

Comunicación breve

Caracterización citogenética y viabilidad del polen de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin y Clemants en la provincia de Tucumán, Argentina

C.J. Budeguer*

Cátedra de Genética, Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán. Av. Kirchner 1900, San Miguel de Tucumán, (4000), Tucumán, Argentina.

* Autor de correspondencia: carlosjbudeguer@gmail.com

Resumen

Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin y Clemants es una planta medicinal, utilizada popularmente como antihelmíntica y antiespasmódica. Existen escasos antecedentes de estudios citogenéticos de *Dysphania ambrosioides*. Los existentes, se limitan a describir el número cromosómico de especies del género *Chenopodium*, existiendo diferencias en el número cromosómico informado por diferentes autores. El objetivo de este trabajo fue determinar el número cromosómico, el comportamiento de cromosomas en meiosis y la viabilidad del polen de ejemplares de poblaciones naturales de *Dysphania ambrosioides* de la provincia de Tucumán: Lules, Leales, Raco y Horco Molle. Como resultado se observó un número cromosómico de $2n = 4x = 32$, regularidad en la meiosis y alta viabilidad del polen (99%). Esta información sería útil para propender a la conservación del germoplasma nativo y en futuros programas de domesticación o mejoramiento.

Palabras clave: medicinal, meiosis, mitosis, polen, *Dysphania ambrosioides*.

Abstract

Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin and Clemants is a medicinal plant, commonly used as antihelminthic and antispasmodic. There are few reports of cytogenetic studies in *Dysphania ambrosioides*. The existing records are limited to chromosomal number of species within the genus *Chenopodium*. There are differences among the chromosomal number reported by different authors. The aim of this study was to determine the chromosomal number, the chromosome behavior in meiosis and pollen viability of natural populations of *Dysphania ambrosioides* in four localities of Tucumán: Lules, Leales, Raco and Horco Molle. A chromosomal number of $2n = 4x = 32$ was determined, as well as meiotic regularity and high viability of pollen grain (99%). This information would be useful for the conservation of local germplasm and in futures programs of domestication and breeding of this species.

Keywords: medicinal, meiosis, mitosis, pollen, *Dysphania ambrosioides*.

Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin y Clemants (nombre vulgar: paico) es una planta medicinal, utilizada popularmente como antihelmíntica y antiespasmódica. Mosyakin y Clemants (2002), han realizado el estudio taxonómico del género *Dysphania* (Chenopodiaceae) y ubican a *Chenopodium ambrosioides* L. como sinónimo de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin y Clemants. Se trata de una planta herbácea, de porte erguido, a veces decumbente, de 0,4 a 1 m de altura (Barboza *et al.*, 2001, 2006). Está ampliamente distribuida en las regiones templadas y tropicales de todo el mundo. Crece naturalmente en los bordes de las chacras, terrenos de cultivo, bordes de los jardines y parques. Se adapta bien en terrenos arcillosos, arenosos, xerofíticos y subxerofíticos (Alban, 1984). Su ecología se relaciona con altitudes entre 0 a 2760 m.s.m. Su principio activo es el monoterpeno ascaridol (Desmachellier y Witting Schaus, 2000). En la

provincia de Tucumán se encuentra ampliamente distribuida en forma natural en las márgenes de ríos y terrenos sin cultivar. La forma más común de venta de esta hierba es como hojas secas, provenientes de plantas arrancadas por pobladores locales, lo que podría ocasionar una erosión genética del germoplasma nativo adaptado en las diferentes regiones de nuestra provincia.

Existen escasos antecedentes de estudios citogenéticos de *D. ambrosioides*. Los existentes, se limitan a describir número cromosómico de especies del género *Chenopodium* (Giusti, 1970; Cole, 1962; Darlington y Wile, 1955; Homsher, 1963; Kawatani y Ohno, 1950; Kjellmark, 1934). Sin embargo no informan sobre el comportamiento de cromosomas en meiosis ni su relación con la fertilidad. El número cromosómico de *D. ambrosioides* puede variar entre 16 y 64 (Giusti, 1970). En estudios realizados por Darlington y Wile (1955) se cita el número básico para el gé-

nero de $x = 9$ (probablemente 8). Giusti (1950) informa también que la especie es tetraploide. En España y Portugal se citan para *Chenopodium ambrosioides* L., los siguientes números cromosómicos: $2n = 32$ para España (Bjorkqvist, 1969; Silvestre, 1984) y $2n = 32$ para Portugal (Queirós, 1973). Santosh *et al.* (2011) también informan para India un número cromosómico de $2n = 32$. Estos autores señalan que hay un alto porcentaje (75%) de poliploidía en el género *Chenopodium*, encontrándose niveles de ploidía de $2x$, $4x$ y $6x$, y números básicos probables de $x = 8$ y $x = 9$.

Los estudios citogenéticos pueden aportar información valiosa desde el punto de vista de la taxonomía y caracterización de las especies nativas, a fin de contar con herramientas que permitan la domesticación de las mismas y su incorporación en futuros programas de mejoramiento, preservando de esta forma los recursos genéticos locales. Por este motivo es valioso aportar datos actualizados que permitan confirmar el número de cromosomas de poblaciones locales y estimar la relación del comportamiento meiótico con la fertilidad.

Basado en lo precedente, el objetivo de este trabajo fue determinar el número cromosómico a partir de ápices radiculares, el comportamiento de cromosomas en meiosis y la viabilidad del polen de ejemplares de *D. ambrosioides* de poblaciones naturales de la provincia de Tucumán, Argentina.

Las poblaciones naturales estudiadas se encuentran en las localidades de Lules ($26^{\circ}55'35''$ S, $65^{\circ}19'52''$ O), Leales ($27^{\circ}09'17''$ S, $65^{\circ}14'44''$ O), Horco Molle ($26^{\circ}46'46''$ S, $65^{\circ}19'33''$ O) y Raco ($26^{\circ}40'40''$ S, $65^{\circ}25'40''$ O). En cada localidad se extrajeron flores inmaduras de 5 ejemplares tomados al azar para el estudio de la meiosis y se fijaron en solución de Newcomer (alcohol isopropílico: ácido acético glacial: éter de petróleo: acetona: dioxano) (6: 3: 1: 1: 1). Los preparados se realizaron siguiendo la marcha técnica de Andrada *et al.* (1975) y Boggiatto *et al.* (1979). Se hizo un aplastado de anteras con hematoxilina acética al 2% (p/v) como colorante y citrato férrico al 1% (p/v) como mordiente. Se observaron alrededor de 50 células madres de polen de cada muestra. Las fotomicrografías se realizaron con cámara digital Cannon power Shot A640 adosada a microscopio ZEISS Axiolab. Para la observación de mitosis se realizaron preparados de ápices radiculares a partir de las mismas plantas muestreadas para meiosis. Las raíces se pre trataron con paradichlorobenceno (Paclosol) durante 2 hs 20 min a temperatura ambiente y se fijaron en solución de Carnoy (3:1) (alcohol etílico absoluto: ácido acético glacial). Se hidrolizaron durante

1 min a 57°C en ácido clorhídrico 1 N. La tinción se realizó con hematoxilina acética 2% (p/v). Se analizó la viabilidad de los granos de polen mediante la técnica de tinción con azul de algodón en lactofenol (D'Ambrogio de Argueso, 1986). Se aplastaron anteras maduras con colorante sobre un portaobjeto y se cubrió con cubreobjetos de 24×24 mm. A las 24 horas se observó en microscopio óptico a $250\times$.

En el análisis del comportamiento de los cromosomas durante la división meiótica, se observó regularidad en Metafase I (Figura 1), igual que en la división II; aunque en ésta se detectó asincronía entre algunas fases. Respecto a mitosis, los preparados citológicos de ápices radiculares revelaron un tamaño de cromosomas muy pequeño ($1,5 \mu\text{m}$ aproximadamente), característico del género, y el número de cromosomas fue de $2n = 32$ (Figura 2). En cuanto a la viabilidad de granos de polen, con la técnica utilizada se consideraron normales a los granos turgentes, bien coloreados y anormales a los deformes o sin colorear, ya que la viabilidad está altamente correlacionada con la buena formación de los granos. El conteo de granos de polen dio como resultado una alta viabilidad (99% aproximadamente) para todas las localidades analizadas (Tabla 1). También se observaron tétradas normales (Figura 3).

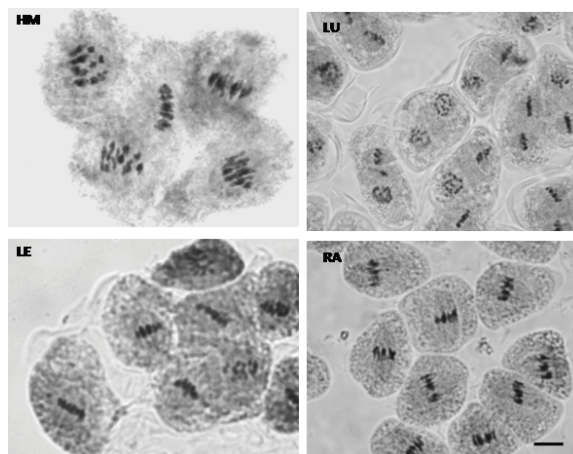


Fig. 1. *Dysphania ambrosioides*. Meiosis: metafase I. HM, Horco molle. LU, Lules, LE, Leales y RA, Raco. Barra: $5 \mu\text{m}$.

De las observaciones realizadas en las células de mitosis se pudo establecer el número cromosómico en $2n = 32$, lo que es coincidente con lo informado por Giusti (1950) para la región noroeste de Argentina. Este autor indica que el número básico es $x = 8$, por lo que la especie es tetraploide. Aunque otros autores (Darlington, 1955; Kawatani, 1950 y Santosh, 2011) indican que el número básico puede ser $x = 8$ ó $x = 9$. Por los resultados obtenidos en este estudio, se puede inferir que el número básico para las poblaciones naturales de Tucumán es de $x = 8$, coincidiendo

con Giusti respecto al grado de ploidía. El tamaño cromosómico, muy pequeño, es común en muchas especies de la familia Chenopodiaceae, y por ello, se dificulta elaborar el cariotipo, pero es posible establecer la regularidad en el comportamiento de los cromosomas en meiosis. En cuanto a la viabilidad del grano de polen, se determinó una muy alta viabilidad (99% aproximadamente), por lo que la forma más probable de multiplicación de estas poblaciones sería la reproducción sexual. No se encuentran antecedentes de determinaciones de viabilidad de polen de *D. ambrosioides* en Argentina, por lo que se considera novedoso el aporte de este estudio. Por ser una especie de ciclo anual, con una alta producción de semillas viables, la propagación mediante las mismas es un aspecto a tener en cuenta en futuros programas de conservación y/o mejoramiento del germoplasma nativo.

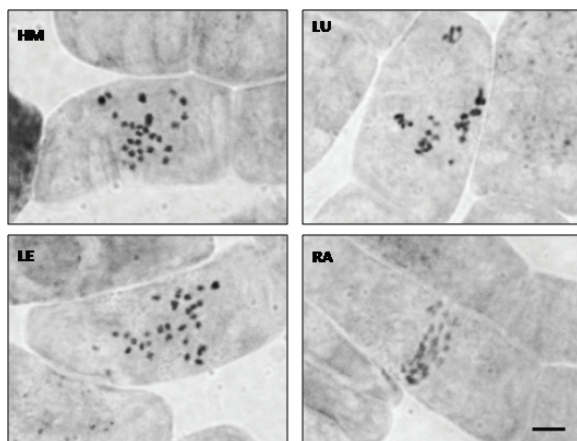


Fig. 2. *Dysphania ambrosioides*. Mitosis. Cromosomas en metafase. HM, Horco molle, LU, Lules, LE, Leales y RA, Raco. Barra: 5 μ m.

Tabla 1. Porcentaje de granos de polen viables de *Dysphania ambrosioides* determinado a partir de muestras florales de diferentes localidades de la provincia de Tucumán, Argentina.

Localidad	N° de granos viables	N° de granos no viables	% viabilidad
Leales	3819	47	98,78
Lules	3770	37	99,03
Horco Molle	2150	20	99,08
Raco	3044	16	99,48
Tafi del Valle	3151	12	99,62
Trancas	3412	11	99,68
El Naranjo	1175	14	98,82
El Sunchal	3526	17	99,52

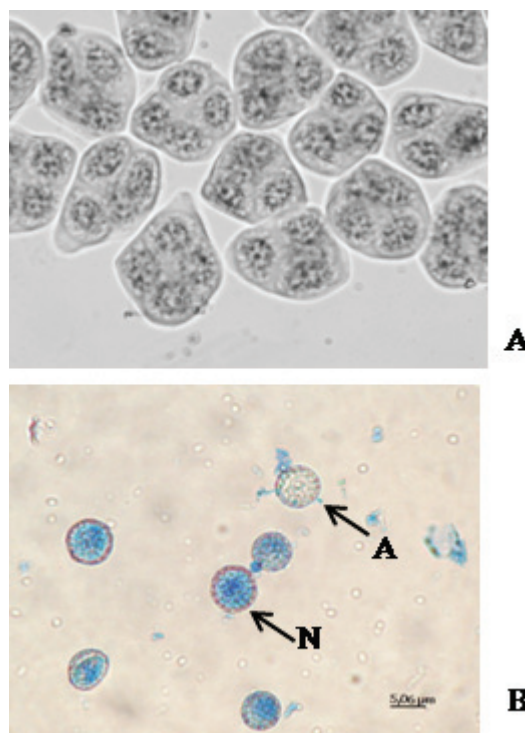


Fig. 3. *Dysphania ambrosioides*. A: tétradas. B: Granos de polen normales (N) y anormales (A). Barra: 5,06 μ m.

Referencias bibliográficas

- Alban C.J.A. (1984). Plantas Medicinales Usadas en Lima para los Trastornos Digestivos. Informe de Prácticas pre-profesionales para Optar Título Profesional, Fac. Ciencias Biológicas, UNMSM, Lima, Perú.
- Andrada B., Boggiatto A.J. L., Auad G., Collado M. (1975). Estudios citogenéticos en el híbrido intergenérico *Euchlaena perennis* Hitch. por *Zea mays* L. I. Análisis mitótico en plantas de dos generaciones. Revista Agronómica del Noroeste Argentino 12 (3-4): 323- 330.
- Barboza G.E., Bonzani N., Filippa E.M., Luján M.C., Moreno R., Bugatti, M. Decolatti N., Ariza Espinar. L. (2001). Atlas histo-morfológico de plantas de interés medicinal de uso corriente en Argentina. Edición Museo Botánico, Córdoba. 212 pp.
- Barboza G.E., Cantero J.J., Nuñez C.O., Ariza Espinar L. (2006). Flora Medicinal de la Provincia de Córdoba (Argentina). Museo Botánico de Córdoba. 1252 pp.
- Boggiatto A.J., Andrada A.B., Zamudio A.M. (1979). *Euchlaena perennis* Hitch. por *Zea mays* L. Interpretación citogenética de su fertilidad. Revista Agronómica del Noroeste Argentino 16 (1-4): 75-88.
- Bjorkqvist I., von Bothmer R., Nilsson O., Nordens-tam B. (1969). Chromosome number in Iberian angiosperms. Bot. Not. 122 (2): 271-283.
- Cole M.J. (1962). Interspecific relationship and intra-specific variation of *Chenopodium album* L. in Britain. II. The Chromosome number of C. album and other species. Watsonia. 5: 117-122.
- D' Ambrogio de Argueso A. (1986). Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Ed. Hemisferio Sur.S.A.

- 83 pp.
- Darlington C.D., Wyle A.P. (1955). Chromosome Atlas of flowering plants. George Allen & Unwin Ltd., London. 397 pp.
- Desmachelier C., Witting Schaus F. (2000). Sesenta plantas medicinales de la Amazonia Peruana. Ecología, Etnomedicina y Bioactividad. Ed. Belido.
- Giusti L. (1970). El género *Chenopodium* en Argentina I: Números de cromosomas. Darwiniana 16: 98-105.
- Homsher P.J. (1963). Cytogenetic studies in *Chenopodium*. American Journal of Botany 50 (6): 621.
- Kawatani T., Ohno T. (1950). Chromosome numbers of genus *Chenopodium*. Chromosome number of Mexican Tea (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *antihelmticum* A. Gray) and some allied species. Japanese Journal of Genetics 25: 177-180.
- Kjellmark S. (1934). Einige Neue Chromosomenzahlen in der familia *Chenopodiaceae*. Botanical Notes 136-140.
- Mosyakin, S.L., Clemants S.E. (2002). New nomenclatural combinations in *Dysphania* R. Br. (*Chenopodiaceae*) taxa occurring in North America. Ukrainian Botanical Journal 59(4): 380- 385.
- Queirós, M. 1973. Contribuição para o conhecimento citotaxonomico das Spermatophyta de Portugal IX. Cruciferae. Boletim da Sociedade Broteriana sér. 2, 47: 315-335.
- Santosh, B.; R. C. Gupta & P. B. Attri. 2011. Cytological studies on the Monochlamydeae from North India. Chromosome Botany 6: 45-51.
- Silvestre, S. 1984. Números cromosómicos para la flora española. Lagasalia 12 (2): 298-303.