformis* subsp. *subinermis*).

La diversidad de los macrocaracteres ha determinado que en este grupo de plantas se hayan llevado a cabo estudios taxonómicos como los de Ownbey (1961), Sorarú (1976), Legname (1974),

Peña (2002); palinológicos de Caccavari (1976), y químicos (Bandoni *et al.*, 1975). Estos últimos se realizaron teniendo en cuenta las conocidas propiedades narcóticas típicas de la familia. En la búsqueda de plantas con propiedades biocidas en relación a la sanidad vegetal, los países de la comunidad andina han realizado experiencias con el "cardo santo" (*Argemone subfusiformis*) obteniendo resultados altamente significativos en cuanto a la efectividad de las propiedades mencionadas (Hoss, 1992).

Las investigaciones realizadas hasta el presente, no han unificado los diferentes criterios de clasificación propuestos por los taxónomos, originándose en cambio una gran controversia motivada por el mencionado polimorfismo que presentan

los diferentes taxones que integran el grupo.

La información respecto a los estudios citológicos realizados hasta el momento es escasa. Ownbey (*op. cit.*), da a conocer recuentos cromosómicos en 16 especies de América del Norte. Peña (2002), menciona los siguientes números cromosómicos para las especies chilenas de *Argemone* (datos no publicados): $2n = 28$ para *A. mexicana* (diploide) y para los poliploides *A. ochroleuca* y *A. subfusiformis*, $2n = 56$ y $2n = 122$ respectivamente.

En este trabajo se dan a conocer los resultados de los estudios citogenéticos y morfológicos realizados en una población del llamado "cardo santo" (*Argemone* sp.). En ella se observa una marcada variabilidad en sus órganos vegetativos (forma de las hojas, densidad y tipo de espinas, color de las plantas) y en sus órganos reproductores (color de las flores, tamaño de las anteras y forma de los frutos), pudiéndose distinguir cuatro taxones diferentes por los caracteres mencionados.

El objetivo de estas investigaciones es contribuir a la identificación de las especies del género *Argemone* que se presentan en el Noroeste argentino lo que será de suma importancia teniendo en cuenta las propiedades medicinales y las características biocidas en el control de plagas y agentes nocivos de los cultivos.

Los recuentos cromosómicos realizados en este trabajo para los taxones de *Argemone* sp. se dan a conocer por primera vez para la Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población estudiada se encuentra extendida en una superficie de aproximadamente 2 Has. Este predio, donde se cultivaron hortalizas, está ubicado en el Km 1320 de la Ruta Nacional 9 (a Salta), en el Dpto. de Trancas (Tucumán). Se realizaron cuatro viajes de recolección en el año 2005 durante los meses de setiembre, octubre y noviembre que permitieron recoger botones florales, frutos y semillas. En estos viajes se observó para cada taxón una frecuencia diferente; el tipo I

25-30%; el tipo II 5-10%; el tipo III 50% y el tipo IV 15%.

El análisis de la meiosis se llevó a cabo en botones florales teñidos con hematoxilina propiónica según técnica de Naranjo *et al.*, (1982), modificada. Los ensayos de viabilidad de polen se realizaron mediante coloración con la mezcla de Müntzing (glicerol y solución de carmín acético al 1%).

Se pusieron a germinar las semillas en condiciones de humedad adecuadas y a temperatura ambiente. Los resultados de los ensayos de viabilidad de polen y germinación de semilla son consignados en las Tablas 2 y 3 respectivamente.

Las microfotografías se efectuaron con un microscopio Orthoplan y película Kodalite y con un microscopio Nikon conectado a una video cámara Moticom.

El análisis morfológico de órganos vegetativos y reproductivos (flores y frutos), se efectuó en material fresco, sin herborizar. Los ejemplares del material coleccionado que fueron herborizados se encuentran depositados en el herbario de la Fundación Miguel Lillo (LIL): Tipo I (flores amarillo intenso), Lozzia M. E., LIL 607604; Tipo II (flores blancas) Andrada A. R., LIL 607606; Tipo III (flores crema) Andrada A. R., LIL 607603 A y B; Tipo IV (flores amarillo pálido) Lozzia M. E., LIL 607605.

RESULTADOS

Los resultados de las observaciones citológicas y morfológicas para cada uno de los taxones estudiados se dan a conocer a continuación.

En la tabla 1 se agrupan las observaciones realizadas en 500 células meióticas en prometafase I; prometafase II y los porcentajes de tétradas normales, con micronúcleos y diadas.

CARACTERES CITOLÓGICOS

Tipo I.— Los recuentos cromosómicos en la meiosis indican que el número cromosómico haploide es $n = 14$. En la meiosis se observó un comportamiento normal con formación de 14 bivalentes (Fig. 1 y 2). El porcentaje de polen estéril es de

14,6%, con abundante producción de semillas (Tablas 2 y 3).

Tipo II.— Este taxón presenta una meiosis regular con formación de 42 bivalentes, $n = 42$ (Fig. 3). El porcentaje de polen estéril es de 1,6%, con una muy buena producción de semillas que no germinaron en condiciones de laboratorio (Tablas 2 y 3).

Tipo III.— El número cromosómico de este taxón es $n = 18$ a 20 cromosomas (Fig. 4). La meiosis se presenta muy irregular

especialmente en las divisiones I. En metafase I se observó la presencia de univalentes fuera de la placa ecuatorial y algunos trivalentes (Fig. 5). En las Figs. 6 y 7 se observan anafases I, con segregación desbalanceada de los cromosomas. En este estadio se contaron de 42 a 56 cromosomas, siendo 54 a 56 cromosomas los números más frecuentes. Las configuraciones meióticas más comunes se observan en la Tabla 1. El porcentaje de polen estéril es de 40,8%. La producción de semillas es muy abundante y el porcentaje de germinación es de 75% (Tablas 2 y 3).

Configuraciones más frecuentes en Prometafase I				
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Trivalentes	---	---	1 a 3	1 a 6
Bivalentes	14	42	13 a 19	14 a 18
Univalentes	---	---	2 a 4	1 a 6
Configuraciones más frecuentes en Prometafase II				
Trivalentes	---	---	---	1 a 2
Bivalentes	---	---	1 a 4	1 a 2
Univalentes	14	---	11 a 22	15 a 18
Configuraciones más frecuentes en Prometafase III				
Normales	98,70%	97,60%	27,40%	65,80%
1 Micron.	1,30 %	2,40%	29,60%	26,80%
2 Micron.	---	---	31,80%	6,00%
3 Micron.	---	---	8,80%	0,80%
4 Micron.	---	---	2,00%	---
5 Micron.	---	---	0,20%	---
Diadas	---	---	0,20%	0,60%

Tabla 1. Configuraciones más frecuentes y desarrollo de tétradas normales en recuentos de 500 células por taxón.

Viabilidad de granos de polen ($n = 1.000$)				
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Viables	85,40%	98,40%	59,20%	79,60%
No viables	14,60%	1,60%	40,80%	20,40%

Tabla 2. Viabilidad de granos de polen expresada en porcentaje cada 1.000 granos contados.

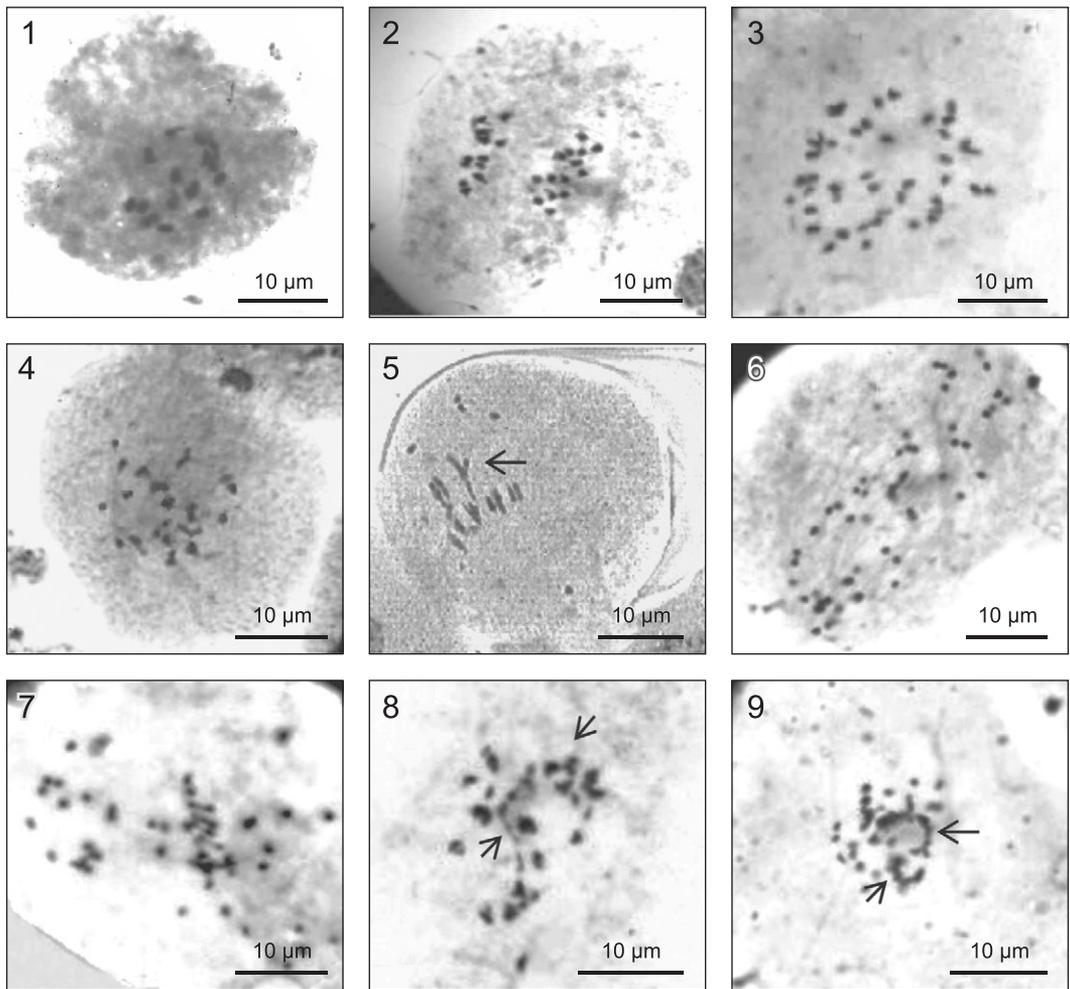
Semillas germinadas en 100 unidades				
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Germinadas	75%	0%	62%	27%
No germinadas	25%	100%	38%	73%

Tabla 3. Porcentaje de semillas germinadas cada 100 unidades tomadas al azar.

Tipo IV.— $n = 19$ a 23 cromosomas. En la meiosis se presentaron numerosas irregularidades, especialmente trivalentes o tetravalentes (Figs. 8 y 9). Las configuraciones cromosómicas más frecuentes se detallan en la Tabla 1. El porcentaje de granos de polen estéril es de 20,4%. La producción de semillas es escasa en relación a la cantidad que producen los restantes taxones; el porcentaje de germinación es de 27% (Tablas 2 y 3).

CARACTERES MORFOLÓGICOS

Tipo I.— Plantas con hojas verdes, flores amarillas brillantes y estambres con anteras pequeñas (3 mm) y de color amarillo similar al color de los pétalos, botones florales subsféricos con tres cuernos; estigma lobulado, lóbulos de base angosta; frutos oblongos con 4-(5-6) valvas, con espinas cónicas de base muy ensanchada y ápice punzante (Figs. 10-12).



Figs. 1-2. Tipo I. 1) Prometáfase I, $n = 14$ cromosomas; 2) Anáfase I. Escala = 10 μm .
Fig. 3. Tipo II. Prometáfase I, $n = 42$ cromosomas. Escala = 10 μm .
Figs. 4-7. Tipo III. 4) Prometáfase I, $n = 20$ cromosomas. 5) Metafase I con 5 univalentes y un trivalente (flecha). 6-7) Anáfases I con segregaciones desbalanceadas. Escala = 10 μm .
Figs. 8-9. Tipo IV. 8) Prometáfase I con un trivalente y una cadena de cromosomas (flechas). 9) Prometáfase I con un trivalente y un tetravalente (flechas). Escala = 10 μm .

Tipo II.— Plantas con hojas de color verde, flores blancas con los pétalos imbricados con el aspecto de una flor “cerrada”, anteras grandes (4,6 mm) de color naranja intenso (Fig. 13). Botones florales elipsoidales con tres cuernos (Fig. 14); estigma lobulado, cada lóbulo está parcialmente plegado hacia arriba en su base; frutos subfusiformes con 3-(4)-5 valvas, con espinas cónicas de base ensanchada y ápice punzante (Fig. 15).

Tipo III.— Plantas con hojas glaucas, flores de color crema muy claro con pétalos dispuestos perpendiculares al eje de la flor; estambres amarillos de 3,5 mm (Fig. 16). Botones florales de forma elipsoidal con tres cuernos (Fig. 17); estigma lobulado, lóbulos plegados hacia arriba desde su base hasta la región media; frutos oblongos 3-(5)-6 valvar, con espinas cónicas de base ensanchada y ápice marcadamente punzante (Fig. 18).

Tipo IV.— Plantas con hojas glaucas, flores color amarillo claro, estambres amarillos de 3,5 mm (Fig. 19). Botones florales elipsoides con tres cuernos (Fig. 20); estigma lobulado, lóbulos de base angosta; con dos tipos de frutos: similares a los de Tipo III y oblongos pequeños con aspecto de inmaduro 3-6 valvar, con espinas cónicas de base ancha y ápice punzante muy largo (Fig. 21).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En la población estudiada, el análisis de las características vegetativas y reproductivas de las plantas pertenecientes al género *Argemone*, ha demostrado el gran polimorfismo que presentan. Se observó el predominio de las plantas con flores crema (tipo III), que es el más común y abundante en los alrededores al predio; los tipos I y IV son menos frecuentes y el tipo II se presenta aisladamente dentro del conjunto analizado. De estos taxones, tres podrían ser homologados morfológicamente con las especies descritas por Ownbey (*op. cit.*) y Sorarú (*op. cit.*), de la siguiente forma: tipo I = *A. mexicana*;

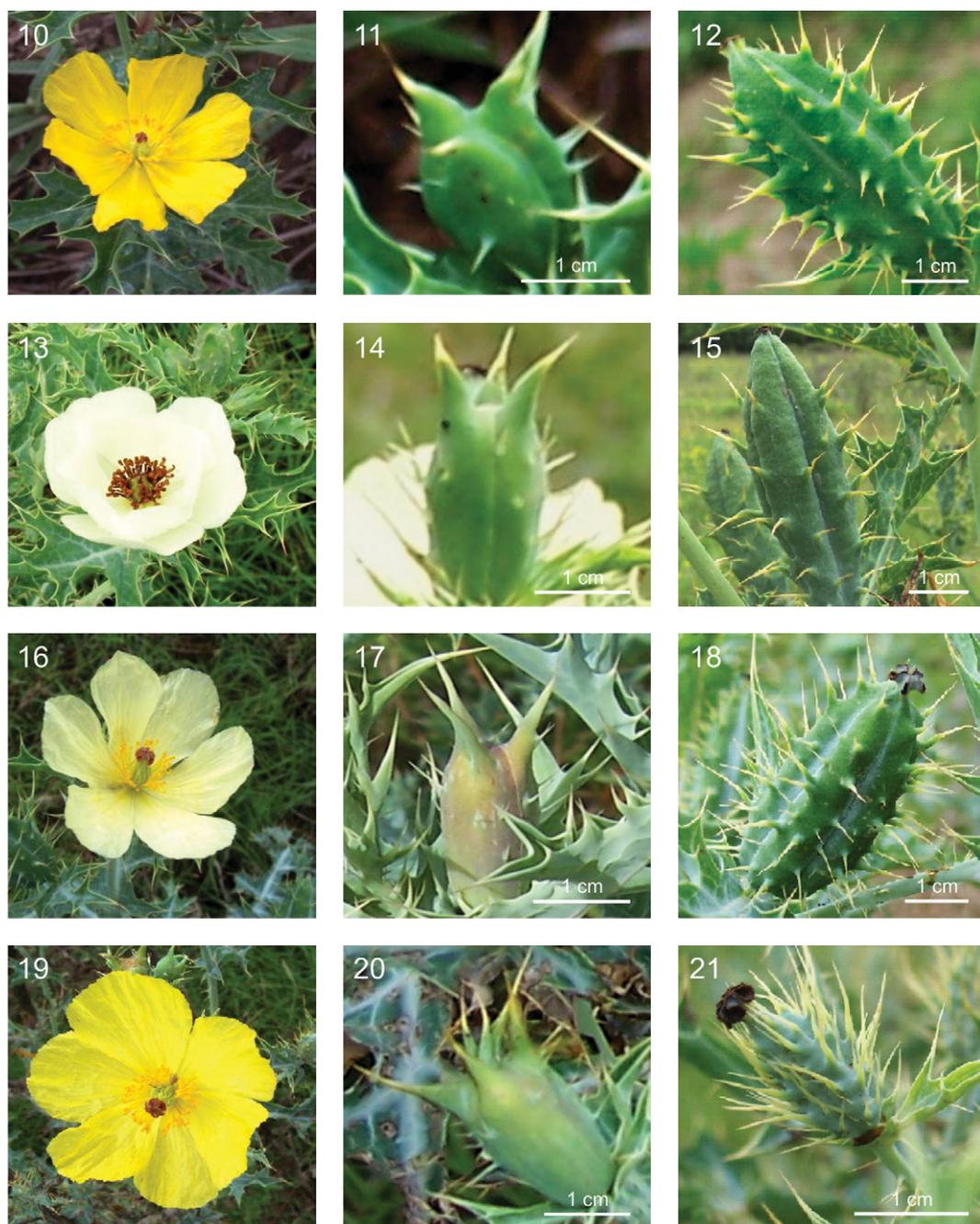
tipo II = *A. subfusiformis*; tipo III = *A. ochroleuca*. El tipo IV no coincide con las descripciones de estos autores y a fin de diferenciarlo lo designamos como *Argemone* sp.

Para establecer estas homologías se hizo el siguiente análisis: Ownbey (1961), utiliza la forma de los botones florales para distinguir *A. mexicana* de otras especies con flores amarillas como *A. subfusiformis*, siendo subesféricos en la primera y oblongos en la segunda; también establece diferencias con *A. ochroleuca* que tiene botones con forma elipsoidal. Este rasgo (forma de los botones), es particularmente importante, inmediatamente antes de su apertura, característica que no fue advertida por Legname (1974), Sorarú (1976) y L. J. Novara (1993), salvo Peña (2002).

En nuestras observaciones coincidimos en que la forma y medida de los frutos, como el número y tamaño de las espinas, no son caracteres constantes en este género, sino que se superponen entre sí, tal como señalaron Sorarú (1976), y Novara (1993). Por lo tanto no son eficientes al momento de discriminar entre un taxón y otro, salvo casos muy evidentes como el mencionado por Ownbey (1961), que le permitieron diferenciar *A. mexicana* de *A. subfusiformis* subespecie *subinermis*.

Legname (1974), en las “Las Papaveraceas Chaqueñas”, a partir del trabajo de Ownbey (1961), hace referencia al color de la corola de *A. subfusiformis* como blanca o amarilla pálida. Nos preguntamos si el material de flores blancas revisado por él, es equivalente al hexaploide con $n = 42$ de nuestro estudio, ya que excepto por el color de las flores, las características restantes son similares a las citadas por éste y por otros autores para *A. subfusiformis*.

El color de las hojas es otro carácter a tener en cuenta para diferenciar los distintos taxones de *Argemone*. Sorarú (1976), hace referencia a esta característica, en una clave, para separar las especies argentinas: *A. mexicana* (hojas glaucas o verdes con nervaduras blancas) y *A.*



Figs. 10-12: Tipo I. **10)** Flor y estambres amarillo brillante, hojas verdes. **11)** Botón floral subs esférico. **12)** Fruto oblongo, espinas cónicas de base muy ensanchada y ápice punzante.

Figs. 13-15: Tipo II. **13)** Flor blanca con estambres naranja intenso, hojas verdes. **14)** Botón floral elipsoide. **15)** Fruto subfusiforme, espinas cónicas de base ensanchada y ápice punzante. Escala = 1 cm.

Figs. 16-18: Tipo III. **16)** Flor crema con anteras amarillas, hojas glaucas. **17)** Botón floral elipsoidal. **18)** Fruto oblongo, espinas cónicas de base ensanchada y ápice marcadamente punzante. Escala = 1 cm.

Figs. 19-21: Tipo IV. **19)** Flor amarilla clara y estambres amarillo fuerte. **20)** Botón floral elipsoide. **21)** Fruto pequeño y oblongo con espinas cónicas de base ensanchada y ápice punzante muy largo. Escala = 1 cm.

burkartii (hojas glaucas); pero no utiliza a este carácter en la distinción de las "variedades" de *A. mexicana* (*A. mexicana* var. *mexicana*, *A. mexicana* var. *ochroleuca* y *A. mexicana* var. *subinermis*). Novara (1993), también menciona el color de las hojas como un atributo para distinguir las "variedades" de *A. mexicana*. En nuestras observaciones a campo consideramos que el color de las hojas es un elemento útil para diferenciar los fenotipos estudiados. Estamos de acuerdo con Novara en que *A. mexicana* var. *mexicana* tiene las hojas de color verde oscuro con nervios blanquecinos (para nosotros *A. mexicana*, tipo I) y que se diferencian de las hojas glaucas de *A. mexicana* var. *ochroleuca*, (para nosotros *A. ochroleuca*, tipo III). El también menciona que esta última variedad puede tener hojas de color verde claro, esta observación sería coincidente para los ejemplares del hexaploide (tipo II) de este trabajo.

Las primeras investigaciones llevadas a cabo en los cuatro taxones, han demostrado que los caracteres morfológicos y florales no permiten una identificación certera de las especies. Ellas integrarían un complejo citotaxonómico donde la poliploidía tiene un rol importante sobre esta maleza tan polimórfica y de gran amplitud ecológica.

Los estudios citogenéticos son numerosos para la mayoría de los taxones. *A. mexicana* (tipo I) es diploide, cuyo número cromosómico ($2n = 28$) coincide con los de otros autores; las restantes especies son poliploides y los recuentos cromosómicos dados a conocer no coinciden con los recuentos de Fedorov (1974), y Peña (2002), para estas especies.

En la Tabla 1 vemos que *A. mexicana* (tipo I), tiene un comportamiento meiótico normal con formación de 14 bivalentes.

El taxón II, *A. subfusiformis* sería un alohexaploide, con formación de 42 bivalentes partiendo de un número básico $x = 14$ propuesto por Lewis (1980). La meiosis es totalmente normal, con formación de tétradas normales y granos de polen viables.

El taxón III, *A. ochroleuca* se trataría de un triploide con numerosas irregularidades. Se observaron cromosomas mono y bivalentes en frecuencia variable y configuraciones multivalentes (tri, tetra y pentavalentes). Los micronúcleos son muy frecuentes, a veces con formación de diadas y el menor porcentaje de tétradas normales.

El tipo IV, *Argemone* sp también sería un triploide con una meiosis marcadamente irregular: trivalentes en prometafase I; bivalentes y trivalentes en la prometafase II. El polen se presenta con un alto porcentaje de granos deformes y vacíos y la formación de semillas es escasa.

El comportamiento irregular de los cromosomas en la meiosis, la producción de semillas fértiles y el hecho de ser pioneras en terrenos desestabilizados, nos permitirían inferir que los taxones III y IV son apomíticos.

En este trabajo no se llevó a cabo el análisis de la población para detectar si hubo o no segregación, tampoco el estudio embriológico de las semillas. Estos parámetros que son de gran importancia para corroborar la apomixis planteada, serán los objetivos propuestos para una segunda etapa de trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Ing. Agr. Antonio Krapovickas por la lectura crítica, sugerencias recibidas y gentileza en la revisión del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandoni, A. L. et al. 1975. Alkaloidal content of Argentine *Argemone*. *Phytochemistry* 14 (8): 1785-1788.
- Caccavari, M. A. 1976. Morfología del polen y su relación taxonómica en las especies y variedades del género *Argemone* (Papaveraceae) en la Argentina. *Darwiniana* 20 (3-4): 458-468.
- Fedorov, A. (ed.) 1974. Chromosome Number of flowering Plants. O. Koeltz. Sci. Publ., Koenigsstein. pp. 480-481.
- Hoss R. 1992. Guía metodológica: uso de extractos vegetales en la regulación de plagas. Edición RAAA. Lima 1.

- Legname, P. R. 1974. Las Papaveraceas Chaqueñas. Notas Preliminares para la Flora Chaqueña. 6: 29-34.
- Lewis, 1980.
- Naranjo *et al.* 1982. Estudios citotaxonómicos y evolutivo en especies herbáceas sudamericanas de *Oxalis* (Oxalidaceae) I. Bol. Soc. Arg. Bot. 20 (3-4).
- Novara, L. J. 1993. Flora del Valle de Lerma, Papaveraceae Juss. Aportes botánicos de Salta 1 (25): 1-6.
- Ownbey, G. B. 1961. The Genus *Argemone* in South America and Hawaii. Brittonia 13 (1): 91-109.
- Peña, R.C. 2002. El Género *Argemone* (Papaveraceae) en Chile. Inédito.
- Sorarú, S. B. 1976. Nota sobre el Género *Argemone* (Papaveraceae) en la República Argentina. Darwiniana 20 (3-4): 445-457.