

Estudios citogenéticos en *Anemone decapetala* Ard., *Thalictrum decipiens* Boivin y *Thalictrum venturii* Boivin (Ranunculaceae)

Lozzia, María E.; Valeria de los A. Páez; María I. Toranzo; 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.; Valeria de los A. Páez; María I. Toranzo; María E. Cristóbal. 2009. "Estudios citogenéticos en *Anemone decapetala* Ard., *Thalictrum decipiens* Boivin y *T. venturii* Boivin (Ranunculaceae)". *Lilloa* 46 (1-2). Se estudian citogenéticamente *A. decapetala* var. *foliolosa*, *T. decipiens* y *T. venturii* especies de Ranunculaceae de las floras templadas y tropicales de Sudamérica, frecuentes en la región montañosa del NO Argentino. Se determinó el número cromosómico, se analizaron los estadios meióticos e irregularidades presentes y el tipo de aberturas de los granos de polen en cada una de las especies.

Palabras clave: *Anemone decapetala*, *Thalictrum decipiens*, *Thalictrum venturii*, Ranunculaceae, citogenética, meiosis.

► **Abstract** — Lozzia María E.; Valeria de los A. Páez; María I. Toranzo; María E. Cristóbal. 2009. "Cytogenetic studies in *Anemone decapetala* Ard., *Thalictrum decipiens* Boivin and *Thalictrum venturii* Boivin (Ranunculaceae)". *Lilloa* 46 (1-2). Cytogenetic studies of the following Ranunculaceae *A. decapetala* var. *foliolosa*, *T. decipiens* and *T. venturii* belonging to warm and tropical floras of the mountain region in the Northwest of Argentina, South America. The chromosome number was determined, meiotic stages and irregularities and types of openings in the pollen grains were analyzed in each of them.

Keywords: *Anemone decapetala*, *Thalictrum decipiens*, *Thalictrum venturii*, Ranunculaceae, cytogenetics, meiosis.

INTRODUCCIÓN

En este trabajo se lleva a cabo el análisis citogenético de *Anemone decapetala* var. *foliolosa*, *Thalictrum decipiens* y *Thalictrum venturii*. Estas especies están distribuidas en ambos hemisferios en las floras de 30 regiones aproximadamente (Ziman & Keener, 1989). El género *Anemone* se presenta en zonas tropicales y templadas del mundo con seis especies en Sudamérica (Lourteig, 1951). *A. decapetala* var. *foliolosa* se registra para Brasil, Bolivia Uruguay, Chile y Noroeste de Argentina.

El género *Thalictrum* está formado por plantas herbáceas y perennes, sin nectarios y flores apétalas; pertenece a la subfamilia Thalictridae Raf. y tiene aproximadamente 190 especies (Tamura, 1995) distribuidas

en regiones tropicales y templadas. En Sudamérica, se extiende a lo largo de la Cordillera andina, está presente en Bolivia y en Argentina llega hasta la ciudad de Córdoba. *T. decipiens* y *T. venturii* son mencionadas para el noroeste del país por Lourteig (1951) y Zuloaga & Morrone (1999).

Langlet (1932) y Gregory (1941) han reagrupado a la familia Ranunculaceae por sus caracteres cariológicos en dos grupos: R, con cromosomas grandes y un número haploide más frecuente de $n = 8$, por ejemplo *Anemone*, *Ranunculus*, *Clematis* y T, con cromosomas pequeños y un número haploide de $n = 7, 9$ o 13 , por ejemplo *Thalictrum*, *Aquilegia*, *Hydrastis*. Estudios filogenéticos moleculares utilizando marcadores ribosómicos, sugieren que para las taxas del grupo T habría tres linajes monofiléticos, en uno de los cuales se incluye al género *Thalictrum* (Ro et al., 1997). Para Hoot (1995), a partir de sus

datos moleculares, el grupo T sería basal y parafilético y al grupo R le asignaría un linaje monofilético. Esta apreciación no fue compartida por Ro *et al.* (1997) y Johansson (1995) quienes consideran que aceptarla implicaría un origen polifilético para el grupo T y estimaron la necesidad de realizar investigaciones adicionales.

El presente trabajo forma parte del proyecto que contempla realizar los estudios citológicos de las Ranunculaceas del NO Argentino, iniciados en las especies del género *Ranunculus* de la provincia de Tucumán y alrededores (Lozzia & Martínez, 1995; Lozzia M. E. Tesis Doct., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las localidades de recolección de los botones florales fueron las siguientes:

Anemone decapetala: Lara. Dpto. Trancas (Tucumán) 2500 msm. Rubén Andrada. LIL 608629. 14/12/07.

Thalictrum decipiens: El Mollar, Dpto. Tafí del Valle (Tucumán). 1750 msm. Valeria Páez, LIL 608557. 27/12/07.

T. venturii: Lara, Dpto. Trancas (Tucumán). 1800 msm. María E. Lozzia LIL 608556. 14/12/07.

Para las preparaciones citológicas, el material se fijó en alcohol absoluto-ácido acético (3:1) durante 24 horas y se conservó en alcohol al 70° a -10° C. La coloración se realizó con hematoxilina propiónica al 2 %

con cristales de citrato férrico, previa hidrólisis ácida a 60° C. Los recuentos cromosómicos se realizaron en 30 células madres de polen.

Se llevaron a cabo preparaciones de polen de *A. decapetala* y de *T. decipiens*; el método utilizado fue el de Wodehouse (1935) y el montaje del material se hizo en glicerina gelatinada (Kisser, 1935). No se contó con material maduro para analizar los granos de polen de *T. venturii*.

Se midieron los ejes ecuatorial y polar, al menos en 30 granos; se examinó el tipo de abertura en 100 granos.

Las microfotografías se obtuvieron utilizando un microscopio óptico Nikon Eclipse E 200 con cámara incorporada Moticam 1000.

RESULTADOS

Anemone decapetala var. *foliolosa*

El análisis de las células madres de polen muestra 8 II en diacinesis (Fig. 1 y 2); la frecuencia de quiasmas por bivalente es de 1.2 y las MI son normales (Fig. 3). En la segunda división de la meiosis se presentan irregularidades; MII con puentes remanentes de la AI, asincronía y falta de coorientación en un 68% de las células (Fig. 4); AII normales (80 %), esporádicamente se presentan cromosomas rezagados (Fig. 5). La formación de tétradas es normal; se observaron tríadas

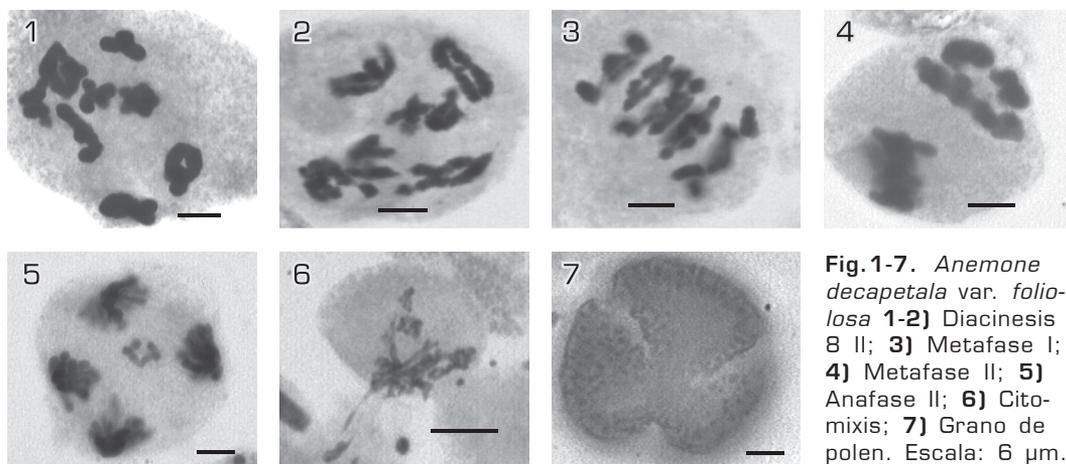


Fig. 1-7. *Anemone decapetala* var. *foliolosa* **1-2)** Diacinesis 8 II; **3)** Metafase I; **4)** Metafase II; **5)** Anafase II; **6)** Citomixis; **7)** Grano de polen. Escala: 6 μ m.

(1%). En la primera división meiótica se observa citomixis (Fig. 6); 1 a 3 canales citoplasmáticos entre dos células y múltiples canales entre tres células. Los granos de polen son tricolpados, esferoidales, con un diámetro ecuatorial de $20.11 \mu\text{m}$ y el eje polar de $19,82 \mu\text{m}$ (Fig. 7).

Thalictrum decipiens

En diacinesis 28 II con uno a cuatro cromosomas asociados al nucleolo; se observan bivalentes en anillo y una frecuencia de quiasmas de 1,69 (Fig. 8). La MI es regular en un 95 % de las células, el 5 % restante presentan cromosomas fuera de la placa ecuatorial (Fig. 9); AI regular. En la segunda división no se observan irregularidades; hay formación regular de tétradas. Los granos de polen tienen $9,71 \mu\text{m}$ de diámetro y son periporados (Fig. 10).

Thalictrum venturii

El número cromosómico es $n = 28 \text{ II}$ (Fig. 11). Las irregularidades son muy frecuentes y se observan en todos los estadios de la meiosis; MI, el 21% son irregulares (Fig. 12); en AI hay formación de varios husos y puentes; TI con formación de puentes sin fragmentos (Fig. 13). En la segunda división, MII con cromosomas fuera de la placa (Fig. 14); AII con separación precoz de cromosomas, cromosomas dispersos (Fig. 15-17); TII con micronúcleos (Fig. 18); se observaron mónadas (Fig. 19); tríadas, pénta-

das (Fig. 20); hexas (Fig. 21), heptadas; octadas. Se observa citomixis durante paquene entre dos células (Fig. 22).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las Ranunculaceas constituyen elementos importantes dentro del ecosistema de las altas montañas. Las especies de *Ranunculus*, *Clematis*, *Anemone* y *Thalictrum* del NO Argentino forman parte de las floras templadas y tropicales de las regiones montañosas del continente sudamericano (Lourteig, 1951, 1956). Según Ziman & Keener (1989) su distribución confirmaría la hipótesis que establece una ruta de migración de estas especies desde el Hemisferio Norte.

Los estudios citológicos realizados en el género *Anemone* señalan dos series de números básicos $x = 7$ y $x = 8$, donde $x = 7$ derivaría de $x = 8$ por fusión (Chandra Roy & Sharma 1971). *Anemone decapetala* es un diploide con $2n = 16$, recuento que coincide con los realizados anteriormente (Rottfels *et al.*, 1966; Joseph & Heimburger, 1966); también se citan triploides con $2n = 24$ (Fedorov, 1974). Los granos de polen son tricolpados.

Morfológicamente *T. decipiens* y *T. venturii* se diferencian por la presencia de anteras mucronadas y no mucronadas, el número de carpelos y en la forma de los aquenios (Lourteig, 1951). Citológicamente, *Thalictrum* es un octoploide, filogenéticamente es considerado más evolucionado respecto a *Anemone*, *Ranunculus* y *Clematis*. Las características polínicas (Clarke *et al.*, 1991) y el análisis

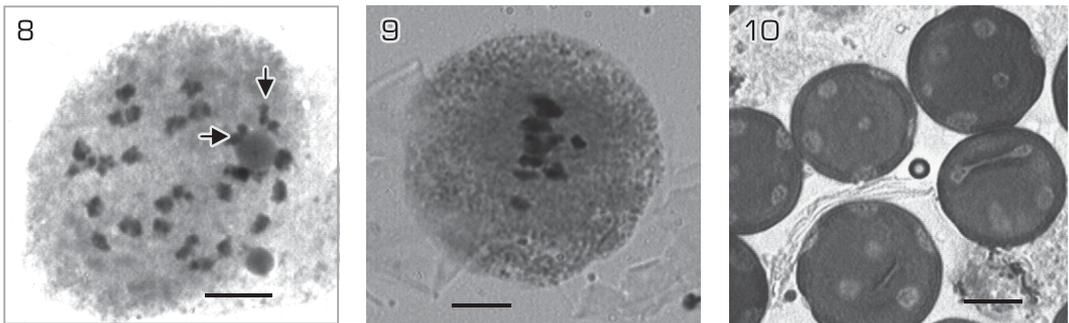


Fig. 8-10. *Thalictrum decipiens* **8)** Diacinesis, las flechas indican los cromosomas asociados al nucleolo; **9)** Metafase I; **10)** Granos de polen. Escala: $6 \mu\text{m}$.

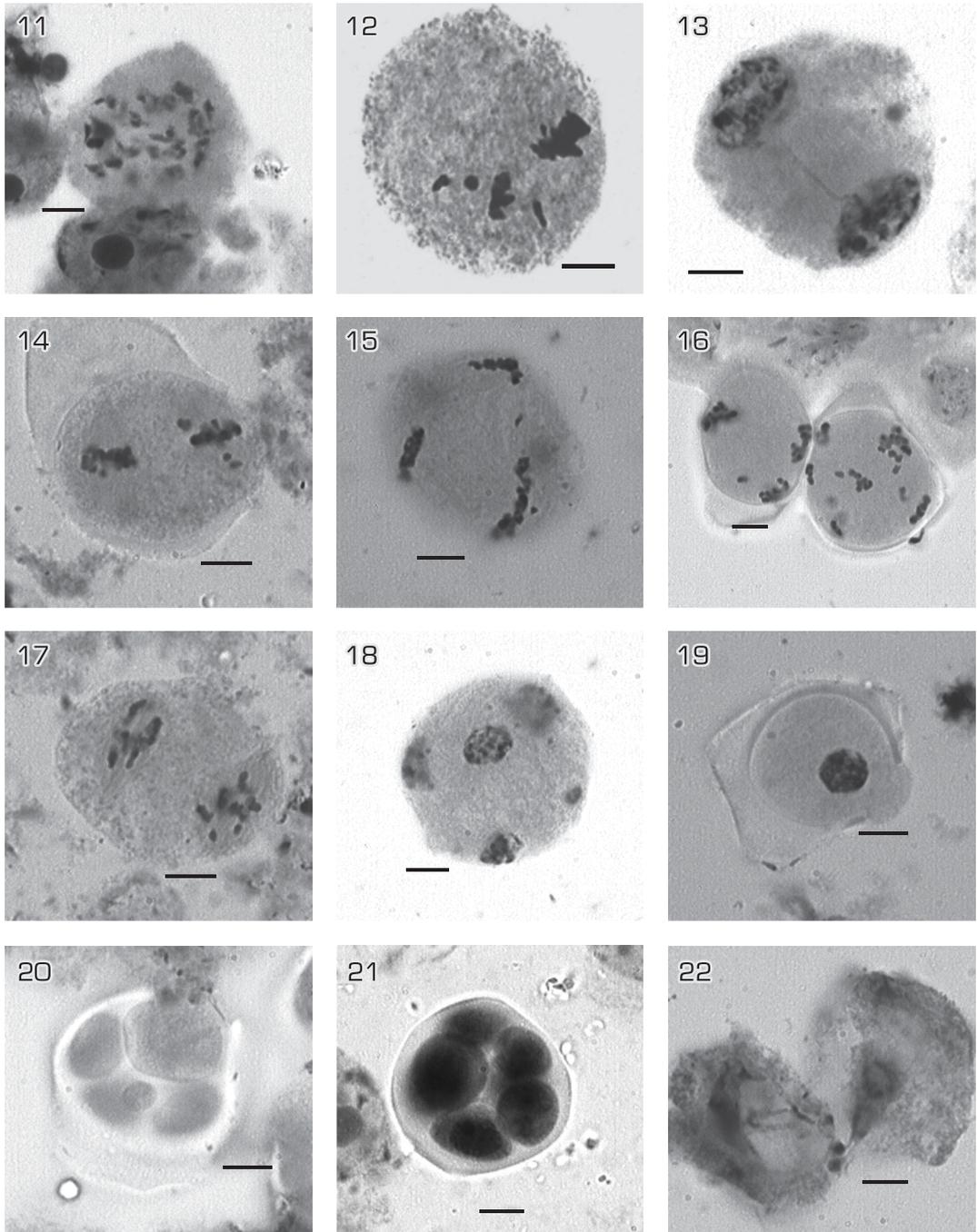


Fig. 11-22. *Thalictrium venturii* **11)** Diacinesis con 28 II; **12)** Metafase I; **13)** Anafase I con puente; **14)** Metafase II con cromosomas fuera de placa; **15)** Anafase II; **16)** Anafase II con cromosomas dispersos; **17)** Anafase II; **18)** Telifase II con micronúcleos; **19)** Mónada; **20)** Péntada; **21)** Héxada; **22)** Citomixis. Escala: 6 μ m.

de microcaracteres como estomas, pelos, etc., realizados por Hoot (1991) así lo corroboran. Sin embargo Ro *et al.* (1997) a través de la comparación entre un mapeo de los caracteres taxonómicos convencionales (tipo y número cromosómico) y el árbol filogenético elaborado a partir del ADN_r, concluyeron que los caracteres convencionales mencionados son los más congruentes con la filogenia molecular inferida y según este mapeo los cromosomas de tipo T aparentan ser plesiomórficos mientras que el tipo R serían sinapomórficos.

En este trabajo se da a conocer, por primera vez, el comportamiento meiótico de *Anemone decapetala* y de las dos especies de *Thalictrum* del NO Argentino. En *A. decapetala* y en *T. decipiens*, la meiosis se desenvuelve con regularidad, hay formación de tétradas regulares y de semillas viables. En *T. venturii* las irregularidades meióticas son más comunes, así también la formación de los granos de polen en díadas, tétradas, pñtadas, hexasomas.

Las dos especies de *Thalictrum* son octoploides; en *T. venturii* las irregularidades meióticas presentes lo indican como un poliploide, genéticamente inestable.

BIBLIOGRAFÍA

- Chandra Roy, S. H. & A. K. Sharma. 1971. Cytotaxonomic studies on Indian Ranunculaceae. *The Nucleus* 14 (2): 132-143.
- Clarke, G. C. S., W. Punt & P. P. Hoen. 1991. Ranunculaceae. En W. Punt & S. Blackmore (eds.). *The Northwest European pollen flora*, 51 (4): 117-271. Elsevier, New York. USA
- Fedorov, A. 1974. Chromosome number in flowering plants. pp.1-928. O. Koeltz. Sci. Publ., Koenigstein.
- Gregory, W. C. 1941. Phylogenetic and cytological studies in the Ranunculaceae Juss. *Trans. Amer. Phil. Soc. New ser.* 31: 443-521.
- Hoot, S. 1991. Phylogeny of the Ranunculaceae Based on Epidermal Microcharacters and Macromorphology. *Systematic Botany* 16 (4): 741-755.
- Hoot, S. B. 1995. Phylogeny of the Ranunculaceae based on preliminary *atpB*, *rbcL* and 18S nuclear ribosomal DNA sequence data. *Plant Syst. Evol. (Suppl.)* 9: 241-251.
- Johansson, J. T. 1995. A revised chloroplast DNA phylogeny of the Ranunculaceae. *Plant Syst. Evol.* 9: 253-261.
- Joseph, C & M. Heimburger. 1966. Cytotaxonomic studies on new world species of *Anemone* (section *Eriocephalus*) with tuberous rootstocks. *Can. J. Bot.* 44 (7): 899-928.
- Kisser, J. 1935. Bemerkungen zum Einschluss in glycerin-gelstine. *Z. Wiss. Mikr.* 51.
- Langlet, O. 1932. Über chromosomenverhältnisse und systematik der Ranunculaceae. *Svensk Bot. Tidskr.* 26: 381-400.
- Lourteig, A. 1951. Ranunculáceas de Sudamérica templada. *Darwiniana* 9: 397-608.
- Lourteig, A. 1956. Ranunculáceas de Sudamérica tropical. *Rev. Mem. Soc. Cs. Naturales La Salle.* 16 (43): 19-88.
- Lozzia de Canelada, M. E. & A. J. Martínez. 1995. Recuentos cromosómicos en especies del Género *Ranunculus* L. de la Provincia de Tucumán. *Lilloa* 38 (2): 179.
- Lozzia, M. E. 2007. "Estudios citogenéticos en especies del género *Ranunculus* de la provincia de Tucumán". (Tesis Doctoral UNT, no public.).
- Ro, K. E.; C. S. Keener, & B. A. Mc Pheron. 1997. Molecular Phylogenetic Study of the Ranunculaceae: Utility of the nuclear 26 S Ribosomal DNA in inferring intrafamilial Relationship. *Molecular Phylogenetic and Evolution.* 8 (2): 117-127.
- Rottfels K., E. Sexsmith, M. Heimburger & M. O. Krause. 1966. Chromosome size and DNA content of species of *Anemone* L. and related genera (Ranunculaceae). *Chromosoma (Berl.)* 20: 54-74.
- Tamura, M. 1995. Ranunculaceae. In P. Hiepko (ed) , *Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Aufl. II.* 17a (4): 1-555. Berlin. Duncker & Humboldt.
- Wodehouse R. P. 1935. *Pollen grains.* Mc Graw- Hill Book Company, Inc. New York and London.
- Ziman S. N. & C. S. Keener. 1989. A geographical analysis of the family Ranunculaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* 76: 1012-1049.
- Zuloaga, F. & O. Morrone. 1999. (eds). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II.* Missouri Bot. Gard. Press.