78

NOTA

# Nuevo citotipo de Verbena gracilescens (Verbenaceae)

Andrada, Aldo R.; María E. Lozzia; Valeria de los A. Páez

Instituto de Genética, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. E-mail: rubenfml@yahoo.com.ar

▶ Resumen — Andrada, A. R.; M. E. Lozzia; V. de los A. Páez. 2012. "Nuevo citotipo de Verbena gracilescens (Verbenaceae)". Lilloa 49 (1). Verbena gracilescens es una maleza de amplia distribución en regiones templadas cálidas de América del Sur donde podrían presentarse dos variedades: V. gracilescens var. gracilescens y V. gracilescens var. swiftiana. El número básico para el género es x=7 y hay antecedentes de poliploidía. En este trabajo se realizaron estudios mitóticos, meióticos y morfológicos de la especie. Los números cromosómicos obtenidos de n = 7 y 2n = 14, indicarían que se trata de un diploide. Estos resultados no concuerdan con aquellos que señalan a la especie como un poliploide y permitirían definirla como un nuevo citotipo. El estudio citotaxonómico realizado busca contribuir al esclarecimiento de la compleja taxonomía de la especie.

Palabras clave: Verbena gracilescens, citotipo, mitosis, meiosis.

➤ **Abstract** — Andrada, A. R.; M. E. Lozzia; V. de los A. Páez. 2012. "New cytotype of *Verbena gracilescens* (Verbenaceae)". *Lilloa* 49 (1). *Verbena gracilescens* is a widely distributed weed in warm temperate regions of South America where two varieties could be present: *Verbena gracilescens* var. *gracilescens* and *Verbena gracilescens* var. *swiftiana*. The genus has a basic number x = 7; there are some antecedents of polyploidy in the *Verbena*. In this work morphological, mitotic and meiotic studies were performed for this specie. The chromosome numbers obtained n = 7 y 2n = 14 would indicate this specie is a diploid. Our results do not agree with those that indicate this specie is a polyploid and they would allow to define this taxon as a new cytotype. The cytotaxonomic study carried out intends to contribute to clarifying the complex taxonomy of the specie.

Keywords: Verbena gracilescens, cytotype, mitosis, meiosis.

#### INTRODUCCIÓN

El género *Verbena* L. está integrado por plantas herbáceas, perennes o sufrútices que se distribuyen en regiones templadas cálidas de América. El número de especies que integran el género es variable, según Nesom (2010a), *Verbena* consta actualmente de 70 especies; Sanders (2001) menciona 40 a 50 y O'Leary *et al.* (2010) 44, mientras que Múlgura (1999) menciona 21 para la Argentina.

Verbena gracilescens (Chamisso) Herter es una hierba perenne de aspecto grácil, con flores liláceas o blancas, ramas ascendentes, hojas opuestas e inflorescencias espiciformes. Se distribuye en Sudamérica donde se la considera endémica (O´Leary, 2010) y en Centroamérica (Nesom, 2010a). Recientemente, OʾLeary et al. (2010) considera dos variedades: Verbena gracilescens (Chamisso)

Herter var. gracilescens N. O'Leary y Verbena gracilescens (Chamisso) Herter var. swiftiana (Moldenke) N. O'Leary.

Verbena gracilescens forma parte de diferentes comunidades vegetales, así lo mencionan Hilgert (2003), Marino y Penseiro (2003), Quintana et al. (2005), Feldman et al. (2007); también son un componente importante en la flora de la Provincia del Espinal y en comunidades del Chaco (Cabrera, 1971 y 1976).

El género *Verbena* es considerado un invasor biológico potencial en países europeos (Speroni, 2008). En Argentina, *V. gracilescens* es una maleza de cultivos con alta resistencia al glifosato (Rodríguez, 2004) que forma parte de las comunidades vegetales que afectan los cultivos de soja en la Región Pampeana Argentina (Leguizamón *et al.*, 2006). Se están realizando estudios respecto a las propiedades medicinales de la especie y se implementaron ensayos de cultivos en

Recibido: 18/02/12 - Aceptado: 13/05/12

invernadero con fines ornamentales (Hashimoto *et al.*, 2005).

Estudios citológicos realizados en el género *Verbena* mencionan un número básico de x = 7 (Lewis, 1980; Nesom, 2010a; O'Leary *et al.*, 2010) y hay referencias de una frecuente poliploidía infragenérica. El número mitótico para *V. gracilescens* de 2n = 6x = 42 fue propuesto por Schnack 1942; Fedoroy, 1974 y Nesom, 2010a.

En este trabajo; el material recolectado fue comparado con el material de V. gracilescens del Herbario de la Fundación Miguel Lillo (LIL) y se efectuaron estudios mitóticos y meióticos de un nuevo citotipo para V. gracilescens con 2n=14 y 7II. Se estableció correspondencia con alguna de las variedades citadas por O'Leary et al. (2010).

## MATERIALES Y MÉTODOS

# MATERIAL ANALIZADO

El material fue recolectado en la ciudad de Tafí Viejo, Tucumán, Argentina, 03/11/ 2007, Andrada 610777 (LIL). Para el análisis de la meiosis los botones florales se fijaron en alcohol 96° - ácido acético 3:1. Previamente a la tinción, se efectuó una hidrólisis con ácido clorhídrico 1N a 60° C durante 20 minutos; para la coloración y montaje se utilizó hematoxilina acética al 2% y como mordiente citrato férrico.

Para el estudio mitótico fueron pretratados botones florales y ápices radiculares con 8-hidroxiquinoleína 0,002 M; la tinción y el montaje se efectuaron mediante las técnicas antes descriptas.

Las micrografías se tomaron con una cámara digital Moticam 1000 (1,3 Mp), conectada a un microscopio Nikon Eclipse E200.

Para la determinación taxonómica se usaron las claves de Troncoso y Botta (1993). Se revisaron 35 ejemplares de *V. gracilescens* del Herbario LIL, pertenecientes a diferentes países (Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay Uruguay) a los fines de compararlos con nuestras colecciones. Para la determinación varietal se tomó la clave propuesta por O'Leary *et al.* (2010).

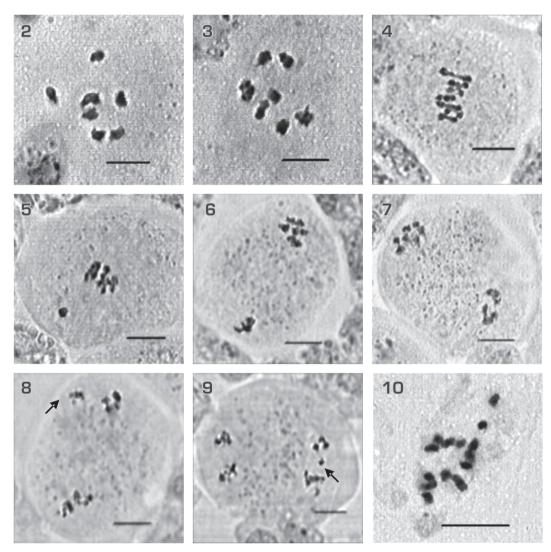


Fig. 1. Verbena gracilescens. A) Vista general de una inflorescencia, B) detalle de una hoja media tripartita, C) detalle de una espiga.

# MATERIAL ADICIONAL EXAMINADO

Verbena gracilescens: ARGENTINA. Prov., Buenos Aires: sin Dto. – sin Loc. 21/12/1944, 115860 (LIL). Dto. San Nicolás – sin Loc. 10/01/1947, 199690 (LIL). Prov., Catamarca: Dto. Capital – sin Loc. 05/10/1908, 31424 (LIL). Dto. El Alto – Loc. La Merced 14/10/1971, 516842 (LIL). Prov., Chaco: Dto. Almirante Brown – Loc. Pampa del Infierno 26/12/1946, 205563 (LIL). Dto. Co-

mandante Fernández – Loc. Las Cuchillas 04/01/1947, 201043 (LIL). Prov., Córdoba: Dto. Capital – Loc. Barrio Jardín octubre/1946, 171645 (LIL). Dto. San Justo – Loc. Las Fronteras 06/11/1952, 413539 (LIL). Prov., Corrientes: Dto. Empedrado – Loc. Orillas del Río Empedrado 19/09/1971, 538417 (LIL). Dto. Paso de los Libres – Loc. Estancia el Recreo 18/11/1973, 531807 (LIL). Prov., Entre Ríos: Dto. Paraná – sin Loc. 18/11/1973, 117145 (LIL). Prov., For-



Figs. 2-10. Verbena gracilescens. 2 y 3) Diacinesis, 7 II, 4) MI con los 7II en la placa ecuatorial, 5) MI con 1 cromosoma fuera de placa ecuatorial, 6 y 7) AI y TI respectivamente con 7 cromosomas en las regiones polares, 8) MII con cromosomas fuera de placa, 9) AII con un cromosoma rezagado, 10) Mitosis 2n = 14 cromosomas. Escala 6  $\mu$ m.

mosa: Dto. Pilcomayo - Loc. Estancia Río Negro 03/10/1947, 205459 (LIL). Dto. Patiño - Loc. Las Lomitas 04/10/1945, 143251 (LIL). Prov., Jujuy: Dto. San Pedro - Loc. La Ciénaga 26/07/1947, 205532 (LIL). Dto. Capital - Loc. Alto Laviña 03/11/1985, 582824 (LIL). Prov., La Pampa: sin Dto. - sin Loc. 11/09/1954, 433869 (LIL). Prov., La Rioja: Dto. General Roca – Loc. Chepes 10/ 11/1945, 143378 (LIL). Prov., Mendoza: Dto. Tupungato – sin Loc. 15/02/1935, 215348 (LIL). Prov., Misiones: Dto. Posadas - sin Loc. 07/09/1909, 31425 (LIL). Prov., Río Negro: Dto. Conesa – Loc. China muerta 15/ 04/1945, 432322 (LIL). Prov., Salta: Dto. Capital - Loc. La Merced 26/02/1949, 268948 (LIL). Dto. Rosario de la Frontera sin Loc. 01/03/1958, 450645 (LIL). Prov., San Juan: Dto. Rivadavia - sin Loc. 26/09/ 1945, 141418 (LIL). Dto. Desamparados -Loc. Chimbas 26/11/1945, 141417 (LIL). Prov., San Luis: Dto. Junin - Loc. Santa. Rosa 06/02/1944, 117738 (LIL). Prov., Santa Fe: Dto. San Cristóbal - Loc. Ceres 14/ 09/1946, 168891 (LIL). Prov., Santiago del Estero: Dto. La Banda – Loc. San Javier 25/ 10/1946, 196625 (LIL). Dto. La Banda - sin Loc. 15/04/1944, 108368 (LIL). Prov., Tucumán: Dto. Leales - sin Loc. 12/02/1945, 432318 (LIL). Dto. Cruz Alta - Loc. Banda de Río Salí 04/10/1946, 168951 (LIL). Dto. Tafí – Loc. La Rinconada 21/09/1949, 271307 (LIL). BOLIVIA. Prov., Tarija: Dto. Bermejo – sin Loc. 12/10/1961, 480051/52 (LIL). BRASIL. Prov., Santa Catarina: Dto. Azambuja - Loc. Brosque 14/02/1950, 429012 (LIL). PARAGUAY. Prov., Alto Paraguay: Dto. Puerto Casado - sin Loc. 1917, URUGUAY. Prov./Dto., Florida - Loc. Estancia Rincón de Sta. Elena noviembre/1946, 18903 (LIL).

#### RESULTADOS

#### Análisis citológico

Las diacinesis se desarrollaron normalmente con 7 bivalentes (7II) (Figs. 2 y 3); las metafases presentaron un cromosoma fuera de placa ecuatorial en el 7 % de las células analizadas (Fig. 5); las anafase I (AI) y telofase I (TI) se comportaron normalmente con 7 cromosomas en cada región polar (Figs. 6 y 7 respectivamente). En metafase II (MII) se registraron cromosomas fuera de placa (Fig. 8) y en anafase II (AII) un cromosoma rezagado (Fig. 9), ambos en porcentajes despreciables; las telofases II (TII) se desarrollaron normalmente.

Los estudios mitóticos revelaron un número diploide 2n=14 cromosomas, cuya longitud varía de 1,3 a 2,8  $\mu$ m.

#### Análisis taxonómico

El material recolectado presenta hojas inferiores subpecioladas, profundamente tripartitas, con márgenes inciso-dentados; las hojas superiores fueron tripartitas a linear lanceoladas, de márgenes enteros, lobulados o subdentados. Racimos paucifloros - laxifloros con flores blanco - liláceas, tubos corolinos dos o menos veces la longitud del cáliz. En el material adicional examinado se tuvieron en cuenta los rasgos enunciados y se observaron ejemplares con hojas basales elípticas a oblongas, de márgenes lobulados, dentados o inciso-dentados: características que concuerdan con las citadas por Troncoso y Botta (1993) para Verbena gracilescens (Chamisso) Herter.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La taxonomía de la familia Verbenaceae es compleja, así lo demuestran las numerosas sinonimias entre el género *Verbena* y taxas afines, como *Glandularia* J. F. Gmel., *Junellia* Moldenke, *Aloysia* Ortega ex Juss. y *Lippia* L. (Múlgura, 1999). Por medio de estudios citológicos (Schnack y Covas, 1944; Solbrig, 1973), moleculares (Yuan y Olmstead, 2008) y palinológicos (Munsif *et al.*, 2007) se ha intentado resolver los problemas taxonómicos. La delimitación sistemática no solo es compleja a nivel genérico, sino también a nivel específico.

En Verbena gracilescens se presenta la siguiente controversia: O'Leary et al. (2010) propone como válidas dos variedades Verbena gracilescens var. gracilescens y V gracilescens var. swiftiana, mientras que Nesom (2010a) menciona que en realidad corresponden a dos especies diferentes, tradicionalmente mencionadas como *Verbena gracilescens* (Chamisso) Herter y *Verbena swiftiana* Moldenke.

Del análisis de las características morfológicas del material de herbario LIL y del recolectado para nuestros trabajos, se puede concluir que este último corresponde a Verbena gracilescens (Chamisso) Herter, (Verbena gracilescens var. gracilescens O'Leary et al., 2010). Como observación interesante en el material herborizado (LIL) puede señalarse la gran variedad morfológica que presentan las hojas desde enteras a tripartitas, de márgenes enteros a cerrado-dentado, sin tener una distribución determinada en la planta. A diferencia, en las poblaciones estudiadas en este trabajo y observadas a campo, con una frecuencia casi constante se observan las hojas basales y medias tripartitas y las superiores enteras. Estas observaciones concuerdan con las realizadas por O'Leary et al. (2010). A la variabilidad descripta se suma que se han observado plantas con la totalidad de las hojas tripartitas.

El material analizado, es un taxón diploide como lo indican los números cromosómicos obtenidos de las poblaciones estudiadas: con 2n = 2x = 14 cromosomas. Estos resultados no concuerdan con los de autores anteriores que mencionan un número cromosómico de 2n = 6x = 42 para V. gracilescens (Schnack, 1942; Fedorov, 1974; O'Leary et al., 2010 y Nesom, 2010a). Se podría concluir que el taxón estudiado es un nuevo citotipo de V. gracilescens.

La distribución geográfica de *V. gracilescens* ocupa gran parte del territorio de América del Sur. Troncoso y Botta (1993) limita la distribución de *V. gracilescens* (Chamisso) Herter al Noroeste y Noreste de Argentina. Ejemplares del Herbario LIL demostraron que se distribuye además por la Región de Cuyo y la Región Pampeana, incluso hay registros en la provincia de Río Negro.

Los estudios citotaxonómicos y moleculares de ejemplares de distintas localidades, como valiosas herramientas que son, podrían contribuir a la taxonomía de V. gracilescens var. gracilescens y V. gracilescens var. swiftiana (Moldenke) N. O'Leary (de esta última no se informan recuentos cromosómicos).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Cabrera, A. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot.14: 1-42.
- Cabrera A. L. 1976. Regiones fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Gandería. Fasc. 1, 2º ed. Tomo 2:1-85.
- Fedorov, A. ed. 1974. Chromosome number in flowering plants. O. Koeltz. Sci. Publ., Koenigstein. p. 714.
- Feldman S. R., C. Alzugaray y J. P. Lewis. 2007. Relación entre la vegetación y el banco de semillas de un espartillar de *Spartina argentinensis*. Cien. Inv. Agr. 34 (1): 41-48.
- Hashimoto P. N.; M. R. Lovisolo y A. A. De Magistris 2005. Resultados preliminares del cultivo en invernadero de 12 especies nativas pampeanas con potencial ornamental. VII Jornadas Nacionales de Floricultura. Trevelin, Chubut, Argentina.
- Hilgert N. I., J. F. Penseiro, G. Marino, J. P. Lewis y C. D'Angelo. 2003. Vegetation of the Saladillo area (Province of Santa Fe) in the South of the Chaco, Argentina. Interciencia 28 (9): 512-520.
- Leguizamón E. S.; G. Ferrari, J. P. Lewis, P. S. Torres, E. Zorza, F. Daita, F. Sayago; L. Galletti, N. Tettamanti, M. Molteni; P. Ortiz, D. Agueci y R. Conti. 2006. Las comunidades de malezas de soja en la Región Pampeana Argentina: monitoreos de cambios bajo el sistema de siembra directa. 3º Congreso de Soja del Mercosur. T132: 503-506.
- Lewis, W. H. 1980. Polyploidy in Angioperms. En: Polyploidy, Biological Relevance. Plunum Press, New York and London. 241-268 pp.
- Marino, G. D. y J. F. Penseiro. 2003. Heterogeneidad florística y estructural de los bosques de Schinopsis balansae (Anacardiaceae) en el sur del Chaco húmedo. Darwiniana 41 (1-4): 17-28.
- Moldenke H. N. 1948. Notes on new and noteworthy plants IV. Phytologia 2 (10): 408-428.
- Múlgura M. E. 1999. Verbenaceae. En: F. Zuloaga y O. Morrone (eds.). Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina II. Dycotiledoneae. Monogr. Syst. Missouri. Bot. Gard. Press.
- Munsif S., M. A. Khan, M. Ahmad, M. Zafar, G. M. Shah y G. Shasmin. 2007. Comparative pollen studies of the genera *Lantana*, *Verbena* and *Vitex* of family Verbenaceae from Pakistan. Int. J. Agri. Biol. 9 (4): 545-549.
- Nesom, G.L. 2010a. Infrageneric classification of Verbena (Verbenaceae). Phytoneuron. 11: 1-15.
- Nesom G.L. 2010b. A new species of Verbena (Verbenaceae) from Northeastern Mexico and an overview of the Verbena officinalis group. Phytoneuron. 13: 1-13.

- O'Leary N., M. E. Múlgura y O. Morrone. 2010. Revisión taxonómica de las especies del género Verbena (Verbenaceae). II: Serie Verbena. Ann. Missouri Bot. Garden. 97 (3): 365-424.
- Quintana R. D., N. Madanes, A. I. Malvárez, F. A. Kalesnik y M. Cagnoni. 2005. Análisis de la vegetación en tres tipos de hábitat de Carpinchos en la baja cuenca del Río Paraná, Argentina. Miscelánea 14: 183-200.
- Rodríguez N. E. 2004. Malezas nuevas? o viejas que se adaptan a los nuevos sistemas. Disherbologia-INTA - EEA Manfredi (ed.). Ediciones INTA. Boletín Nº1.
- Sanders, R. S. 2001. The genera of Verbenaceae in the. Southeastern United States. Harvard Pap. Bot. 5: 303-358.
- Schnack, B. 1942. Nota preliminar sobre una modificación de la sistemática del género Verbena. Anales Inst. Fitotecn. Santa Catalina IV: 17-22.

- Schnack, B. J. C. & Covas, G. 1944. Nota sobre la validez del género *Glandularia* (Verbenáceas). Darwiniana 6: 469-476.
- Solbrig O. T. 1973. Chromosome cytology and arboreta: a marriage of convenience. Arnoldia 33 (2): 135-146
- Speroni, F. C. 2008. Ecological studies of plants natives of the northwest Argentina for applicative proposes in the ornamental market. Scientifica Acta. 2 (2): 60-64.
- Troncoso N. S. y S. M Botta. 1993. Verbena. En A. L. Cabrera (ed.), Fl. Prov. Jujuy, Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu. 13 (9): 87-98.
- Yuan W. Y. y R. G. Olmstead. 2008. A species-level phylogenetic study of the *Verbena* complex (Verbenaceae) indicates two independent intergeneric chloroplast transfers. Mol. Phylo. Evol. 48: 23-33.