



CV 1

DISTRIBUTION OF CENTROMERIC SATELLITE DNA (GLA'S CEN) IN INTERSPECIFIC HYBRIDS BETWEEN *Cenchrus americanus* (L.) R. BROWN AND *Cenchrus purpureus* SCHUMACH.

Silvestrini A.J.A.¹, G.T. Braz², G.A. Torres¹. ¹Universidade Federal de Lavras, Brasil; ²Michigan State University, USA.
gatorres@ufla.br

Elephant grass (*Cenchrus purpureus*, $2n=4x=28$) is an important forage that can be crossed with pearl millet (*Cenchrus americanus*, $2n=2x=14$) to combine traits of interest. However, the hybrids are sterile triploid plants ($2n=3x=21$). Artificial duplication of triploid hybrid to restore fertility produce either hexaploid or mixoploid hybrids. Mixoploidy is the result of a random biparental elimination of chromosomes, which may be related to centromere dysfunction after chromosome duplication, as the triploid did not show chromosome elimination. Thus, the objective of this work was to verify the distribution of the centromeric satellite gla'scen isolated from *C. americanus* in the triploid and hexaploid hybrids. Slides containing root meristems of the hybrids were made by the air drying method. Fluorescent *in situ* hybridization technique was used to localize gla'scen probes labeled with digoxigenin by nick translation and detected with antibody conjugated with rhodamine. The chromosomes were counterstained with DAPI, and the images captured on Olympus BX60 epifluorescence microscope. Triploid hybrids showed $2n=3x=21$ chromosomes, and gla'scen sequence were localized in all chromosomes, with different signal intensities, as described for parental species. For hexaploid hybrid, cells with full complement showed pattern similar to the triploids. The results indicate that neither the hybrid condition nor the duplication of chromosomes affected centromeric DNA organization in the interspecific hybrids.

CV 2

EVALUACIÓN CITOGÉNÉTICA DEL PASTO KIKUYO EN REGIONES DEL DEPARTAMENTO ANTIOQUIA, COLOMBIA

Arango J., J. López, S. Villa, A. López, J. Echeverri. ¹Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
jarangog@unal.edu.co

Cenchrus es un género que incluye forrajes cultivados para pastoreo como *C. ciliaris* (zacate buffel), *C. setiger* y *C. pennisetiformis*. Uno de los más importantes es el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* Hoehst. Ex Chiov.). La citogenética sirve como apoyo para la caracterización, delimitación entre géneros, especies y además para la determinación de relaciones filogenéticas. Debido a que hay poca información sobre aspectos citogenéticos de este forraje el objetivo de este trabajo fue determinar su dotación cromosómica y el nivel de ploidía de muestras provenientes de diferentes regiones del departamento de Antioquia, Colombia con el fin de contribuir a la comprensión y caracterización de este importante recurso. Se analizaron muestras de pasto kikuyo en diferentes municipios de las zonas oriente, norte, suroeste y Valle de Aburra del departamento de Antioquia. Para establecer el número cromosómico y ploidía se realizaron extendidos cromosómicos de raíces y botones florales respectivamente. Adicionalmente se realizaron pruebas para verificación de ploidía con amplificación de secuencias microsátélites. El análisis molecular y citogenético, mostró homogeneidad en todas las zonas evaluadas, evidenciando la presencia de la variedad diploide de esta especie con una constitución de 36 cromosomas. Sin embargo, la hipótesis de variedades poliploides en poca frecuencia no se descarta.

DYNAMICS OF CHROMOSOMES BEARING 35S rDNA SITES DURING MEIOSIS OF ANEUPLOID *Urochloa* P. BEAUV HYBRID

Rocha M.J.D.¹, R.B. Chiavegatto¹, F.D. Souza Sobrinho², V.H. Techio¹.
¹Universidade Federal de Lavras, Brazil; ²Embrapa Gado de Leite, Brazil.
 marajanerocha@gmail.com

The genus *Urochloa* (sin. *Brachiaria*) comprises species of great importance as tropical forages. One of the main breeding strategies is the production of interspecific hybrids, among which aneuploids have been identified. These hybrids can be used to investigate the genetic composition and inheritance of chromosomes. An aneuploid hybrid ($2x=4x=36+2$, genome $B^1B^2B^2B^2$) obtained from the crossing between *U. ruziziensis* x *U. decumbens* displayed, via fluorescent *in situ* hybridization (FISH), one of the extra chromosomes bearing a 35S rDNA site. The aim of this study was to analyze the meiotic pairing, inheritance patterns and behavior of the extra chromosome bearing a 35S rDNA site in meiosis of the aneuploid hybrid. In diakinesis, variations between three and five 35S rDNA FISH signals have been evidenced, and five chromosomes bearing signals have been confirmed in metaphase I. Analysis in various meiocytes demonstrated that these chromosomes present different pairing configurations, forming bivalents and univalents. These chromosomes also appeared, at low frequency, non-oriented in metaphase I and laggard in anaphase I, although as meiosis progressed they were able to reach the nuclei in formation. Two to five 35S rDNA FISH signals per nucleus were observed in prophase II and microspores. The number of FISH signals inferior to five, as seen in diakinesis, prophase II and microspores is due to the fusion of sites caused by the juxtaposition of chromosomes. Results indicate that the chromosomes bearing 35S rDNA sites have not been eliminated during meiosis.

INTROGRESIÓN DE *Thinopyrum ponticum* EN LÍNEAS SELECTAS DE TRICEPIRO: RESULTADOS INICIALES

Castillo E.^{1,2}, J. Orellana Saavedra³, E. Grassi^{1,2}, F. Arroyo Yebras³, H.E. Di Santo^{1,2}, D.J. Vega^{2,4}, A. Ferreira^{1,2}, V. Ferreira¹.
¹Genética, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina; ²Instituto de Investigaciones en Agrobiotecnología, Argentina; ³Departamento de Biotecnología y Biología Vegetal ETSIAA y Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, España; ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
 ecastillo@ayv.unrc.edu.ar

La hibridación interespecífica es un método para incorporar caracteres deseables en germoplasma de interés agronómico. Variedades comerciales de triticales (*Triticum* x *Secale*) obtenidas en la Universidad Nacional de Río Cuarto y combinaciones de *Triticum-Secale-Thinopyrum*, constituyen probados recursos forrajeros. En este trabajo se presentan resultados iniciales obtenidos por técnicas de citogenética molecular de cinco cruzas de tricepiro utilizando como progenitores femeninos los triticales Cayú-UNRC, Tizné-UNRC y Ñinca-UNRC (todos $2n=6x=42$) y dos trigopiros como progenitores masculinos, Don Noé-INTA ($2n=8x=56$) y SH16-INTA ($2n=6x=42$), ambos portadores del genomio J. La introgresión del género *Thinopyrum* (agropiro) se estudió utilizando hibridación *in situ* (GISH) en preparaciones mitóticas, empleado sondas de ADN genómico marcadas (con digoxigenina o biotina) de *Thinopyrum ponticum* y *Secale cereale*. Se analizaron en promedio 12 células (RV: 10-14) de las cruzas entre Cayú-UNRC x SH16-INTA y de Tizné y Ñinca-UNRC con ambos trigopiros. Las células con marca fluorescente sugieren que las cruzas con Don Noé-INTA retuvieron mayor proporción de germoplasma de *Thinopyrum* que las cruzas con SH16-INTA (95% vs. 73% respectivamente). Entre los triticales, el que mostró mayor proporción de células con introgresión fue Tizné (95%) frente a Ñinca y Cayú (78% y 75%, respectivamente). Estos estudios iniciales sugieren que la introgresión de *Thinopyrum* es diferente según la cruce y pueden contribuir a explicar la variación fenotípica observada en las líneas de tricepiro.

CV 5

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE TRIGO TRANSGÉNICO (*Triticum aestivum* L.) UTILIZANDO HIBRIDACIÓN *IN SITU* FLUORESCENTE (FISH)

Auteri M.T.^{1,2,3}, M.D.B. Garibotto^{2,3}, M. Nieves^{3,4}, M. Fradkin^{3,5}, M.C. Giardini², P.D. Faccio^{1,2}, A.Y. Beznec^{1,2}, A.E. Bossio^{1,2}. ¹Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón, Argentina; ²Instituto de Genética "Ewald A. Favret", CICVyA, INTA, Argentina; ³CONICET, Argentina; ⁴Grupo de Investigación en Biología Evolutiva (GIBE), Departamento EGE-IEGEB, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Argentina; ⁵Cátedra de Mejoramiento Genético, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Argentina. micolauteri@yahoo.com.ar

La técnica de *FISH* permite identificar cromosomas y/o detectar segmentos cromosómicos mediante el uso de sondas de secuencias cortas de ADN. Dada su precisión, esta técnica surge como opción para la caracterización de inserciones de transgenes en trigos genéticamente modificados, en reemplazo del *Southernblot*. El objetivo de este trabajo fue establecer un protocolo de *FISH* para la detección específica de transgenes insertos en plantas de trigo. En este trabajo se utilizaron dos genotipos transgénicos, denominados TR1 y TR4, y uno *wild type*. Se evaluaron 3 protocolos para la obtención de preparados cromosómicos. De los tres, el tercero, donde se utiliza una mezcla de enzimas, permitió obtener metafases mitóticas óptimas, sin cromosomas superpuestos, sin pared celular ni restos de citoplasma. Sobre éstos se evaluaron 4 protocolos de hibridación que combinaban una sonda específica sobre el transgén con una sonda control sobre una secuencia endógena. Con el protocolo 3 se lograron hibridaciones específicas sobre los transgenes y sobre la secuencia control, en ambos genotipos transgénicos. Se determinó el número de inserciones del transgén en cada genotipo, observando dos señales de la sonda para TR1 y diez para TR4, así como la localización cromosómica de los mismos. Los resultados avalan el reemplazo de la laboriosa técnica *SouthernBlot* por la de *FISH*.

CV 6

FLOWERING TIME AND MAIZE HETEROCHROMATIC KNOBS: PROSPECTS IN THE LIGHT OF CYTOGENETICS

Carvalho R.F.¹, S.C. Menuzzo Molina¹, M.L.R. Aguiar Perecin¹, R. Friche Neto¹, M. Mondin¹. ¹Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Brasil. carvalho.rf@usp.br

Flowering time (FT) is one of the most important agronomic traits for several crop plants, including maize. The maize karyotype is remarkable by the presence of heterochromatic knobs and their variability among the germplasm. A long time a relationship between FT and knob's variability has been proposed for maize. In order to verify the relationship between knob constitution and FT for male (MF) and female (FF) inflorescence, near-isogenic inbred-lines, varying for knob positions at K3L, K5L, K7S and K9S were used for assay flowering under environment controlled and well-stable. Inbred-lines and their hybrids with different knob constitutions were evaluated individually for MF and FF in an experiment carried out in a completely randomized design. The results were analyzed by an adapted genome-wide association studies (GWAS) model and the heritability (h^2) was estimated to MF and FF and correlated to knob composition of the different inbred-lines and hybrids. The h^2 was estimated at 0.6091 and 0.4959 for both MF and FF, respectively. Statistically significant differences were not observed comparing MF and FF with knobs variability on the inbred-lines and hybrids. However, in the GWAS analysis, a trend for the interaction between FT and specific positions of the knobs were identified. These results suggest a complex genetic structure for FT, where non-genic components such as specific heterochromatic knobs and genome size, interact with certain genes playing a central role in the regulation of the feature's expression.

MOLECULAR DRIVE PROCESS IS AFFECTED BY SATELLITE DNA POSITION IN THE CHROMOSOME

Silva G.F.¹, M. Mondin¹. ¹CYNGELA (Cytogenomics and Epigenetics Laboratory), Department of Genetics "Luiz de Queiroz" College of Agriculture, ESALQ, University of São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil. gabriel.fernando.silva@usp.br

The evolution of satellite DNA (satDNA) sequences is controlled by Molecular Drive mechanisms. The mechanism of the Molecular Drive is well-studied in several species covering different families of repetitive sequences. However, the relationship between satDNA localization and the concerted evolution dynamics has not been addressed. Some features of the maize genome organization are interesting to investigate this relationship. Firstly, a satDNA family named as CentC resides in the centromeric regions, interacting with CenH3 histones and guaranteeing chromosome segregation. Second, another satDNA family named as K180bp is the major component of the heterochromatic knobs, immersed into gene-rich euchromatin, but without a well-defined function. An analysis of nucleotide frequency and diversity of these both families and a comparison of them might provide insights about the effect of satDNA localization in the molecular drive dynamics. Motifs belonging to CentC and K180bp were data-mined from two reference genomes of the inbred-lines B73 and Mo17. Nucleotide frequency and diversity are highly stable when inbred-lines are compared, suggesting that genetic background does not affect the Molecular Drive. However, CentC and K180bp present a clear difference in nucleotide diversity when compared. K180bp has a higher nucleotide variability when compared to CentC, suggesting a location effect for the Molecular Drive process. This is a first evidence of location effect on to Molecular Drive process.

LARGE vs. SMALL GENOMES IN *Passiflora*: THE INFLUENCE OF THE MOBILOME vs. THE SATELLITOME

Sader M.A.¹, M. Vaio², L. Cauz Santos³, M.C. Dornelas⁴, N.F. Melo⁵, M.L. Vieira³, A. Pedrosa Harand¹. ¹Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil; ²Department of Plant Biology, University of the Republic, Montevideo, Uruguay; ³Department of Genetics, "Luiz de Queiroz" College of Agriculture, University of São Paulo, Piracicaba, Brazil; ⁴Department of Plant Biology, Institute of Biology, Campinas State University (UNICAMP), Campinas, Brazil; ⁵Embrapa Semi-Arid, Petrolina, Brazil. marielasader@gmail.com

Passiflora L. shows different chromosome numbers ($x=6, 9, 12$, with ancestral $x=6$) and high variation in genome size (10-fold). The *Passiflora* subgenus (~26 Mya, Miocene) had a recent diversification correlated to genome size increase and chromosome change from $n=6$ to 9 by ascending dysploidy. To understand how karyotypes evolved in this group, we generated whole-genome data (1× coverage) for *Passiflora quadrangularis* ($2n=18$; 1C=2.68 pg), *P. cincinnata* ($2n=18$; 1.42 pg), both from the *Passiflora* subgenus, and *P. porophylla* ($2n=12$; 0.21 pg, *Decaloba* subgenus). We analyzed the repetitive genome fraction using Repeat Explorer and localized the most abundant repeats by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *P. quadrangularis* (73% of repeats) and *P. cincinnata* (60%) showed high proportions of the LTR-retrotransposon *Ty1-copia-Angela*, with a dispersed chromosomal distribution. The second most abundant was the *Ty3-Gypsy-Tekay*, the most abundant in *P. porophylla* (28%), more proximally located. The few satellite DNA (satDNA) found in *P. cincinnata* and *P. quadrangularis* were subtelomeric or dispersed. SatDNA diversity and abundance was higher in *P. porophylla*, with 37 families of located in subtelomeric or pericentromeric positions. Species from the *Passiflora* subgenus showed a greater accumulation of repetitive DNA sequences, specially *Angela*, but smaller divergence and relative abundance than *P. porophylla* in relation to satDNA. Thus, the mobilome, not the satellitome, is responsible for differences in genome sizes in the subgenus *Passiflora*.

CV 9

MAPEO DE LA REGIÓN 5S RNA MEDIANTE FISH EN CROMOSOMAS DE POBLACIONES CULTIVADAS Y SILVESTRES DE *Physalis peruviana*

García Paitán M.Y.¹, I. Araujo Aliaga¹, L. Bocanegra Guerrero¹, L. Rojas Vasquez², A. López Sotomayor¹, M.A. Siles Vallejos¹. ¹Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
msilesv@unmsm.edu.pe

El aguaymanto (*Physalis peruviana*) es una solanácea nativa de la región Andina. En el Perú la producción comercial de su fruto para su exportación se encuentra en crecimiento. Para que este crecimiento sea sostenible es necesario explorar métodos de caracterización de poblaciones, tanto cultivadas como silvestres, que permitan inferir relaciones y explorar la diversidad genética. Toda esta información será base para posteriores programas de mejoramiento, lo que conllevará a tener una mejor ventaja competitiva. En base a lo mencionado, el objetivo de este estudio es reportar por primera vez el uso de marcadores citomoleculares en aguaymanto que permitan caracterizar e inferir sus posibles relaciones evolutivas mapeando la región 5s rDNA en sus cromosomas mediante la técnica de FISH. Los resultados mostraron hibridación en cromosomas submetacéntricos, en la población cultivada se observó que presentaban 4 copias de regiones 5s rDNA distribuidas en 2 pares de cromosomas homólogos en sus brazos p, en el primer par se encontraba en la región peritelomérica y en el segundo par en la región pericentromérica. Por otro lado, en la población silvestre se encontró que el 40% de los campos observados presentaban 6 copias de las regiones 5s rDNA y el otro 60% 4 copias distribuidas en 3 y 2 pares de cromosomas homólogos respectivamente, además las regiones 5s rDNA se encontraban en la región peritelomérica del brazo p, tanto en los que tenían 6 y 4 copias. Estos datos permitieron caracterizar estas poblaciones y postular sus posibles procesos evolutivos, ambos a nivel cromosómico.

CV 10

VARIATION IN THE NUMBER OF rDNA SITES IN *Vigna savi* SPECIES (FABACEAE)

Costa V.A.¹, F.O. Bustamante¹, S.W.D.S.I. Alves¹, A.R.S. Oliveira¹, A.F. Costa², A.M. Benko-Iseppon¹, A.C. Brasileiro-Vidal¹. ¹Universidade Federal de Pernambuco, Brasil; ²Instituto Agronômico de Pernambuco, Brasil.
victoralves741@gmail.com

The 5S and 35S rDNA sites comprise highly conserved evolutionary regions among eukaryotes, forming excellent chromosomal markers in studies of karyotype evolution. Thus, 5S and 35S rDNA sites were used to characterize the karyotypes of different subgenus species of *Vigna*: *V. schimperi* ($2n=22$, subgenus *Haydonia*), *V. longifolia* ($2n=22$, subgenus *Lasiospron*) and *V. reflexopilosa* ($2n=44$, subgenus *Ceratotropis*) using FISH (Fluorescent *In Situ* Hybridization). *Vignas schimperi* and *V. longifolia* showed only one couple of 5S rDNA sites, while *V. reflexopilosa* presented five pairs of 5S rDNA sites. As for the 35 rDNA sites, *V. longifolia*, *V. schimperi* and *V. reflexopilosa* presented two, four and five pairs, respectively. These are the first analyses of molecular cytogenetics involving species belonging to the subgenera *Haydonia* and *Lasiospron*. Most of the *Vigna* species analyzed in previous studies show variation in the number of 35S rDNA sites (from one up to seven pairs), while the number of 5S rDNA sites is more stable (one or two pairs), as observed for *V. schimperi* and *V. longifolia*. *Vigna reflexopilosa* presented a larger number of 5S and 35S rDNA sites because it is a polyploid species, with two chromosome pairs presenting 5S rDNA sites as well as 35S. These results, together with data available for other species of *Vigna*, contribute to the knowledge of the evolutionary behavior of the genus.

CHROMOSOME PAINTING IN *Vigna savi* SPECIES (FABACEAE) BY OLIGO-FISH

Dias S., F.D.O. Bustamante¹, L.D.V. Martins¹, A.R.D.S. Oliveira¹, A.F. Costa², H. Zhao³, J. Jiang³, A. Benko-Iseppon¹, A. Pedrosa-Harand¹, A.C. Brasileiro-Vidal¹. ¹Universidade Federal de Pernambuco, Brazil; ²Instituto Agronômico de Pernambuco, Brazil; ³Michigan State University, USA.
sibelle.dias.bd@gmail.com

Oligo-based chromosome painting using massive parallel synthesis of thousands of oligonucleotides (oligos) for FISH (Fluorescent *in situ* Hybridization) probes is a powerful and versatile technique to detect interchromosomal rearrangements among related species. Here, we used oligo-painting probes of *Phaseolus vulgaris* chromosomes 2 and 3 for understanding the genomic organization and trace the chromosome changes between *Vigna* and *Phaseolus*. We analyzed four species from three *Vigna* subgenera: *V. unguiculata* subsp. *sesquipedalis* and subsp. *cylindrica* (*Vigna* subgenus), *V. radiata* (*Ceratrotropis*), and *V. longifolia* (*Lasiospron*). Additionally, we used at least two BACs (Bacterial Artificial Chromosomes) of single-copy DNA sequence from *P. vulgaris* and/or *V. unguiculata* chromosomes 2 and 3. We identified a translocation event between *P. vulgaris* and *Vigna* species, and its breakpoints. Thus, chromosomes 2 and 3 share synteny among species from different *Vigna* subgenera. These are the initial step of an extensive chromosome-specific painting of karyotypes research among these socioeconomic important Fabaceae legumes.

NUCLEAR DNA CONTENT IN *Vigna savi* SPECIES

Bustamante F.O., L.V. Martins¹, A.F. Costa², A. Benko-Iseppon¹, A.C. Brasileiro-Vidal¹. ¹Federal University of Pernambuco, Brazil; ²Agronomic Institute of Pernambuco, Brazil.
fobustamante@hotmail.com

In plants, variation in nuclear DNA content is mainly associated with polyploidy and repetitive DNA accumulation. Most species of the genus *Vigna* present $2n=22$, with small chromosomes and very similar morphology. In this sense, the present work aimed to determine the amount of nuclear DNA of different subgenera of *Vigna*: *V. longifolia* ($2n=22$, subgenus *Lasiospron*), *V. lasiocarpa* ($2n=20$, subgenus *Lasiospron*), *V. schimperi* ($2n=22$, subgenus *Haydonia*), *V. vexillata* ($2n=22$, subgenus *Plectotropis*) and *V. reflexopilosa* subsp. *glabra* ($2n=44$, subgenus *Ceratotropis*) using *Lycopersicon esculentum* ($2C=1.96$ pg) as the internal reference standard. Three individuals were evaluated per species, using approximately 25 mg of young leaves of each individual, along with the same amount of standard young leaves. The nuclei were released by dissociation in Galbraith buffer, stained with propidium iodide and analyzed on CyFlow Space flow cytometer. Histograms were obtained by Flomax v.2.3.0 software. The five species presented satisfactory results in all replicates, with CVs (coefficients of variation) below 5%. The $2C$ sizes of the genomes ranged from 0.9 ± 0.02 to 2.34 ± 0.01 pg. Data indicate polyploidy for *V. reflexopilosa* subsp. *glabra* (2.34 pg) and diploidy for the other species belonging to different subgenera. Species characterization regarding nuclear DNA content can be compared with chromosomal analyses contributing to the knowledge of the evolutionary behavior of the genus.

CV 13

CHROMOSOMAL REARRANGEMENTS BETWEEN *Vigna angularis*, *V. unguiculata* AND *Phaseolus vulgaris* REVEALED BY FISH MAPPING

Martins LV.^{1,2}, F.O. Bustamante¹, A.R.S. Oliveira¹, A.F. Da Costa³, H. Zhao², A.M. Benko- Iseppon¹, A. Pedrosa-Harand¹, J. Jiang², M. Muñoz-Amatriaín⁴, T.J. Close⁴, A.C. Brasileiro-Vidal¹. ¹Universidade Federal de Pernambuco, Brasil; ²Michigan State University, USA; ³Instituto Agrônomo de Pernambuco, Brasil; ⁴University of California, USA.
liviaa_martins@hotmail.com

Vigna and *Phaseolus* are tropical legumes with socioeconomic importance. *Vigna unguiculata* (subgenus *Vigna*), *V. angularis* (*Ceratotropis*) and *P. vulgaris*, all with $2n=22$, represent the primary source of proteins in developing countries. Advances in legume genomic research have allowed progress on chromosome synteny and evolution studies among these related genera. To advance our knowledge of karyotype evolution, we developed oligo-based chromosome painting probes specific to chromosomes 2 and 3 of *P. vulgaris* (*Pv2* and *Pv3*), involved in chromosome rearrangements with *V. unguiculata*. Additionally, 21 clones from *V. unguiculata* (*Vu*) BAC library were hybridized in all 11 *V. angularis* (*Va*) chromosomes. These oligo pools were hybridized *in situ* to the metaphase chromosomes of *Vu* and *Va*, revealing a translocation with breakpoint identification. This event probably occurred after *Vigna* and *Phaseolus* divergence and has been maintained in *Vigna* genus. BAC-FISH analysis showed partial macrosynteny with some chromosomal rearrangements, as translocations and inversions, involving five chromosomes of *Va* and *Pv* (Chr1, 2, 3, 5, and 8). Additionally, rearrangements involving four chromosomes were observed between *Vu* (Chr1, 2, 4 and 5) and *Va*. The latter events seem to have occurred soon after *Vigna* and *Ceratotropis* subgenera separation, since other *Ceratotropis* species, as *V. aconitifolia* and *V. radiata*, shared similar *Va* pattern.

CV 14

COMPARATIVE ANALYSIS OF REPETITIVE DNA IN A DYSPOID GROUP OF *Phaseolus* BEANS

Ferraz M.E.¹, T. Ribeiro^{1,2}, M.A. Sader¹, A. Pedrosa-Harand¹. ¹Laboratory of Plant Cytogenetics and Evolution, Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Recife-PE, Brazil; ²Federal Institute of Education, Science and Technology of Mato Grosso, Diamantino, MT, Brazil.
andrea.harand@ufpe.br

Repetitive sequences are fast evolving elements responsible for variation in genome size and structure. *Phaseolus* L. comprises small-genome species (mean 685 Mpb), with a group (the *Leptostachyus* group) showing a dysploid karyotype (from $2n=22$ to $2n=20$) due to a centric insertion, in combination with many translocations. In this work, we aimed to investigate whether these structural rearrangements were associated with diversification on the repetitive landscape in the *Leptostachyus* group. For that, we analysed the repetitive fraction of two species (*P. leptostachyus* and *P. macvaughii*) in comparison to 11 other with the standard karyotype ($2n=22$). The sequences were clustered by similarity using the Repeat Explorer pipeline and the TAREAN tool was applied for identification of satellite repeats. The most abundant repeats were located *in situ*. The Ty3/gypsy/Chromovirus lineage was the main element in all species and had preferential distribution at pericentromeres. A reduction in the abundance of Tekay in *P. macvaughii* (0.52% vs. 5.74% in *P. leptostachyus*) and SIRE (Ty1/copia) in *P. leptostachyus* (1.9% vs. 4.03%) was observed, suggesting a faster turnover of these elements in this group. Shared satellite DNAs revealed different distribution patterns among species. While most satDNAs were centromeric or subtelomeric, one family showed a dispersed distribution in this group. The differences in abundance and distribution observed in *P. macvaughii* and *P. leptostachyus* suggest a possible association of these repeats and the frequent chromosomal rearrangements in the group.

FACTORES GENÉTICOS Y EPIGENÉTICOS EXPLICAN LA VARIABILIDAD MEIÓTICA Y LA ACTIVACIÓN DE GENES RIBOSOMALES EN HÍBRIDOS DE *Glandularia*

Poggio L¹, E.J. Greizerstein², M.R. Ferrari³. ¹IEGEB-CONICET, (LaCyE), Dpto. de Ecología, Genética y Evolución, FCEN, UBA, CABA, Argentina; ²Cátedra de Mejoramiento Genético, Fac. Cs. Agrarias, UNLZ, Argentina; ³Fac. Cs. Veterinarias, UBA, CABA, Argentina. lidialidgia@yahoo.com.ar

El género *Glandularia* ($2n=10$) es un modelo para analizar los mecanismos implicados en el apareamiento de cromosomas homólogos/homeólogos. El estudio de híbridos diploides F1 entre *G. pulchella* y *G. incisa* mostró variabilidad en las configuraciones meióticas (desde 5 bivalentes heteromórficos hasta 10 univalentes de tamaño variable). Mediante densitometría y tinción de Feulgen, se encontraron diferencias significativas entre el valor $2C$ de *G. incisa* (2,41 pg) y *G. pulchella* (1,43 pg). Los híbridos F1 presentaron diferencias significativas en sus valores $2C$ -DNA, siendo intermedios entre los parentales. Los resultados obtenidos explican la presencia de bivalentes heteromorfos y univalentes de distinto tamaño pero no explican la variabilidad en su frecuencia dado que híbridos F1 que tienen sólo bivalentes heteromorfos no difieren significativamente en el contenido de ADN de híbridos con elevada cantidad de univalentes. Para explicar la variabilidad meiótica en estos híbridos diploides se ha propuesto la presencia de genes reguladores del apareamiento que poseen penetrancia incompleta, cuya acción dependería de factores genéticos y epigenéticos. En la mitosis de los híbridos estudiados se encontró separación espacial de grupos haploides de 5 cromosomas. Este fenómeno podría estar relacionado con los genes reguladores del apareamiento los cuales afectarían el alineamiento premeiótico de los cromosomas en la membrana nuclear. Otro fenómeno epigenético detectado en estos híbridos, revelado mediante FISH, es la reactivación de zonas rDNA inactivas en las especies parentales.

GRADIENTE LATITUDINAL DEL TAMAÑO DEL GENOMA EN CACTACEAE

Rodríguez P.E.¹, E. Almeida¹, L. Costa¹, G. Souza¹. ¹Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. pabloem.rodriguez@gmail.com

La variación del tamaño del genoma (TG) a través de gradientes latitudinales ha sido descrita en algunos grupos de angiospermas sugiriendo que plantas de clima templado tienen genomas mayores que las tropicales. La familia Cactaceae representa un excelente modelo para investigar la relación entre el contenido de ADN y variables ambientales por su amplitud geográfica, estabilidad del número cromosómico y variabilidad ecológica y de contenido de ADN. Aquí investigamos correlaciones de TG con la latitud en cinco géneros de Cactaceae (*Opuntia*, *Mammillaria*, *Hylocereus*, *Pereskia* y *Melocactus*) a través de métodos filogenéticos comparativos. Fueron generados datos originales por citometría de flujo para especies de *Melocactus* y *Pereskia*, y obtenidos de la literatura para otras 70 especies. El TG varió 3,42 veces, de $2C=1,85$ pg en *P. aculeata* hasta $2C=8,23$ pg en *O. tomentosa*. Los análisis mostraron una correlación positiva del TG con la latitud en *Mammillaria* y *Melocactus*, negativa en *Hylocereus* y *Opuntia* y ausente en *Pereskia*. Los patrones observados están relacionados con el clima y la morfología vegetal: árido y de hábito globoso en el grupo con correlación positiva, y húmedo de hábito epífita/arbóreo en el grupo con correlación negativa. Aunque el significado no está claro, otros trabajos han demostrado la interacción entre TG con hábitat y morfología, sugiriendo un papel adaptativo. Nuestros datos indican que el tipo de bioma influye en la interacción genoma × ambiente. Proponemos que el ambiente ha contribuido a la diversidad del tamaño del genoma observado en Cactaceae.

CV 17

KARYOTYPE AND REPETITIVE DNA EVOLUTION IN THREE SPECIES OF THE GENUS *Cuscuta* L. (CONVOLVULACEAE)

Ibiapino A.¹, M. Báez², M.A. García³, M. Costea⁴, S. Stefanovic³, A. Pedrosa Harand¹. ¹Laboratory of Plant Cytogenetics and Evolution, Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil; ²Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany; ³Department of Biology, University of Toronto–Mississauga, Ontario, Canada; ⁴Department of Biology, University of Wilfrid Laurier, Waterloo, Ontario, Canada. amalia_ibiapino@hotmail.com

The genus *Cuscuta* shows a high variation in chromosome number and size, monocentric or holocentric chromosomes, symmetric to bimodal karyotypes and variation in heterochromatin. In order to investigate the role of the repetitive DNA fraction in its karyotype evolution, the repetitive DNA composition of three species with similar genome sizes was characterized with the Repeat Explorer pipeline and molecular cytogenetics: *C. partita* and *C. australis* (symmetric karyotypes, subgenus *Grammica*), and *C. nitida* (bimodal karyotype, subgenus *Pachystigma*). All species presented $2n=30$, but varied in number of CMA/DAPI bands and rDNA sites. *Cuscuta nitida* presented the highest amount of heterochromatin, distributed mainly in the largest chromosome pair, and the highest repetitive DNA proportion, 54.49%, compared to 45.87% in *C. partita* and 25.44% in *C. australis*. The LTR-retrotransposons Ty1/Copia-SIRE was the most abundant in all species. *Cuscuta nitida* and *C. partita* presented high abundance of LTR-Ty3/Gypsy-Chromovirus-Tekay, while *C. australis* presented mainly TatV. DNA transposons were also abundant, Helitron in *C. australis* and CACTA in *C. nitida* and *C. partita*. Satellite DNA is composed of species-specific, few families, constituting only 1.2–3.9% of each genome, with higher abundance in *C. nitida*. This species showed, however, 7.4% of 5S rDNA, in a single site in the largest chromosome pair. Thus, repetitive DNA represent a fast evolving fraction of *Cuscuta* genomes, with abundance of the main lineages not related to phylogenetic relationships, but influencing karyotype symmetry.

CV 18

KARYOTYPICAL SIMILARITY AND GENOMIC AFFINITY AMONG SPECIES OF *Piper* L.

Soares N.¹, J. Silva¹, C.T. Rodrigues Corrêa¹, J.R. Da Silva Negreiros², G. Torres¹. ¹Universidade Federal de Lavras, Brazil; ²Embrapa Acre, Brazil. gatorres@ufla.br

There is a growing interest in *Piper aduncum*, *P. hispidinervum* and *P. affinis hispidinervum*, species native to Acre-Brazil, due to the high content of, respectively, dilapiol, safrol and sarisan in their essential oils. These species are morphologically very similar, which generates taxonomic controversy. Different hypothesis are considered: *P. aduncum* and *P. hispidinervum* as a single species; *P. affinis hispidinervum* as a chemotype of *P. hispidinervum* or a hybrid between the other two. The objective of this work was to contribute to the taxonomic definition with a cytogenetic approach. We generated data about: chromosome number and morphology, fluorescent banding pattern, localization of 45S and 5S rDNA, genome size and genomic affinity by GISH. All species were very similar regarding the karyotype, showing $2n=26$ metacentric chromosomes with similar sizes and genome size around 1 Gb. They presented a centromeric CMA+ band on one chromosome pair and did not present DAPI bands. The 45S rDNA was located in the pericentromeric region of one chromosome pair, exhibiting heteromorphism of size between homologues and co-localized with the CMA+ band. 5S rDNA was located in the pericentromeric region of another chromosome pair. GISH using reciprocal hybridizations involving the three species revealed very similar patterns, revealing that the repetitive fraction is very similar in terms of sequence type and localization (predominantly pericentromeric or proximal). The results support the single species hypothesis and points to the need for higher resolution techniques.

OBTENCIÓN DE EMBRIONES MIXOPLÓIDES POR POLIPLOIDIZACIÓN SINTÉTICA DE *Habranthus robustus* HERB. (AMARYLLIDACEAE)

Rodríguez Mata O.A.¹, A.C. Gianini Aquino¹, A.I. Honfi¹, J.R. Daviña¹.
¹Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, IBS-CONICET-UNaM, nodo Posadas, FCEQyN, Misiones, Argentina.
 juliordavina@gmail.com

Habranthus es un género de las amarilidáceas originarias de América, conocidas por su potencial ornamental y como fuente de fitoproductos. Los registros de ensayos de poliploides sintéticos en esta familia son escasos y de baja supervivencia. El objetivo de esta investigación fue evaluar la poliploidización artificial de *Habranthus robustus* ($2n=2x=12$). Se sumergieron semillas germinadas diploides en una solución acuosa de colchicina al 0,1% durante 24 horas. Un año y medio después, mediante tinción convencional de Feulgen se efectuaron análisis mitóticos en ápices radiculares de los bulbos obtenidos a partir de las semillas tratadas. Además, se analizó la progenie clonal de esos bulbos. Se reveló la existencia de células diploides ($2n=12$), poliploides ($2n=24$) y aneuploides ($2n=13$, $2n=14$, $2n=16$, $2n=17$, $2n=18$) en el mismo individuo, indicando la existencia de embriones mixoploides, en cuya línea celular diploide también se observaron células aneuploides. Las plantas aún no alcanzaron la etapa reproductiva, pero se destaca la producción vegetativa de bulbillos hijos que presentan la misma condición citogenética irregular. La mixoploidía es un raro desorden cromosómico caracterizado por la presencia de dos o más líneas celulares en un mismo individuo. Si bien puede presentarse como un desarreglo citogenético que concluye en la inviabilidad de los individuos afectados, cuando este fenómeno es transmitido a la siguiente generación de modo agámico puede convertirse en una estrategia valorable que amplíe las posibilidades de mejoramiento en esta especie de interés ornamental.

EL GENOMA "S" Y SU PARTICIPACIÓN EN LOS POLIPLOIDES DEL GÉNERO *Andropogon* L.

Hidalgo M.I.M.¹, E.J. Greizerstein², G.A. Norrmann¹.
¹Cátedra de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE-Instituto de Botánica del Nordeste (UNNE-CONICET), Corrientes, Argentina;
²Facultad de Ciencias Agrarias-IIPAAS (FCA, UNLZ, CIC) Llavallol, Argentina.
 mapyhidalgo@hotmail.com

El género *Andropogon* ($x=10$), distribuido en pastizales naturales de América y África, es considerado el más representativo de la tribu Andropogoneae. Siendo la poliploidía muy frecuente en este género, Sudamérica es rica en taxones diploides y hexaploides. En esta oportunidad se analizó la presencia del genoma "S" de *Andropogon selloanus*, diploide sudamericano, en especies de diferentes secciones y diferentes niveles de ploidía y su posible participación en el origen de los poliploides del género. El material vegetal analizado, comprende representantes de la Sección *Leptopogon*: *A. selloanus*, *A. macrothrix* y *A. gyrans* ($2x$), *A. ternatus* ($3x$); de la Sección *Notosolen*: *A. gayanus* ($4x$), *A. exaratus* ($6x$) y de la Sección *Andropogon*: *A. gerardii* ($6x$) y se encuentran cultivados en el Jardín Experimental de la FCA-UNNE. Sobre cromosomas mitóticos de *A. selloanus*, *A. gyrans*, *A. ternatus*, *A. gayanus*, *A. exaratus* y *A. gerardii*, se aplicó la técnica de GISH con ADN_g total de *A. selloanus*, *A. macrothrix* y *A. gyrans* marcados con biotina/digoxigenina y revelados con Cy3/FITC. Esta técnica permitió revelar señales de hibridación en los 20 cromosomas de los taxones diploides y en al menos 20 cromosomas de los $3x$, $4x$ y $6x$, sugiriendo la existencia de relaciones interespecíficas, inter- e intra-secciones, entre los taxones con diferentes niveles de ploidía. El análisis de estos resultados permitirá establecer hipótesis acerca de la existencia de un genoma común, compartido entre las especies del género que además estaría involucrado en la formación de los poliploides.

CV 21

KARYOTYPIC VARIABILITY IN *Herbertia lahue* (MOLINA) GOLDBLATT

Tonetto Vieira A.¹, E. M Stiehl-Alves¹, A.M. Cristante¹, T.T. Souza-Chies¹, E. Santos-Kaltchuck¹. ¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.
ariane.vieira@ufrgs.br

Herbertia Sweet comprises species with wide variation in floral morphology, reproductive mode, as well as ecological and karyological aspects. The basic chromosome number proposed for the genus is $x=7$, including four ploidy levels ($2x$, $4x$, $6x$ and $8x$). Intraspecific polyploid series are found in some species like *H. lahue* with three cytotypes reported ($2x$, $6x$ and $8x$). This species is the most widely distributed occurring in southern Brazil, northeast of Argentina, Uruguay, and Chile; apparently the cytotypes of *H. lahue* coexist in sympatry in many places. This study aimed to carry out a comparative cytogenetic analysis between *H. lahue* cytotypes using conventional staining and CMA/DAPI fluorochromes. Sampling covered some areas in the Pampa region in which high morphological variability was observed in *H. lahue*. We sampled 15 populations across the contact zone of morphotypes. Slides were prepared by dissociation of the meristem root and air drying. In two populations, plants with only $2n=2x=14$, $2n=6x=42$ and $2n=8x=56$, confirm the coexistence of cytotypes in sympatry. The karyotypes showed asymmetry and were composed of metacentric and submetacentric chromosomes in both diploid and polyploidy cytotypes. The pattern of heterochromatic bands was characterized by the presence of CMA⁺/DAPI⁻ terminal bands. The diploid and cytotypes exhibited chromosomal pairs with CMA⁺/DAPI⁻ bands associated with the satellite. The analysis of karyotypes along the geographical distribution will provide insights about the relationship between chromosome evolution and biogeographic patterns in *H. lahue*.

CV 22

MICROSPOROGENESIS DE *Passiflora misera* KUNTH (DECALOBA, PASSIFLORA) DE PARAGUAY

Pereira Sühsner C.D.¹, J.R. Daviña², A.I. Honfi². ¹Laboratorio Análisis de Recursos Vegetales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNA, Paraguay; ²Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, Instituto de Biología Subtropical, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UNaM-CONICET, Argentina.
claudinha_7@hotmail.com

Passiflora misera pertenece al subgénero *Decaloba* del género *Passiflora*. Este subgénero agrupa a especies con $x=6$. Sin embargo, la citología para una procedencia Argentina reporta $n=9$, con formación de 9II indicando que se trata de un diploide con $x=9$, mientras que procedencias de Brasil y Paraguay tienen $2n=12$ y 36 , con $x=6$. Este trabajo tuvo por objeto caracterizar cariológicamente a *P. misera* de Paraguay. Para la meiosis masculina se estudiaron células madres del polen (CMP) coloreadas con carmín acético 2% y la viabilidad de granos de polen con carmín:glicerina (1:1). Todas las procedencias analizadas tienen $n=9$, con comportamiento meiótico normal y segregación regular de los cromosomas. Las asociaciones cromosómicas en diacinesis y metafase I fueron 9II y 7II+1IV, con una proporción 86,36% y 13,64% respectivamente. La mayoría de las CMP en anafase I presentan comportamiento cromosómico regular durante la segregación, y las pocas irregularidades observadas consistieron en cromosomas rezagados en anafase I y fases asincrónicas en meiosis II. La viabilidad del grano de polen es 78,83%. La formación de 9II y el comportamiento regular durante la meiosis en todas las procedencias estudiadas sugiere que es una especie diploide con $x=9$, la formación de 7II+1IV indica presencia de una translocación en heterocigosis. Las evidencias sugieren que *P. misera* es un complejo con 3 citotipos múltiples de $x=6$ y 9 , este último probablemente derivado por disploidia ascendente. Es de gran interés establecer la relación existente entre todos los citotipos de este complejo cromosómico.

ANÁLISIS CITOGENÉTICO EN POBLACIONES DE *Adesmia bicolor* (LEGUMINOSAE) DEL CENTRO DE ARGENTINA

Reynoso A.¹, E. Castillo^{1,2}, S. Basconsuelo^{1,2}, R. Malpassi^{1,2}, L. Bianco^{1,2}, E. Grassi^{1,2}, H. Di Santo^{1,2}, D.J. Vega^{2,3}, A. Ferreira^{1,2}, V. Ferreira¹.
¹Departamento Biología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina;
²Instituto de Investigaciones en Agrobiotecnología, Argentina;
³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.
 ecastillo@ayv.unrc.edu.ar

En las zonas serranas y pedemontanas del centro de Argentina habitan un grupo importante de especies leguminosas nativas herbáceas. *Adesmia bicolor* (Poir) DC ($2n=2x=20$) es una especie de probada aptitud forrajera. Se recolectaron poblaciones pertenecientes a las provincias de Córdoba y San Luis en alturas que varían entre 550 y 1717 m.s.n.m., estudiándose aspectos taxonómicos, forma de crecimiento, reproductivos y de fijación biológica de nitrógeno. El objetivo de este trabajo fue aportar al conocimiento de esta especie nativa, analizando citológicamente cinco poblaciones (P1, P2, P3, P4 y P5) recolectadas en la región semiárida central argentina. Se determinó el número de bivalentes en células madre del polen (II/CMP) utilizando en promedio 58 (RV: 38-89) células por población, que fueron comparadas mediante la Prueba de Kruskal Wallis. El nivel de ploidía $2n=2x$ fue confirmado. P1 presentó $10,08 \pm 0,47$ II/CMP, P3 $9,98 \pm 0,44$ II/CMP, P4 $9,86 \pm 0,47$ II/CMP y P5 $9,89 \pm 0,40$ II/CMP, observándose diferencias significativas con P2 (H: 46,1; $p < 0,0001$) que registró $11,63 \pm 1,75$ II/CMP. La presencia de diacinesis irregulares, con univalentes en el 41% de las células analizadas de P2, podrían explicar esas diferencias. Para confirmar la presencia de un posible citotipo $2n=24$ se deben realizar estudios mitóticos, para lo cual se realizarán nuevas colectas. El comportamiento meiótico de P1, P3, P4 y P5 se consideró normal. Los datos indican que las poblaciones son reproductivamente estables y están siendo utilizadas en un ensayo comparativo con el objetivo de implementar un plan de mejora.

EVALUACIÓN GENOTÓXICA DE LOS RIZOMAS DE *Kyllinga vaginata* Y *Scleria distans* EN CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE *Allium cepa*

Traba A.¹, C. Barrios¹, Y. Amarilla¹, S. Gimenez¹, R. Ocampos¹, E. Gayozo¹, L. Marín¹, E. Torres¹.
¹Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.
 gela.trabad@gmail.com

Las especies de *Kyllinga vaginata* y *Scleria distans* comercializadas en el Paraguay con el nombre de “kapi’ikati”, son plantas medicinales utilizadas como remedios refrescantes, siendo los rizomas con restos de tallo y hojas las partes empleadas para su consumo. La población paraguaya consume esta planta en diversas cantidades y en distintas concentraciones. Se ha realizado este estudio con el fin de observar el efecto genotóxico en células de los ápices radicales de bulbos expuestos a distintas concentraciones (60 mg/mL, 110 mg/mL y 220 mg/mL). A través del software de estadística Past versión 3.0 los resultados obtenidos evidenciaron que el extracto de los rizomas *K. vaginata* y *S. distans*, han producido anomalías significativas a las concentraciones de 0,11% y 0,22%; además se realizó el índice mitótico en el cual se observaron un mayor porcentaje de células en telofase. En relación con potencial daño genético, se observaron cromosomas pegajosos y adelantados en mayor proporción y, en menor cantidad se observaron C-metafases, cromosomas rezagados, células binucleadas y puentes cromosómicos. Con estos resultados no se ha comprobado daño genético significativo, pero sí a nivel citotóxico.