

ESTUDIO CITOGENÉTICO EN HÍBRIDOS ENTRE UNA ESPECIE OCTOPLOIDE, *TURNERA AURELII* Y DOS DIPLOIDES, *T. CAERULEA* Y *T. JOELII*

por AVELIANO FERNÁNDEZ¹

Summary

Hybridizations were made between *T. aurelii*, $2n=8x=40$, and two diploid species ($2n=2x=10$), *T. caerulea* and *T. joelii*. The hybrids were studied cytologically to determine their genomic relationship. Two pentaploid hybrids were obtained with $2n=5x=25$. Meiosis in the *T. aurelii* x *T. caerulea* hybrid was irregular with numerous laggards and some bridges; mean pairing relationships were 16.37 I, 4.01 II and 0.19 III. *T. aurelii* x *T. joelii* hybrid showed very irregular cells with numerous laggards and bridges as well as unreduced gametes. Mean pairing relationships were 17.49 I, 3.32 II, 0.26 III and 0.01 IV. In previous papers the genomic formulas $A^*A^*A^*A^*B^*B^*$ and CC were proposed for *T. aurelii* and *T. caerulea* respectively. Based on the chromosomes associations found in both hybrids, DD is proposed for *T. joelii* because it has a different genome. Probably, the presence of bivalents in both hybrids may be due to the pairing among homoeologous chromosomes of the mother plant *T. aurelii*, which is a segmental allooctoploid.

Introducción

El género *Turnera* que cuenta con nueve series (Urban, 1883), presenta tres números básicos $x=5$, $x=7$ y $x=13$. La serie *Turnera* (= *Canaligerae*) es la única con $x=5$ y con distintos niveles de ploidía, desde el diploide hasta el octoploide (Fernández, 1987). Desde 1982 se está llevando a cabo un programa de cruza- mientos controlados con el que se obtuvieron varios híbridos interespecíficos (Arbo y Fernández, 1987). Como resultado de los estudios citogenéticos de los mismos, se analizaron las relaciones genómicas entre las especies diploides de flores amarillas (Fernández y Arbo, 1989), encontrándose que estas especies poseen genomas homeólogos, pero diferentes de los de las otras especies diploides de flores blanco-azuladas (Fernández y Arbo, 1996). También se estudiaron híbridos entre especies

poliploides y diploides, determinando que las especies poliploides son alopoliploides segmentarios (Fernández y Arbo, 1990, 1993a, 1993b).

El objetivo del presente trabajo es el análisis citogenético de los híbridos interespecíficos de *T. aurelii* ($2n=8x=40$) con *T. caerulea* y *T. joelii* ($2n=2x=10$).

Material y métodos

Los progenitores se indican con la sigla utilizada en el invernáculo. Los ejemplares testigo se conservan en el herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (CTES).

T. aurelii. (Gr8) Paraguay, Cordillera, río Salado, Schinini 22603.

T. caerulea. (C2) Brasil, Piauí, Bom Jesus, Krapovickas 38740.

T. joelii. (Co) Brasil, Bahia, 29 km S de Juazeiro, Krapovickas 38793.

T. aurelii x *T. caerulea*. Argentina, Corrientes, Arbo 2704.

T. aurelii x *T. joelii*. Argentina, Corrientes, Arbo 2597.

¹ Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Miembro de la Carrera del Investigador Científico (CONICET). Instituto de Botánica del Nordeste, C.C. 209, 3400 Corrientes.

El procedimiento usado para los cruzamientos está descrito en Arbo y Fernández (1987) e incluye los siguientes pasos: castración de las flores de las plantas madres, polinización con anteras de la planta seleccionada como padre, marcación de la flor madre indicando en el rótulo el progenitor masculino. Las semillas obtenidas se sembraron en macetas individuales y los híbridos se trasplantaron después de desarrollarse el primer par de hojas.

Las preparaciones para estudio de meiosis se hicieron fijando los botones florales con cinco partes de etanol absoluto y una parte de ácido láctico (Fernández, 1973) y coloreando con la técnica de Feulgen. Para mitosis se siguió el mismo procedimiento, previo pretratamiento de las raíces con 8-hidroxiquinoleína 0,002M durante 3 horas a temperatura de laboratorio, entre 18 a 26°C. Para estimar el porcentaje de fertilidad de polen se usó la técnica de coloración con carmín-glicerina, contando no menos de 300 granos por flor.

Resultados

De los cruzamientos realizados entre las tres especies se obtuvieron híbridos con $2n=5x=25$ entre *T. aurelii* como progenitor fe-

menino y las dos especies diploides como progenitores masculinos, pero los cruzamientos efectuados entre estas últimas dieron resultados negativos.

Los progenitores presentaron meiosis regular, formando siempre bivalentes, y la fertilidad de polen fue cercana al 100 % (Fernández, 1987).

En el híbrido *T. aurelii* x *T. caerulea* se analizaron 66 CMP en metafase I (Tabla 1), y se encontraron 14 configuraciones diferentes, siendo la más frecuente (25 %) 17 I + 4 II y 15 I + 5 II (Fig. 1A). Se observó un trivalente (Fig. 1B) en 19,69 % de las CMP. El promedio de univalentes fue de 16,37, con un rango de variación de 8 a 25; el de bivalentes fue de 4,01, con un rango de variación de 0 a 7, y el de trivalentes de 0,19, con un rango de variación de 0 a 1.

En el híbrido *T. aurelii* x *T. joelii* se analizaron 53 CMP (Tabla 1), encontrándose 15 configuraciones diferentes, siendo la más frecuente (30 %) 17 I + 4 II (Fig. 2A). Se observó un trivalente (Fig. 2B) en 26,41 % de las CMP. El promedio de univalentes fue de 17,49, con un rango de variación de 8 a 25; el de bivalentes fue de 3,32, con un rango de variación de 0 a 7; el de trivalentes de 0,26, con un rango de

Tabla 1. Configuraciones halladas en los híbridos

Configuración	<i>T. aurelii</i> x <i>T. caerulea</i>		<i>T. aurelii</i> x <i>T. joelii</i>	
	No. CMP	porcentaje	No. CMP	porcentaje
25 I	1	1,50	5	9,50
23 I + 1 II	3	4,60	1	1,90
21 I + 2 II	3	4,60	3	5,70
19 I + 3 II	6	9,10	6	11,30
17 I + 4 II	17	25,70	16	30,20
15 I + 5 II	17	25,70	5	9,50
13 I + 6 II	3	4,60	2	3,60
11 I + 7 II	3	4,60	1	1,90
20 I + 1 II + 1 III	1	1,50	3	5,70
18 I + 2 II + 1 III	3	4,60	2	3,60
16 I + 3 II + 1 III	4	6,00	3	5,70
14 I + 4 II + 1 III	2	3,00	3	5,70
12 I + 5 II + 1 III	-	-	1	1,90
10 I + 6 II + 1 III	2	3,00	-	-
8 I + 7 II + 1 III	1	1,50	1	1,90
12 I + 3 II + 1 III + 1 IV	-	-	1	1,90
Total	66	100	53	100

Tabla 2. Promedio y variación de las asociaciones cromosómicas en metafase I y fertilidad de polen en híbridos pentaploides.

Híbrido	2n	I	II	III	IV	CMP	Fert.
<i>T. aurelii</i> x <i>T. caerulea</i>	2x=25	16,37±0,37 8 - 25	4,01±0,19 0 - 7	0,19±0,04 0 - 1		66	7,66
<i>T. aurelii</i> x <i>T. joelii</i>	2x=25	17,49±0,50 8 - 25	3,32±0,23 0 - 7	0,26±0,06 0 - 1	0,01±0,01 0 - 1	53	6,43

variación de 0 a 1, y el de cuadrivalentes de 0,001, con un rango de variación de 0 a 1 (Tabla 2).

En los dos híbridos se observó el mismo rango de variación para los univalentes, entre 8 y 25. El máximo de bivalentes encontrado en *T. aurelii* x *T. caerulea* fue de 8 (Fig. 1C).

En los dos híbridos siempre se observaron cromosomas rezagados (Fig. 1D) en anafase/telofase I acompañados o no por puentes. En *T. aurelii* x *T. joelii* a veces algunas células presentan puentes (Fig. 2C) que persisten hasta la profase II, quedando la célula con los dos núcleos unidos (Fig. 2D).

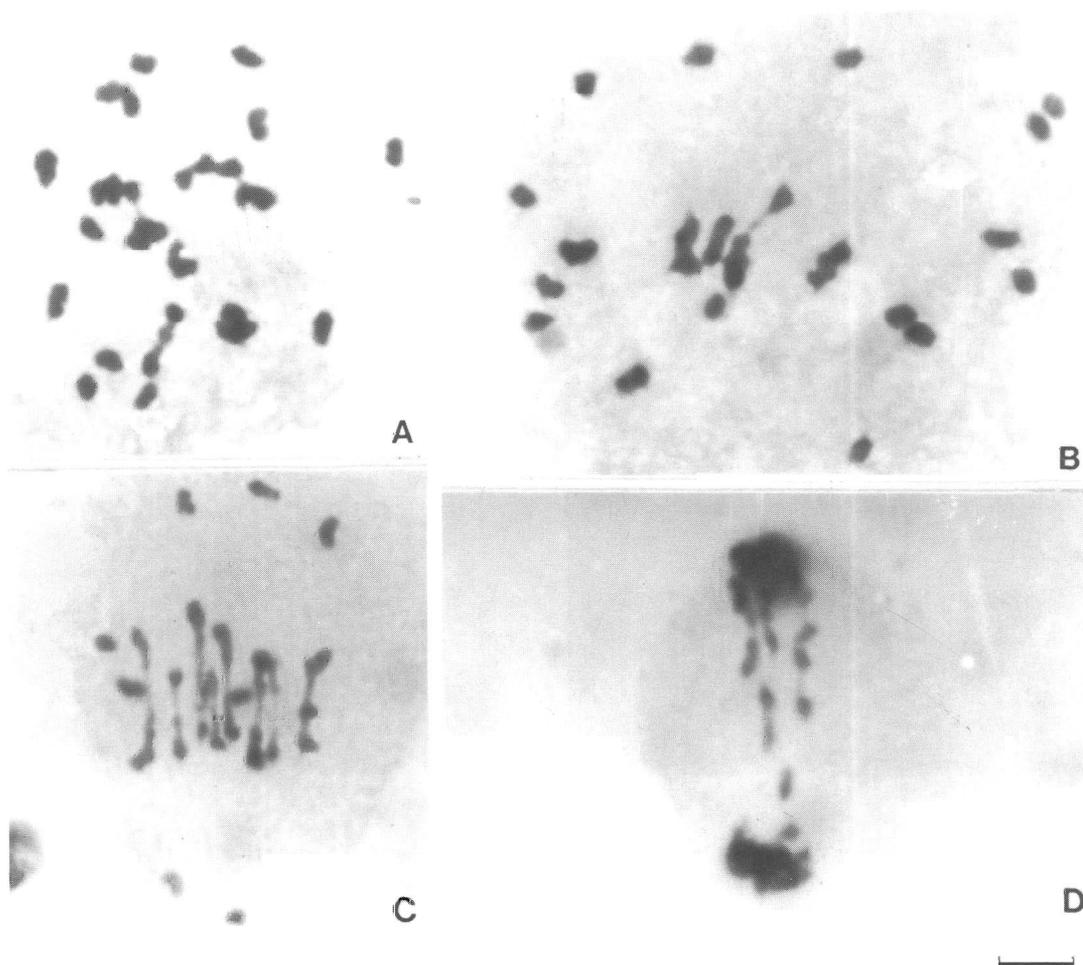


Fig. 1. Meiosis en *T. aurelii* x *T. caerulea*, 2n=25. A, metafase I con 15 I + 5 II. B, metafase I con 16 I + 3 II + 1 III. C, metafase I con 8 I + 8 II; en esta célula falta un cromosoma. D, anafase/telofase I con cromosomas rezagados. Escala = 5 μ m.

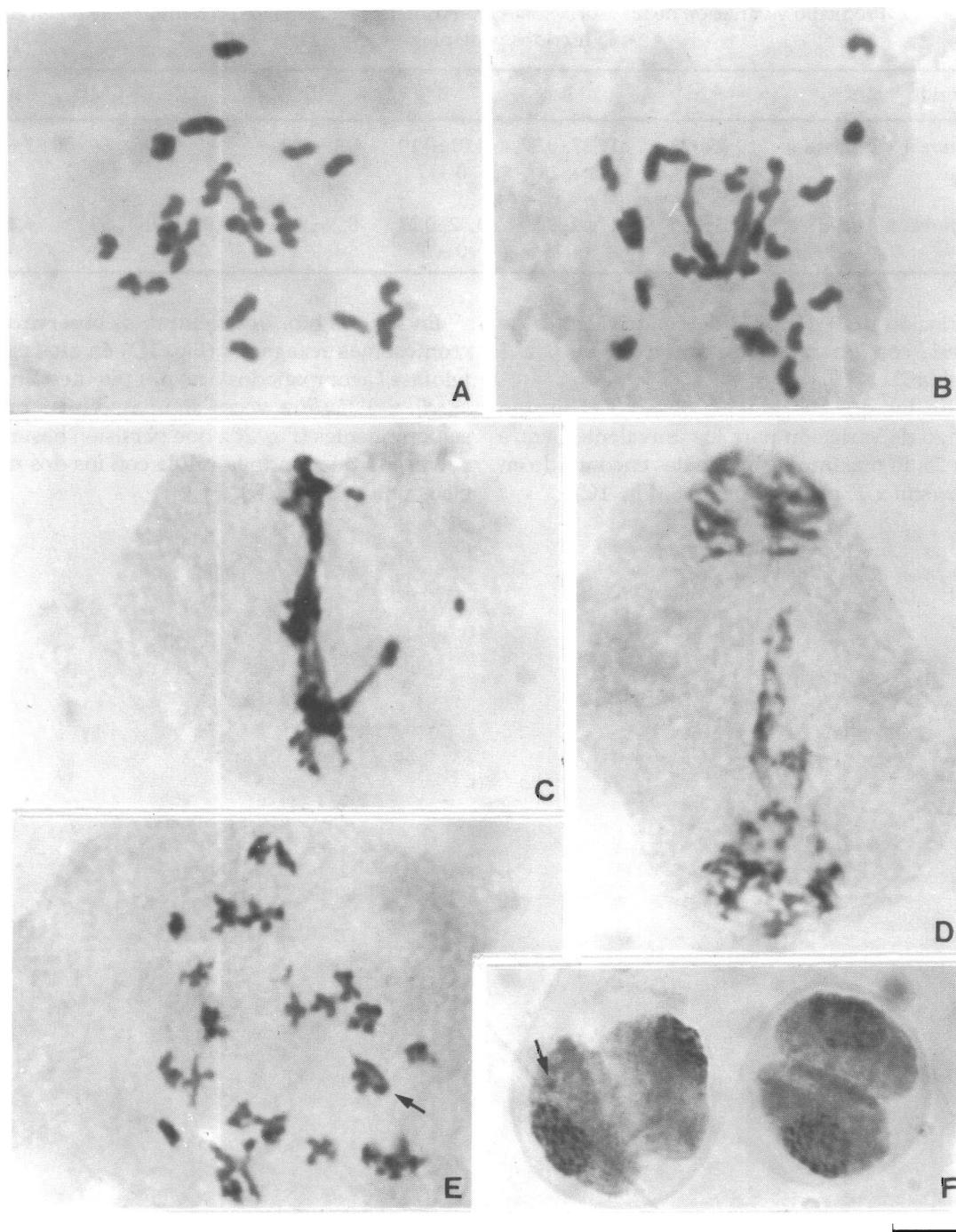


Fig. 2. Meiosis en *T. aurelii* x *T. joelii*, $2n=25$. A, metafase I con 17 I + 4 II. B, metafase I con 18 I + 2 II + 1 III. C, anafase I con puentes y fragmentos. D, profase II temprana, los dos núcleos están unidos por puentes remanentes. E, profase II con un solo núcleo con 25 cromosomas, la flecha indica un cromosoma con las cromátidas aparentemente unidas en los telómeros. F, díadas, en una de ellas se observa un micronúcleo (flecha). Escala = 5 μ m.

En algunas células, en la profase II del híbrido *T. aurelii* x *T. joelii* se observó un solo núcleo con 25 cromosomas (Fig. 2E); aparentemente, estas células no pasaron por la primera división meiótica y como resultado final produjeron diádas (27%) con 25 cromosomas (Fig. 2F). El 72% de estas diádas presentaban micronúcleos, mientras que había micronúcleos en 60,79% de las tétradas. En anafase I y II se observaron cromosomas rezagados y algunos puentes. La fertilidad del polen en los híbridos *T. aurelii* x *T. caerulea* y *T. aurelii* x *T. joelii* fue de 7,66% y 6,43% respectivamente.

Discusión

El cariotipo de las dos especies diploides está formado por 8 cromosomas metacéntricos y 2 submetacéntricos, como en las otras 8 especies diploides analizadas de la serie *Turnera* (= *Canaligeræ*), fórmula considerada como cariotipo fundamental (Solís Neffa y Fernández, 1993). Las especies se diferencian entre sí por el tamaño y posición del satélite. En *T. joelii*, el satélite es más grande que en *T. caerulea*; en ambas especies el par de cromosomas con satélite es el 1 (Solís Neffa, 1996; Solís Neffa y Fernández, 1993). A pesar de tener la misma fórmula cariotípica, hasta el presente fue imposible obtener híbridos entre ellas, lo que indica que están aisladas reproductivamente.

Es importante considerar el comportamiento de la meiosis en los híbridos de *T. aurelii* con las especies diploides. En *T. aurelii* x *T. grandiflora* la media de univalentes fue la más elevada (22,58), mientras que en *T. aurelii* x *T. krapovickasii* y x *T. concinna* la media de univalentes fue alrededor de 8 (Fernández y Arbo, 1993a). En el presente trabajo, la media de univalentes es alrededor de 17 en los dos híbridos. *T. caerulea* y *T. grandiflora* pertenecen al grupo de especies diploides con flores blanco-azuladas (Fernández y Arbo, 1996), mientras que *T. krapovickasii* y *T. concinna* pertenecen al grupo de especies diploides con flores amarillas (Fernández y Arbo, 1989), y ambos grupos pertenecen al complejo *T. ulmifolia*. *T. joelii*, a pesar de no pertenecer al complejo *T. ulmifolia*, se cruza con las especies poliploides

de este complejo, como *T. orientalis* y *T. aurelii* (Arbo y Fernández, 1987).

La morfología de los 25 cromosomas observados en profase II (Fig. 2E) en *T. aurelii* x *T. joelii*, sugiere que en estas células quedó suprimida la meiosis I, y el resultado fue la formación de diádas y de gametos no reducidos, con 25 cromosomas. Probablemente, los pocos granos de polen viables sean los no reducidos. Harlan y de Wet (1975) consideran que este tipo de gametos tiene un papel fundamental en la poliploidización y Asker (1980) opina que la función de los gametos no reducidos, es la de proveer el principal mecanismo para la formación de series poliploides. En *Turnera* ya se han obtenido híbridos interespecíficos por gametos no reducidos (Fernández y Arbo, 1990).

En trabajos previos se determinaron las fórmulas genómicas de *T. aurelii* (A²A²A²A²BBB²B²) y de *T. caerulea* (CC). Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que *T. joelii* posee un genoma diferente de los de *T. aurelii* y *T. caerulea*, por lo que se propone para esa especie la fórmula genómica DD.

Los bivalentes observados en los dos híbridos se deberían a apareamiento auto-sindético entre los cromosomas de *T. aurelii*, por ser esta especie un alooctoploide segmentario. El apareamiento se produciría entre los cromosomas de los genomas homeólogos de A o de B. Como en los dos híbridos la configuración más frecuente fue de 17 I + 4 II, es probable que en ambos híbridos estén involucrados los mismos cromosomas en la formación de los bivalentes. Es interesante destacar que en el progenitor *T. aurelii* los cromosomas homeólogos no se aparean, pero sí lo hacen en los híbridos, como ya fue observado anteriormente (Fernández y Arbo, 1993a). Los trivalentes y los cuadrivalentes probablemente se formen por translocaciones entre los genomas A y B.

Agradecimientos

Este trabajo se llevó a cabo con el apoyo económico de la SECYT-UNNE y del CONICET.

Bibliografía

- Arbo, M. M. y A. Fernández. 1987. Cruzamientos intra e interespecíficos en *Turnera*, serie *Canaligeræ*. *Bonplandia* 6 (1): 23-38.
- Asker, S. 1980. Gametophytic apomixis. Elements and genetic regulation. *Hereditas* 93: 277-293.
- Fernández, A. 1973. El ácido láctico como fijador cromosómico. *Bol. Soc. Argen. Bot.* 15 (2-3): 287-290.
- Fernández, A. 1987. Estudios cromosómicos en *Turnera* y *Piriqueta* (*Turneraceae*). *Bonplandia* 6(1): 1-21.
- Fernández, A. y M. M. Arbo. 1989. Relaciones genómicas entre cuatro especies diploides de *Turnera* con flores amarillas (Serie *Canaligeræ*). *Bonplandia* 6(2): 93-109.
- Fernández, A. y M. M. Arbo. 1990. Gametas no reducidas y relaciones genómicas en tres especies de *Turnera* (*Turneraceae*). *Darwiniana* 30 (1-4): 21-26.
- Fernández, A. y M. M. Arbo. 1993a. Relaciones genómicas entre seis especies de *Turnera* (Serie *Canaligeræ*) del Paraguay. *Candollea* 48: 305-318.
- Fernández, A. y M. M. Arbo. 1993b. Citogenética de híbridos entre *Turnera grandidentata* (4x) y *T. subulata* y *T. scabra* (2x) (*Turneraceae*). *Bonplandia* 7 (1-4): 119-127.
- Fernández, A. y M. M. Arbo. 1996. Relaciones genómicas entre las especies diploides de flores blanco-azuladas de *Turnera* (Serie *Canaligeræ*). *Bonplandia* 9(1-2): 95-102.
- Harlan, J. R. y J. M. J. de Wet. 1975. On Ö. Winge and a prayer: the origins of polyploidy. *Bot. Rev.* 41 (4): 361-390.
- Solís Neffa, V. 1996. Cariotipos de especies de *Turnera* (*Turneraceae*). *Bonplandia* 9 (1-2): 121-127.
- Solís Neffa, V. y A. Fernández. 1993. Estudios cromosómicos en especies de *Turnera* (*Turneraceae*). *Bonplandia* 7 (1-4): 101-118.
- Urban, I. 1883. Monographie der familie der Turneraceen. *Jahrb. Königl. Bot. Gart. Berlin* 2: 1-152.