

ESTUDIOS CROMOSÓMICOS EN ESPECIES DE *ASPLENium* (ASPENIACEAE) DE LA ARGENTINA

ROQUE H. GUILLÉN & JULIO R. DAVIÑA

*Programa de Estudios Florísticos y Genética Vegetal, Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales,
Universidad Nacional de Misiones, Rivadavia 2370, 3300 Posadas, Misiones. E-Mail: Julio@invs.unam.edu.ar*

ABSTRACT: Guillén, R. H. & Daviña, J. R. 2005. Chromosome studies in species of *Asplenium* (Aspleniaceae) from Argentina. *Darwiniana* 43(1-4): 44-51.

We documented somatic and meiotic chromosome numbers of 6 species of *Asplenium* from Argentina. We present for the first time chromosome numbers of *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*, $2n=2x=72$, and *A. triquetrum*, $2n=4x=144$. Previously reported counts of $n=72$ for *A. auritum*, $2n=2x=72$ for *A. clausenii*, $n=36$ for *A. formosum*, and $2n=8x=288$ for *A. serratum*, were confirmed.

Keywords: Argentina, *Asplenium*, Chromosome numbers, Ferns, Meiosis, Pteridophyta.

RESUMEN: Guillén, R. H. & Daviña, J. R. 2005. Estudios cromosómicos en especies de *Asplenium* (Aspleniaceae) de la Argentina. *Darwiniana* 43(1-4): 44-51.

Documentamos los números cromosómicos meióticos y somáticos de 6 especies del género *Asplenium*. Se presentan por primera vez los números cromosómicos de *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*, $2n=2x=72$, y *A. triquetrum*, $2n=4x=144$. Reconfirmamos los números cromosómicos de *A. auritum*, $n=72$; *A. clausenii*, $2n=2x=72$; *A. formosum*, $n=36$; y *A. serratum*, $2n=8x=288$.

Palabras clave: Argentina, *Asplenium*, Números cromosómicos, Helechos, Meiosis, Pteridophyta.

INTRODUCCIÓN

Asplenium L. es uno de los géneros más grandes dentro de los helechos y comprende cerca de 600-700 especies (de la Sota, 1977; Tryon & Tryon, 1982; Mickel & Beitel, 1988; Proctor, 1989; Tryon & Stolze, 1993) de distribución mundial. Sin embargo, la mayoría de sus especies habitan en regiones tropicales (de la Sota, 1977; Tryon & Stolze, 1993). Para la Argentina se han citado 32 especies (Ponce, 1996) que se encuentran principalmente en las selvas del Nordeste y Noroeste (Capurro, 1938; de la Sota, 1977; Ponce, 1996).

Desde el punto de vista citológico, se conocen los números cromosómicos de aproximadamente 200 taxones, y los números más comúnmente registrados han sido $2n=72$, 80, 108, 144, 180, 216 y 288 cromosomas (Britton, 1953; Wagner, 1954; Lovis, 1977; Smith & Mickel, 1977; Bouharmont, 1977a; Löve et al., 1977). Las especies estudiadas son principalmente diploides y tetraploides cuyo número

cromosómico básico más frecuente es $x=36$ (Manton, 1950; Wagner, 1954; Bouharmont, 1977 a y b). En las especies tropicales estudiadas son frecuentes los altos niveles de ploidía, hasta alcanzar $12x$ (Bir, 1972) y $16x$ (Tryon & Tryon, 1982). Los estudios cromosómicos en especies de *Asplenium* fueron realizados en su mayor parte en ejemplares de regiones templadas de América y Europa (Tryon & Tryon, 1982). Sin embargo, son escasos los recuentos cromosómicos para los taxones de América Subtropical (Smith & Foster, 1984) y no se conocen referencias del género para colecciones argentinas.

En el presente trabajo se estudia la citogenética de 6 taxones del género *Asplenium* de la provincia de Misiones, Argentina: *A. ulbrichtii* Rosenst. var. *serrato-dentatum* Rosenst., *A. triquetrum* N. Murak. & R. C. Moran, *A. auritum* Sw., *A. clausenii* Hieron., *A. serratum* L. y *A. formosum* Willd.

Original recibido el 30 de julio de 2002; aceptado el 8 de marzo de 2005.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los taxones estudiados fueron coleccionados en la provincia de Misiones, Argentina (Tabla 1). Los ejemplares de herbario se encuentran depositados en el Herbario de la Universidad Nacional de Misiones (MNES), el Instituto Botánico Darwinion (SI) y el Museo de la Plata (LP).

Para el estudio de los cromosomas meióticos se fijaron frondes con esporangios jóvenes en Carnoy modificado (Wagner, 1954) y conservados en etanol 70 % a 4° C. Los esporangios macerados se tiñeron con carmín acético 2%.

El análisis de los cromosomas mitóticos se realizó en primordios foliares pretratados con 8 hidroxiquinoleína (0,002 M) durante 4 horas, fijados en Carnoy modificado durante 12 a 24 horas y conservados en etanol 70 % a 4° C. La coloración se realizó con la técnica de Feulgen y orceína lacto-propiónica.

Los cromosomas mitóticos se dibujaron bajo microscopio convencional con dispositivo de cámara clara, con un aumento de x2600. Se estimó la longitud cromosómica media, la longitud del complemento cromosómico y se lo expresó en micrómetros.

Tabla 1.- Procedencia del material estudiado y resultados obtenidos.

Especie	2n		Procedencia
<i>Asplenium ulbrichtii</i> Rosenst. var. <i>serrato-dentatum</i> Rosenst.	72	36 II	Misiones. Dpto. Candelaria. Loc. Campo San Juan. Guillén 355.
<i>Asplenium ulbrichtii</i> Rosenst. var. <i>serrato-dentatum</i> Rosenst.	72	36 II	Misiones. Dpto. Capital. Loc. Arroyo Zaimán. Pérez et al. 180.
<i>Asplenium triquetrum</i> N. Murak. & R. C. Moran	144	144 I	Misiones. Dpto. Candelaria. Loc. Campo San Juan. Guillén 472.
<i>Asplenium triquetrum</i> N. Murak. & R. C. Moran	144	72 II	Misiones. Dpto. Candelaria. Loc. Campo San Juan. Guillén 473.
<i>Asplenium formosum</i> Willd.	-	36 II	Misiones. Dpto. Candelaria. Loc. Campo San Juan. Guillén 471.
<i>Asplenium auritum</i> Sw.	-	72 II	Misiones. Dpto. San Pedro. Loc. El Piñalito. Guillén et al. 491.
<i>Asplenium clausenii</i> Hieron.	72	36 II	Misiones. Dpto. Candelaria. Loc. Campo San Juan. Pérez et al. 181.
<i>Asplenium clausenii</i> Hieron.	72	36 II	Misiones. Dpto. Caingúas. Loc. Campo Grande. Guillén et al. 442.
<i>Asplenium serratum</i> L.	288	-	Misiones. Dpto. San Pedro. Loc. Parque Provincial Moconá. Guaglianone et al. 2852

Tabla 2.- Parámetros morfométricos de algunas especies de *Asplenium*. LCX, longitud cromosómica media; LTC, longitud total del complemento cromosómico; ±ES, error estándar.

TAXÓN	Número de células analizadas	2n	NIVEL DE PLOIDÍA	VARIACIÓN DE LA LONGITUD CROMOSÓMICA		LCX (µm ±ES)	LTC (µm)
				MÁXIMO	MÍNIMO		
<i>A. ulbrichtii</i> var. <i>serrato-dentatum</i> (Guillén 355)	20	72	2x	4,38 µm ± 0,18	1,76 µm ± 0,11	2,99 ± 0,527	215,63
<i>A. clausenii</i> (Guillén 442)	36	72	2x	4,79 µm ± 0,14	1,83 µm ± 0,07	3,11 ± 0,607	223,59
<i>A. triquetrum</i> (Guillén 472)	18	144	4x	4,01 µm ± 0,07	1,38 µm ± 0,07	2,62 ± 0,515	376,96
<i>A. triquetrum</i> (Guillén 473)	16	144	4x	4,39 µm ± 0,16	1,38 µm ± 0,07	2,56 ± 0,586	368,17

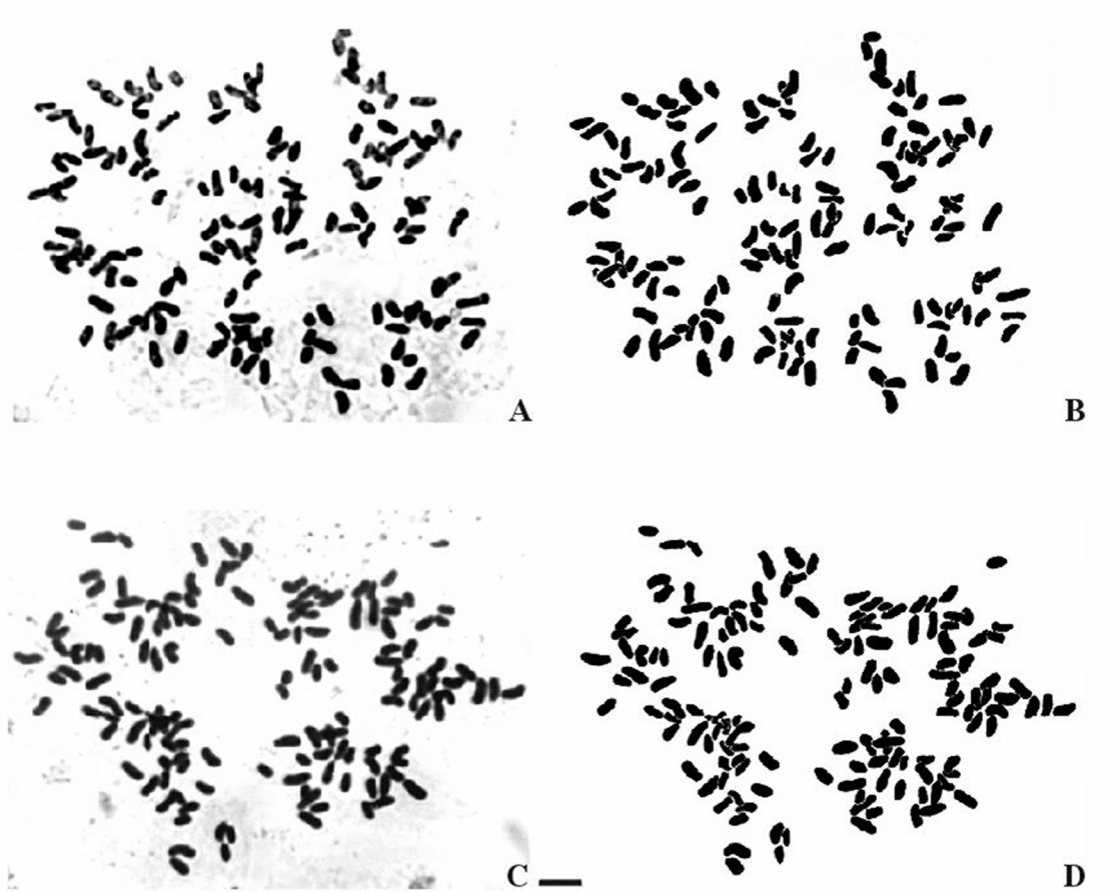


Fig. 1.- *Asplenium triquetrum*. A: metafase mitótica (población Guillén 472) $2n=144$. B: dibujo de la metafase mitótica, (población Guillén 472). C: metafase mitótica (población Guillén 473), $2n=144$. D: dibujo de la metafase mitótica, (población Guillén 473). La barra representa 5 μ m.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los recuentos cromosómicos obtenidos se detallan en la Tabla 1 y las longitudes de los cromosomas de las especies analizadas en la Tabla 2.

Se presentan por primera vez los números cromosómicos de *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*, diploide, con $2n=2x=72$ cromosomas en mitosis (Fig. 2 C y D) y con 36 bivalentes en metafase meiótica (Fig. 3 E), como también, de *A. triquetrum*, tetraploide, con $2n=4x=144$ (Fig. 1 A, B, C y D) y meiosis regular con formación de 72 bivalentes en la población (Guillén 473; Fig. 3 C y D).

Se confirman los números cromosómicos de: *A. auritum*, *A. clausenii*, *A. formosum* y *A. serratum*. En *A. auritum* se observó meiosis regular con 72

bivalentes. En ejemplares de Trinidad se cita un citotipo agamosporo octoploide con 288 univalentes y otro con $2n=144$ (Jermy & Walker, 1985) para esta especie, los ejemplares analizados en este trabajo concuerdan con este último citotipo.

A. clausenii, diploide, presentó $2n=2x=72$ (Fig. 2 E) y meiosis regular con 36 bivalentes (Fig. 3 F). En material de El Tirol, Paraguay, Smith & Foster (1984) citaron $2n=72$, que coincide con el material analizado.

En los ejemplares de *A. formosum* se analizó la meiosis donde se observó un comportamiento regular con 36 bivalentes (Fig. 3 G), este número se corresponde con el recuento realizado por Ghatak (1977), quien cita $2n=72$ para material de la India.

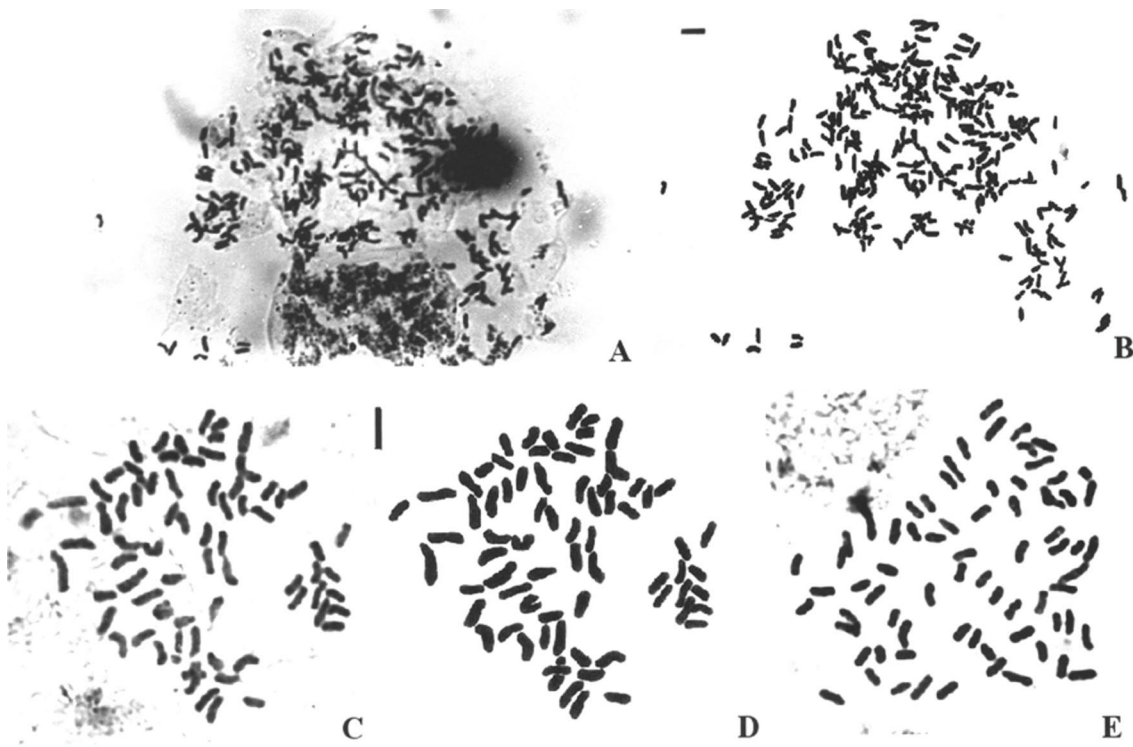


Fig. 2.- *Asplenium serratum*. A: metafase mitótica $2n=288$. B: dibujo de la metafase mitótica de *A. serratum*. C: *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*, $2n=72$. D: dibujo de la metafase mitótica de *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*. E: metafase mitótica de *A. clausenii*, $2n=72$. La barra representa 5 μm .

La población de *A. serratum* analizada es octoploide, observándose $2n=8x=288$ cromosomas en células somáticas (Fig. 2 A y B). En esta especie se han encontrado dos citotipos, $n=72$ en material de Florida, USA (Wagner, 1963) y $n=144$ en material de El Tirol, Paraguay (Smith & Foster, 1984) y $2n=c.288$ en poblaciones de Trinidad (Jermy & Walker, 1985). Nuestros resultados confirman el citotipo octoploide sugerido por estos últimos autores.

Debido a que no se ha podido caracterizar la morfología cromosómica, por la dificultad de precisar correctamente la posición del centrómero, se estimaron las longitudes cromosómicas en tres taxones: dos diploides de *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*, *A. clausenii* y uno tetraploide de *A. triquetrum* (Tabla 2). En las dos poblaciones analizadas de *A. triquetrum* se observó una variación de la longitud cromosómica de 4,39 μm a 1,38 μm y 4,01

μm a 1,38 μm , respectivamente; y 1,38 μm es la longitud más pequeña en ambas poblaciones. La longitud cromosómica media de *A. triquetrum*, fue 2,62 $\mu\text{m} \pm 0,515$ y 2,56 $\mu\text{m} \pm 0,586$ y existe una diferencia significativa con respecto a la longitud cromosómica media de los diploides, puesto que *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum* presentó 2,99 $\mu\text{m} \pm 0,527$ y *A. clausenii* 3,11 $\mu\text{m} \pm 0,607$. Las medidas de longitud cromosómica estimada no permiten establecer con certeza los pares cromosómicos.

Todos los taxones estudiados presentan el número básico $x=36$, que es el más comúnmente encontrado en el género (Manton, 1950; Bouharmount, 1977 b; Löve et al., 1977). Otros autores han citado números básicos como $x=38$, $x=39$ y $x=40$ (Smith & Mickel, 1977; Mutui et al., 1989) que no fueron hallados en las poblaciones analizadas en este trabajo.

Tabla 3. Recuentos cromosómicos previos en especies de *Asplenium* que se encuentran en Argentina.

TAXONES	2n	n	Procedencia	Autores
<i>A. abscissum</i> Willd.	72	36	Estados Unidos de América, Jamaica, Trinidad, México	Wagner, 1963; Walker, 1966; Mickel et al., 1966; Morzenti, 1967; Gastony, 1986; Walker, 1985.
<i>A. alatum</i> Willd.	72		Jamaica	Walker, 1966.
<i>A. auritum</i> Sw.	144	72	Jamaica, Galápagos	Walker, 1966; Jarrett et al., 1968; Werth et al., 1996.
<i>A. clasussenii</i> Hieron.		36	Paraguay	Smith & Foster, 1984.
<i>A. formosum</i> Willd.	72		Africa tropical, Jamaica, India	Manton, 1959; Walker, 1966; Ghatak, 1977; Ammal & Bhavanandan, 1991.
<i>A. laetum</i> Sw.	72		Jamaica	Walker, 1966.
<i>A. monanthes</i> L.	108	72, 108	Islas Azores, México, Estados Unidos de América	Manton, 1950; Manton & Vida, 1968; Wagner et al., 1970; Lovis et al., 1977; Smith & Mickel, 1977; Manton et al., 1986.
<i>A. pumilum</i> Sw.	72		Estados Unidos de América, Jamaica	Wagner, 1963; Walker, 1966.
<i>A. resiliens</i> Kunze	108	108	Estados Unidos de América, Jamaica	Morzenti & Wagner, 1962; Wagner, 1963, 1966; Morzenti, 1966; Wagner & Wagner, 1966; Walker, 1966; Wagner et al., 1970; Werth, 1986; Windham, 1983.
<i>A. serra</i> Langsd. & Fisch.	144, ca. 288		Galápagos	Jarrett et al., 1968; Walker, 1985.
<i>A. serratum</i> L.	144, ca. 288	ca. 144	Estados Unidos de América, Paraguay	Wagner, 1963; Smith & Foster, 1984; Walker, 1985; Darnaedi, 1992.

Asplenium cuenta con especies bien distinguidas, pequeños grupos de especies y unos complejos poco definidos que agrupan muchas especies que pueden o no estar relacionadas. En consecuencia, las especies nunca han sido asignadas satisfactoriamente en una clasificación infragenérica (Tryon & Tryon, 1982), con excepción de la sección *Hymenasplenium* (Iwatsuki, 1975). Esta sección está caracterizada citológicamente por el número básico $x=38$ y $x=39$ (Mutui et al., 1989; Murakami & Moran, 1993) y *A. triquetrum* está incluida en ella. Los ejemplares analizados en este trabajo presentaron un número cromosómico básico de $x=36$, de modo que, si esta especie se encuentra bien incluida en esta sección, se propone un nuevo número básico para *Hymenasplenium*.

De las 32 especies de *Asplenium* que se citan para la Argentina (Ponce 1996) solamente se conocían los números cromosómicos de once de ellas, cuyas procedencias no son argentinas (Tabla 3). Los resultados presentados en este trabajo constituyen los primeros datos citológicos para colecciones argentinas del género *Asplenium*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los Dres. E. de la Sota de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata y M. Ponce del Instituto de Botánica Darwinion por las sugerencias y lectura crítica de este trabajo.

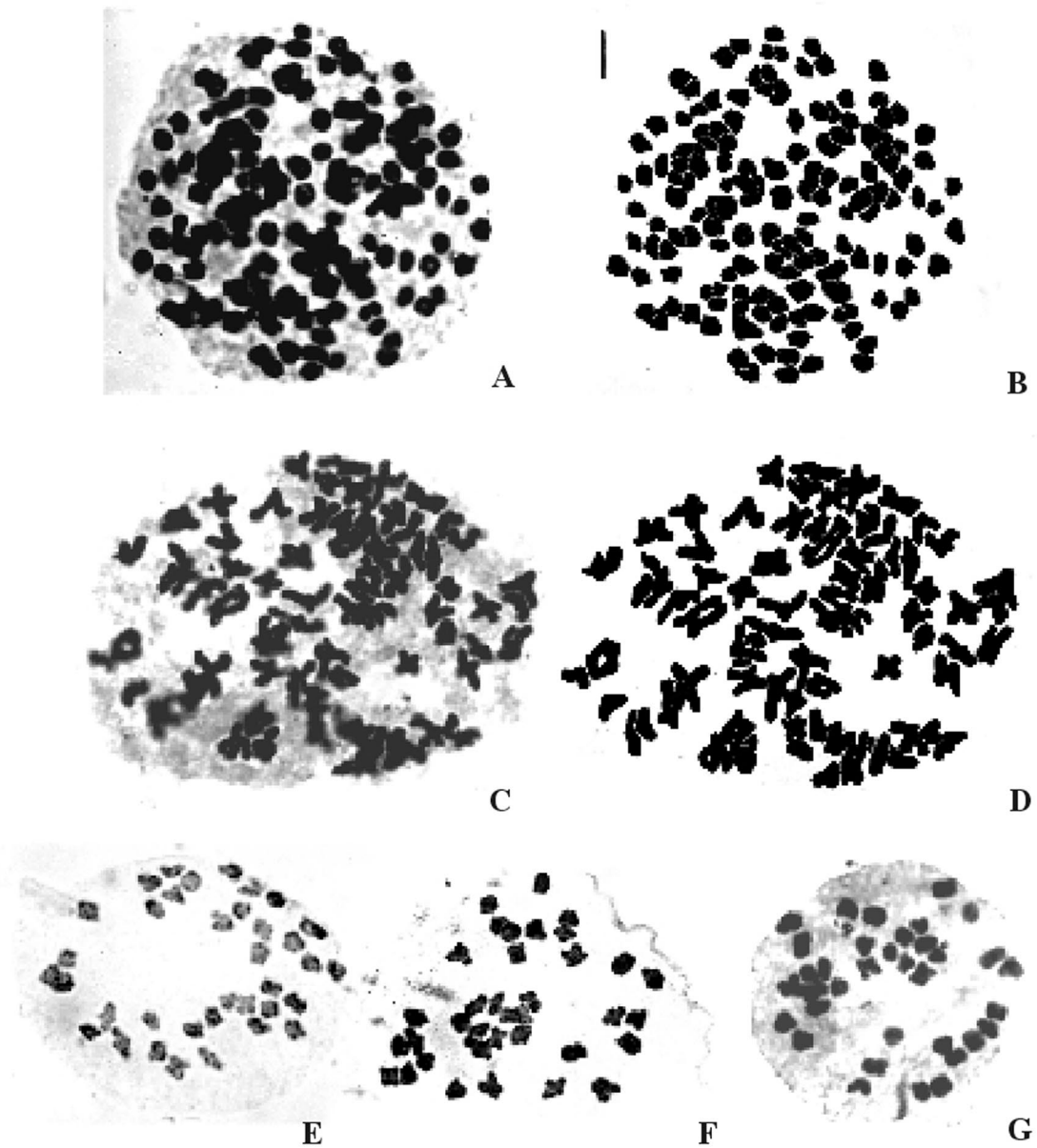


Fig. 3.- Meiosis, metafase I. A: *A. triquetrum* (población Guillén 472), 144 I. B: dibujo de la metafase meiótica de la población Guillén 472. C: población Guillén 473, 72 II. D: dibujo de la metafase meiótica de la población Guillén 473. E: *A. ulbrichtii* var. *serrato-dentatum*, 36 II. F: *A. clausenii*, 36 II. G: *A. formosum*, 36 II. La barra representa 5 μ m.

BIBLIOGRAFÍA

- Ammal, L. S. & Bhavanandan, K. V. 1991. Cytological studies on the genus *Asplenium* Linn. *Indian Fern J.* 8: 69-73.
- Bir, S. S. 1972. Evolutionary status of the asplenoid and athyroid ferns with particular reference to the himalayan forms. *Cytologia* 37: 175.
- Bouharmont, J. 1977a. Cytotaxonomie et évolution chez les *Asplenium*. *La Cellule* 72: 57-74.
- . 1977b. Patterns of chromosome evolution in *Aspleniaceae*. *The Nucleus* 20: 65-70.
- Britton, D. M. 1953. Chromosome studies on ferns. *Amer. J. Bot.* 40: 575-583.
- Capurro, R. H. 1938. *Catálogo de las Pteridófitas Argentinas*. Anais da Primeira Reunião Sul Americana de Botânica. 2: 69-810.
- Darnaedi, D. 1992. A preliminary cytological study of fern flora of Cede-Pangrango National Park (West Java), pp 73-78, in J. I. Tsai & Shieh W. C. (eds.) *Proceedings of the Second Seminar on Asian Pteridology*, Taiwan. National Chung Hsiang University and National Science Council.
- Gastony, G. J. 1986. Pers. comm., in C. H. Haufler & D. E. Soltis, Genetic evidence suggests that homosporous ferns with high chromosome numbers are diploid. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 83: 4389-4393.
- Ghatak, J. 1977. Biosystematic survey of *Pteridophytes* from Shevaroy Hills, South India. *The Nucleus* 20: 105-108.
- Iwatsuki, K. 1975. Taxonomic studies of *Pteridophyta*. X. *Acta Phytotax. Geobot.* 27: 39-54.
- Jarrett, F. M.; Manton, I. & Roy, S. K. 1968. Cytological and taxonomic notes on a small collection of living ferns from Galapagos. *Kew Bull.* 22: 475-480.
- Jermy, A. C. & Walker, T. G. 1985. Cytotaxonomic studies of the ferns of Trinidad: 3. Descriptions of new species and hybrids and a new combination. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.* 13: 251-256.
- Löve, A.; D. Löve & Pichi Sermolli, R. E. G. 1977. Cytotaxonomical Atlas of the *Pteridophyta*. Vaduz.
- Lovis, J. D. 1977. Evolutionary patterns and processes in ferns, 229-240 in R. D. Preston & H. W. Woolhouse (eds.), *Advances in Botanical Research* 4. Academic Press, London.
- Lovis, J. D.; Rasbach, H.; Rasback, K. & Reichstein, T. 1977. *Asplenium azoricum* and other ferns of the *A. trichomanes* group from the Azores. *Amer. Fern J.* 67: 81-93.
- Manton, I. 1950. *Problems of cytology and evolution of the Pteridophyta*. Cambridge University Press.
- . 1959. Cytological information of the ferns of West Tropical Africa, pp. 75-81, in A. H. G. Alston (ed.), *The ferns and fern allies of west tropical Africa*. Cambridge.
- & Vida, G. 1968. Cytology of the ferns flora of Tristan da Cunha. *Proc. Roy. Soc. London, B*, 170: 361-379.
- ; Lovis, J.; Vida, G. & Gibby, M. 1986. Cytology of the fern flora of Madeira. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Bot.* 15: 123-161.
- Mickel, J. T. & Beitel, J. M. 1988. *Pteridophyte flora of Oaxaca, Mexico*. *Mem. New York Bot. Gard.* 46: 1-568.
- ; Wagner, W. H. & Chen, K. L. 1966. Chromosome observation on the ferns of Mexico. *Caryologia* 19: 85-94.
- Morzenti, V. M. 1966. Morphological and cytological data of southeastern United States species of the *Asplenium heterochroum - resiliens* complex. *Amer. Fern J.* 56: 167-177.
- . 1967. *Asplenium plenum*, a fern which suggests an unusual method of species formation. *Amer. J. Bot.* 54: 1061-1068.
- & Wagner, W. H. 1962. Southeastern American blackstem spleenworts of the *Asplenium heterochroum-resiliens* complex. *A. S. B. Bull.* 9: 40-41.
- Murakami, N. & Moran, R. C. 1993. Monograph of the Neotropical species of *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Aspleniaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 80: 1-38.
- Mutui, K.; N. Murakami & Iwatsuki, K. 1989. Chromosomes and systematics of *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Aspleniaceae). *Amer. J. Bot.* 76: 1689-1697.
- Ponce, M. 1996. Pteridophyta, pp. 1-79 en F. O. Zuloaga & O. Morrone (eds.), *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina, I. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 60.
- Proctor, G. R. 1989. Ferns of Puerto Rico and Virgin Islands. *Mem. New York Bot. Gard.* 53: 1-389.
- Smith, A. R. & Mickel, J. T. 1977. Chromosome counts for Mexican Ferns. *Brittonia* 29: 391-398.
- & Foster, M. S. 1984. Chromosome numbers and ecological observations of ferns from El Tirol, Paraguay. *Fern Gaz.* 12: 321-329.
- Sota, E. R. de la 1977. Pteridophyta, en A. L. Cabrera (ed.), Flora de la Provincia de Jujuy. *Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu.* 13(2): 1-275.
- Tryon, R. M. & Tryon, A. F. 1982. *Ferns and allied plants with special reference to Tropical America*. Springer-Verlag, New York.
- & Stolze, G. 1993. Pteridophyta of Peru. Part. V. 18-Aspleniaceae. 21-Polypodiaceae. *Fieldiana, Bot.*, n.s. 32: 1-190.
- Wagner, W. H. (Jr.) 1954. Reticulate evolution in the Appalachian aspleniums. *Evolution* 8: 103-118.
- . 1963. A biosystematic study of United States ferns. Preliminary abstract. *Amer. Fern J.* 53: 1-16.

- . 1966. Two new species of ferns from United States. *Amer. Fern. J.* 56: 3-17.
- ; Farrar, D. R. & Mc Alpin, B. W. 1970. Pteridology of the Highlands Biological Station area southern Appalachian. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 86: 1-27.
- & Wagner, F. S. 1966. Pteridophytes of the mountain lake areas, Gilles Co., Virginia. Biosystematic studies 1964-1965. *Castanea* 31: 121-140.
- Walker, T. G. 1966. A cytotaxonomic survey of the Pteridophytes of Jamaica. *Trans. Roy. Soc. Edinb.* 66: 169-237.
- . 1985. Cytotaxonomic studies of the ferns of Trinidad 2. The cytology and taxonomic implications. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot.* 13: 149-249.
- Werth, C. R. 1986. Pers. comm., in C. H. Haufler & D. E. Soltis, Genetic evidence suggests that homosporous ferns with high chromosome numbers are diploid. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 83: 4389-4393.
- ; Caplen, C. A.; Xiang, L.; Lellinger, D. B.; Evans, A. M. & Kress, W. J. 1996. Isozyme variations in *Asplenium auritum* Swartz in Costa Rica. (Abstract). *Amer. J. Bot.* 83: 132.
- Windham, M. D. 1983. The ferns of Elden Mountain, Arizona. *Amer. Fern J.* 73: 85-93.