

118 BOLETIN DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE BOTANICA 28(3-4) 1988

varios parámetros que los caracterizan numéricamente y que permiten cuantificar estadísticamente las diferencias. Se prestó especial atención a los cromosomas con constricciones secundarias ya que estas especies de *Festuca* (POACEAE) ENDEMICAS DE SIERRA DE LA VENTANA

Por JORGE DUBCOVSKY* y ARTURO MARTINEZ**

MATERIALES Y METODOS

Los individuos de ambas especies provienen de una sola población.

SUMMARY

Data on karyotypes and meiotic behavior from two endemic fescues (*Festuca ventanicola* Speg. and *F. pampeana* Speg.) from Sierra de la Ventana (Pcia. de Buenos Aires, Argentina) showed that the first species is an allohexaploid ($2n = 42$) and the second is an alloctoploid ($2n = 56$). Differences in their anatomy and external morphology, chromosome number, symmetry of the karyotype, degree of recombination (frequency and position of the chiasmata) and habitats suggest that the two species might well have a different origin in spite of being endemic to the same region.

An interesting feature is the fact that both species have the same number of secondary constrictions and nucleoli irrespectively of their ploidy level.

Debido a la gran similitud aparente de los cariotipos se llevó a cabo un análisis numérico de los cromosomas para lo que se estudiaron 7 placas metafásicas de cada especie. Las mediciones se realizaron en células fibrosas con cariotipos para las hibridaciones.

INTRODUCCION

Festuca ventanicola Speg. y *F. pampeana* Speg. son las únicas dos especies de este género endémicas de las Sierras de la Ventana. La primera de ellas habita entre las rocas en las cimas más elevadas de las sierras de Cura Malal y Ventana mientras que *F. pampeana* es la especie dominante de extensos pastizales en las laderas altas de orientación sur extendiéndose hasta Monte Hermoso, sobre la costa atlántica.

Para completar el estudio fenético de los dos únicos taxones nativos de Sierra de la Ventana se realizó un análisis detallado de los cromosomas y del comportamiento meiótico de ambas especies. Dada la gran simetría y uniformidad de los cariotipos se estimaron

* Lic. Jorge Dubcovsky, becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

** Dr. Arturo Martínez, investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

* ** Centro de Estudios Farmacológicos y de Principios Naturales, Serrano 665, (1414 Buenos Aires, Argentina).

varios parámetros que los caracterizan numéricamente y que permiten cuantificar estadísticamente las diferencias. Se prestó especial atención a los cromosomas con constricciones secundarias, ya que estudios previos en la especie patagónica *F. pallescens* (St. Yves) Parodi, mostraron hasta 6 pares de cromosomas con satélites (Dubcovsky y Martínez, 1987). Esta información fue complementada con el recuento del número máximo de nucleolos en células interfásicas.

MATERIALES Y METODOS

Los individuos de ambas especies provienen de una sola población para cada especie, localizadas ambas en el Co. Bahía Blanca (Sierra de la Ventana), encontrándose los respectivos ejemplares de herbario depositados en BACP.

Mitosis

Los cromosomas mitóticos se observaron en ápices de raíces pretratadas con paclisol en frío durante 20 horas. Tras la tinción con Feulgen se realizaron los aplastados en orceina acética al 2%.

Debido a la gran similitud aparente de los cariotipos se llevó a cabo un análisis numérico de los mismos para lo que se estudiaron 7 placas metafásicas de cada especie. Las mediciones se realizaron en células dibujadas con cámara clara por las dificultades que ofrece obtener numerosas placas metafásicas con todos los cromosomas en el mismo plano de enfoque en especies con alto número de los mismos. El análisis numérico se basó en las mediciones de ambos brazos de cada cromosoma y los segmentos de brazo determinados por las constricciones secundarias. Se estimaron 4 parámetros para caracterizar numéricamente el cariotipo:

$$1 - \text{Volumen cromosómico} = (\sum b_i + B_i) \times 2 \times 3.14 \times (\text{ancho}/4)^2$$

$$2 - \text{Razón entre longitud par más largo/par más corto}$$

$$3 - \text{Coeficiente de variación intercromosómico de las longitudes} \\ = S_x/X$$

$$4 - \text{Razón promedio entre brazos} = \frac{\sum \frac{b_i}{B_i}}{n}$$

b = brazo corto; B = brazo largo; n = n° de cromosomas; X = media de las longitudes cromosómicas; S_x = desviación estándar de las longitudes cromosómicas.

El cálculo de estos parámetros se realizó para cada célula obteniendo así una medida de la variabilidad de los mismos, lo que permite analizar estadísticamente la variación a nivel interespecífico. Basados en los datos numéricos se confeccionó un ideograma promedio que sintetiza las características de cada cariotipo.

Nucleolos

Para los recuentos de nucleolos en células interfásicas se tiñeron las células con una solución saturada de nitrato de plata en solución de citrato de sodio (0,008%) de acuerdo al método propuesto por Hizume y col. (1980) y a las modificaciones sugeridas por Lacadena y col. (1984).

Meiosis

El análisis de la meiosis se realizó en 25 células madres del polen (CMP) por individuo. Las espiguillas se coleccionaron a partir de plantas cultivadas en Buenos Aires, se fijaron en Carnoy y colorearon mediante orceina acética al 2%. En cada CMP se registró el número de bivalentes con 1, 2 y 3 quiasmas respectivamente y se calculó el coeficiente de terminalización = número de quiasmas terminales/número de quiasmas totales.

RESULTADOS

Cariotipos

Los resultados cromosómicos realizados en tres individuos de *F. ventanica* muestran que esta especie es hexaploide $2n = 42$ (Fig. 1A). El cariotipo de *F. ventanica* está formado por cromosomas que varían entre 2.7 y 5 μm , en su mayoría metacéntricos, excepto 3 pares submetacéntricos (Levan y col., 1964). La razón de brazos promedio (Tabla 1) muestra que el complemento es simétrico y presenta además una reducida diferencia de tamaño entre el par de cromosomas más corto y el más largo. Esta uniformidad del cariotipo también se refleja en el reducido valor del coeficiente de variación intercromosómica de las longitudes (Tabla 1). Se observaron cinco pares de cromosomas con constricciones secundarias (tres de ellas en los brazos corto) entre los 10 pares correspondientes a los cromosomas más largos del cariotipo (Fig. 2).

F. pampeana es una especie octoploide (Fig. 1B) con $2n = 56$ cromosomas cuyas longitudes presentan un rango de variación similar al de la especie anterior (2.7 y 4.7 μm). El cariotipo es simé-

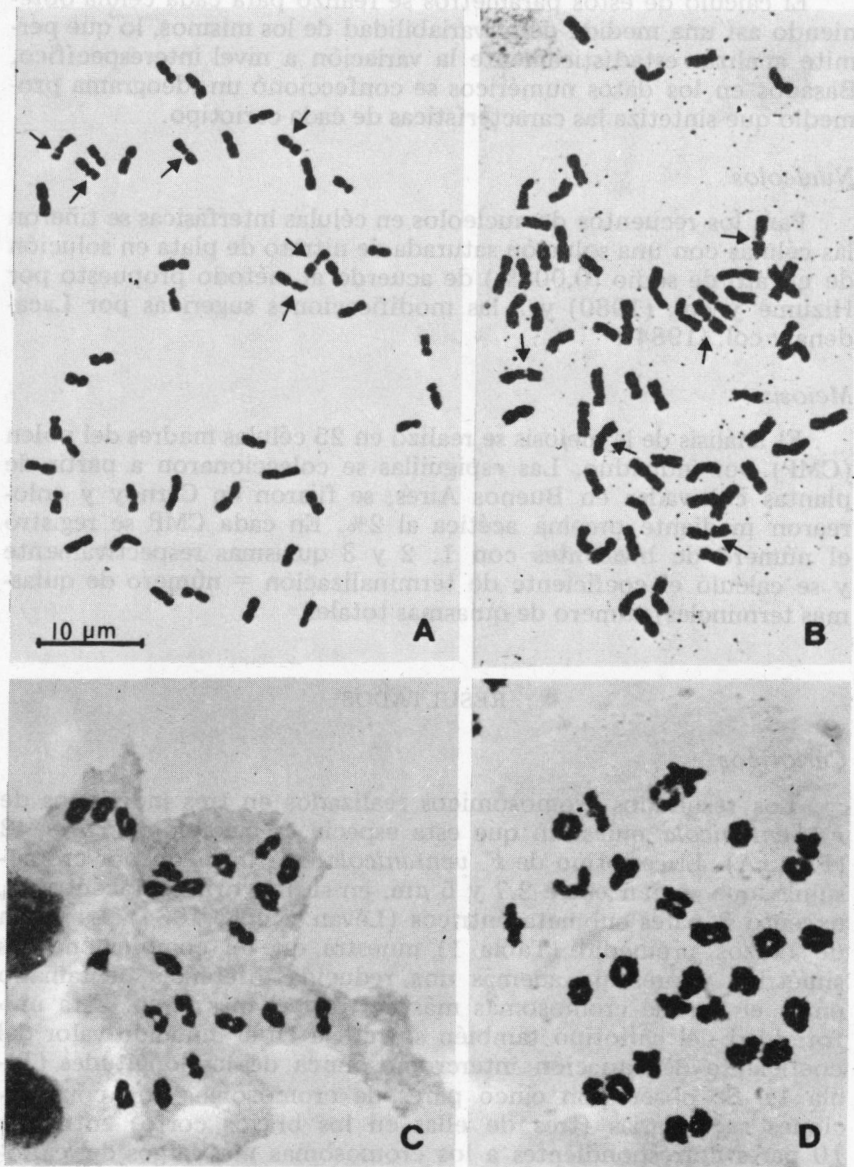
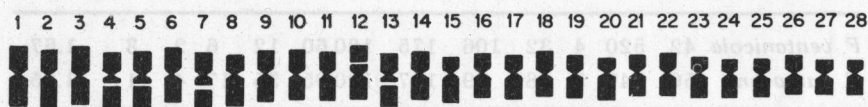


Fig. 1.- A. *F. ventanicola* ($2n = 42$); B. *F. pampeana* ($2n = 56$); C. *F. ventanicola* 21 bivs.; D. *F. pampeana* 28 bivs. (Las constricciones secundarias están señaladas con una flecha).

Tabla 1.— Descripción numérica de los cariotipos.

Parámetro	VEN	PAM	F (ANOVA)*
Razón de brazos promedio	0.751	0.738	4.9 S
C. de var. entre longitudes	0.150	0.157	1.1 NS
Razón par largo/par corto	1.67	1.73	1.2 NS
Vol. cromosómico (por genoma haploide)	10.83	10.26	0.2 NS

* Valor crítico ($\alpha = 0.05$) = 3.9.



F. pampeana



F. ventanicola

10 μ m

Fig. 2.— Ideogramas de los cariotipos promedio de *F. ventanicola* y *F. pampeana*.

trico y uniforme y está formado por 23 pares de cromosomas metacéntricos y 5 pares submetacéntricos (Fig. 2). Sin embargo, el análisis estadístico muestra que es significativamente más asimétrico que *F. ventanicola* (Tabla 1). Un resultado interesante es que el número de cromosomas con constricciones secundarias en *F. ventanicola* (hexaploide) es el mismo que el observado en *F. pampeana* (octoploide). En esta última especie se encontraron constricciones secundarias en cinco pares de los 13 de mayor tamaño del complemento. Las mismas aparecen en el brazo largo de 4 de los pares y sólo en un par en el brazo corto (Fig. 2).

Nucleolos

La presencia de numerosos pares cromosómicos con constricciones secundarias motivó el estudio del número de nucleolos en células interfásicas. Estos resultados se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2.- Número de nucleolos en células interfásicas.

Taxa	2n	Total	Número de nucleolos										Número máx. por genoma
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>F. ventanica</i>	42	520	4	32	106	175	120	60	12	6	2	3	1.67
<i>F. pampeana</i>	56	549	3	38	99	137	120	95	35	17	4	1	1.25

El número máximo de nucleolos concuerda con el número de cromosomas con constricciones secundarias observadas. Se debe destacar que ambas especies poseen un número máximo de nucleolos similar a pesar de que ambas difieren en su nivel de ploidía. Es decir, difieren en el número de nucleolos por genoma haploide.

Análisis de la meiosis

El apareamiento cromosómico se analizó en dos individuos de *F. ventanica* donde se observaron 21 bivalentes en 49 CMP, y 20 bivalentes y 2 univalentes en sólo 1 CMP de las 50 estudiadas en ambos individuos. En la Tabla 3 se muestra que *F. ventanica* presenta 2 quiasmas en el 85% de los bivalentes, formándose los quiasmas casi exclusivamente en posición distal (Fig. 1C). No se encontraron diferencias entre los dos individuos de *F. ventanica* por lo que se reunieron en un único grupo de datos en el análisis de la varianza presentado en la Tabla 3.

En *F. pampeana* se analizaron 25 CMP las cuales presentaron una media de 28 bivalentes por CMP (Fig. 1D). Si se compara con *F. ventanica* la frecuencia de quiasmas por bivalente es significativamente menor, con una mayor incidencia de bivalentes abiertos (Fig. 1C y D). Por otra parte en *F. pampeana* los quiasmas tienden a ocupar posiciones intersticiales, especialmente en los bivalentes abiertos (Fig. 1) con una frecuencia mayor. Esto se refleja en un coeficiente de terminalización significativamente menor (Tabla 3).

Tabla 3.— Análisis de la meiosis.

Especie	Quiasma por bivalente	% de bivalente con			Coeficiente de terminación
		1q	2q	3q	
<i>F. ventanica</i>	1.88	13.14	85.33	1.33	0.93
	1.89	13.14	85.14	1.71	0.96
<i>F. pampeana</i>	1.75	26.26	72.43	1.28	0.76
F (ANOVA)*	50.3 S	48.5 S	341.9 S	0.19NS	107.8 S

* Valor crítico (α 0.05) = 4.

DISCUSION

Las diferencias morfológicas y cromosómicas encontradas entre *F. ventanica* y *F. pampeana* también se corresponden con aquellas observadas en el comportamiento meiótico de los cromosomas. Si bien ambas especies son alopoliploides, ya que en ningún caso se observan multivalentes; *F. ventanica* presenta una mayor frecuencia de quiasmas por bivalente que *F. pampeana*, diferenciándose también por su posición.

La mayor frecuencia de quiasmas de *F. ventanica* con respecto a *F. pampeana* indicaría una tendencia a incrementar el nivel de recombinación de la primera especie con respecto a la segunda. Esto estaría relacionado con el modo de vida de *F. ventanica*, la cual forma poblaciones con muy pocos individuos, restringida a las cimas de los cerros más elevados.

En cambio *F. pampeana* es dominante en praderas más o menos reparadas y su alto número de individuos compensaría una disminución del nivel de recombinación causadas por una menor frecuencia de quiasmas.

Estudios biogeográficos de las Sierras de la Ventana realizados en helechos muestran que la mayoría de las especies nativas de las mismas son compartidas principalmente con la región andina y Sierras Pampeanas, en segundo lugar con la región austral antártica y en menor proporción con el Brasil meridional (De la Sota, 1967). Un patrón similar presentarían las especies endémicas de *Festuca* donde *F. ventanica* se hallaría relacionada al grupo de especies patagónicas afines a *F. pallescens* que viven en Patagonia y estaría en retracción debido al aumento de las temperaturas después de la última glaciación (Dubcovsky y Martínez, 1988). En cambio *F. pampeana*, más exitosa que *F. ventanica*, estaría

relacionada con las especies del noroeste argentino, en particular con *F. lilloi* Hackel que se extiende desde las Sierras Pampeanas hasta Jujuy (Türpe, 1969).

F. ventanicola desde el punto de vista morfológico pertenece al grupo de especies afines a *F. pallescens* (Dubcovsky y Martínez, 1988), y presenta el mismo número de cromosomas ($2n = 42$) que las dos especies patagónicas de este grupo estudiadas previamente: *F. gracillima* Hook. (Dollenz, 1978) y *F. pallescens* (Dubcovsky y Martínez, 1987). Sin embargo, el análisis de la varianza entre los valores de los cariotipos de *F. ventanicola* y *F. pallescens* mostró que la primera especie presenta una razón de brazo significativamente menor ($p < 0.01$) que la segunda, un par menos de cromosomas con constricciones secundarias y un menor número de nucleolos (Dubcovsky y Martínez, 1987). A pesar de estas diferencias, ambas especies además de compartir el mismo número de cromosomas poseen una distribución similar de las constricciones secundarias. Tanto es así, que 4 de los 5 pares de brazos cromosómicos con satélites de *F. ventanicola* coinciden con los de *F. pallescens* en la morfología como en la posición relativa que ocupan dichos pares en el cariotipo (Dubcovsky y Martínez, 1987).

En cuanto a *F. pampeana*, el análisis morfológico efectuado en las especies patagónicas mostró que esta entidad no está relacionada con ninguna nativa de esa región. En cambio observaciones realizadas en las especies del noroeste argentino sugieren que *F. pampeana* sería más afín a *F. lilloi*, coincidiendo en esta observación con Türpe (1969). Ambas especies son muy similares, no sólo morfológicamente sino también anatómicamente ya que *F. pampeana* presenta desde láminas con haces libres hasta semitrabados parecidas a las de *F. lilloi* (Dubcovsky y Martínez, 1988). La afinidad entre estas dos especies parece estar apoyada también por los datos citológicos. Recuentos cromosómicos de individuos de *F. lilloi* coleccionados en Tucumán (Dto. Tafí, El Infiernillo) muestran que esta especie es octoploide ($2n = 56$) como *F. pampeana*.

Por otra parte, el análisis numérico de 7 placas metafásicas, muestra un cariotipo simétrico (razón de brazo = 0.731) y uniforme (C. de var. entre longitudes = 0.156), observándose además en *F. lilloi* un máximo de 10 nucleolos en células interfásicas (Dubcovsky inéd.) igual a lo observado en *F. pampeana*.

La similitud en el número máximo de nucleolos y número de constricciones secundarias observadas en *F. ventanicola* y *F. pampeana*, a pesar de las diferencias en el nivel de ploidía, podría basarse en diversas causas. Entre ellas, una sería que los progenitores diploides que dieron origen a estas especies hubieran tenido diferente número de constricciones secundarias. Esta posibilidad se apoya

en la variación en el número y posición de las constricciones secundarias observadas en las especies diploides del Hemisferio Norte (Malik y Thomas, 1966). También podría explicarse por efectos de anfiplastia entre los genomas progenitores de las especies poliploides (Lacadena y col., 1984). Esto último conjuntamente con procesos de mutaciones y rearreglos estructurales, podrían haber producido la aparición o desaparición de constricciones secundarias en diversas posiciones cromosómicas.

Material estudiado: Festuca ventanicola. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires:* Pdo. Tornquist, Co. Bahía Blanca, 31-I-1985, J. Dubcovsky (BACP 2848); 16-X-1983, Bottino y Bonaná (BACP 2961); 4-I-1986, J. Dubcovsky y A. Martínez (BACP 2962).—*F. pampeana.* ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires:* Pdo. Tornquist, Co. Bahía Blanca, 31-I-1985, J. Dubcovsky (BACP 2847, 2964); 16-X-1983, Bottino y Bonaná (BACP 2963).

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido apoyado con fondos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) mediante el P.I.D. 3923705.

BIBLIOGRAFIA

- DOLLENZ, A. O. 1978. Números cromosómicos de espermatofitos de los géneros *Berberis*, *Ribes* y *Festuca*. *Anales Instituto Patagónico Punta Arenas* 9: 141-144.
- DUBCOVSKY, J. & A. J. MARTINEZ. 1987. Cariotipos y comportamiento meiótico de los cromosomas de *Festuca pallenscens* (Poaceae). *Darwiniana* 28(1-4):153-161.
- 1988. Phenetic relationships in the Festucas from Patagonia. *Can. J. Bot.* 66: 468-478.
- HIZUME, M., S. SATO & A. TANAKA. 1980. A highly reproducible method of nucleolus organizing regions staining in plants. *Stain Technol.* 55: 87-90.
- LACADENA, J. R., M. C. CERMEÑO, J. ORELLANA & J. L. SANTOS. 1984. Evidence for wheat-rye nucleolar competition (amphiplasty) in triticales by silver-staining procedure. *Theor. Appl. Genet.* 67: 207-213.
- LEVAN, A., K. FREDGE & A. A. SANDBERG. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- MALIK, C. P. & P. T. THOMAS. 1966. Karyotypic studies in some *Lolium* and *Festuca* species *Caryologia* 19: 167-196.
- TURPE, A. M. 1969. Las especies argentinas de *Festuca*. Excluidas las patagónicas. *Darwiniana* 15: 189-283.