

---

# BONPLANDIA

---

Tomo III

Marzo de 1972

Nº 8

---

## EL HIPANTIO EN «ARACHIS» («LEGUMINOSAE»), SU CRECIMIENTO Y SU UTILIDAD PARA ESTUDIOS MITÓTICOS

POR AVELIANO FERNANDEZ Y LUIS A. MROGINSKI<sup>1</sup>

---

En la colección de especies silvestres del género *Arachis*, existente en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Corrientes (Argentina), Krapovickas y Mroginski<sup>(6)</sup> detectaron la presencia de híbridos interespecíficos espontáneos con baja fertilidad de polen y escasa eficiencia reproductiva. Esta circunstancia hace que estos híbridos tengan una pobre disponibilidad de semillas para estudios mitóticos y es por ello que se hace necesaria la utilización de otros órganos para dicho propósito.

Varios investigadores, Baldwin<sup>(1)</sup>, Meyer<sup>(9)</sup>, Sharma y Sharma<sup>(11)</sup> y Rommel<sup>(10)</sup> realizaron estudios de cromosomas somáticos en hojas, con resultados satisfactorios pero para un reducido número de plantas.

En el género *Arachis*, Jacobs<sup>(4)</sup> determinó el área de mitosis en el ginecóforo. Conagin<sup>(3)</sup> efectuó recuentos cromosómicos en hojas, demostrando su utilidad.

En la bibliografía consultada no encontramos referencias vinculadas al empleo de otros órganos como material para estudios mitóticos en *Arachis*.

Dado que el hipantio tiene un rápido crecimiento, Smith<sup>(14)</sup>, consideramos la posibilidad de su uso para observar cromosomas y por ello realizamos:

---

<sup>1</sup> Jefe de Trabajos Prácticos de Genética y Fitotecnia, Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNNE, Corrientes, Becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

- 1) estudios sobre su crecimiento, con el objeto de determinar la modalidad del mismo, y
- 2) estudios mitóticos en hipantios, hojas y raicillas, para su comparación.

#### I. MATERIAL ESTUDIADO

*Arachis lignosa* (Hassl.) Krap. et Greg., Paraguay, dpto. Concepción, Concepción. 25-III-1968, leg. Krapovickas, Cristóbal y Ahumada 14248 (CTES).

*Arachis villosa* Benth., Argentina, Entre Ríos, dpto. Federación, Santa Ana, 24-IX-1961, leg. Burkart 22585 (SI).

*Arachis villosa* Benth., Uruguay, Colonia, XI-1949, leg. J. Baez (Krapovickas 6587, CTES).

*Arachis sp.*, Brasil, Paraná, Paranaguá, 25-V-1968, leg. Hammons, Langsford y Krapovickas 410 (CTES).

*Arachis lignosa* X ? (A), cult. Corrientes, 27-V-1970, leg. Krapovickas 15858 (CTES).

*Arachis lignosa* X ? (D), cult. Corrientes, 27-V-1970, leg. Krapovickas 15861 (CTES).

*Arachis lignosa* X ? (F), cult. Corrientes, 27-V-1970, leg. Krapovickas 15855 (CTES).

Este material estudiado se mantiene vivo en el Jardín de la Cátedra de Genética y Fitotecnia, de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Corrientes. Además se conserva, como testigo, un ejemplar en el Herbario del Departamento de Botánica y Ecología de esta Facultad, cuya sigla es CTES.

#### II. CRECIMIENTO DEL HIPANTIO

Para este estudio elegimos *A. lignosa*, por presentar óptimas condiciones, dado que es una especie rastrera, con sus ramas completamente pegadas al suelo. Sus flores nacen a un mismo nivel, a ras del suelo, con disponibilidad de luz semejante. Su floración es muy abundante desde agosto hasta abril. Estas características facilitan el señalamiento de las inflorescencias y las mediciones.

En octubre de 1970, uno de nosotros (L. A. M.) efectuó observaciones durante 10 días consecutivos, marcando 30 inflorescencias por día, registrando en forma individual el desarrollo del primer botón floral que emergía de cada inflorescencia. La longitud del hipantio se midió cada 4 horas.

Además se realizaron las siguientes observaciones:

- 1) momento en que el botón floral se hace visible, en su totalidad, entre las estípulas,
- 2) momento en que se hace visible el color de la corola,
- 3) momento en que se produce la apertura del botón floral,
- 4) momento en que se produce la dehiscencia de las anteras (esta observación se efectuó en flores vecinas, de la misma edad),
- 5) momento en que se produce el decoloramiento de la corola, y
- 6) momento en que se produce el marchitamiento de la flor.

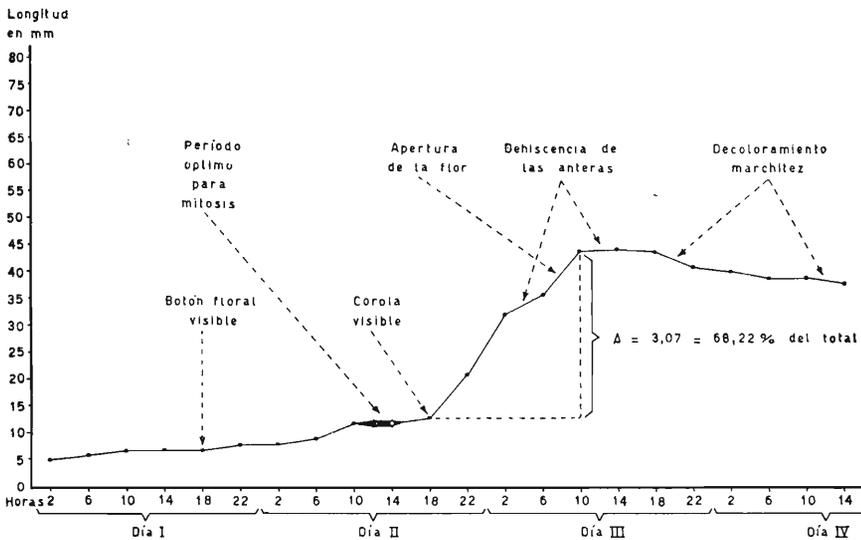


Gráfico 1. — Crecimiento de hipantio en *Arachis lignosa*

Durante las observaciones se colocó un termómetro expuesto, a la altura de las flores, registrándose una temperatura media de 23° C, una máxima absoluta de 37° C y una mínima absoluta de 10° C. También se registró una precipitación de 60 mm.

En el Gráfico N° 1 se vierten los resultados obtenidos, lográndose una curva, confeccionada en base a los promedios de todas las observaciones realizadas.

En dicha curva se representa el crecimiento en longitud del hipantio, en función de los días transcurridos desde la insinuación del ápice del botón floral entre las estípulas, hasta la decoloración y marchitamiento de la flor.

La longitud final de 45 mm (promedio) se alcanza en 3 días. El 68 % de este crecimiento se cumple durante la noche que precede a la apertura de la flor. Luego de la antesis se produce un breve acortamiento.

Entre las 10 y 15 horas del día II, la curva presenta un engrosamiento, que corresponde al período en el que son más frecuentes las

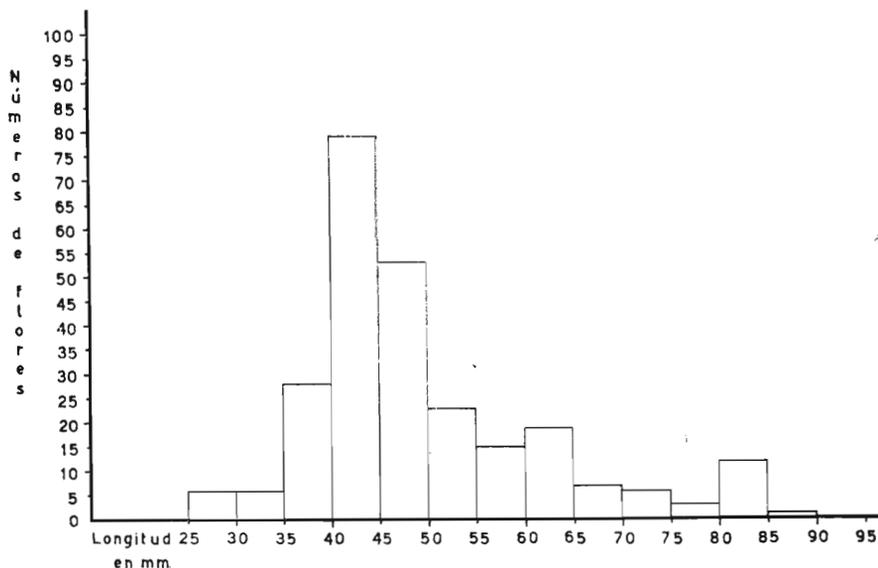


Gráfico 2. — Longitudes máximas de hipantios en *Arachis lignosa* (10 horas - Día III)

mitosis. En este período, el lapso entre las 12 y 14 horas se considera el óptimo para observar las divisiones celulares.

En el Gráfico N° 2 se ilustra el histograma de frecuencias, que muestra las variaciones en las longitudes máximas que alcanzan los hipantios, observadas a las 10 horas del día en que se produce la apertura de la flor.

Los valores fluctuaron, durante las observaciones, entre 27 y 88 mm, notándose un alejamiento de la media (45 mm) hacia las longitudes mayores en los días de más calor.

## III. ESTUDIOS MITOTICOS

Utilizamos hipantios de diversas longitudes, correspondientes a los distintos días, señalados en el Gráfico N° 1. Cada hipantio se dividió en 4 secciones de longitudes similares: basal, sub-basal, subterminal y terminal, obteniendo preparaciones de cada una de las mismas.

Al mismo tiempo, con el objeto de poder evaluar la utilidad del hipantio como material para estudios mitóticos, hicimos preparados a partir de hojas y raíces del material estudiado.

En todos los casos se utilizó el método de aplastamiento.

Para el pretratamiento del material se comparó:

- a) paradiclorobenceno (paclosol), solución saturada,
- b) colchicina al 1<sup>o</sup>/<sub>100</sub>, y
- c) 8-oxiquinoleína, solución 0,002 molar.

En todos los casos la duración del pretratamiento fue de 4 horas a temperatura de laboratorio.

Como fijadores utilizamos:

- a) Carnoy 3:1 (3 alcohol absoluto : 1 ácido acético glacial),
- b) Carnoy 1:1 (1 alcohol absoluto : 1 ácido acético glacial), y
- c) Newcomer (60 ml de isopropanol : 30 ml de ácido propiónico : 10 ml de acetona : 10 ml de éter de petróleo : 10 ml de dióxeno).

En todos los casos el material permaneció 24 horas en el fijador, en refrigerador.

El material se conservó en alcohol 70°, a temperatura de refrigerador.

El material se coloreó con:

- a) carmín acético al 0,5 %, y
- b) orceína acética (4,5 ml de orceína acética al 2,2 % : 5,5 ml de agua destilada.

El montaje permanente de los preparados se hizo con Euparal.

Los dibujos fueron confeccionados con cámara clara, utilizando un microscopio WILD.

En el Cuadro N° 1 se resumen los resultados obtenidos con las distintas combinaciones de pretratamiento, fijación y coloración, tanto en hipantios como en hojas y raíces.

En la figura 1 *a y c*, se ilustran las metafases somáticas obtenidas con las combinaciones óptimas de variantes en hipantio, y hoja, respectivamente. En la figura 1 *d*, puede observarse una metafase somática en hipantio de uno de los híbridos interespecíficos.

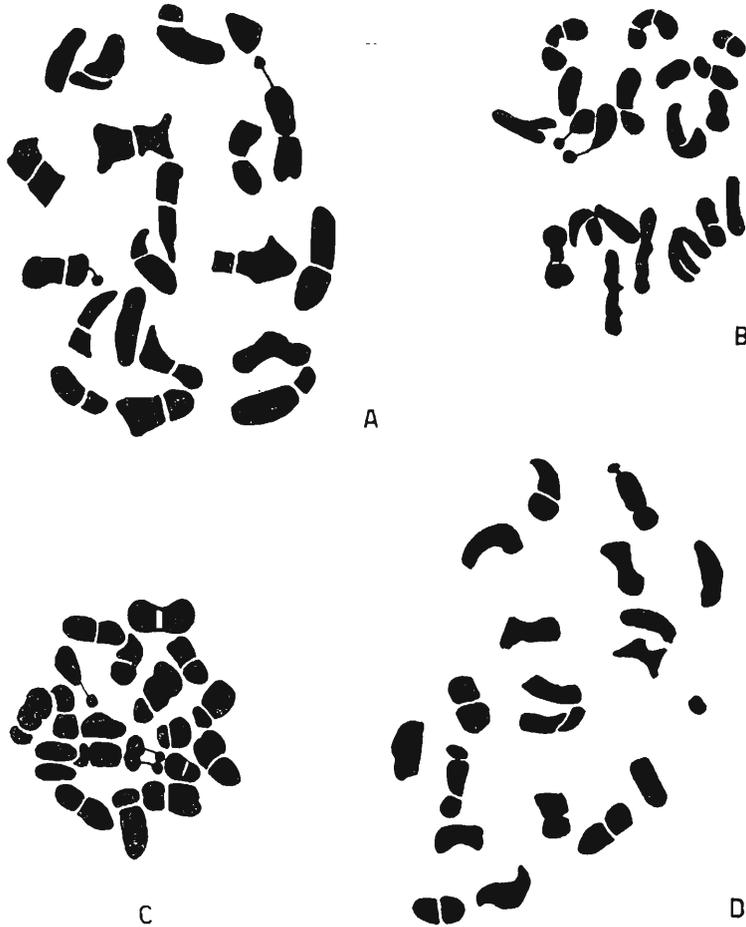


Fig. 1. — Metafases somáticas de : A, *Arachis ligosa*, hipantio ; B, A.sp. (410), raíz; C, A. sp. (410), hoja y D, híbrido (15835), hipantio. Técnica utilizada : 8-oxinoquinoleína, Carnoy 1:1: B, carmín acético : A, C y D, orceína acética. Todos  $\times 4000$

Utilizando el hipantio como material para estudios mitóticos en *Arachis*, se obtienen con mayor frecuencia metafases con los cromosomas dispersos, lográndose con ello una mejor individualización de los mismos.

CUADRO 1

		Hipantios	Raíces	Hojas
Pretratamiento	Paclisol . . . . .	+	×	+
	Colehicina . . . . .	+	+	+
	8-Oxiquinoleína . . . . .	×	+	×
Fijación	Carnoy 3 : 1 . . . . .	+	+	+
	Carnoy 1 : 1 . . . . .	×	×	×
	Newcomer . . . . .	+	+	+
Coloración	Carmín acético . . . . .	+	+	+
	Orceína acética . . . . .	×	×	×

Referencias : +, variante ensayada ; ×, variante con mejores resultados

Por lo común, en hojas, el denso contenido citoplasmático dificulta las observaciones. En cambio en raíces e hipantios no existe tal dificultad.

En cuanto al tamaño de los hipantios utilizados, la mayor frecuencia de divisiones se encontró cuando los mismos fueron recolectados entre las 10 y 15 horas del día que precede a la apertura de la flor (dicho período está marcado con trazo grueso en la curva del Gráfico N° 1).

La porción sub-basal del hipantio es la que presenta mayor frecuencia de divisiones celulares.

#### CONCLUSIONES

El hipantio de la flor de *Arachis* es un órgano propicio para estudios mitóticos.

El análisis comparativo de las metafases obtenidas en raíces, hojas e hipantios, muestra que en los últimos se logran células grandes, con poco contenido citoplasmático, con cromosomas dispersos, lo cual facilita su estudio.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la técnica recomendable en hipantio, es la siguiente:

- 1) *Recolección del material*: Los hipantios deben ser recolectados entre las 12 y 14 horas del día que precede a la apertura de la flor.
- 2) *Pretratamiento*: Con 8-Oxiquinoleína 0,002 molar, durante 4 horas a temperatura de laboratorio.
- 3) *Fijación*: Con Carnoy 1:1 (Carnoy modificado: 1 parte de alcohol absoluto y 1 parte de ácido acético glacial), durante 24 horas, en refrigerador.
- 4) *Conservación del material*: En alcohol 70°, en refrigerador.
- 5) *Coloración*: Con orceína acética (4.5 ml de orceína acética al 2,2 % y 5.5 ml de agua destilada).

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del Plan N° 631, subsidiado por la Comisión Administradora del Fondo de Promoción de la Tecnología Agropecuaria (C.A.F.P.T.A.), Buenos Aires, Argentina.

Agradecemos al Ing. Agr. Antonio Krapovickas, y a la Dra. Carmen L. Cristóbal, por el asesoramiento brindado.

Al Señor Víctor Maruñak, por la confección de los gráficos.

#### RESUMEN

Se describe el crecimiento del hipantio de las flores de *Arachis lignosa* y se determina la porción y el momento óptimos para estudios mitóticos en varias especies del mismo género.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BALDWIN, J. T., 1939. Chromosomes from leaves. *Science* 69: 240.
2. CONAGIN, H. T. M., 1963. Número de cromossomos das espécies selvagens de *Arachis*. *Bragantia* 22 (11): 125-129.
3. — 1964. Número de cromossomos en *Arachis* selvagem. *Bragantia* 23 (5): 25-27.
4. JACOBS, W. P., 1947. The development of the gynophore of the peanut plant, *Arachis hypogaea* L. I. the distribution of mitoses, the region of greatest elongation, and the maintenance of vascular continuity in the intercalary meristem. *Amer. J. Bot.* 34 (7): 361-370.
5. KRAPOVICKAS, A., 1969. Colección de especies silvestres de *Arachis* y de material autóctono de maní. Memoria III Reunión Técnica Nacional Maní: 171-177. Formosa.

6. KRAPOVICKAS, A. y L. A. MROGINSKI, 1970. Híbridos interespecíficos espontáneos en el género *Arachis* (Resumen), IDIA 273: 13.
7. MEDINA, D. M. e T. H. M. CONAGIN, 1963. Nova técnica para a contagem de cromossomos em amendoim. *Bragantia* 22 (34): 423-444.
8. — 1964. Técnica citológica. Inst. Agron. Campinas, Publ. 2610.
9. MEYER, J. R., 1943. Colchicine Feulgen leaf smears. *Stain Technol.* 18: 53-56.
10. ROMMEL, M., 1963. Some cytogenetic properties of autotetraploid varieties of sugar-beet. *Nature* 198 (4887): 1327-1328.
11. SHARMA, A. K. and A. SHARMA, 1957. Permanent smears of leaf tips for the study of chromosomes. *Stain Technol.* 32: 167-169.
12. SMARTT, J., 1964. Cross-compatibility relationships between the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) and other species of the genus *Arachis*. Ph. D. Thesis, University of North Carolina, Raleigh. (Copia mimeografiada, 86 páginas).
13. SMARTT, J. and W. C. GREGORY, 1967. Interspecific cross-compatibility between the cultivated peanut *Arachis hypogaea* L. and other members of the genus *Arachis*. *Oléagineux* 22 (7): 455-459.
14. SMITH, B. W., 1950. *Arachis hypogaea*, aerial flower and subterranean fruit. *Amer. J. Bot.* 37 (10): 802-815.