

Análisis meiótico de dos especies de *Cuscuta* subgénero *Grammica* (Convolvulaceae)

Páez, Valeria de los A.; Aldo R. Andrada; María E. Lozzia

Instituto de Genética, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Argentina.
paezvaleria@hotmail.com

► **Resumen** — Páez, Valeria de los A.; Aldo R. Andrada; María E. Lozzia. 2013. "Análisis meiótico en dos especies de *Cuscuta* subgénero *Grammica* (Convolvulaceae)". *Lilloa* 50 (2). El género *Cuscuta* habita regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo y cuenta con reportes de números básicos de $x=4, 7, 8, 14, 15$. Son escasos los antecedentes citogenéticos en *Cuscuta* subgén. *Grammica*, el cual es típico del nuevo mundo. *Cuscuta flossdorfii* var. *tucumanensis* y *Cuscuta argentinana* var. *argentinana* son dos taxones endémicos de Argentina que viven en regiones montañosas desde 2.500 a 3.000 m. Se efectuaron estudios meióticos con técnicas citogenéticas convencionales, que revelaron 15II en diacinesis en ambos taxones e irregularidades en la primera y segunda etapa de la división meiótica. Se reporta por primera vez recuentos cromosómicos para estas especies y se plantea su nivel de ploidía.

Palabras clave: *Cuscuta argentinana* var. *argentinana*, *C. flossdorfii* var. *tucumanensis*, meiosis, plantas holoparásitas.

► **Abstract** — Páez, Valeria de los A.; Aldo R. Andrada; María E. Lozzia. 2013. "Meiotic analysis in two species of *Cuscuta* subgenus *Grammica* (Convolvulaceae)". *Lilloa* 50 (2). The genus *Cuscuta* inhabits tropical and subtropical regions around the world and it has reports of basic numbers $x=4, 7, 8, 14, 15$. There are few cytogenetic backgrounds in *Cuscuta* subgenus *Grammica* which is typical of the new world. *Cuscuta flossdorfii* var. *tucumanensis* and *Cuscuta argentinana* var. *argentinana* are two endemic taxa from Argentina and they live in mountainous regions since 2500 to 3000 m. Meiotic studies with conventional cytogenetic techniques were performed in both taxa which revealed 15II at diakinesis and irregularities in the first and second stage of the meiotic division. We report for the first time chromosome counts for these species and their ploidy levels were discussed.

Keywords: *Cuscuta argentinana* var. *argentinana*, *C. flossdorfii* var. *tucumanensis*, holoparasitic plants, meiosis.

INTRODUCCIÓN

Cuscuta L. es un género de plantas holoparásitas con distribución cosmopolita que incluye aproximadamente 175 especies (Yuncker, 1932), algunas de ellas son malezas que afectan cultivos de plantas forrajeras y ornamentales. Es el tercer género de plantas que ocasiona grandes pérdidas en los cultivos del mundo (Welsh *et al.*, 2010). En los ecosistemas incide afectando el ambiente físico (abiótico) que las circunda, con un impacto que dependerá de la diversidad de especies factibles de ser huéspedes y de la selección preferencial que ejerzan sobre las especies a parasitar (Press y Phoenix, 2005).

El género se divide en 3 subgéneros (*Cuscuta* Engelm., *Monogyna* Engelm. y *Grammica* (Lour) Engelm. Ex Yunck.) basado en estudios morfológicos y anatómicos realizados por Yuncker (1932). El género *Cuscuta* subgén. *Grammica* es el más numeroso con 130 especies. En Argentina se registran 39 especies de las cuales 22 son endémicas (Zuloaga *et al.*, 2008) y se extiende en el nuevo mundo salvo algunas taxa encontradas en África, Asia, Australia, Tasmania e Islas del Pacífico (Yuncker, 1932).

El género *Cuscuta* presenta variaciones en el número cromosómico desde $2n=8$ a $2n=60$ (Folgelberg, 1938; Pazy y Plitmann, 1995; García y Castroviejo, 2003). Los números cromosómicos que se registra para especies de *Cuscuta* subgén. *Grammica* obte-

nidos de ejemplares provenientes de Estados Unidos, España, India, Irán, México, Perú y Taiwán son $2n = 16, 28, 30, 32, 44, 56$ y 60 con variaciones interespecíficas e intraespecíficas (García y Castroviejo, 2003).

Los antecedentes de los números básicos del género *Cuscuta* (Folgerberg, 1938) indica $x = 7$ y $x = 15$, además de la poliploidía; pero Kaul y Bhan (1977) proponen autoploidía y un número adicional de $x = 8$.

Los estudios realizados por Manitz (1983) en las familias Convolvulaceae y Cuscutaceae plantea un número básico de $x = 15$ y el resto de los números se habrían originado por disploidía ascendente y poliploidía (García y Castroviejo, 2003).

En el género *Cuscuta* subgén. *Cuscuta* los cromosomas son holocéntricos y los antecedentes citológicos son algo más numerosos, que los que obran en *Cuscuta* subgén. *Grammica* y *Cuscuta* subgén. *Monogyna* cuyos cromosomas son monocéntricos (Pazy y Plitmann, 1991, 1994, 1995, 2002; García, 2001; García y Castroviejo, 2003; Folgerberg, 1938). Los análisis citogenéticos realizados en especies argentinas ponen de manifiesto tanto formas diploides como poliploides (Lozzia *et al.*, 2009; Páez *et al.*, 2011).

En este trabajo se analiza dos taxones endémicos de la Argentina pertenecientes a *Cus-*

cuta subgén. *Grammica*: *Cuscuta flossdorfii* Hicken var. *tucumanensis* Hunz (Fig. 1A) y *C. argentinana* Yunck. var. *argentinana* (Fig. 1B). La primera habita en el centro y la región montañosa norte de Tucumán entre 2.500 a 3.000 m y la segunda ocupa una región montañosa más amplia en las provincias de Catamarca, Salta y Tucumán hasta los 2.500 m (Hunziker, 1947, 1949, 1950; Zuloaga *et al.*, 2008). El objetivo propuesto es estudiar el comportamiento meiótico, número gamético y viabilidad de los granos de polen de ambas especies, para ampliar el conocimiento citogenético de *Cuscuta* subgén. *Grammica* el cual es muy escaso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los botones florales se fijaron en alcohol-ácido acético (3:1) y conservados en alcohol 70° a -4°C . Las anteras fueron sometidas a una hidrólisis ácida en HCl 1 N a 60°C durante 20 minutos y para la coloración se empleó hematoxilina propiónica al 2% con cristales de citrato férrico como mordiente. La viabilidad de los granos de polen, se analizó por medio de la técnica carmín acético-glicerol en proporción 1:1. Las microfotografías se obtuvieron con un microscopio Nikon eclipse E 200 conectado a una video



Fig. 1. A) *Cuscuta flossdorfii* var. *tucumanensis*. B) *Cuscuta argentinana* var. *argentinana*.

cámara Moticam 1000 (1.3MP). Para las representaciones gráficas las imágenes se procesaron con el programa Corel Draw X3.

Material estudiado.—

Cuscuta flossdorfii var. *tucumanensis*: ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Tafi del Valle, El Rincón, 26°57.680 S, 065° 46.510 O, 2298 m, 15-IV-2009, *Slanis-Andrada-Páez* 610233 (LIL).

C. argentinana var. *argentinana*: ARGENTINA. Prov. Catamarca, Dpto. Andalgalá, Aconquija, 27°26.968 S, 066°00.123 O, 1850 m, 18-V-2010. *Andrada-Páez* 610898-610899 (LIL).

Material adicional estudiado.—

Cuscuta flossdorfii: ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Tafi del Valle 1906. 4073 (LIL).

Cuscuta argentinana: ARGENTINA. Prov. Catamarca, Dpto. Andalgalá, Las Estancias 11- 1943 65450 (LIL). Dpto. Del Alto, Río de Guayamba 600 m, 01-VIII-1924, 1924 (LIL). Dpto. Ambato, El Creston, 25-III-1909, 1638 (LIL). Dpto. Belén, Nacimientos, V-1910 1628(LIL). Dpto. Andalgalá, El Suncho, 1600 m, 02-1938, 1208 (LIL). Prov. Salta, Dpto. Chicoana, San Fernando de Escoipe a Cuesta del Obispo, 03/V/1947, 188669 (LIL). Dpto. Chicoana, San Fernando de Escoipe, 06-V-1947, 188373 (LIL). Dpto. San Carlos, Camino a Amblayo, 16-III-1943, 86631 (LIL). Prov. Tucumán, Dpto. Tafi del Valle, El Infiernillo, 37 km de 2650 m, 18-III-1972, 554336 (LIL).

Los ejemplares estudiados se encuentran depositados en el herbario de la Fundación Miguel Lillo (LIL).

RESULTADOS

Cuscuta flossdorfii var. *tucumanensis*

La especie analizada presenta cromosomas monocéntricos. En diacinesis se observaron 15 bivalentes (15II) (Fig. 2A, 2B). La primera y segunda división meiótica, exhibieron numerosas irregularidades. En metafase I (MI), el 46% de las células fueron nor-

males, mientras que en el 54% restante los cromosomas permanecieron fuera de la placa ecuatorial (Fig. 2C). El 63% de las células analizadas en anafase I (AI) mostraron cromosomas rezagados (Fig. 2D). La segunda división meiótica presentó un 48 % de las células en metafase II (MII) cromosomas fuera de la placa ecuatorial, en AII cromosomas fuera del huso y entre los núcleos analizados el 39 % fueron micronúcleos (Fig. 2E). Se pusieron en evidencia también, células con citomixis (Fig. 2F). El análisis de las microsporas arrojaron los siguientes resultados: 72% de las tétradas son normales y en el 28% restante se observaron tríadas, péntadas, hexas (Fig. 2G, 2H) o heptadas. El ensayo de viabilidad puso de manifiesto un 62% de granos coloreados.

Cuscuta argentinana var. *argentinana*

Esta taxa presenta cromosomas monocéntricos. Se observaron células en diacinesis con 15II (Fig. 2I, 2J). La MI en su mayoría fueron regulares, solo 24% de ellas exhibieron cromosomas fuera de la placa ecuatorial (Fig. 2K); la AI y TI fueron regulares. En la segunda división meiótica, se observaron cromosomas fuera de la placa ecuatorial en un 84 % (Fig. 2L); aun así la formación de tétradas fue regular. El porcentaje de granos de polen coloreados fue de 98 %.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En el género *Cuscuta* se propone números básicos tales como $x = 4, 7, 8, 14, 15$ (Kaul y Bhan 1977; Pazy y Plitman, 1995; García y Castroviejo, 2003). Diversos autores no lograron obtener con certeza el número cromosómico haploide para especies de *Cuscuta* subgen. *Grammica*, dado que muchos taxones poseen cromosomas de tamaño pequeño, y los conteos por tanto eran imprecisos. Éste es el caso de *C. campestris* Yunc., *C. australis* R. Br., *C. compacta* Juss. y *C. pentagona* Engelm. (García y Castroviejo, 2003; Fogelberg, 1938) por lo que es importante analizar la meiosis en forma clara y precisa. Los recuentos cromosómicos efectuados hasta el

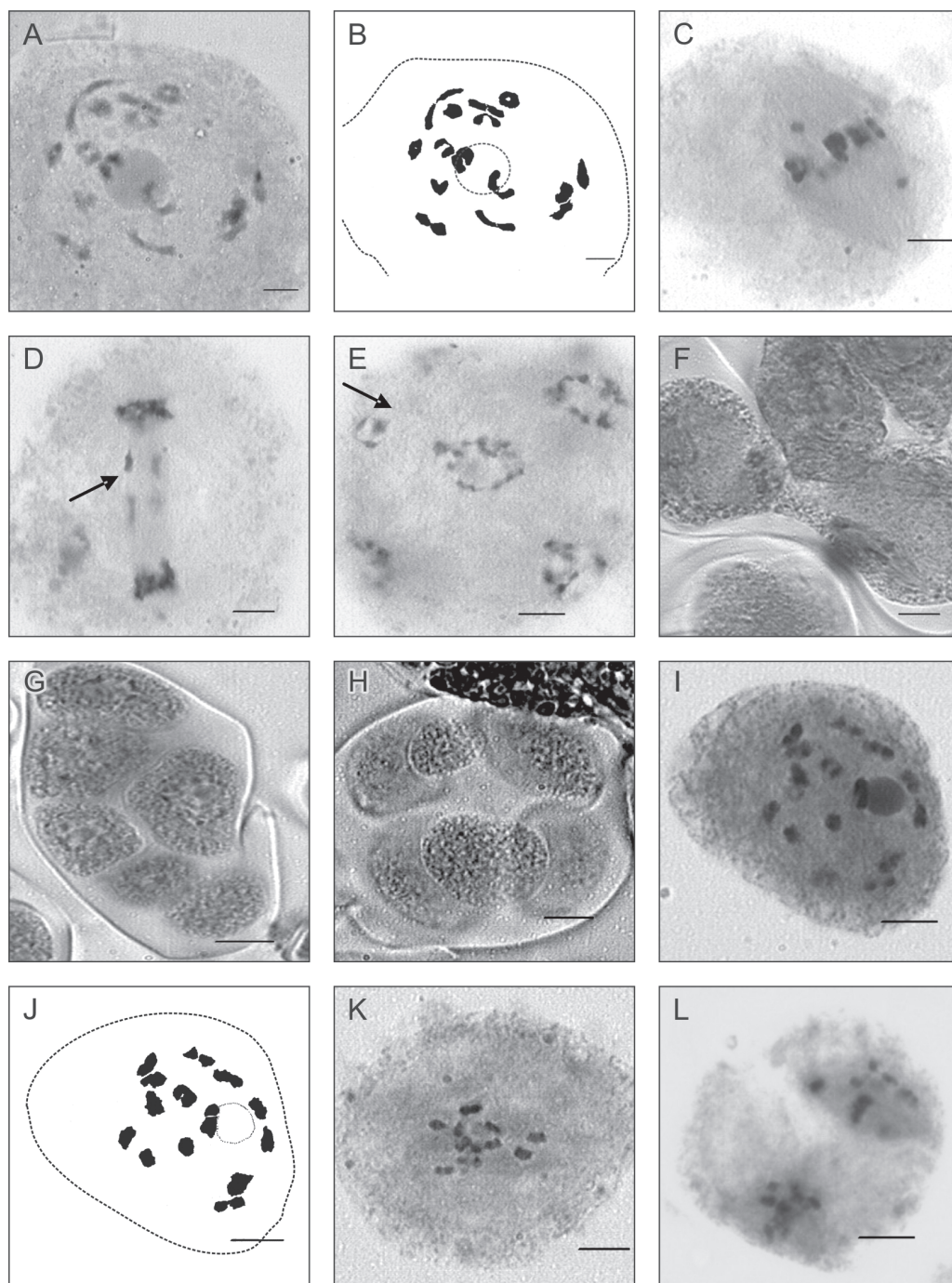


Fig. 2. *Cuscuta flossdorfii* var. *tucumanenesis*. A) Diacinesis con 15 II, B) Representación gráfica de diacinesis con 15 II, C) MI con cromosomas fuera de placa, D) AI con cromosomas rezagados, E) Célula con 4 núcleos normales y un micronúcleo, F) Citomixis, G) Hécada (con dos microsporas pequeñas), H) Héptada. *Cuscuta argentinana* var. *argentinana*. I) Diacinesis con 15II, J) Representación gráfica de diacinesis con 15 II, K) MI con cromosomas fuera de la placa ecuatorial, L) MII con cromosomas fuera de la placa ecuatorial. Las flechas indican cromosomas rezagados y micronúcleos en las fotos D-E respectivamente. Escala: 6 μ m.

momento en *Cuscuta* subgén. *Grammica* exhiben números múltiplos de 14 o 15, siendo este último el más difundido entre las especies del subgénero analizadas, principalmente de América del Norte de donde se obtienen la mayoría de los recuentos (Kaul y Bhan, 1977; Pazy y Plitman, 1995; García y Castroviejo, 2003). En base a lo citado precedentemente consideramos $x = 15$ como número básico para este subgénero, el número $n = 14$ surgiría por simploidía o aneuploidía. Por lo tanto, ambas especies estudiadas *Cuscuta flossdorfii* var. *tucumanensis* y *C. argentinana* var. *argentinana* serían diploides.

Los cromosomas de ambos taxones estudiados son monocéntricos y coinciden con los antecedentes del subgénero. La morfología de los cromosomas en el subgénero se confirman ante la ausencia de configuraciones cuatripartitas propia de especies del género *Cuscuta* subgén. *Cuscuta* portador de cromosomas holocinéticos (Guerra y García, 2004; Lozzia et al., 2009; Guerra et al., 2010). La gran mayoría de los estudios citogenéticos efectuados hasta el momento se centraron en *Cuscuta* subgén. *Cuscuta*, que poseen estos cromosomas los cuales han desarrollado mecanismos que le permiten llevar a cabo una meiosis normal aún ante la ausencia de la región centromérica localizada.

Las diferentes irregularidades meióticas observadas en nuestras investigaciones en *Cuscuta argentinana* var. *argentinana* y *C. flossdorfii* var. *tucumanensis*, tanto en la división I como II, se citan en otras especies pertenecientes a *Cuscuta* subgén. *Grammica*. Por ejemplo en *C. reflexa* Roxb. y *C. parodiana* Yunck. se ha registrado cromosomas rezagados en número variable (Páez et al., 2011; Kaul y Bhan 1977). Asimismo, en *C. parodiana*, se describe células en metafase con cromosomas fuera de la placa ecuatorial. Estos fenómenos podrían deberse al comportamiento asincrónico de los bivalentes; de manera que algunos de ellos abandonan su ubicación en el huso (Savita et al., 2011). Los antecedentes mencionan que también acontece el fenómeno de citomixis en *C. grandiflora* (Páez et al., 2011). La citomixis

es la migración de cromatina a través de canales citoplasmáticos entre células adyacentes; no se conoce con certeza las causas de este proceso, aunque se asume que puede deberse tanto a factores ambientales como a factores genéticos (Nirmala y Rao, 1996; Belluci et al., 2003; Fadaei et al., 2010).

Sin embargo, cromosomas fuera de la placa ecuatorial, cromosomas rezagados, núcleos adicionales en TII, citomixis, formación de péntadas, hexas y héptadas, son aberraciones capaces de producir gametos genéticamente desbalanceados. Estos fenómenos habrían actuado en conjunto con los sucesos de disploidía como ocurre en muchas familias de dicotiledóneas, tanto con cromosomas holocinéticos como monocinéticos (Lewis, 1980; García y Castroviejo, 2003; Mansanares et al., 2007), produciendo el rango tan variado de números cromosómicos dentro de *Cuscuta* subgén. *Grammica*.

Por otra parte la baja viabilidad de los granos de polen en *C. flossdorfii* var. *tucumanensis*, se asocia a la gran cantidad de irregularidades meióticas que inciden negativamente en la formación de granos de polen maduros fértiles.

En *Cuscuta* subgén. *Grammica* es el más amplio dentro del género *Cuscuta* (Stefanovic et al., 2007) y los antecedentes de estudios citogenéticos de las especies que lo integran son muy escasos, por lo que cada estudio que se lleva a cabo, es un aporte al conocimiento citogenético y ayuda a la resolución de los distintos linajes evolutivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bellucci, M.; C. Rosini y A. Mariani. 2003. Cytomixis in pollen mother cells of *Medicago sativa* L. *Journal of Heredity* 94: 512-516.
- Fadaei, F.; M. Sheidai y M. Asadi. 2010. Cytological study of the genus *Arenaria* L. (Caryophyllaceae). *Caryologia* 63 (2): 149-156.
- Folgerbert, S. O. 1938. The cytology of *Cuscuta*. *Bulletin of the Torrey Club* 65: 631-645.
- García, M. A. 2001. A new western Mediterranean species of *Cuscuta* (Convolvulaceae) confirms the presence of holocentric chromosomes in subgenus *Cuscuta*. *Botanical Journal of Linnean Society* 135: 169-178.

- García, M. A. y S. Castroviejo. 2003. Estudios citotaxonómicos en las especies ibéricas del género *Cuscuta* (Convolvulaceae). *Anales Jardín Botánico de Madrid* 60 (1): 33-44.
- Guerra, M. y M. A. García. 2004. Heterochromatin and rDNA sites distribution in the holocentric chromosomes of *Cuscuta approximata* Bab. (Convolvulaceae). *Genome* 47: 134-140.
- Guerra, M.; G. Cabral; M. Cuacos; M. González-García; M. González- Sánchez; J. Vefa y M. J. Puertas. 2010. Neocentrics and holokinetics (Holocentrics): Chromosome out of the centromeric rules. *Cytogenetic Genome Res* 129: 82-96.
- Hunziker, A. T. 1947. Sinopsis de las especies Argentino-Uruguayas del género *Cuscuta*. *Revista Argentina de Agronomía* 14 (2): 123-147.
- Hunziker, A. T. 1949. Las especies de *Cuscuta* (Convolvulaceae) de Argentina y Uruguay. *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas, y Naturales* 12: 1101-1202.
- Hunziker, A. T. 1950. Las especies de *Cuscuta* (Convolvulaceae) de Argentina y Uruguay. *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas, y Naturales* 13: 178-251.
- Kaul, M. L. H. y A. K. Bhan. 1977. Cytogenetics of polyploids VI. Cytology of tetraploid and hexaploid *Cuscuta reflexa* Roxb. *Cytologia* 42 (1): 125-136.
- Lewis, W. H. 1980. Polyploidy in Angiosperms. En: *Polyploidy, Biological Relevante*. Plenum press, New York and London. 583 pp.
- Lozzia, M. E.; A. R. Andrada, V. de los A. Páez, M. I. Toranzo, y M. E. Cristóbal. 2009. Cromosomas holocéntricos en *Cuscuta parodiana* Yuncker (Subgénero *Grammica*). *Lilloa* 45 (Suplemento). XXXVIII Congreso Argentino de Genética.
- Manitz, H. 1983. Die cytologie der Convolvulaceae und Cuscutaceae I. Zusammenstellung der bekannten chromosomezahlen. *Wiss. Z. Fieddrich- Schiller Univ. Jena* 32: 915-453.
- Manzanares, M. E.; E. R. Forni Martins y J. Semir. 2007. Cytotaxonomy of *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae) species. *Caryologia* 60 (1-2): 21-28.
- Nirmala, A. y P. N. Rao. 1996. Genetics of chromosome numerical mosaism in higher plants. *The nucleus* 39: 151-175.
- Páez, V. de los A.; A. R. Andrada; M. E. Lozzia y M. I. Toranzo. 2011. Estudios meióticos en cuatro especies del género *Cuscuta* subgénero *Grammica* (Cuscutaceae). *Lilloa* 48 (1): 83-90.
- Pazy, B. y U. Plitmann. 1991. Unusual chromosome separation in meiosis of *Cuscuta* L. *Genome* 34: 533-536.
- Pazy, B. y U. Plitmann. 1994. Holocentric chromosome behaviour in *Cuscuta* (Cuscutaceae). *Plant Systematic and evolution* 191: 105-109.
- Pazy, B. y U. Plitmann. 1995. Chromosome divergence in the genus *Cuscuta* and its systematic implications. *Caryologia* 48(2): 173-180.
- Pazy, B. y U. Plitmann. 2002. New perspectives on the mechanisms of chromosome evolution in parasitic flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 117-122.
- Press, M. C. y G. K. Phoenix. 2005. Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist* 166: 737-751.
- Savita, R.; K. Sanjeev; J. S. K. Santosh y G. R. Chand. 2011. Cytological studies in some members of family Ranunculaceae from Western Himalayas (India). *Caryologia* 64 (4): 405-418.
- Stefanovic, S.; M. Kuzmina y M. Costea. 2007. Delimitation of major lineages within *Cuscuta* subgenus *Grammica* (Convolvulaceae) using plastid and nuclear DNA sequences. *American Journal of Botany* 94: 568-589.
- Welsh, M.; S. Stefanovic y M. Costea. 2010. Pollen evolution and its taxonomic significance in *Cuscuta* (dodders, Convolvulaceae). *Plant Systematic Evolution* 285: 83-101.
- Yuncker, T. G. 1932. The genus *Cuscuta*. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 8 (2): 113-331.
- Zuloaga, F. O.; M. Belgrano y O. Morrone. 2008. *Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur* II. Missouri Botanical Garden. U. S. A. 1636 pp. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*.