



Patrones de configuraciones meióticas en poblaciones de *Odontophrynus cordobae* y *O. americanus* (Anura: Cycloramphidae), en el área central de Argentina.

SALAS, N. & A. L. MARTINO

¹Ecología - Educación Ambiental, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional N° 36, Km 601 (X5804BYA) Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

nsalas@exa.unrc.edu.ar

SUMMARY

In this work, we have observed and evaluated the intra- and inter-specific variations of the meiotic configurations of the *Odontophrynus americanus* and *O. cordobae* spermatocytes. The chromosomal preparations were obtained from standard techniques and they were taken from a sample of 30 *O. americanus* males of five populations from the province of Córdoba, three from San Luis and nine *O. cordobae* males of four populations from the province of Córdoba. The populations of *O. cordobae* show a regular meiotic behavior and they form 11 II, while the populations of *O. americanus* form an important diversity of multivalent configurations. The most representative configuration was 6 IV, 10 II with a 34.78 % of frequency. The high diversity of meiotic figures is mainly seen in the populations of diploid and tetraploid *Odontophrynus* which are in syntopy, while the populations which are away among themselves are very low in diversity. It is important to take into account the observation of the meiotic chromosomes when analyzing the polyploid populations which are distributed near to their diploid populations.

RESUMEN

En este trabajo, hemos observado y evaluado la variación intra e interespecífica en las configuraciones meióticas de los espermatoцитos de *Odontophrynus americanus* y *O. cordobae*. Los preparados cromosómicos se obtuvieron con técnicas estándares, sobre una muestra de 30 machos de *O. americanus* de cinco poblaciones de la provincia de Córdoba y tres de la provincia de San Luis y nueve machos de *O. cordobae* de cuatro localidades de la provincia de Córdoba. Las poblaciones de *O. cordobae* muestran un comportamiento meiótico regular formando 11 II, mientras que las poblaciones de *O. americanus* formaron un importante diversidad de configuraciones multivalentes. La configuración más representada fue 6 IV 10 II con un 34.78 % de frecuencia. La diversidad de figuras meióticas observadas, es elevada en las áreas en donde las poblaciones de *Odontophrynus* diploides y tetraploides se desarrollan en sintopía, mientras que las poblaciones alejadas entre si, presentan una diversidad baja. La observación de los cromosomas meióticos es un importante aspecto a tener en cuenta en poblaciones poliploides con distribución geográfica cercana a poblaciones diploides.

Palabras claves: Configuraciones meióticas, *Odontophrynus cordobae*, *O. americanus*.

INTRODUCCIÓN

Los procesos meióticos han sido estudiados en diferentes familias de Anuros, especialmente las líneas germinales de los machos, mientras que en las hembras, la meiosis solo se conoce para algunos géneros (Morescalchi, 1973; Rahn & Martínez, 1983).

Numerosos estudios citogenéticos, principalmente mitóticos, han sido realizados en diferentes especies del género *Odontophrynus* (Beçak et al., 1966; Beçak et al., 1970 a y b; Ruiz, 1980; Cei et al., 1982; Ruiz et al., 1982; Schmid et al., 1985; Salas et al., 2000; Salas, 2006). La mayoría de estos estudios emplearon técnicas convencionales y diferentes tipos de bandas, especialmente C y NOR (Ruiz & Beçak, 1976 a y b; Ruiz et al., 1980 y 1981; Schmid et al., 1985; Salas et al., 2000).

Estudios de cromosomas meióticos se han realizado tanto en poblaciones diploides como tetraploides de la especie *O. americanus* de Brasil (Beçak et al., 1966; Beçak et al., 1967), y de Argentina (Rahn & Martínez, 1983; Schmid et al., 1985). Para la especie *O. cordobae* se han descrito los cromosomas mitóticos y meióticos (Salas & Martino, 2007).

O. americanus presenta una amplia distribución (17 provincias del territorio argentino) así como también en el sureste de Brasil, sur de Paraguay y Uruguay. Vive en una diversa variedad de hábitats, a diferencia de *O. cordobae* que se encuentra fundamentalmente en áreas pedemontanas y serranas del área central de Argentina (Martino & Sinsch, 2002; Rosset et al., 2006).

Al igual que en especies vegetales autoploides (Stebbins, 1971; Grant, 1989), la mayoría de las especies de anuros autoploides de reciente origen se caracterizan por la existencia de configuraciones meióticas multivalentes (Tymowska, 1991). Debido a la importancia del estudio y análisis de las figuras meióticas, en este trabajo se analiza su variación y frecuencia en diferentes poblaciones de *O. americanus* y *O. cordobae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el análisis de 24 machos de *O. americanus* correspondiente a cinco poblaciones de la provincia de Córdoba, El Cano (32° 37'S-64° 35'W), Gigena (32° 46'S-64° 21'W), Espinillo (33° 01'S-64° 21'W), Río Cuarto (33° 08'S-64° 22'W) y Sampacho (33° 25'S-64° 46'W); y seis machos de tres localidades de la provincia de San Luis, Punilla (33° 13'S-65° 08'W), Papagayos (32° 48'S-65° 01'W) y Merlo, (32° 21'S-65° 02'W); y nueve machos de *O. cordobae* de cuatro localidades de la provincia de Córdoba, Villa Las Rosas (31° 56'S-65° 02'W), Santa Rosa de Calamuchita (32° 04'S-64° 31'W), Elena (32° 34'S-64° 22'W) y Rodeo Viejo (32° 21'S-64° 40'W).

Los preparados cromosómicos se obtuvieron con las técnicas citogenéticas convencionales de suspensión celular de testículos (Schmid, 1978).

Las imágenes digitales analizadas fueron obtenidas mediante una cámara digital y microscopio óptico Axiocam HRc Zeiss utilizando el software Axio Vision™ versión 4.3. Se analizaron un promedio de 40 figuras meióticas por cada población estudiada, calculando el porcentaje, la media, el error estándar y el rango de los diferentes patrones de configuraciones meióticas encontrados.

RESULTADOS

El comportamiento meiótico de los cromosomas durante la profase I, en todas las poblaciones de *O. cordobae*, mostraron la presencia de bivalentes en el 100 % de las células observadas (Figura 1 a-d, Tabla 1). Mientras que para *O. americanus* se observaron diferentes configuraciones meióticas en la mayoría de las localidades, siendo El Cano la localidad que presenta la mayor diversidad (Figura 2, Tabla 1 y 2). La configuración más frecuente se encuentra representada por 6 IV 10 II con un 34.78 % de frecuencia (Figura 3). Los diferentes estadísticos calculados, medias, error estándar y rangos, se encuentran en la Tabla 2. El sitio El Cano presenta el promedio

más elevado de bivalentes (6.69) con un promedio de cuadrivalentes de 7.63, representando además, la única población con monovalentes y trivalentes. Las poblaciones de Papagayos y Merlo tienen un promedio de 5.91 y 5.11 respectivamente, mientras que en la localidad de Espinillo el promedio de bivalentes observado es el más bajo (0.76). Las localidades de Gigena y Río Cuarto presentan valores intermedios (3 y 3.71) respectivamente, mientras que las poblaciones de Sampacho y Punilla no presentan ninguna figura meiótica con bivalentes (Tabla 1 y 2).

Localidad	Ploidía	Configuración	Porcentajes (%)
Villa Las Rosas	22	11 II	100
Santa Rosa de Calamuchita	22	11 II	100
Elena	22	11 II	100
Rodeo Viejo	22	11 II	100
		11 IV	23.90
		10 IV, 2 II	2.17
		9 IV, 4 II	4.34
		8 IV, 6 II	10.86
El Cano	44	7 IV, 8 II	10.86
		6 IV, 10 II	34.78
		5 IV, 12 II	8.69
		4 IV, 14 II	2.17
		7 IV, 6 II, 1 III, 1 I	2.17
		11 IV	50
Gigena	44	8 IV, 6 II	50
		11 IV	73.80
Espinillo	44	10 IV, 2 II	20.25
		8 IV, 6 II	5.95
		11 IV	64.28
Río Cuarto	44	7 IV, 8 II	21.42
		4 IV, 14 II	14.28
Sampacho	44	11 IV	100
Punilla	44	11 IV	100
		11 IV	12.50
Papagayos	44	10 IV, 2 II	12.50
		8 IV, 6 II	16.66
		7 IV, 8 II	58.33
		11 IV	48.83
Merlo	44	6 IV, 10 II	51.16

Tabla I. Ploidía, patrones y porcentajes de configuraciones meióticas (CM) de *O. cordobae* y *O. americanus*.

Localidades	I	II	III	IV	Nº de Células Observadas
El Cano	0,02±0,02 0-1	6,69±0,65 0-14	0,02±0,02 0-1	7,63±0,32 4-11	46
Gigena	-	3,0±0,45 0-6	-	9,5±0,22 8-11	44
Espinillo	-	0,76±0,16 0-6	-	10,61±0,08 8-11	84
Río Cuarto	-	3,71±1,46 0-14	-	9,14±0,73 4-11	14
Sampacho	-	-	-	11,00±0,00 11-11	19
Punilla	-	-	-	11,00±0,00 11-11	7
Papagayos	-	5,91±0,61 0-8	-	8,04±0,30 7-11	24
Merlo	-	5,11±0,77 0-10	-	8,44±0,38 6-11	43

Tabla II. Asociación cromosómica observada en Diacinesis en *O. americanus*. Se representan la media, el error estándar y el rango.

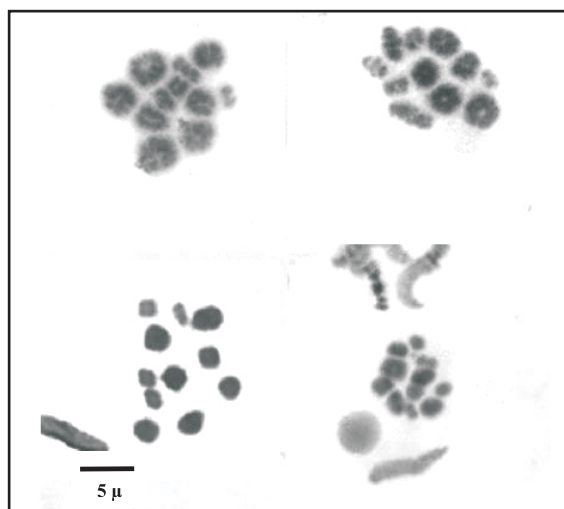


Figura 1. Configuraciones meióticas de las localidades de Elena (a), Villa Las Rosas (b), Santa Rosa de Calamuchita (c) y Rodeo Viejo (d).

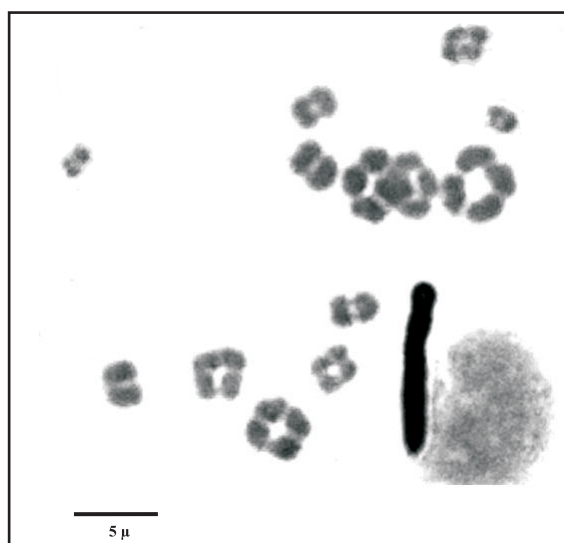


Figura 2. Configuración meiótica 8 IV 6 II, Localidad El Cano

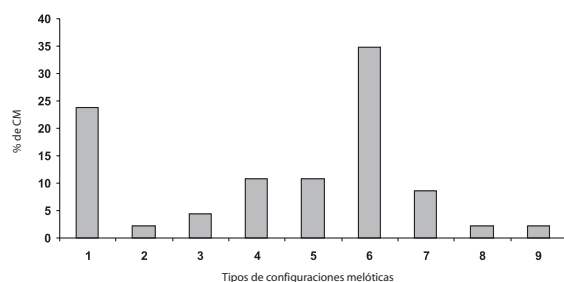


Figura 3. Porcentajes de CM de la localidad de El Cano. 1. 11 IV; 2. 10 IV, 2 II; 3. 9 IV, 4 II; 4. 8 IV, 6 II; 5. 7 IV, 8 II; 6. 6 IV, 10 II; 7. 5 IV, 12 II; 8. 4 IV, 14 II; 9. 7 IV, 6 II, 1 III, 1 I.

DISCUSIÓN

Los estudios de los cromosomas mitóticos y meióticos en *O. americanus* y *O. cordobae* han permitido realizar valiosos aportes al conocimiento de la biología de estas especies, (Beçak et al., 1967; Beçak et al., 1970a; Rhan & Martinez, 1983; Schmid et al., 1985; Salas & Martino, 2007).

En este trabajo, hemos observado y evaluado una importante variación intra e interespecífica en las configuraciones meióticas de los espermatoцитos de ambas especies. Las poblaciones de *O. cordobae* muestran un comportamiento meiótico regular formando 11 II, mientras que las poblaciones de *O. americanus* formaron un importante diversidad de configuraciones multivalentes.

Esta diversidad en los patrones de configuraciones meióticas, también fue observada por Beçak et al., 1967 para *O. americanus* en tres localidades del Estado de San Pablo en Brasil. Sin embargo, de las 14 figuras meióticas descritas en aquel trabajo, solamente ocho coinciden con nuestros resultados.

Rhan y Martinez (1983) estudiaron dos poblaciones de *O. americanus* de Uruguay y dos poblaciones de Argentina (Buenos Aires y Santiago del Estero). Pero la población de Santiago del Estero no correspondería a la especie *O. cordobae* sino que pertenecería a *O. lavillai*. Los mencionados autores reportaron 11 configuraciones meióticas para la especie tetraploide, de las cuales tres no fueron encontradas por nosotros.

Los resultados obtenidos (Tabla 1 y 2) muestran que la configuración que se encuentra con mayor frecuencia y siempre presente en todas las localidades analizadas corresponde a la 11 IV. Mientras que en las localidades de El Cano y Merlo la figura meiótica más frecuente corresponde a la 6 IV 10 II. En el sitio Papagayos, la configuración 7 IV 8 II se presenta como la más frecuente.

En el área en donde las poblaciones se encuentran cercanas o en contacto con las poblaciones diploides (El Cano), las variantes observadas

en las ocho localidades estudiadas presentan una diversidad de nueve configuraciones meióticas. Mientras que las poblaciones de Sampacho y Punilla se muestran invariantes. El resto de las localidades, Gigena, Espinillo, Río Cuarto, Papagayos y Merlo, presentan una diversidad menor de figuras meióticas. La diversidad de figuras meióticas observadas, es elevada en las áreas en donde las poblaciones de *Odontophrynus* diploides y tetraploides se desarrollan en sintopía, mientras que las poblaciones alejadas entre sí, presentan una diversidad baja de configuraciones meióticas.

Diversos autores destacan que aquellos individuos autoploides, de reciente origen, muestran una elevada frecuencia de multivalentes durante la meiosis. Sin embargo, a través del tiempo, los autoploides tienden a comportarse como diploides formando un número mayor de figuras bivalentes (Stebbins, 1971; Grant, 1989; Tymowska, 1991).

En nuestro trabajo, los resultados observados mostraron que las poblaciones tetraploides presentan un gradiente de figuras meióticas bivalentes, siendo la población de El Cano, aquella que presenta el mayor promedio. Geográficamente, se localiza más próxima a la distribución de las poblaciones diploides, lo cual estaría relacionándola con un origen más antiguo respecto a las demás poblaciones tetraploides estudiadas.

La observación de los cromosomas meióticos es un importante aspecto a tener en cuenta en poblaciones poliploides con distribución geográfica cercana a sus contrapartidas diploides. El análisis citogenético, a través del comportamiento de los cromosomas meióticos, pueden contribuir al conocimiento de los procesos de especiación. Procesos que potencialmente pueden estar ocurriendo en áreas de contacto de poblaciones diplo-tetraploides de *O. cordobae* y *O. americanus*.

AGRADECIMIENTOS

A los Licenciados Pablo Grenat, Julián Valetti y Lucio Zavala Gallo por proveer los especíme-

nes con los que hemos trabajado. A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto (SECyT-UNRC) por los fondos del programa PPI 18/C288.

REFERENCIAS

- BEÇAK, M. L., W. BEÇAK & M. N. RABELLO. (1966). Cytological evidence of constant tetraploidy in the bisexual south american frog *Odontophrynus americanus*. *Chromosoma*, 19: 188-193.
- BEÇAK, M. L., W. BEÇAK & M. N. RABELLO. (1967). Further studies on polyploid amphibians (Ceratophryidae). I. Mitotic and meiotic aspects. *Chromosoma*, 22: 192-201.
- BEÇAK, M. L., W. BEÇAK & L. D. VIZOTTO. (1970a). A diploid population of the polyploid amphibian *Odontophrynus americanus* and an artificial intraspecific triploid hybrid. *Experientia*, 26: 545-546.
- BEÇAK, M. L., L. DENARO & W. BEÇAK. (1970b). Polyploidy and mechanisms of karyotypic diversification in Amphibia. *Cytogenetics*, 9: 225-238.
- CEI, J. M., I. R. G. RUIZ & W. BEÇAK. (1982). *Odontophrynus barrioi*, a new species of Anuran from Argentina. *Journal of Herpetology*, 16(2): 97-102.
- GRANT, V. (1989). *Especiación Vegetal*. Editorial Limusa. Mexico.
- MARTINO, A. L. & U. SINSCH. (2002). Speciation by polyploidy in *Odontophrynus americanus* *J. Zool. Lond.* 257: 67-81.
- MORESCALCHI, A. (1973). Amphibia. In *Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution*. (A.B. Chiarelli and E. Capanna) Acad. Press, London, N.Y., 233-424.
- RAHN, I. M. & MARTINEZ A. (1983). Chromosome pairing in female and male diploid and polyploid anurans (Amphibia) from South America. *Canadian journal of genetics and cytology*, 25 (5): 487-494
- ROSSET, S., D. BALDO, C. LANZONE AND N. G. BASSO. (2006). Review of the geographic distribution of diploid and tetraploid populations of the *Odontophrynus americanus* species complex (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Herpetology*. 40 (4): 465-477.
- RUIZ, I. R. G. & W. BEÇAK. (1976a). Further studies on polyploid amphibians . V. C-banding in diploid and tetraploid species of *Odontophrynus*. *Chromosoma*, 54: 69-74.
- RUIZ, I. R. G. & W. BEÇAK. (1976b). Polimorfismo de constricao secundaria e banda C em cromossomos de anfibios tetraploides *Odontophrynus americanus*. *Cienc. e Cult. supl.*, 28(7): 247.
- RUIZ, I. R. G. (1980). Heterocromatina constitutiva e organizadores nucleolares em anfibios do genero *Odontophrynus*. Tese apresentada ao Instituto de Biociencias da Universidade de Sao Pablo. 143 pp.
- RUIZ, I. R. G., M. F. BONALDO & W. BEÇAK. (1980). In situ localization of ribosomal genes in a natural triploid of *Odontophrynus* (Amphibia- Anura). *J. Hered.*, 71: 55-57.
- RUIZ, I. R. G., M. SOMA & W. BEÇAK. (1981). Nucleolar organizer regions and constitutive heterochromatin in polyploid of the genus *Odontophrynus* (Amphibia, Anura). *Cytogenet. Cell. Genet.*, 29: 84-98.
- RUIZ, I. R. G., J. M. CEI & W. BEÇAK. (1982). Chromosomal evolution in allopatric populations of the *Odontophrynus occidentalis* group (Amphibia, Anura) from western Argentina. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 33: 303-311.
- SALAS, N.E., STEINLEIN, C. & SCHMID, M. (2000). Karyotype of *Odontophrynus achalensis* (Anura, Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, 21: 495-498.
- SALAS, N.E. (2006). Análisis cromosómico de *Odontophrynus americanus*, *O. achalensis*, *O. cordobae* y *O. occidentalis* (Anura, Leptodactylidae) de la provincia de Córdoba, Argentina. *Rev. Esp. Herp.* 20, 13-38.
- SALAS, N.E. & MARTINO, A.L. (2007). Cariotipo de *Odontophrynus cordobae* Martino & Sinsch, 2002 (Anura, Leptodactylidae). *Journal of basic and applied genetics* 18, 1-5.

- SCHMID, M. (1978). Chromosome banding in Amphibia I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Bufo and Hyla. *Chromosoma* 66: 381-388.
- SCHMID, M.; T. HAAF & W. SCHEMPP. (1985). Chromosome banding in Amphibia IX. The polyploid karyotypes of *Odontophrynus americanus* and *Ceratophrys ornata* (Anura, Leptodactylidae). *Chromosoma*, 91: 172-182.
- STEBBINS, G.L. (1971). Chromosomal evolution in higher plants. (E. Arnold Publ.), London.
- TYMOWSKA, J. (1991). Polyploidy and cytogenetic variation in frogs of the genus *Xenopus*. In *Amphibian Cytogenetics and Evolution*, (D. M. Green and S. K. Sessions). Academic Press, San Diego, CA, 259-297.