

EVALUACIÓN DE LOS LÍMITES ESPECÍFICOS ENTRE *PARTHENIUM HYSTEROPHORUS* Y *P. GLOMERATUM* (ASTERACEAE-AMBROSIINAE): EVIDENCIAS MORFOLÓGICAS, ANATÓMICAS, CROMOSOMÁTICAS Y FITOQUÍMICAS

por

MARIANELA PIAZZANO¹, GABRIEL BERNARDELLO¹, LÁZARO NOVARA²,
SILVIA R. ALARCÓN², JUANA R. DE LA FUENTE² & MIRIAM HADID^{1,3}

Resumen

PIAZZANO, M., G. BERNARDELLO, L. NOVARA, S.R. ALARCÓN, J.R. DE LA FUENTE & M. HADID (1998). Evaluación de los límites específicos entre *Parthenium hysterophorus* y *P. glomeratum* (Asteraceae-Ambrosiinae): evidencias morfológicas, anatómicas, cromosomáticas y fitoquímicas. *Anales Jard. Bot. Madrid* 56(1): 65-76.

Se evalúan los límites específicos del complejo *Parthenium hysterophorum* L./*P. glomeratum* Rollins con la hipótesis de que podría deberse a la disección de un "continuum", representado por una variación clinal en un gradiente altitudinal. Se escogió un gradiente entre 300-3500 m en Salta (Argentina). Se realizó un análisis numérico de coordenadas principales de la variabilidad exomorfológica, se hicieron estudios de anatomía foliar y caulinar, de números cromosomáticos y cariótipos y de lactonas sesquiterpénicas, y se efectuaron experiencias de trasplante. Los resultados indican que no se pueden delimitar grupos significativos sobre la base de los caracteres exomorfológicos y anatómicos. Los caracteres usados para diferenciar las especies están significativamente correlacionados con la altura sobre el mar a la que crecen estas plantas, señalando que se trata de una variación clinal. El experimento de trasplante evidencia que los mismos caracteres muestran una gran plasticidad fenotípica. Los datos citológicos y fitoquímicos indican gran polimorfismo en la población, no encontrándose discontinuidades que permitan separarla. Se considera conveniente tratar a los especímenes estudiados como coespecíficos y pertenecientes a *P. hysterophorus*, y a *P. glomeratum* como sinónimo.

Palabras clave: Asteraceae, *Parthenium hysterophorus*, *P. glomeratum*, morfología, anatomía foliar y caulinar, números cromosomáticos, cariótipos, lactonas sesquiterpénicas, análisis numérico.

Abstract

PIAZZANO, M., G. BERNARDELLO, L. NOVARA, S.R. ALARCÓN, J.R. DE LA FUENTE & M. HADID (1998). Evaluation of the species boundaries between *Parthenium hysterophorus* and *P. glomeratum* (Asteraceae-Ambrosiinae): morphological, anatomical, chromosomal and phytochemical evidence. *Anales Jard. Bot. Madrid* 56(1): 65-76 (in Spanish).

Species boundaries between *Parthenium hysterophorus* L./*P. glomeratum* Rollins were examined. Our working hypothesis states that the delimitation of these taxa is based on the dissection of a continuous variation pattern from an elevational cline. We chose a 70 km gradient from 300-3500 m in the Province of Salta (Argentina) where both taxa are sympatric. The study was centred in phenetic analyses of morphological data. In addition, foliar and

¹ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. C.C. 495. 5000 Córdoba (Argentina).

² Consejo de Investigación, Universidad Nacional de Salta (Argentina).

³ Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba (Argentina).

caulinar anatomy, chromosome numbers and karyotype, and sesquiterpene lactone composition were investigated. Transplant experiments were performed, individuals that occur naturally at high elevations were cultivated at lower ones to analyse the phenetic plasticity of some key characters. Our results indicate that based on morphological and anatomical data no group of specimens can be delimited. The main characters used to recognise both species are significantly correlated with the elevation at which they grow, suggesting a clinal variation. Cytological and phytochemical data show that there is variation among the populations and that no discontinuities can be detected to separate them. Accordingly, it is convenient to consider the studied population as belonging to *P. hysterophorus*, and *P. glomeratum* as a synonym of that species.

Key words: Asteraceae, *Parthenium hysterophorus*, *P. glomeratum*, morphology, foliar and caulinar anatomy, chromosome numbers, karyotype, sesquiterpene lactones, numerical analysis.

INTRODUCCIÓN

Parthenium (tribu *Heliantheae*, subtribu *Ambrosiinae*) cuenta con unas dieciséis especies exclusivamente americanas (ROLLINS, 1950), con su centro de diversificación en México, las Antillas y los Estados Unidos, y tres especies en Sudamérica. Es muy conocido por el "guayule" (*P. argentatum* Gray) que se cultiva por su contenido en caucho. En Argentina están citadas dos especies que integran un complejo de litigiosa delimitación: *Parthenium hysterophorus* L./*P. glomeratum* Rollins (sect. *Argyrochaeta*), las cuales conviven en las provincias norteñas de Jujuy y Salta. *P. hysterophorus* es de amplia distribución, creciendo en casi toda América, desde los Estados Unidos hasta Chile, Uruguay y Argentina, y está calificada como una maleza agresiva colonizadora de campos y áreas urbanas en la mayor parte del mundo (ROLLINS, 1950). *P. glomeratum* está catalogada, en cambio, como endémica de Bolivia y el norte argentino (ROLLINS, 1950). Los caracteres exomorfológicos de ambas son muy semejantes, siendo usados para diferenciarlas el menor tamaño de la planta, el algo mayor diámetro de los capítulos y la más densa aglomeración de los mismos en *P. glomeratum* (ROLLINS, 1950; CABRERA, 1978). Según ROLLINS (1950), y exclusivamente sobre la base de ejemplares de herbario, *P. hysterophorus* ocupa un gradiente altitudinal que va desde los 300 a los 600 m, mientras que la segunda habita entre los 2700 y los 3600 m, en las regiones fitogeográficas de la Prepuna y la Puna. No obstante, colecciones más actuales

amplían la distribución altitudinal de *P. hysterophorus* (CABRERA, 1978), haciendo que el gradiente entre ambas se superponga y que los caracteres que las diferencian sean menos discontinuos.

La mayoría de los sistemáticos reconoce que la variación dentro de las especies es continua (PRENTICE, 1986). Al mismo tiempo, es sabido que las clasificaciones basadas en disecciones explícitas de un "continuum" son inestables (JARDINE & SIBSON, 1971). El caso del complejo en estudio podría deberse a la disección de un "continuum"; el mismo representaría una variación clinal en un gradiente altitudinal, ya que entre los ejemplares de elevaciones extremas, que tienen las diferencias antes señaladas, se encuentran casos intermedios difíciles de determinar. El monógrafo del género (ROLLINS, 1950) sugirió que deberían efectuarse cuidadosos estudios de campo en poblaciones naturales de estos táxones, ya que podría tratarse de un complejo formado por variantes surgidas, tal vez, por hibridación. Más recientemente, CABRERA (1978) señaló que *P. glomeratum* es una especie muy parecida a *P. hysterophorus*, de la cual quizá solo sea una forma alpina.

Sobre esta hipótesis de trabajo, se planteó una evaluación de los límites específicos de estos táxones, tratando de conocer el patrón de variación de los caracteres y dilucidar si los datos obtenidos apoyan o no su separación. Para ello, se escogió un gradiente altitudinal (300-3500 m) en unos 70 km de longitud en la provincia argentina de Salta, en el cual se encuentran ambas especies, así como especímenes intermedios. El estudio se centró en un

análisis de la variabilidad exomorfológica, teniendo en cuenta los criterios de los taxónomos previos y basándonos en el concepto morfológico de especie. Según PRENTICE (1986), en un análisis numérico de la variación continua, el proceso de reconocimiento de patrones debe emplear técnicas de ordenamiento, por lo cual se usó análisis de coordenadas principales. Además, tratando de hallar evidencias de otra naturaleza, se hicieron estudios anatómicos de hoja y tallo, citológicos de números cromosómicos y análisis cariotípico, y fitoquímicos analizando lactonas sesquiterpénicas. Por último, se efectuaron experiencias de trasplante de individuos naturales de altura a lugares bajos, para analizar el desarrollo de sus caracteres en el nuevo ambiente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudió una población procedente de Salta (Dptos. Chicoana y Cachi), con un total de 45 especímenes (ver tabla 4). Los mismos fueron recogidos a lo largo de la Ruta Provincial 33, separándolos en los siguientes grupos de acuerdo al siguiente gradiente altitudinal: grupo 1, 300-1000 m; grupo 2, 1001-1500 m; grupo 3, 1501-2600 m, y grupo 4, 2601-3500 m. Las muestras para estudios fitoquímicos fueron colectadas en dos épocas del verano: diciembre y marzo de 1993-1994. El estudio morfológico aplicando técnicas numéricas se llevó a cabo en los cuatro grupos señalados, en tanto que los restantes estudios se hicieron en los grupos 2, 3 y 4.

A continuación se detallan las metodologías utilizadas:

Morfología. Se analizaron nueve caracteres (siete cuantitativos y dos cualitativos) en 45 ejemplares (tabla 4), usándose aquellos reputados como significativos para la diferenciación de las entidades en estudio, con los cuales se elaboró la matriz básica de datos (tabla 4). Se analizaron estadísticamente los datos entre los grupos estudiados por medio de análisis de correlación por cuadrados mínimos a un nivel de significación de 0,01, usando el programa MINITAB (RYAN & al.,

1985). Para hacer el análisis de coordenadas principales se utilizó el programa NTSYS-pc versión 1.70 (ROHLF, 1992), sobre la base del coeficiente general de similitud de Gower (SNEATH & SOKAL, 1973); este coeficiente tiene la ventaja de permitir utilizar datos mixtos (variables continuas y discretas) y fue calculado con un programa elaborado por T. Dickinson (Royal Ontario Museum, Toronto, Canadá).

Cromosomas. Las observaciones mitóticas fueron efectuadas en células meristemáticas de ápice radical de semillas. Éstas fueron puestas a germinar en cápsulas de Petri en estufa a 30 °C, y al alcanzar las raíces una longitud de 1 cm fueron pretratadas con una solución de 8-hidroxiquinoleína 0,002 M durante tres horas a temperatura ambiente y fijadas en etanol : ácido acético glacial (3 : 1). Posteriormente se procedió a hidrolizarlas con CIH 1N a 60 °C durante un minuto y se las coloreó con orceína lactopropiónica al 2 %. Los aplastamientos se hicieron en ácido acético al 45 % y los preparados fueron montados en forma permanente por el método de BRADLEY (1948). Se analizaron lotes de semillas procedentes de los ejemplares 10, 32 y 37 (ver tabla 4). Se usaron diez células por cada uno de ellos, y no menos de cinco células por cada uno de los 42 individuos que en total se examinaron. Se procedió a la medición de los siguientes parámetros en cada par cromosómico: s = brazo corto, l = brazo largo y c = longitud cromosomática total. El índice centromérico ($i = 100 s/c$) y la razón de brazo ($r = l/s$) fueron calculados y usados para clasificar los cromosomas según LEVAN & al. (1964). Los satélites fueron designados según el sistema desarrollado por BATTAGLIA (1955). Además se calcularon la longitud total del complemento haploide (tl) basada en la media de la longitud cromosomática para cada individuo, la longitud cromosomática media y la razón de brazos media. Los cariogramas e ideogramas fueron realizados según BERNARDELLO & al. (1994). La asimetría cariotípica fue estimada usando los índices intracromosomático (A_1) e intercromosomático (A_2) de ROMERO ZARCO (1986). La clasificación de STEBBINS (1971)

fue también empleada para las categorías de asimetría de cariótipos.

La meiosis fue analizada en unas mil células madre de polen de capítulos jóvenes fijados en etanol : ácido láctico (5 : 1) por 24 h, procedentes de los ejemplares 10, 20, 25, 32, 37, 38, 39 y 42 (tabla 4). Los preparados se realizaron aplastando una antera joven en una gota de orceína lactopropiónica al 2 %, haciéndolos permanentes según BRADLEY (1948).

Anatomía. Se realizaron cortes histológicos transversales de tallo y hoja de 10 μm de espesor en micrótopo, tiñéndolos con safranina y verde permanente. Se usaron los primeros entrenudos y nomofilos desarrollados, respectivamente. Se usaron los siguientes ejemplares: 6, 9, 35 y 40 (tabla 4).

Fitoquímica. Se trabajó con los siguientes ejemplares: 10, 32, 35, 43 y 44 (tabla 4). La parte aérea de la planta se secó al aire, se molió, maceró y extrajo con cloroformo (HERZ & KUMAR, 1981). El crudo de evaporación al vacío (3 g) fue cromatografiado en sílica-gel 70-230 mesh Merck y eluido con benceno, acetato de etilo y acetona, agregando porciones de 100 ml de solvente, variando la polaridad en un 10 % y recogiendo fracciones de 10 ml. Las fracciones fueron monitorizadas por cromatografía en placa analítica de sílica-gel G F254, eluyendo con benceno : acetato de etilo (3 : 7) y revelando con reactivo de vainillina. Los productos separados fueron purificados por columnas cromatográficas en seco de sílica-gel y sephadex LH-20, y determinados por métodos espectroscópicos (espectros infrarrojo, de resonancia magnética nuclear y espectrometría de masa). Las estructuras de las lactonas obtenidas en elevado grado de pureza fueron: hymenina (TORIBIO & GEISSMAN, 1968), coronofilina (PICMAN & *al.*, 1980), hysterina (ROMO DE VIVAR & *al.*, 1966), tetraneurina A (RÜESCH & MABRY, 1969) y parthenina (PICMAN & *al.*, 1980). La presencia de lactonas en los extractos cloroformicos de las plantas en dos épocas del año fue determinada en fracciones obtenidas a partir de 500 mg en un sistema cromatográfico de vacío (COLL & BOWDEN, 1986), sobre embudo de vidrio sinterizado (diámetro

5 cm), empaquetado con 30 g de sílica-gel G y eluyendo con los siguientes solventes: benceno, cloroformo y acetona, variando la polaridad en un 25 % en mezclas de 15 ml. Se analizaron las fracciones de cloroformo : acetona (7,5 : 7,5 y 5 : 10) por placa analítica de sílica-gel G F254, eluyendo con benceno : acetato de etilo (3 : 7) en una dimensión y etanol : agua en segunda dimensión; el revelado se realizó con reactivo de vainillina contra testigos aislados y caracterizados previamente.

Trasplante. Se trasplantaron varios individuos del grupo 4 (ejemplar 42 de la tabla 4) y se cultivaron en macetas en la ciudad de Salta, bajo condiciones propias de las plantas del grupo 2, siguiéndose el desarrollo de los individuos por el término de dos años consecutivos (1994-1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología

Dado que la mayor parte de los caracteres son en general muy homogéneos entre los especímenes tratados y no contribuyen a la delimitación de estas especies, se analizaron nueve caracteres por considerarlos significativos en la delimitación de las entidades (ROLLINS, 1950; CABRERA, 1978); a saber: 1, altura de la planta (muy variable según la altitud a la que crecen los individuos); 2, presencia de hojas caulinares (en relación a las hojas basales que normalmente están ausentes en ejemplares de altura); 3, longitud total de las cimas paniculiformes; 4, grado de aglomeración de los capítulos (se refiere a la agrupación laxa o densa de los capítulos en las cimas, la cual es en general más densa a mayor altitud); 5, longitud del capítulo; 6, latitud del capítulo; 7, longitud de las flores marginales; 8, longitud de las flores centrales; 9, longitud del fruto (tablas 1 y 4). Existen sutiles diferencias en el color de las flores (de blanco a marfil), por un lado difíciles de evaluar y por otro no usadas para identificarlas, por lo cual no fue tenido en cuenta.

Con la matriz básica de datos (ver tabla 4) se hizo un análisis de coordenadas principa-

TABLA 1
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE CARACTERES MORFOLÓGICOS CUANTITATIVOS
(Media \pm D.E.)

Carácter*	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
1	79,3 \pm 45,1	67,3 \pm 11,9	31,0 \pm 9,6	19,8 \pm 16,4
3	31,4 \pm 6,9	25,5 \pm 7,5	12,2 \pm 3,9	9,7 \pm 6,2
5	2,9 \pm 0,2	3,0 \pm 0,4	2,8 \pm 0,4	3,4 \pm 0,5
6	4,1 \pm 0,5	3,8 \pm 0,5	3,4 \pm 0,5	4,2 \pm 0,3
7	2,9 \pm 0,2	2,9 \pm 0,5	2,8 \pm 0,6	3,3 \pm 0,5
8	2,0 \pm 0,07	2,0 \pm 0,3	1,9 \pm 0,1	2,3 \pm 0,3
9	2,5 \pm 0,0	2,2 \pm 0,3	2,4 \pm 0,4	2,4 \pm 0,3

* Ver en tabla 4 el detalle de los caracteres.

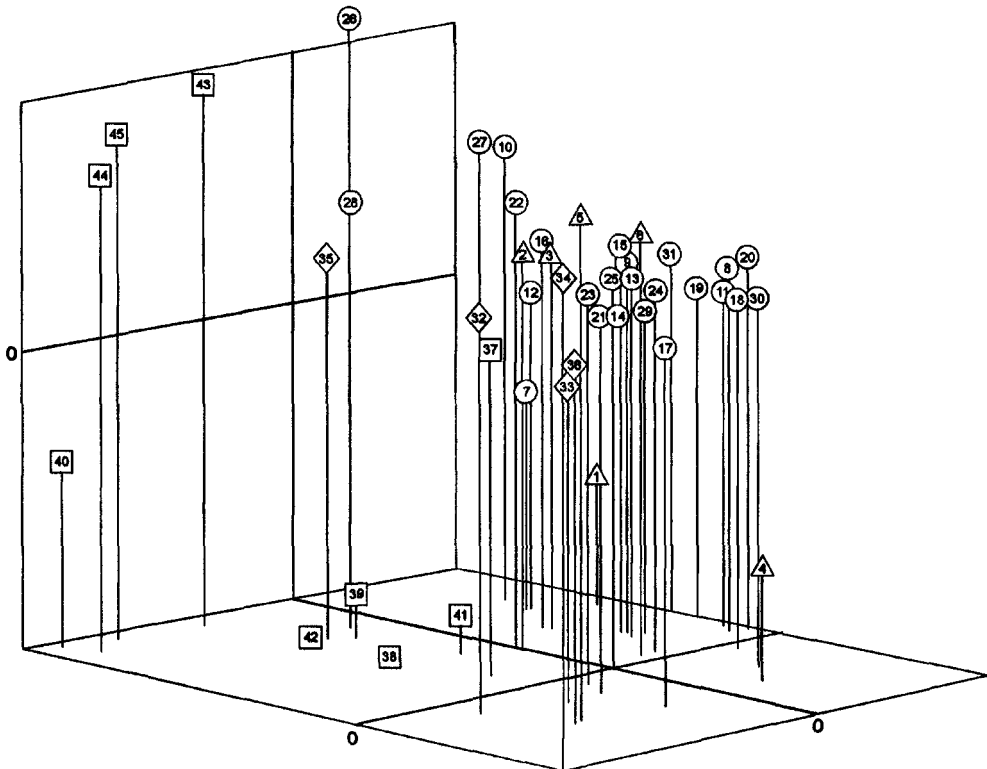


Fig. 1.—Gráfico tridimensional de las relaciones entre los especímenes estudiados de los cuatro grupos, de acuerdo al análisis de coordenadas principales en proyección oblicua. Cada espécimen lleva su correspondiente número de orden (ver tabla 4), identificándose los grupos como sigue: Δ = grupo 1; \circ = grupo 2; \diamond = grupo 3; \square = grupo 4.

les, presentándose los resultados obtenidos tridimensionalmente en la figura 1. La distribución de la OTUs en el espacio es bastante homogénea; no es posible reconocer grupos totalmente definidos. El origen altitudinal de las muestras tampoco permite distinguirlos.

Se hizo un análisis de correlación entre las siete variables cuantitativas (ver tabla 4) y la variable altura sobre el nivel del mar de cada espécimen. Únicamente los caracteres 1 (altura de la planta) y 3 (longitud total de la cima paniculiforme) mostraron una correlación significativa negativa ($r = -0,674$ y $r = -0,709$ respectivamente). Este resultado indica que ambos caracteres disminuyen a medida que aumenta la altura a la que crecen los ejemplares, sugiriendo que puede tratarse, en efecto, de una variación clinal por un gradiente altitudinal.

Anatomía foliar y caulinar

Con la excepción del "guayule", *P. incanum* y *P. hysterothorus* (cf. METCALFE & CHALK, 1950; ROLLINS, 1950), no se han encontrado datos de este tipo en otras especies del género; los datos aquí presentados concuerdan en términos generales con lo conocido para la familia en general y el género en particular (METCALFE & CHALK, 1950; ROLLINS, 1950).

Las hojas son anfiestomáticas y presentan una lámina de sección elíptica, comprimida en sentido dorsiventral (fig. 2). La epidermis es uniestratificada con pelos simples pluricelulares, siendo los estomas más numerosos en la cara abaxial. El mesofilo es de estructura isolateral (parénquima en empalizada con células alargadas en ambas caras y, entre ellas, cuatro capas de parénquima esponjoso con células isodiamétricas; fig. 2). En general, el parénquima de la cara abaxial presenta las células dispuestas más laxamente, dejando espacios intercelulares mayores. Los haces vasculares son colaterales y están rodeados por una vaina de células parenquimáticas. El hacesillo principal se encuentra rodeado totalmente por fibras, existiendo hacia la cara adaxial y por debajo de la epidermis, una zona

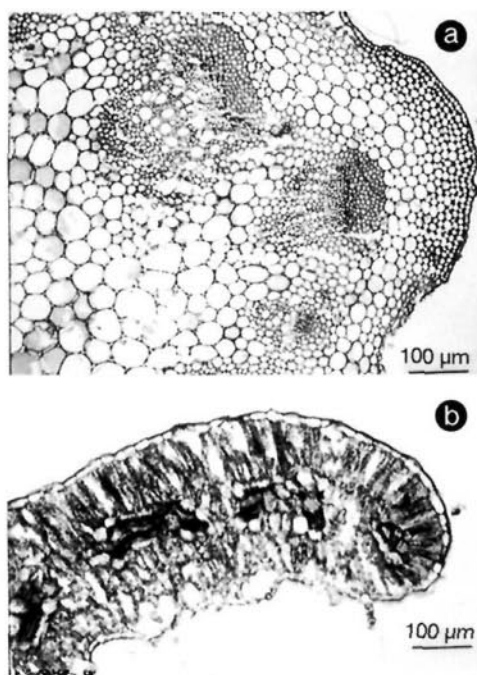


Fig. 2.—Fotomicrografías de cortes histológicos: a, trans-corte por entrenudo; b, trans-corte por hoja.

con colénquima de tipo angular en la nervadura central.

La anatomía antes descrita corresponde a plantas del grupo 2, la cual coincide con datos de ejemplares pertenecientes a baja altura. Las variaciones que se presentan cuando se les compara con aquellas provenientes de muestras de mayor altura son las siguientes: células de la vaina que rodean a los hacesillos más pequeñas, mayor grosor de las hojas (el cual aumenta proporcionalmente con el incremento del número de células del parénquima esponjoso central), parénquima esponjoso más compacto, y aumento en la frecuencia de estomas en la cara abaxial.

En lo que respecta a la anatomía caulinar, las plantas del grupo 2 muestran un tallo de sección poligonal con costillas longitudinales. Su epidermis es uniestratificada con pelos similares a los de la hoja y con cutícula delgada. Por debajo de la epidermis, se encuentra colénquima distribuido de la siguiente manera: 5 ó 6 estratos de tipo angular en las costi-

llas y 1 ó 2 estratos de tipo laminar en los vales (fig. 2). En la eustela, los hacecillos son colaterales cerrados rodeados por fibras que se prolongan entre ellos. Entre las fibras, se observan pequeños conductos secretores de tipo esquizógeno. La médula está integrada por células parenquimáticas poliédricas. A medida que se sube en el gradiente altitudinal, las plantas muestran tallos con los siguientes cambios: cutícula más gruesa, vasos del xilema más pequeños, y médula con mayor cantidad de capas de células, lo cual aumenta el grosor del tallo.

Cuanto antecede pone de manifiesto que hay escasas variaciones en la anatomía foliar y caulinar entre las plantas de las distintas alturas, no pudiéndose encontrar caracteres de valor para diferenciarlas.

Citología

Recuentos cromosómicos previos para *P. hysterophorus* indican números variables: $n = 17$ (DI FULVIO, 1977; PENG & al., 1988; GUPTA & al., 1989), $n = 18$ (TURNER & al., 1979; ROBINSON & al., 1981), y los respectivos números diploides: $2n = 34$ (ROLLINS, 1950; HENDERSON & al., 1977) y $2n = 36$ (MATHEW & MATHEW, 1988). Por otro lado, para *P. glomeratum* hay un solo informe de $n = 12$ para una población de la provincia argentina de Jujuy (TURNER & al., 1979).

Todos los individuos aquí analizados son consistentemente diploides, con 17 pares de cromosomas; no obstante, existirían poblaciones con $n = 18$ y $n = 12$ (cf. *supra*). En todos los casos la meiosis es regular, con normal formación de bivalentes en diacinesis; es común la asociación de uno de ellos al nucléolo y, en menor frecuencia, la de dos. Los números cromosómicos más comunes en la tribu *Heliantheae* son $n = 17-18$ (ROBINSON & al., 1981). PAYNE & al. (1964) sugieren $x = 18$ como número cromosómico primitivo para la subtribu *Ambrosiinae*, y a todos los números menores encontrados, como derivados por disminución aneuploide; tanto la pérdida de cromosomas superfluos como la reducción de centrómeros por translocaciones podrían explicar fácilmente esta serie descendente

(ROBINSON & al., 1981). Estudios recientes de filogenia con ADN de cloroplasto (MIAO & al., 1995) concuerdan con este postulado.

Las figuras 3 y 4 muestran, respectivamente, fotomicrografías e ideogramas, en tanto que la tabla 2 compara sus cariótipos. En general, los cromosomas son pequeños, tal como ocurre en el género (ROLLINS, 1950). La longitud cromosómica media es de $1,71 \mu\text{m}$ y la longitud de los genomas haploides promedio varía entre $25,5 \mu\text{m}$ (grupo 2) y $33,72 \mu\text{m}$ (grupo 4). Los cariótipos son levemente asimétricos, constituidos por cromosomas metacéntricos "m", submetacéntricos "sm" y subtelocéntricos "st" (tabla 2). Las diferencias entre ellos corresponden a las frecuencias de los tipos cromosómicos entre grupos: el grupo 2 presenta 29 % de cromosomas "m", 29 % "sm" y 42 % "st", mientras que los grupos 3 y 4 presentan 29 % "m", 42 % "sm" y 29 % "st". Otra diferencia se refiere a los satélites. Si bien están siempre presentes, sus características varían claramente en cada uno de los grupos. En el grupo 2 fueron observados en el brazo corto del par 9 en el 70 % de las células analizadas y por su tamaño (ca. $0,5 \mu\text{m}$) fueron clasificados como macrosatélites; fue bastante difícil observarlos en ambos homólogos, y en el caso en que ambos aparecían mostraron diferente tamaño. El grupo 3 presenta satélites en el brazo largo del par 9 en el 70 % de las células, y también en el brazo largo del par 11 en el 30 % de las células. Por último, el grupo 4 lo presenta en el par 11 en su brazo largo en el 60 % de las células. Los rangos y medias de los índices de asimetría figuran en la tabla 2. El menor valor de A_1 corresponde al grupo 2 (0,43), y el de A_2 , al grupo 3 (0,08). El tipo de asimetría cariotípica, según las categorías de STEBBINS (1971), es "2A" en todos los casos.

En un 70 % de las células mitóticas analizadas del grupo 2 se observó la presencia de un cuerpo esférico de aproximadamente $0,05 \mu\text{m}$, pudiendo corresponder a un cromosoma B, o tal vez a un fragmento cromosómico, lo cual debería confirmarse en meiosis. Existen datos de la presencia de cromosomas B en otra especie del género (*P. argentatum*; CATCHESIDE, 1950), y en la familia fueron ob-

TABLA 2
CARACTERÍSTICAS CARIOTÍPICAS

Carácter	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Fórmula genómica	5m + 5sm + 7st	5m + 7sm + 5st	5m + 7sm + 5st
Satélites en par	9 (brazo corto)	9 (brazo largo), 11 (brazo largo)	11 (brazo largo)
tl (μm)	25,5	28,2	33,72
c (μm)	1,5	1,65	1,98
r	2,59	2,43	2,67
A ₁ : media / rango	0,50 / 0,43-0,53	0,50 / 0,48-0,52	0,54 / 0,50-0,55
A ₂ : media / rango	0,16 / 0,13-0,22	0,13 / 0,08-0,17	0,18 / 0,15-0,22

tl, media de longitud total del complemento haploide; c, media de longitud cromosomática; r, media del índice braquial; A₁, índice de asimetría intracromosomática; A₂, índice de asimetría intercromosomática; m, metacéntrico; sm, submetacéntrico; st, subteloecéntrico.

servados en numerosos géneros (cf. JONES & REES, 1982).

De acuerdo con el análisis cariotípico, los cromosomas habrían sufrido reordenamientos estructurales, tal como se supone que ocurrió en la subtribu (ROBINSON & *al.*, 1981).

Fitoquímica

En la tabla 3 se detallan los resultados referidos a la presencia de lactonas sesquiterpénicas. Estas lactonas, ya señaladas para el género, presentan esqueletos estructurales del tipo xanthanólido, ambrosanólido y parthenólido (PICMAN & TOWERS, 1982). En las dos épocas del año analizadas se determinó la presencia de los mismos productos con ligeras variaciones en la concentración para un mismo ambiente ecológico. Además, variaciones secuenciales de algunas lactonas se detectaron en los diferentes individuos (tabla 3). En todas las muestras se observó la presencia de coronoflina, en tanto que hymenina, solo en el grupo 2, y tetraneurina A, únicamente en el grupo 3. Parthenina se encontró tanto en el grupo 3 como en el 4, en distintos grados de concentración. Por último, fue hallada hysterrina en los grupos 2 y 4, es decir, a altitudes muy distintas.

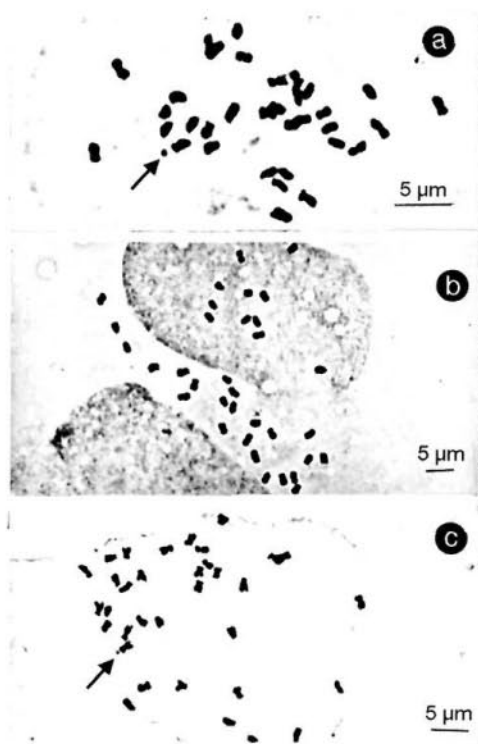


Fig. 3.—Fotomicrografías de metafases mitóticas: a, ejemplar 10 (ver tabla 4); b, ejemplar 32; c, ejemplar 37. Las flechas indican satélites.

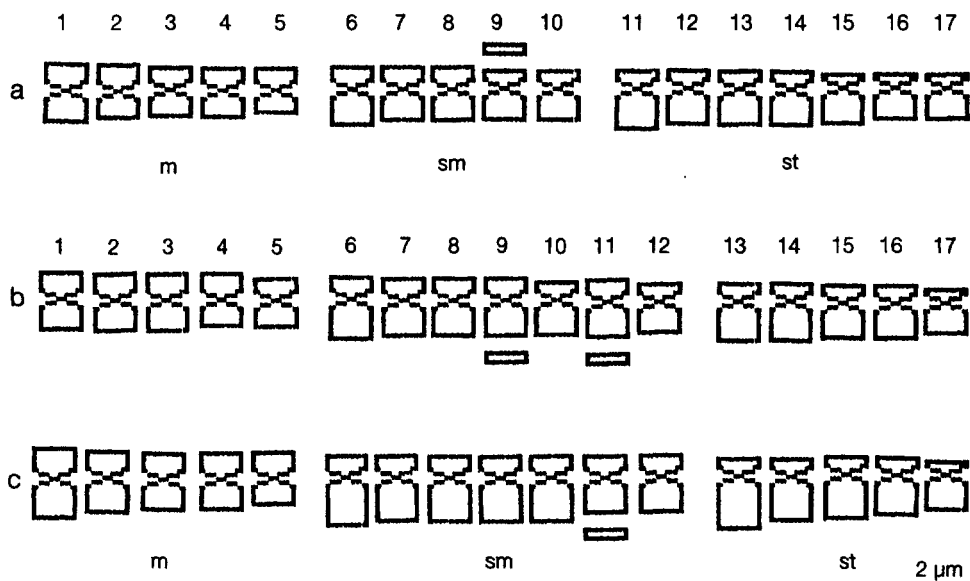


Fig. 4.—Ideogramas: a, ejemplar 10 (ver tabla 4); b, ejemplar 32; c, ejemplar 37; m, metacéntrico; sm, submetacéntrico; st, subtelocéntrico.

La variabilidad en la concentración y presencia de las lactonas sesquiterpénicas en los grupos no posibilita diferenciarlos, ya que algunos metabolitos están presentes en todos y otros son compartidos por varios. La única excepción es la existencia de hymenina en el grupo 2; pero, teniendo en cuenta lo señalado anteriormente, este hallazgo no es significativo, ya que el compuesto fue encontrado en poblaciones análogas en su altitud al grupo 1. Debe destacarse, asimismo, que los compues-

tos aquí determinados han sido señalados en diversas poblaciones de todo el mundo, incluyendo argentinas (RODRÍGUEZ, 1977; PICMAN & TOWERS, 1982). RODRÍGUEZ (1977) sugirió que la distribución ecogeográfica de los productos secundarios en *Parthenium* es probablemente resultado de una respuesta adaptativa por varios factores físicos y bióticos en el ambiente, una conclusión apoyada por estudios similares en las poblaciones por nosotros estudiadas (DE LA FUENTE & al., 1997).

TABLA 3

CONCENTRACIÓN RELATIVA SEMICUANTITATIVA DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

Grupo / Ejemplar	Hymenina	Coronofilina	Hysterina	Tetraneurina A	Parthenina
2 / 10	++++	+	++	-	-
3 / 32	-	++	-	+++	-
3 / 35	-	++	-	+	+
4 / 43	-	+	-	-	++
4 / 44	-	+	+	-	-

+ = 10-40 mg % de planta seca; ++++ = 800-1200 mg % de planta seca. Ver datos del ejemplar en tabla 4.

TABLA 4

[Los ejemplares de herbario documentales se hallan depositados en el Museo de Ciencias Naturales de Salta (MCNS), salvo indicación en contrario.]

G	N	Ejemplar (m)	Carácter								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1	<i>Novara 404</i> (370)	999	999	35	0	3	4	3	2	2,5
1	2	<i>Saravia Toledo 785</i> (350)	999	1	999	0	3	4,5	3	2	2,5
1	3	<i>Novara & Nocetti 10319</i> (460)	60	1	25	0	3	4	3	2,2	2,5
1	4	<i>Novara 3938</i> (350)	999	999	30	0	2,5	3	2,5	2	999
1	5	<i>Saravia Toledo 1736</i> (350)	999	1	999	0	3	4,5	999	2	999
1	6	<i>Novara & De la Fuente 10077</i> (740)	180	1	45	0	3	4	3	2,1	2,5
1	7	<i>Novara 5799</i> (880)	75	999	30	0	3	4,5	3,2	2	2,5
2	8	<i>Montenegro 216</i> (ca. 1300) LIL	80	1	25	0	3	3,7	3	1,8	2
2	9	<i>Novara 7287</i> (1400)	70	1	25	0	3	3,7	3	2	2,5
2	10	<i>Novara 10735</i> (1220)	70	1	25	0	3,5	4,5	3	1,9	2,5
2	11	<i>Abiatti & Claps 597</i> (1350) LIL	90	1	25	0	3	3,7	2,8	1,8	2
2	12	<i>Novara 5878</i> (1300)	70	1	15	0	3	4,5	2,3	2	2,3
2	13	<i>Filipovich 371</i> (1200) LIL	70	1	25	0	3	3,7	3,3	1,7	2,3
2	14	<i>Legname 341</i> (1200) LIL	70	1	20	0	3	4	3	2	2
2	15	<i>Montenegro 241</i> (1250) LIL	80	1	25	0	3,3	4	3	2	2
2	16	<i>Villa Carenzo 2859</i> (1250) LIL	40	1	25	0	3,5	4	3	2	2
2	17	<i>Araque & Barkley 19Ar467</i> (1200) LIL	50	1	20	0	2,5	3	2	2	1,3
2	18	<i>Piergentili 3282</i> (1200)	65	1	30	0	2,5	3,5	3	2	2
2	19	<i>Novara 8383</i> (1187)	85	1	30	0	3	4	3	2	2
2	20	<i>Montenegro 270</i> (1200) LIL	70	1	35	0	3	3,7	3	1,6	2
2	21	<i>Meyer 3831</i> (1260) LIL	50	1	15	1	3	3,5	1,8	1,8	2
2	22	<i>A. de Colina 363</i> (1253)	60	1	40	0	3	3	3,5	2,5	2,5
2	23	<i>Legname 493</i> (1250) LIL	70	1	20	0	2,5	3	3,8	2	2,3
2	24	<i>Legname 426</i> (1170) LIL	70	1	25	0	3	3,5	3,3	2	2
2	25	<i>Novara 5980</i> (1500)	50	1	30	0	3	3,7	3	2	2,5
2	26	<i>Zapata 41</i> (1250)	70	1	40	0	4	5	3,7	2,2	3
2	27	<i>Novara 6640</i> (1500)	55	1	30	0	3,7	4,5	3	2	2,5
2	28	<i>Novara & al. 8621</i> (1150)	60	1	12	0	3,3	4,3	3	2,5	2,5
2	29	<i>Meyer 3491</i> (1520) LIL	70	1	15	0	3	3,7	2	1,8	1,7
2	30	<i>Montenegro 474</i> (ca. 1300) LIL	70	1	25	0	2,5	3,3	2,5	1,7	2
2	31	<i>Novara 6315</i> (1400)	80	1	35	0	3	4,3	3	2	2
3	32	<i>Novara 10722</i> (1620)	45	1	14	1	2,7	4	2	2	3
3	33	<i>Meyer</i> (1980) LIL	20	1	18	2	3	3	3	2	2,2
3	34	<i>Garolera & Romero 192478</i> (2600) LIL	999	1	10	1	2,5	3	999	999	999
3	35	<i>Novara 10724</i> (2500)	30	1	11	2	3,5	4	3,5	2	2,5
3	36	<i>Garolera & Romero 184299</i> (1970) LIL	35	1	8	1	2,5	3	2,5	1,7	2
4	37	<i>Novara & al. 10069</i> (3400)	40	1	13	2	3	4	2,3	2,3	2,1
4	38	<i>Novara 6332</i> (3100)	11	0	7	2	3	4	2,7	2	2,3
4	39	<i>Del Castillo & al. 896</i> (3350)	17	0	17	2	3	4	3,3	2,3	2,3
4	40	<i>Novara 2610</i> (2800)	3	0	5	2	3,3	4,5	4	2,5	3
4	41	<i>Novara 6097</i> (3250)	25	0	16	2	3	4	3,3	2	2
4	42	<i>Novara & al. 10068</i> (3100)	1,5	0	1	2	3	4,3	3,3	2	2,3
4	43	<i>Novara 10731</i> (3200)	50	1	17	2	4	4,5	3,5	2,5	2,5
4	44	<i>Novara 10733</i> (3220)	10	1	3,5	2	4	4	3,5	3	2,5
4	45	<i>Novara 4441</i> (3100)	21	1	8	2	4	4,5	3,5	2,5	2,5

A. Caracteres morfológicos analizados: 1, altura de la planta (cm); 2, presencia de hojas caulinares (0 = ausentes, 1 = presentes); 3, longitud total de la cima paniculiforme (cm); 4, aglomeración de capítulos (0 = laxa, 1 = densa); 5, longitud de capítulos (mm); 6, latitud de capítulos (mm); 7, longitud de flores marginales (mm); 8, longitud de flores centrales (mm); 9, longitud de frutos (mm).

B. Matriz: básica de datos (G = n.º grupo, N = n.º de orden del ejemplar).

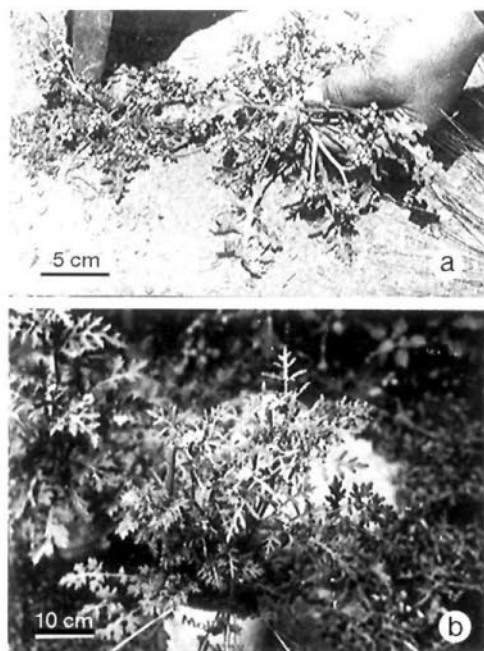


Fig. 5.—Fotografías del experimento de trasplante: a, planta en su hábitat de grupo 4; b, planta trasplantada después de dos años de cultivada.

Trasplante

De los varios ejemplares trasplantados, solo dos prosperaron en su nuevo ambiente, adquiriendo algunas características muy distintas de las que tenían en origen (fig. 5). No se observaron diferencias en longitud y latitud de capítulos, longitud de flores marginales y centrales, longitud de los frutos ni grado de aglomeración de los capítulos. En cambio, las hubo en: altura de la planta (que pasó de tener 2 cm en el campo a 50-60 cm en el trasplante), la aparición de hojas caulinares (ausentes en el campo) y la longitud de las cimas (de 1 cm en el campo a 20 cm en el trasplante). Este experimento pone de manifiesto la gran plasticidad fenotípica de estas plantas, las cuales responden significativamente a cambios cualitativos en el ambiente en que se desarrollan.

Conclusiones

Los rasgos usados hasta el presente en las

claves y descripciones no son útiles para separar los táxones en estudio. El análisis de coordenadas principales, basado exclusivamente en caracteres exomorfológicos, demuestra que los especímenes estudiados se distribuyen homogéneamente; no se pueden delimitar grupos significativos sobre la base de los mismos ni de su distribución altitudinal. El análisis de correlación indica que los dos caracteres más usados para diferenciar las especies (altura de la planta y longitud de las cimas) están significativamente correlacionados con la altura sobre el nivel del mar a la que crecen estas plantas, señalando que se trata de una variación clinal. Al mismo tiempo, el experimento de trasplante evidencia que ambos caracteres muestran una gran plasticidad fenotípica, dependiendo su expresión de las condiciones ambientales en las que se desarrollan. Los datos anatómicos sugieren que las diferencias encontradas se deben a variaciones altitudinales de un patrón común de estructura.

Por otra parte, los datos citológicos y fitoquímicos muestran un patrón de variación incongruente con aquellos datos; en efecto, los mismos indican un gran polimorfismo entre los individuos y grupos analizados, no habiéndose encontrado discontinuidades que permitan distinguirlos ni correlaciones con características morfológicas particulares. La hipótesis de ROLLINS (1950), de que podría tratarse de un complejo formado por variantes surgidas por hibridación, tampoco encuentra apoyo según los datos obtenidos en este trabajo.

Cuanto antecede indica, a nuestro juicio, que es conveniente considerar a los individuos estudiados como coespecíficos y pertenecientes a *P. hysterochorus*, y a *P. glomeratum* como sinónimo de aquella especie. La variación observada parece deberse a adaptaciones a las distintas condiciones ambientales en las que crecen estas plantas.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta, al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Provincia de Córdoba y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Arg.), por el apoyo económico

brindado; a las autoridades del Instituto M. Lillo (Tucumán), por las facilidades proporcionadas, y al Dr. L. Galetto, por el asesoramiento estadístico y sus útiles sugerencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATTAGLIA, E. (1955). Chromosome morphology and terminology. *Caryologia* 8: 179-187.
- BERNARDELLO, L.M., C.B. HEISER & M. PIAZZANO (1994). Karyotypic studies in Solanum section Lasio-carpa (Solanaceae). *Amer. J. Bot.* 81: 95-103.
- BRADLEY, M.V. (1948). A method for making aceto-car-mine squashes permanent without removal of cover slip. *Stain Technol.* 23: 41-44.
- CABRERA, A.L. (1978). Parthenium. In: A.L. Cabrera (ed.), *Flora de la Provincia de Jujuy*. Parte X: 331-333. Buenos Aires.
- CATSHESIDE, D.G. (1950). The B chromosomes of Parthenium argentatum. *Genet. Iber.* 2: 139-148.
- COLL, J.C. & B.F. BOWDEN (1986). The application of vacuum liquid chromatography to the separation of terpene mixture. *J. Nat. Prod.* 49: 934-936.
- DE LA FUENTE, J.R., L. NOVARA, S.R. ALARCÓN, O.J. DÍAZ, M.L. URIBURU & V.E. SOSA (1997). Chemotaxonomy of Parthenium: P. hysterophorus-P. glomeratum. *Phytochemistry* 45: 1185-1188.
- DI FULVIO, T.E. (1977). Recuentos cromosómicos en Angiospermas argentinas, III. *Kurtziana* 10: 69-72.
- GUPTA, R.C., B.S. GILL & R.K. GARG (1989). Chromosomal conspectum of Western Himalayan Compositae. *Aspect. Pl. Sci.* 11: 427-437.
- HENDERSON, R.J., P.V. HAAREM & G. HARVEY (1977). IOPB Chromosome numbers. *Taxon* 26: 557-565.
- HERZ, W. & N. KUMAR (1981). Sesquiterpene lactones from Helianthus grosseserratus. *Phytochemistry* 20: 99-104.
- JARDINE, N. & R. SIBSON (1971). *Mathematical Taxonomy*. London.
- JONES, R.N. & H. REES (1982). *B chromosomes*. London.
- LEVAN, A., K. FREDGA & A. SANDBERG (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 25: 201-220.
- MATHEW, A. & P.M. MATHEW (1988). Cytological studies on the South Indian Compositae. *Glimpses Pl. Res.* 8: 1-177.
- METCALFE, C.R. & L. CHALK (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*. II. Oxford.
- MIAO, B., B.L. TURNER & T.J. MABRY (1995). Systematic implications of chloroplast variation in the subtribe Ambrosiinae (Asteraceae: Heliantheae). *Amer. J. Bot.* 82: 924-932.
- PAYNE, W.W., P.H. RAVEN & D.W. KYHOS (1964). Chromosome numbers in Compositae. IV. Ambrosiaseae. *Amer. J. Bot.* 51: 419-424.
- PENG, C.I., L.A. HU & M.T. KAO (1988). Unwelcome naturalization of Parthenium hysterophorus (Asteraceae) in Taiwan. *J. Taiwan Mus.* 41: 95-101.
- PICMAN, A.K. & G.N.H. TOWERS (1982). Sesquiterpene lactones in various populations of Parthenium hysterophorus. *Biochem. Syst. Ecol.* 10: 145-153.
- PICMAN, A.K. & G.N.H. TOWERS & P.V. SUBBA RAO (1980). Coronopilin - another major sesquiterpene lactone in Parthenium hysterophorus. *Phytochemistry* 19: 2206-2207.
- PRENTICE, H.C. (1986). Continuous variation and classification. In: B.T. Styles (ed.), *Intraspecific classification of wild and cultivated plants*. The Systematics Association, Spec. vol. 29: 21-32. Oxford.
- ROBINSON, H., A.M. POWELL, R.M. KING & J.F. WEEDIN (1981). Chromosome numbers in Compositae XII: Heliantheae. *Smithsonian Contrib. Bot.* 52: 1-27.
- RODRÍGUEZ, E. (1977). Ecogeographic distribution of secondary constituents in Parthenium (Compositae). *Biochem. Syst. Ecol.* 5: 207-218.
- ROHLF, F.J. (1992). *NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate system*. New York.
- ROLLINS, R.C. (1950). The guayule rubber plant and its relatives. *Contr. Gray Herb.* 172: 1-72.
- ROMERO ZARCO, C. (1986). A new method for estimating ka-ryotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.
- ROMO DE VIVAR, A., E.A. BRATOEFF & T. RÍOS (1966). Structure of hysterin, a new sesquiterpene lactone. *J. Org. Chem.* 31: 673-677.
- RÜESCH, H. & T.J. MABRY (1969). The isolation and structure of tetraeurin A, a new pseudoguaianolide from Parthenium alpinum var. tetraeuris (Compositae). *Tetrahedron* 25: 805-811.
- RYAN, B.F., L. JOINER & T.A. RYAN (1985). *Minitab Handbook*. 2nd ed. Boston.
- SNEATH, P.H.A. & R.R. SOKAL (1973). *Numerical Taxonomy*. San Francisco.
- STEBBINS, G.L. (1971). *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. E. Arnold (Publ.) Ltd. London.
- TORIBIO, F.P. & T.A. GEISSMAN (1968). Sesquiterpene lactones. New lactones from Hymenoclea salsola T. and G. *Phytochemistry* 7: 1623-1630.
- TURNER, B.L., J. BACON, L. URBATSCH & B. SIMPSON (1979). Chromosome numbers in South American Compositae. *Amer. J. Bot.* 66: 173-178.

Editado por: Carlos Lado
Aceptado para publicación: 9-I-1998