

ESTUDIO CITOLÓGICO, EXO Y ENDOMORFOLÓGICO EN *ATRIPLEX LAMPA* (MOQ.) D. DIETR. (CHENOPODIACEAE)

N. Frayssinet¹, E. González², A. D'Ambrogio¹, S. Fernández² e I. Furlan¹

¹Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Avda. San Martín 4453, 1417. Buenos Aires, Argentina. E-mail: norafrayssinet@gmail.com

²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Argentina

RESUMEN

Atriplex lampa (Moq.) D. Dietr. es una especie que habita en ambientes áridos y suelos salinos, produce considerable cantidad de biomasa, aportando forraje de buena calidad en épocas de receso invernal. En Argentina, Provincia de Chubut, Departamento de Escalante, se observaron dos poblaciones naturales fenotípicamente diferentes.

El objetivo de este trabajo fue estudiarlas citológica, exo y endomorfológicamente a fin de comprobar si las variantes fenotípicas responden a variaciones en el número somático.

Por primera vez se presenta el análisis cariotípico y meiótico de la especie.

Hasta el momento la especie era descrita como diploide, $2n = 2x = 18$, en este estudio se encontró un citotipo tetraploide $2n = 4x = 36$. Las diferencias entre ambos citotipos se basan en el número somático, la morfología cromosómica, el comportamiento meiótico, el porte arbustivo y el tamaño de hojas y bractéolas fructíferas.

La fórmula cariotípica, longitud genómica total y rango de variación en longitud cromosómica no se alejan de los valores observados para otras especies del género.

Durante la meiosis se observa formación de tetravalentes, evidenciando alta homología entre los genomas lo que justifica su origen autoploiploide, que aún no alcanzó la diploidización. La formación de puentes y fragmentos durante anafase I sugiere la existencia de dos pares de cromosomas homólogos, heterocigóticos estructurales, para inversiones paracéntricas. La presencia de puentes en la segunda división indica recombinación meiótica en un amplio segmento invertido.

Las observaciones y mediciones exomorfológicas dan resultados significativos para el tetraploide. Los caracteres endomorfológicos se mantienen constantes en ambos niveles de ploidía al igual que el espesor de la hoja.

Palabras clave. *Atriplex lampa*, citogenética, autoploiploide, exo y endomorfológica, Patagonia, Argentina.

ABSTRACT

Atriplex lampa (Moq.) D. Dietr. is a halophytic, dioecious shrub native to Patagonia, Argentina. Although relatively neglected by science, it is important for sand-stabilization and for biomass and fodder production due to its nutritional characteristics and acceptable percentage of gross protein.

The objective of this study is to provide cytological and morpho-anatomical information about *A. lampa*, which could be useful when applied in recovery and repopulation plans intending to use this species in areas degraded by petroleum industry activity.

Natural populations in the Province of Chubut (45°-46° S; 67°- 68° W), Argentina, were studied. Karyotypes and meiotic behavior were analyzed according to conventional protocols, as were anatomical and morphological comparisons. Analysis of variance was used to test morphometrical differences between populations and cytotypes. Voucher specimens are deposited at the Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional San Juan Bosco de Patagonia, Argentina.

Our results show that *A. lampa* has two cytotypes: diploids ($2n = 2x = 18$) and tetraploids ($2n = 4x = 36$). The stems and roots have anomalous secondary growth, and the leaves are amphistomatic, with a Kranz structure, and are covered with dense glandular trichomes. The leaves and fruit bracteoles are different sizes in the two cytotypes.

Key words: *Atriplex lampa*, cytogenetics, autopolyploid morphoanatomical variation, Patagonia, Argentina.

INTRODUCCIÓN

El género *Atriplex* presenta alrededor de 350 especies (FAO, 1997); es el más numeroso dentro de la familia Chenopodiaceae (Múlgura de Romero, 1981) frecuentemente asociado a suelos salinos o alcalinos de ambientes áridos en desiertos y semidesiertos del mundo (Rosas, 1989; Olivera & Gastó, 1981). En Argentina tiene amplia distribución con aproximadamente 34 especies (Múlgura de Romero, 1983; Múlgura, 1999). *Atriplex lampa* se encuentra en nuestro país entre los 30°- 47° S y 62°- 71° O y desde los 2 000 m.s.n.m. en los Andes hasta la costa Atlántica (Bredvan *et al.* 1994).

El número básico del género *Atriplex* es $x = 9$ (McArthur & Sanderson, 1984). En varias especies se establecieron distintos niveles de ploidía como por ejemplo en *A. canescens* (Stutz *et al.*, 1975; Senock *et al.*, 1991, Sanderson & Stutz, 1994) y en *A. confertifolia* (Stutz y Sanderson, 1983; Sanderson *et al.*, 1990), *A. halimus* (Walker *et al.*, 2005) mientras que *Atriplex lampa* (Moq.) D. Dietr. (zampa) se cita como diploide (Del Pero *et al.*, 2002). No hay registros bibliográficos sobre la presencia de formas tetraploides, tampoco estudios de cariotipo ni comportamiento meiótico de la especie.

Es un arbusto dioico, alcanza hasta 2.50 m de altura (Fig. 6 A); presenta hojas grisáceas, generalmente sinuado-dentadas, a veces de borde entero. Las inflorescencias masculinas se ubican en los ápices de las ramas, y las flores femeninas, solitarias o en dicasios sésiles se agrupan en espigas axilares o terminales (Múlgura de Romero, 1981). Las flores femeninas presentan bractéolas fructíferas flabeladas, membranosas, con borde entero o denticulado soldadas en el tercio inferior. Las semillas tienen episperma negruzco y

un embrión con radícula lateral ascendente (Múlgura de Romero, 1981).

Existen referencias bibliográficas sobre aspectos exo y endomorfológicos de algunas especies del género *Atriplex* (Metcalfe, 1950; Pýkko, 1966; Carolin *et al.*, 1975, Carolin, 1983; Fahn, 1979, 1982; Esau, 1987, Rosas, 1989; Hickey, 1974; Heklau, 1992) y en Argentina, de algunas especies en particular (Ragonese, 1985; Ancibor, 1992; Cuadrado, 1993). Por otra parte, estudios químicos sobre la familia Chenopodiaceae han permitido detectar la presencia de flavonoides poco comunes (Sanderson *et al.*, 1988), estudios sobre germinación de las semillas (Maltován y Candia, 1995); Del Pero Martínez (1993) y Del Pero Martínez *et al.* (2002) quienes realizaron estudios biosistemáticos.

Es importante como fijadora de médanos, junto a otras especies contribuye a la instalación del estrato herbáceo; además se le emplea como planta ornamental y para formación de setos vivos (Passera y Borsetto, 1989).

Produce considerable biomasa y es adecuada como forrajera (Brevedan *et al.*, 1994; Colomer y Passera, 1990). Aporta alimento a lo largo de todo el año, incluso en épocas invernales cuando las demás especies están en receso vegetativo (Passera y Borsetto, 1989). Posee buenas características nutritivas (Silva *et al.*, 1986). En un estudio anterior (Frayssinet *et al.*, 2000) hallaron diferencias en el valor forrajero en distintas poblaciones de *A. lampa*. Dado el poder germinativo de la especie (Gratti *et al.*, 1993) y considerando la posibilidad de multiplicación por estacas para fines forrajeros (Fernández *et al.* 1998), sería deseable tener un indicador fenotípico para seleccionar el material a propagar.

El objetivo de este trabajo es estudiar citológica, exo y endomorfológicamente poblaciones locales diferentes a fin de comprobar si las variantes fenotípicas responden a variaciones en el número somático.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron dos poblaciones naturales, fenotípicamente diferentes de *A. lampa* en la Provincia de Chubut, Departamento de Escalante (45-46° S y 67-68° O), una de las zonas más ventosas del mundo (promedio anual 30 km/h) donde la precipitación media es menor a 200 mm anuales, y un rango de temperatura entre 3-11°C en invierno y entre 12-24°C en verano. Dichas poblaciones están ubicadas a 20 km N de la ciudad de Comodoro Rivadavia (Astra) y 20 km S (Estancia Arroyo La Mata) y cuentan con más de 100 individuos cada una. Los muestreos para todos los estudios se realizaron en 20 plantas por población, marcadas al azar, durante los años 2000-2002.

El material herborizado se depositó en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco y se estudiaron además los siguientes ejemplares:

Prov. de Río Negro, Dpto. San Antonio, 19-XII-1938, Ivan M. Jonston 2.3498 (SI).-
Dpto. Chelforó, 15-II-98, Burkart 15.921 (SI).-
Prov. Chubut, Dpto Biedma, Puerto Madryn, 13-XII-1904, Dusen 5.378 (SI).-
Dpto. Biedma, Puerto Madryn, 5-XII-1970, S. Crespo y N. Troncoso, 1582- Dpto. Biedma, entre Faro y Res. Prov., 5-XII-1970, J. Daciuk(SI), Dpto. Biedma, Pirámides, 8-I-1914, Hicken-Hauman 23 (SI).-
Dpto. Biedma Costa del Golfo San José, 3-X-1969, J. Daciuk (SI).-
Dpto. Biedma Punta Norte, 12-II-68, J. Daciuk 105 (SI).-
Dpto. Raw-

son, salida de Trelew camino a Comodoro Rivadavia, 5-XII-1970 Crespo y Troncoso 1600 (SI).- Dpto. Biedma, costa W del golfo Nuevo, Playa el Doradillo, 10XI-1970, J. Daciuk (SI).- Dpto. Biedma, Península Valdés, Punta Pirámides, I-VIII-1914, Hicken y Hauman 223 (SI).- Dpto. Biedma, Península Valdés, Salina Grande, cerca Ruta 26, 15-XII-1968, Piccinini y García 1236.- Dpto. Biedma, Península Valdés, 30-XI 1982, Herman 2723 UNS (SI).- Dpto. Florentino Ameghino, 12 km de las Chapas, Ruta 31, 9-XII-1984, Stuessy et al 6939 (SI). Prov. Santa Cruz, Dpto. Deseado, Caleta Olivia, 8XII-1970, S. Crespo y N. Troncoso 1670 (SI).

Estudios citológicos

Durante la campaña 2000-2001 se tomaron, considerando su poder germinativo, 50 semillas al azar por planta marcada en cada población.

El número cromosómico se determinó a partir de ápices radicales provenientes de las semillas germinadas de cada población. Se pretrataron con 8-oxiquinoleína (0.002 M) y oxigenación a 4°C durante 5 horas; se fijaron en etanol absoluto: ácido acético glacial (3:1) y se tiñeron con colorante de Feulgen. Las paredes celulares fueron digeridas durante 45' a 37°C en la mezcla de celulasa y pectinasa al 10% en solución buffer de citrato de sodio (10 mM, pH = 4.6). Previo lavado, la tinción se reforzó con hematoxilina-acética (Núñez, 1968). El recuento mínimo fue de cinco placas por raíz. De las 10 mejores células analizadas se calcularon los promedios de las medidas cromosómicas para construir el ideograma. Los cromosomas fueron ordenados por pares de acuerdo a su tamaño. La nomenclatura utilizada para la descripción del cariotipo fue la propuesta por Levan *et al.* (1964) y la morfología cromosómica se de-

terminó usando el índice centromérico ($Ic = \text{brazo corto} \times 100 / \text{longitud total}$). Las placas seleccionadas, por su claridad, fueron digitalizadas y analizadas mediante programa *Scion Image*. La estimación de la asimetría intercromosómica se realizó por medio del parámetro numérico A_1 y A_2 , según Romero Zarco (1986).

Para el análisis meiótico de las plantas masculinas marcadas, se disecaron anteras extraídas de botones florales previamente fijadas en etanol: acético (3:1) y se tiñeron con hematoxilina acética. La viabilidad de los granos de polen se verificó con la coloración de Alexander (1969) sobre un total de 1500 granos. Se utilizó un equipo fotográfico Zeiss MC63 y película AGFA-Pan APX 25 en microscopio Zeiss ST 16.

Estudios exo y endomorfológicos

En cada población se midió el alto y el ancho de los individuos marcados. Se muestrearon 100 hojas tectrices tomadas de la parte media de las ramas y 100 bractéolas fructíferas, de ellas se midió el largo y el ancho (zona media) con calibre digital Essex P.102/2. Los resultados se expresan en términos de media \pm 1 desvío estándar. Los valores se analizaron estadísticamente mediante ANOVA. Se fotografió con microscopio estereoscópico *Leica Wild Mb 8* y equipo fotográfico *Wild MPS 52*.

Para los estudios endomorfológicos de raíz, tallo, hojas y bractéolas fructíferas, se trabajó con material fresco; parte del mismo se fijó en FAA y se deshidrató según la serie ascendente alcohol etílico-xileno. Se infiltró con Paraplast (P.F. 56°C), se realizaron cortes entre 8 y 10 μm de espesor con micrótomo rotativo y se tiñeron con safranina-fast green.

Para el estudio de la arquitectura foliar, se realizaron diafanizados de hoja y bractéola (Dizeo de Stritmatter, 1973) y se describió según Hickey (1974). Todas las imágenes se realizaron con foto microscopio *Axioplan Zeiss D-7083*.

Las descripciones de los cortes transversales corresponden a preparados histológicos realizados a partir de la parte media de hojas adultas en su máxima expansión. El espesor total de la lámina foliar, incluidas las glándulas de sal, se midieron con MO, y las medidas se tomaron en sectores próximos al haz vascular central, sólo para ilustrar este aspecto puntual se presenta una fotografía tomada con ESEM (CITEFA).

RESULTADOS

Estudios citológicos

Citotipo tetraploide: población Astra

Las células somáticas de los distintos ejemplares analizados, procedentes de la misma población, presentaron 36 cromosomas metacéntricos, el par 8 con un satélite pequeño (Fig. 1 A y B). A partir de mediciones realizadas en las placas seleccionadas se calcularon los valores medios de los distintos parámetros (tabla 1).

Análisis meiótico

El tamaño cromosómico y la naturaleza de los componentes celulares de esta especie hace que el material sea de difícil manejo para su observación.

Se examinaron 2 175 células madres de polen (CMP), 321 corresponden a la primera división meiótica y 854 a la segunda (tabla 2).

Primera división meiótica

Del 100% de las CMP (tabla 2) observadas en diacinesis y en metafase I en vista polar, el 43% muestran la formación de 18 bivalentes (Fig. 3 C), el 5% se observan 17 bivalentes y 2 univalentes debido a fallas en el apareamiento. El 41% presentan uno o dos tetravalentes (Fig. 3 D) y en el 16% se encontraron hasta seis tetravalentes (Fig. 3 A y B).

En anafase I el 11% de los CMP observados muestran uno o dos puentes y fragmentos correspondientes (Fig. 3 E y F), indicando la presencia de homólogos heterocigóticos estructurales para una inversión paracéntrica.

Segunda división meiótica

En anafase II, en el 4% de las células se observan puentes (Fig. 3 G) reflejando la producción de quiasmas dentro y fuera del ojal de inversión.

El 95% de las tétradas analizadas produjeron microsporas normales; el 4% presentó péntadas donde la célula más pequeña podría estar destinada a la eliminación de fragmentos céntricos remanentes. Sólo en el 1% de los casos se observaron monadas, díadas o tríadas, conduciendo a la formación de un bajo número de gametos desbalanceados, hecho que se traduce en la formación de granos de polen de diferente tamaño.

La fertilidad medida por tinción de Alexander en granos de polen es del 74%.

Citotipo diploide: población Estancia Arroyo La Mata.

En las células somáticas analizadas se contaron 18 cromosomas metacéntricos, el par 4 presenta un satélite pequeño (Fig. 5 A). La frecuencia de células polisomáticas es baja. Los valores promedio de los distintos parámetros se expresan en la tabla 1. El cariotipo es simétrico y con cromosomas metacéntricos.

Análisis meiótico

De este citotipo diploide se analizaron 800 CMP. En diacinesis y metafase I se observaron nueve bivalentes (Fig. 5B). La coorientación de los mismos en la placa ecuatorial y la disyunción de cromosomas homólogos durante anafase I fue sincrónica. La segunda división resultó normal. No se observaron figuras meióticas que hagan presumir ningún tipo de alteración estructural. La fertilidad medida por tinción de Alexander en granos de polen es del 98%.

Estudio exo y endomorfológico

Arbustos

El porte promedio de los individuos de la población 4x es de 2.4 m (± 0.25) de altura y un diámetro de 6.6 m (± 2.83) y en la población 2x presentan una altura de 1.01m (± 0.22) y un diámetro de 4.89 m (± 1.32). Ambos citotipos muestran diferencias significativas en las medidas del diámetro promedio del porte de la planta, en tanto las medias en altura no muestran diferencia significativa.

Hojas

En ambos citotipos las hojas son alternas, opuestas o subopuestas, subsésiles o pecioladas, oblongas con el eje arqueado, sinuado dentadas a veces enteras y planas (Fig. 6 B-C-E). Las bractéolas fructíferas representan

un carácter básico para la identificación de las especies de *Atriplex*. Son membranáceas, soldadas sólo en la base, ovado-rómbicas, obtusas, enteras o denticuladas, con el dorso finamente reticulado a la madurez y brevemente pediceladas (Fig. 6 D-F).

Se realizaron mediciones en hojas (longitud, ancho y espesor) y en las bractéolas fructíferas (longitud y ancho), los valores medios se consignaron en la tabla 3.

En la Fig. 7 se aprecian los espesores correspondientes al mesófilo y a ambas capas de glándulas de sal (ESEM).

Endomorfología foliar

Las hojas se disponen plegadas sobre el nervio central, por lo tanto el corte transversal presenta un aspecto en “v” (Fig. 7). Las células epidérmicas son pequeñas, con paredes delgadas, abundantes glándulas de sal y están dispuestas en distintos estratos debido a la longitud variable del pie (Fig. 7 y Fig. 8A). Los estomas son anomocíticos y están presentes en ambas superficies. En posición subepidérmica existe un estrato de células incoloras denominada hipodermis (Fig. 8 A). La anatomía es tipo Kranz, con vaina alrededor de los haces vasculares, pero incompleta hacia la cara abaxial. Esta vaina está constituida por células grandes con cloroplastos conspicuos. En contacto con ella, las células del clorénquima presentan disposición radiada y cloroplastos pequeños. Las zonas del mesófilo entre los haces vasculares incluyen un parénquima de células isodiamétricas. Son abundantes en el mesófilo los idioblastos con drusas.

Los haces vasculares son colaterales. Asociado al haz principal se observa un refuerzo esclerenquimático en forma de fibras lig-

nificadas, siendo más notorio hacia la cara abaxial (Fig. 7).

Venación

Es camptódroma, broquidódroma con tres venas principales basales. La red vascular es cerrada, densa, sin tejidos mecánicos y presenta vainas parenquimáticas con células rectangulares que rodean a los elementos vasculares hasta la última venación, órdenes cuarto y quinto. Las areolas son cuadrangulares o pentagonales, con terminaciones simples y ramificadas (Fig. 8 B y C). Las traqueidas terminales presentan engrosamientos helicoidales.

Endomorfolología de la bractéola fructífera

En cada bractéola se diferencia una porción distal libre y otra basal próxima al ovario. En vista superficial y a partir de material diafanizado la bractéola presenta vascularización reticulada (Fig. 9 A) con areolas tetrapentagonales con o sin vénulas. Cuando las vénulas están presentes son simples, lineales o curvadas, ramificadas una o dos veces.

La porción distal, en corte transversal, recuerda a la anatomía foliar y conserva la estructura Kranz. Ambas epidermis son unistratas y con estomas a nivel o levemente hundidos (Fig. 9 B). Las células del mesófilo son grandes, sin cloroplastos y las drusas muy frecuentes.

La porción basal de la bractéola, en contacto con el fruto, presenta células epidérmicas y paredes gruesas. Los haces vasculares están trabados con fibras que se disponen desde una capa subepidérmica. Dichos haces presentan pocos elementos de conducción de

xilema y floema y muchas fibras lignificadas (Fig. 9 C). Las glándulas de sal son escasas en la cara ventral, sus células apicales pueden ser deprimidas axialmente o alargadas (Fig. 9 D).

Endomorfolología del tallo

En corte transversal los tallos primarios más jóvenes son de forma poligonal con notables costillas variando su número entre cuatro y ocho. La epidermis es unistrata con glándulas de sal, la corteza tiene una zona de colénquima angular muy desarrollada en las costillas y una región más interna de parénquima (Fig. 10 A).

A la altura del 3° - 4° entrenudo se diferencian, por debajo del colénquima, 1-3 capas clorénquimáticas, un parénquima incoloro con abundantes drusas y un estrato de células de mayor diámetro y paredes engrosadas que posteriormente constituirán un anillo discontinuo de fibras lignificadas. Los haces vasculares son colaterales abiertos, en número de 8-10 dispuestos en un ciclo rodeando una médula con drusas.

A partir del octavo entrenudo y debido al crecimiento celular sólo algunas costillas son prominentes y el anillo de fibras ya está diferenciado (Fig. 10 B).

El crecimiento secundario se desvía del típico de la mayoría de las dicotiledóneas originando un crecimiento inusual al no formar el clásico cilindro de cambium constituido por el cambium fascicular más el cambium interfascicular. El primer cambium adicional se desarrolla a partir de células parenquimáticas ubicadas hacia el interior del anillo discontinuo de fibras (Fig. 10 D).

A partir de este cambium, es que se diferencian nuevos haces vasculares los que quedan inmersos en el tejido parenquimático interfascicular que se lignifica tempranamente, y es denominado tejido conjuntivo (Fig. 10 C y E).

El primer cambium adicional produce xilema secundario hacia el interior y floema secundario hacia el exterior, pero no todas las células se diferencian para producir floema, la capa más externa permanece activa y formará un nuevo cambium. Esto significa que cada cambium adicional es siempre iniciado en continuidad con el cambium previamente formado (Fig. 10 E).

Un tallo de medio centímetro de diámetro ya tiene forma circular debido al crecimiento secundario y externamente está cubierto por peridermis.

Endomorfología de la raíz

Las raíces con estructura primaria son diarcas. Tienen el mismo tipo de crecimiento secundario que los tallos, con cordones vasculares que quedan incluidos en el tejido conjuntivo (Fig. 10 E y F). En la peridermis se detectan varias capas de súber.

DISCUSIÓN

A. lampa presenta dos citotipos: uno diploide ($2n = 2x = 18 m$) y otro tetraploide ($2n = 4x = 36 m$). Las diferencias entre ambos citotipos se basan en el número somático, la morfología cromosómica, el comportamiento meiótico, el porte arbustivo, y el tamaño de hojas y bractéolas fructíferas.

Por primera vez se presenta el análisis cariotípico y meiótico de la especie. Los parámetros analizados: fórmula cariotípica,

longitud genómica total y rango de variación en longitud cromosómica no se alejan de los valores observados para otras especies del género (Ruas, 2001; D'Ambrogio 2000).

La longitud cromosómica media del genoma básico del citotipo tetraploide es $1.75 \mu m$, mientras que la del diploide es $1.80 \mu m$, la diferencia ($0.6 \mu m$) se debe a variaciones en la longitud promedio del brazo largo.

Ambos citotipos presentan cromosomas metacéntricos, al comparar los idiogramas se deduce que tres pares cromosómicos coinciden en la longitud braquial, tres pares presentan diferencias en la longitud en ambos brazos, los pares restantes difieren en uno de sus brazos.

En el citotipo $2x$ la fertilidad está asegurada por la formación de gametos balanceados, (98% de viabilidad). En el citotipo tetraploide se reduce la fertilidad (74%). Durante la meiosis se observa formación de hasta seis tetravalentes, evidenciando alta homología entre los genomas lo que justifica su origen autoploiploide. Dentro de las muestras analizadas no hubo individuos con formación de alto porcentaje de bivalentes, lo que hace suponer que este autoploiploide no se encuentra en proceso de diploidización. La formación de puentes y fragmentos durante la primera anafase sugiere la existencia de por lo menos dos pares de cromosomas homólogos, heterocigóticos estructurales, para inversiones paracéntricas. La presencia de puentes en la segunda división indica recombinación meiótica ocurrida en un segmento invertido amplio.

Estas observaciones confirman que la diferencia en la longitud de los cariotipos pueda deberse a una inversión paracéntrica que se produjo en alguna planta diploide,

y por el fenómeno de duplicación originó tetraploidía. Estas conclusiones coinciden con Ruas *et al.*, 2001 para otras especies del género.

Stutz *et al.* (1975) observó en *A. confertifolia* dimorfismo en granos de polen que atribuyó a la formación de gametos no reducidos. Al encontrar aquí en el citotipo tetraploide de *A. lampa* formación de microsporas no reducidas (mónadas y tríadas) indicaría que pueden ser la causa del origen de citotipos con niveles de ploidía aún mayores que no se han estudiado todavía, descartando que se trate de una especie diploide como lo descrito para otras especies del género (Stutz & Sanderson, 1983, Sanderson & Stutz, 1994; Ruas *et al.*, 2001).

Los caracteres endomorfológicos se mantienen constantes en ambos niveles de ploidía al igual que el espesor de la hoja.

La pubescencia característica que presenta *A. lampa* corresponde al tipo más sencillo de glándulas de sal descritas por Fahn (1979) y son semejantes a las estudiadas para *A. sagittifolia* (D' Ambrogio, *et al.* 2000).

Las hojas son anfiestomáticas, presentan estructura Kranz (estrategia fotosintética C4) (Fahn & Zimmerman, 1982; Metcalfe & Chalk, 1950, Pýkko, 1966); esta especie se ajusta al modelo Atriplicoide propuesto por Carolin *et al.* (1975).

El crecimiento secundario se desvía del típico de la mayoría de las dicotiledóneas.

Los tallos y raíces presentan crecimiento secundario inusual o anómalo.

La presencia de abundantes drusas concuerda con lo descrito para la familia y el

género; éstas tienen mayor presencia en las bractéolas fructíferas que en las hojas. Dichas bractéolas muestran modificaciones con respecto a los nomofilos, especialmente en la forma de las glándulas de sal y en los haces vasculares de la parte basal.

Presenta al igual que *A. sagittifolia* el floema secundario incluido en el tejido conjuntivo, carácter éste, de valor adaptativo para las especies de zonas áridas y semiáridas.

El porte de la planta, las hojas y las bractéolas fructíferas, fueron elegidos para su medición por ser caracteres de fácil reconocimiento en esta especie. Los valores hallados en plantas tetraploides resultaron significativamente mayores ($p < 0.01$) Como estos parámetros están relacionados con el nivel de ploidía, se alcanza el objetivo propuesto y constituyen además un indicador adecuado para aplicar selección.

AGRADECIMIENTOS

Al doctor O. Núñez y la doctora María A. Castro por sus sugerencias y lectura crítica del manuscrito y a la técnica Gabriela Zarlawsky por colaboración en la realización de algunos de los preparados histológicos y a los revisores anónimos que contribuyeron a mejorar el presente trabajo.

LITERATURA CITADA

Alexander, M.P., 1969. "Differential staining of aborted and non-aborted pollen" *Stain Technol.*, **44**: 117-122.

Ancibor, E., 1992. "Anatomía Ecológica de la Vegetación de la Puna de Mendoza. I. Anatomía foliar". *Parodiana*, **7**:63-76.

- Brevedan, R.E., O.A. Fernández, C.B. Villamil, V.R. Squires & Atayoub, 1994. "Halophytes as a resource for livestock husbandry in South America". *Proceedings of the international workshop on halophytes for reclamation of saline wastelands and a resource for livestock and for rehabilitation of degraded lands*. Nairobi, Kenia: 175-199.
- Carolin, R.C., S.W. L. Jacobs & M. Vesk., 1975. "Leaf structure in Chenopodiaceae". *Bot. Jahrb. Syst.*, **95**: 226-255.
- Carolin, R.C., 1983. "The trichomes of the Chenopodiaceae and Amaranthaceae". *Bot. Jahrb. Syst.*, **103**: 451-466.
- Colomer, J. & C.B. Passera, 1990. "The nutritional value of *Atriplex* spp. as fodder for arid regions". *J. Arid Environ.*, **19**: 289-295.
- Cuadrado, G.A., 1993. "Granos de polen de Chenopodiaceae del nordeste argentino: géneros *Atriplex*, *Chenopodium*, *Holmbergia*, *Salicornia* y *Suaeda*". *Bol. Soc. Argent. Bot.*, **29**:15-23.
- D'Ambrogio, A., S. Fernández, E. González, I. Furlan & N. Frayssinet, 2000. "Estudios morfoanatómicos y citológicos en *Atriplex sagittifolia* Sp. (Chenopodiaceae)". *Bol. Soc. Argent. Bot.*, **35** (3-4):215-226.
- Del Pero de Martínez, M.A., 1993. "Estudio comparativo de los flavonoides en tres especies de *Atriplex*". *Parodiana*, **8**(1): 77:83.
- Del Pero de Martínez, M.A., A. Martínez & M.E. Mulgura, 2002. "Biosistemática en especies argentinas del género *Atriplex* (Chenopodiaceae)". *Parodiana*, **12**(1-2): 75-89.
- Dizeo de Stritmatter, C.M., 1973. "Nueva técnica de Diafanización". *Bol. Soc. Argent. Bot.*, **15**(1): 126-129.
- Esau, K., 1987. *Anatomía de las Plantas con semilla*. Ed. Hemisferio Sur, Bs. As.
- FAO, 1997. "Especies arbóreas y arbustivas para zonas áridas y semiáridas de América Latina". En Serie: *Zonas áridas y semiáridas*, núm. 12.
- Fahn, A., 1979. *Secretor tissues in plants*. Academic Press. London.
- Fahn, A. & M.A. Zimmerman, 1982. "Development of the successive cambia in *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae)". *Bot. Gaz.*, **143**:353-357.
- Fernández, S. & V. Pentreath. 1998. Propagación vegetativa en especies del género *Atriplex* (Chenopodiaceae). Resúmenes XXVI Jornadas Argentinas de Botánica. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. pág. 132.
- Frayssinet, N., A. D'Ambrogio, G. Acosta, S. Fernández & E. González, 2000. "*Atriplex lampa* Gill. y *Atriplex sagittifolia* Sp. (Chenopodiaceae). Estructura anatómica y valor nutritivo". *Gayana Bot. (Suplemento)*, **57**:69.
- Gratti, A., S. Fernández & O. Soares, 1993. "Fisiología de la germinación y conservación de semillas de especies arbustivas dominantes en el Distrito Florístico del Golfo San Jorge con vistas a la repoblación Vegetal". *Primera Reunión Grupo Regional Patagóni-*

- co de Ecosistemas Pastoreo*. FAO-UNESCO-MAB- Trelew: 33.
- Gratti, A., S. Fernández & A. Rodríguez, 1993. "Germinación y longevidad de semillas *Atriplex lampa* Gillex Moq. D. Dietrich." *Libro de Resúmenes Reunión Argentina de Ecología*. Puerto Madryn. CENPAT (CONICET) UNP-SJB-INTA. EEA. Trelew: 170.
- Heklau, H., 1992. "Beiträge zum anomalen sekundären Dickenwachstum im Sproß einiger annualer *Atriplex*-und *Chenopodium*-Arten." *Flora*, **186**: 23-36
- Hickey, J., 1974. "Classification of the architecture of Dicotyledons leaves". *Amer. J. Bot.*, **60**: 17-33.
- Levan, A., E. Fredga & A. Sandberg, 1964. "Nomenclature for centromeric position on chromosomes". *Hereditas*, **52**:201-220.
- Mantovan, N. & R. Candia, 1995. "Carácter germinativo de semillas de *Atriplex lampa* (Moq) con distinto tipo de almacenaje en condiciones no controladas". *Multequina*, **4**:59-64.
- McArthur, E.D. & S.C. Sanderson, 1984. "Distribution, systematics and evolution of Chenopodiaceae: an overview". *USDA Forest Service General Technical Report*, **172**: 14-24.
- Metcalf, C. & L. Chalk, 1950. *The anatomy of the dicotyledons*. vol II. Oxford Univ. Press, London.
- Múlgura de Romero, M.E., 1981. "Contribuciones al estudio del género *Atriplex* (Chenopodiaceae) en la Argentina". *Darwiniana*, **23**: 119-150.
- _____, 1983. "Contribuciones al estudio del género *Atriplex* (Chenopodiaceae) en la Argentina III". *Darwiniana*, **25**: 235-253.
- Múlgura, M.E., 1999. "*Atriplex*". En: F.O. Zuloaga & O. Morrone (eds.). *Catálogo Plantas Vasculares de la República Argentina II*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Garden, **74**:528-532.
- Núñez, O., 1968. "An acetic-hematoxilyn squash metod for small chromosomes". *Caryologia*, **21**:115-119.
- Olivera, A. & J. Gastó, 1981. "Organización y manejo de ecosistemas con arbustos forrajeros". *Ciencias Agrícolas*, núm. 7. Universidad de Chile, Santiago.
- Passera, C.B. & O. Borsetto, 1989. "Aspectos ecológicos de *Atriplex lampa*". *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg.*, **4**(2): 179-198
- Pyykko, M., 1966. "The leaf anatomy of East Patagonian plants". *Ann. Bot. Fenn.*, **3**:453-622.
- Ragonese, A.M., 1985. "Traqueidas terminales dilatadas en las vénulas de algunas especies de *Atriplex* (Chenopodiaceae)". *Darwiniana*, **26**: 1-6.
- Romero-Zarco, C., 1986. "A new method for estimating karyotype asymmetry". *Taxon*, **35**: 526-530.
- Rosas-Marcelo, R., 1989. "El género *Atriplex* Ocho Chenopodiaceae en Chile". *Gayana. Bot.*, **46**(1-2): 3-43.

- Ruas, C., P. Ruas, C. Stutz & J. Fairbanks, 2001. "Cytogenetic studies in the genus *Atriplex* (Chenopodiaceae)". *Caryologia*, **54**(2): 129-145.
- Sanderson, S.C., E. Chu Ge-Ling, D. McArthur & H.C. Stutz, 1988. *Evolutionary loss of flavonoids and other chemical characters in the Chenopodiaceae.- Biochem. Syst. and Ecol.* Vol. XVI núm. 2 pp. 143-149.
- Sanderson, S.C., H.C. Stutz & E.D. McArthur, 1990. "Geographic differentiation in *Atriplex confertifolia*". *American Journal of Botany*. **77**:490-498.
- Sanderson, S.C. & H.C. Stutz, 1994. "High chromosome numbers in Mojavean and Sonoran Desert *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae)". *Amer. Journal of Botany*, **81**: 1045-1053.
- Senock, R.S., Barrow Jr., R.P. Gibbens & C.H. Herbel, 1991. "Ecophysiology of the polyploidy shrub *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) growing in situ in the northern Chihuahuan desert". *Journal of Arid Environments*, **21**: 45 -57.
- Silva Colomer, J., J. Fonollá, L.A. Raggi & J. Boza, 1986. "Valoración nutritiva del *Atriplex nummularia* en ganado caprino". *Rev. Arg. Prod.Anim.*, **6**(11-12):661-665.
- Stutz, H., J.M. Melby & G. Livingston, 1975. "Evolutionary studies of *Atriplex*: a relic gigas diploid population of *Atriplex canescens*". *Amer. J. Bot.*, **62**(3): 236-245.
- Stutz, H. & C. Sanderson, 1983. "Evolutionary studies of *Atriplex*: chromosome races of *A. confertifolia* (Shdscale)". *Amer. J. Bot.*, **70**(10): 1536-1547.
- Walker, D.J., I. Moñino, E. González, N. Frayssinet & E. Correal, 2005. "Determination of ploidy and nuclear DNA content in populations of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae)". *Botanical Journal of the Linnean Society*, **147**: 441-448.

Recibido: 5 febrero 2005. Aceptado: 9 mayo 2007.

Tabla 1. Mediciones cromosómicas en los citotipos 4x y 2x. Media de la longitud total del complemento cromosómico (μm) (LTCC); longitud total del genoma (μm) (LTG); longitud media del brazo largo (μm) (Lbl); longitud media del brazo corto (μm) (Lbc); longitud cromosómica media (LC); rango de variación, índice centromérico (Ic); índice de asimetría intracromosómica (A1) e índice de asimetría intercromosómica (A2).

Citotipo tetraploide y diploide									
Fórmula cariotípica	LTCC	LTG	Lbl	Lbc	LC	Rango	Ic	A1	A2
$2n = 4x = 36m$	62.95	15.74	1.02	0.73	1.75	2.33-1.12	41.6	0.28	0.18
$2n = 2x = 18m$	32.57	16.28	1.08	0.73	1.81	2.50-1.21	40.7	0.32	0.21

Tabla 2 Análisis meiótico. Resultados observados en cada una de las fases analizadas durante la primera y segunda división celular.

Diacinesis y metafase I en vista polar										
					Anafase I					
17 ^{II}	18 ^{II}	16 ^{II}	14 ^{II}	12 ^{II}	10 ^{II}	8 ^{II}	6 ^{II}	Puente y fragmento		
+2 ^I		+1 ^{IV}	+2 ^{IV}	+3 ^{IV}	+4 ^{IV}	+5 ^{IV}	+6 ^{IV}			
6	45	25	23	7	4	1	7	180	23	
5	38.1	21.2	19.5	5.9	3.4	0.8	5.9	89	11	
43%			41%			16%			89%	11%

Segunda división meiótica									
Anafase II					Número de microsporas por tetrada				
Normal		Puente-F							
506		20		3		3		1265	54
96	4	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	95	4
96%		4%		0.7%		0.7%		95%	4%

Tabla 3. Morfometría de hoja y bractéola fructífera.

	Población 4x	Población 2x
Longitud de hoja (mm)	19.38 ± 1.43*	13.54 ± 1.25
Ancho de hoja (mm)	7 ± 0.62*	5 ± 0.52
Espesor capa adaxial de glándulas de sal (µm)	190.41 ± 39.84	145 ± 39.75
Espesor del mesófilo (µm)	120.31 ± 4.92	126 ± 7.18
Espesor capa abaxial de glándulas de sal (µm)	175 ± 17.76	174.9 ± 17.76
Longitud de bractéola fructífera (mm)	7.15 ± 0.53*	5.14 ± 0.45
Ancho de bractéola fructífera (mm)	8.14 ± 0.49*	5.78 ± 0.55

Promedio ± 1 desvío estándar. Los valores indicados en cada fila significativamente diferente * $p < 0.01$.

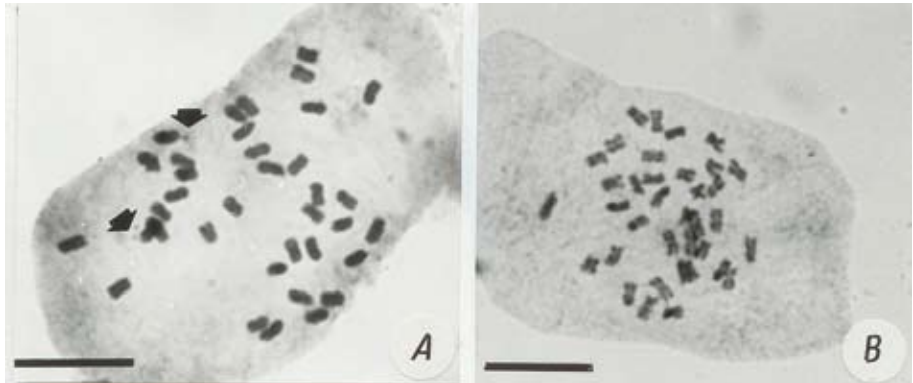


Fig. 1. *A. lampa* 4x. Mitosis. A. Prometáfase: un par cromosómico con satélite. B. Metafase $2n = 36$. Barra = 10 μm .

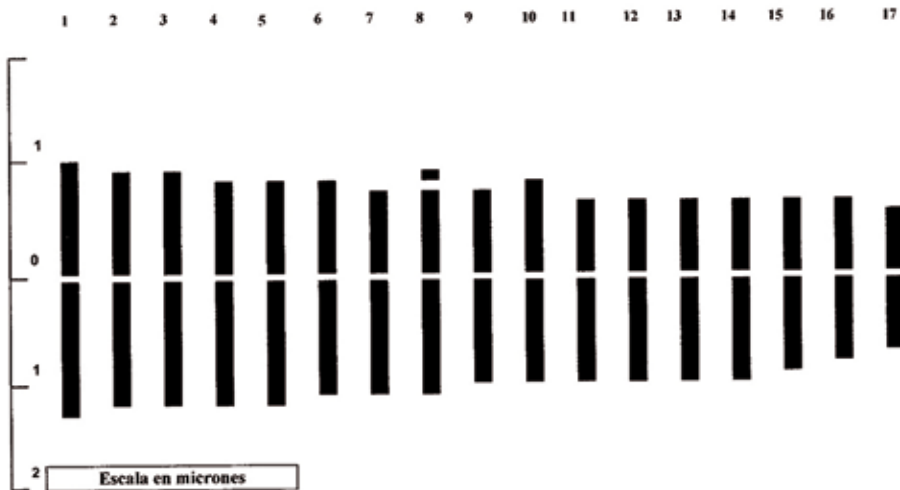


Fig. 2. Idiograma haploide del citotipo tetraploide, representando 18 pares de cromosomas metacéntricos. El par 8 presenta un pequeño satélite.

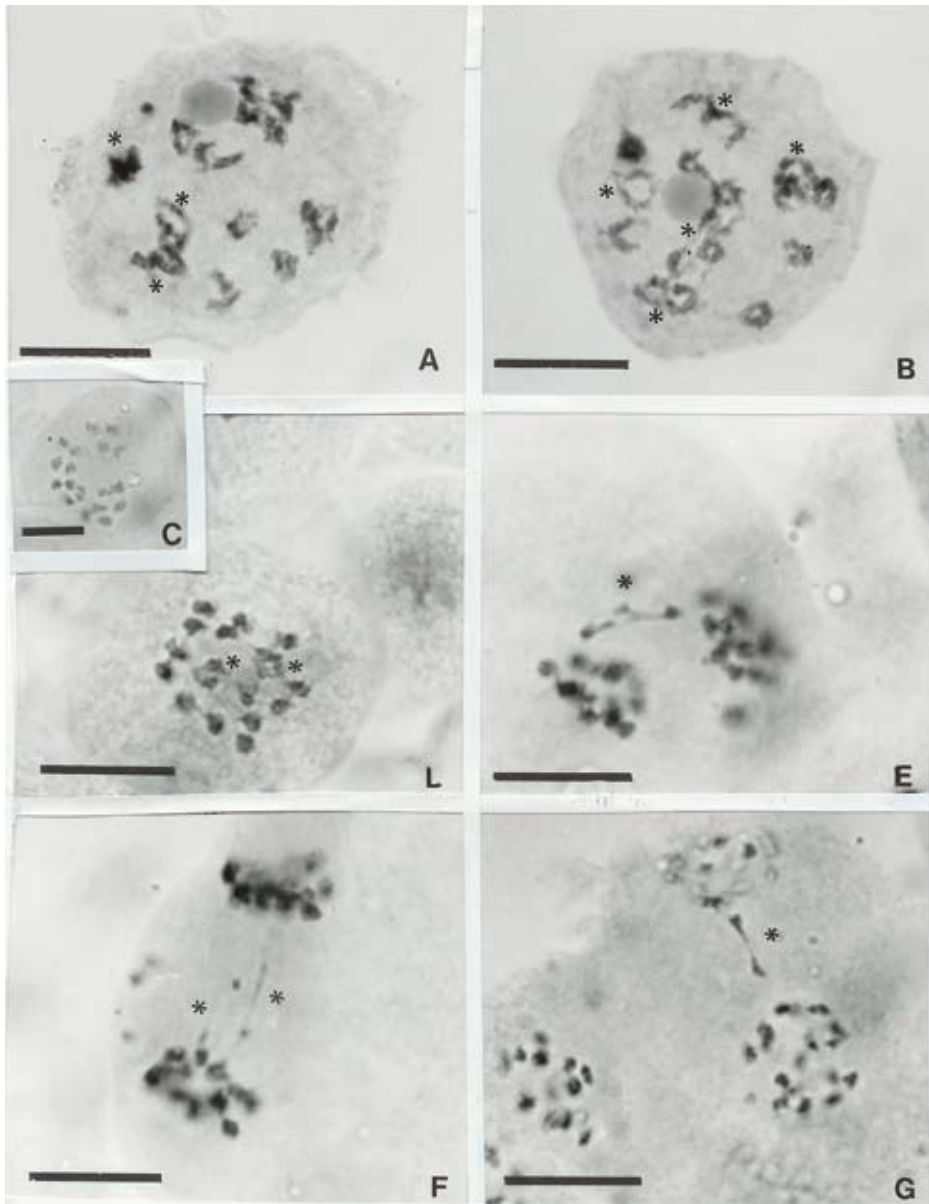


Fig. 3. *A. lampa* 4x. Meiosis: Diacyinesis: **A.** 3 tetravalentes y 12 bivalentes. **B.** 5 tetravalentes y 8 bivalentes. Metafase I: **C.** 18 bivalentes. **D.** 14 bivalentes y 2 tetravalentes. Anafase I: **E.** Puente y fragmento acéntrico. **F.** 2 Puentes y fragmentos. Anafase II: **G.** puente. Barra = 10 μ m.

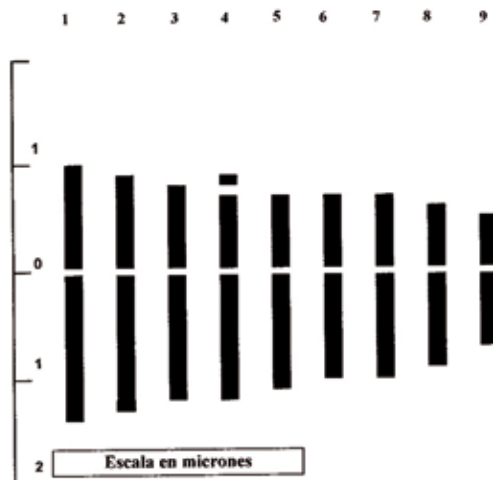


Fig. 4. Idiograma del citotipo diploide, representando nueve pares de cromosomas metacéntricos. El par 4 presenta un pequeño satélite.

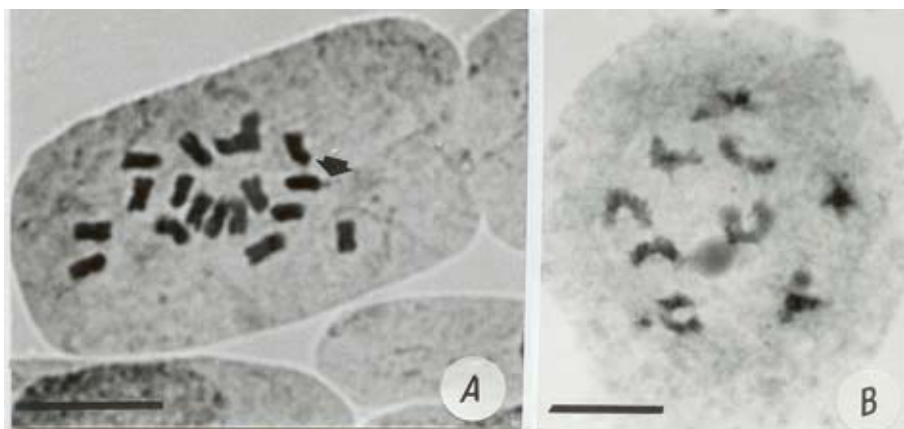


Fig. 5. *A. lampa* 2x. Mitosis. **A.** Metáfase $2n=18$. Meiosis: **B.** Nueve bivalentes en diacinesis. Barra = 10 μm .

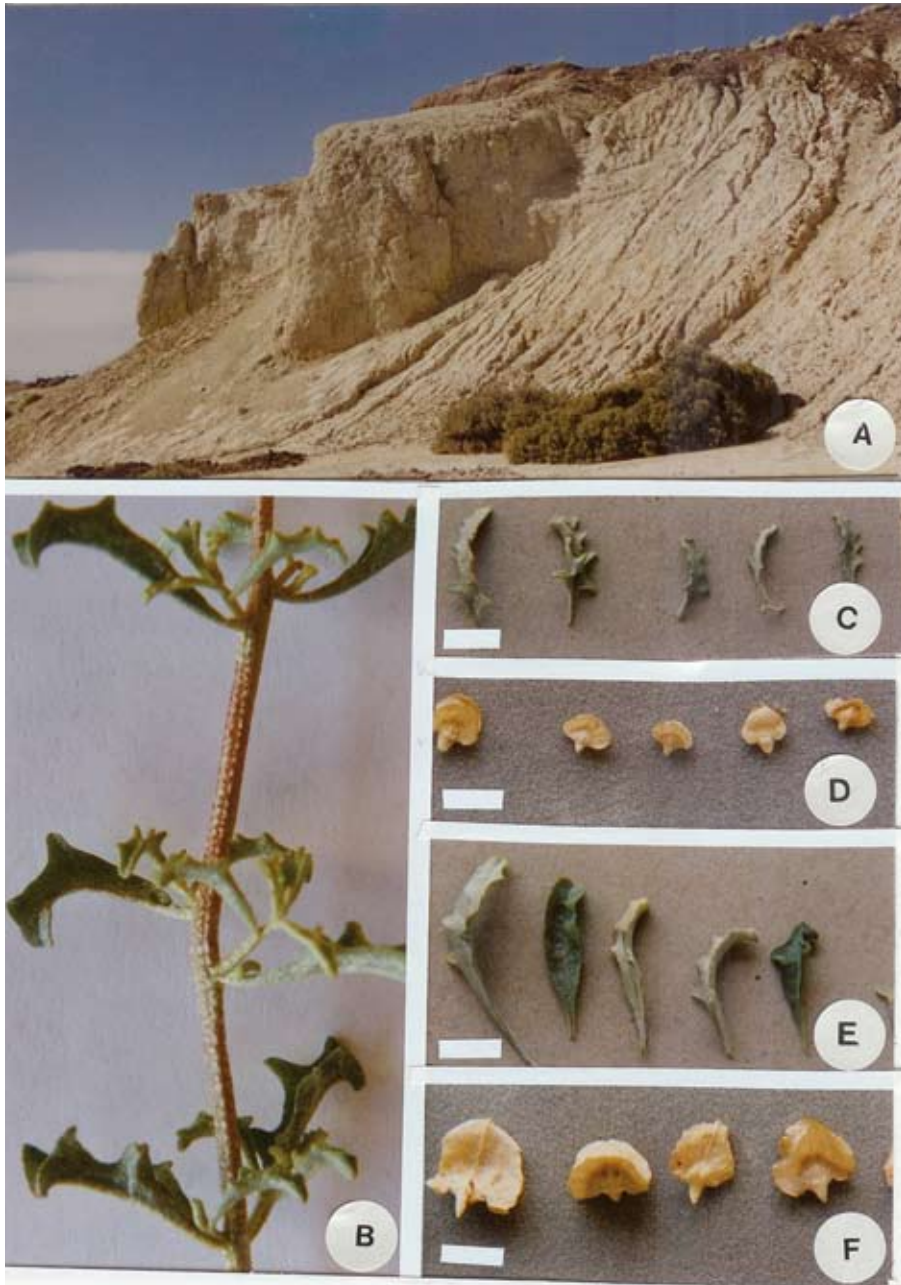


Fig. 6. **A.** *Atriplex lampa* en su hábitat, Depto. Escalante, Chubut; **B.** vástago vegetativo; **C** y **D:** hojas y bractéolas fructíferas del citotipo diploide; **E** y **F:** hojas y bractéolas fructíferas del citotipo tetraploide. Barras C, D, E, F = 5 mm.

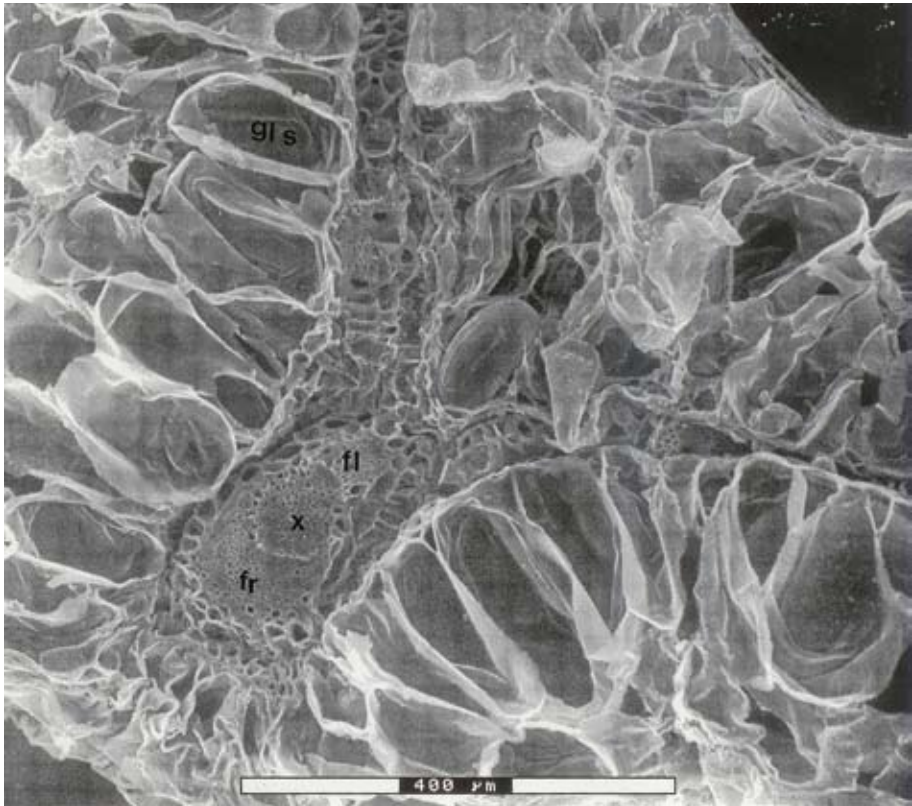


Fig. 7. Corte transversal de la hoja de *A. lampa* por microscopía electrónica ambiental de barrido (ESEM). Abreviaturas: fibras (fr); floema (fl); glándulas de sal (gl s); xilema (x).

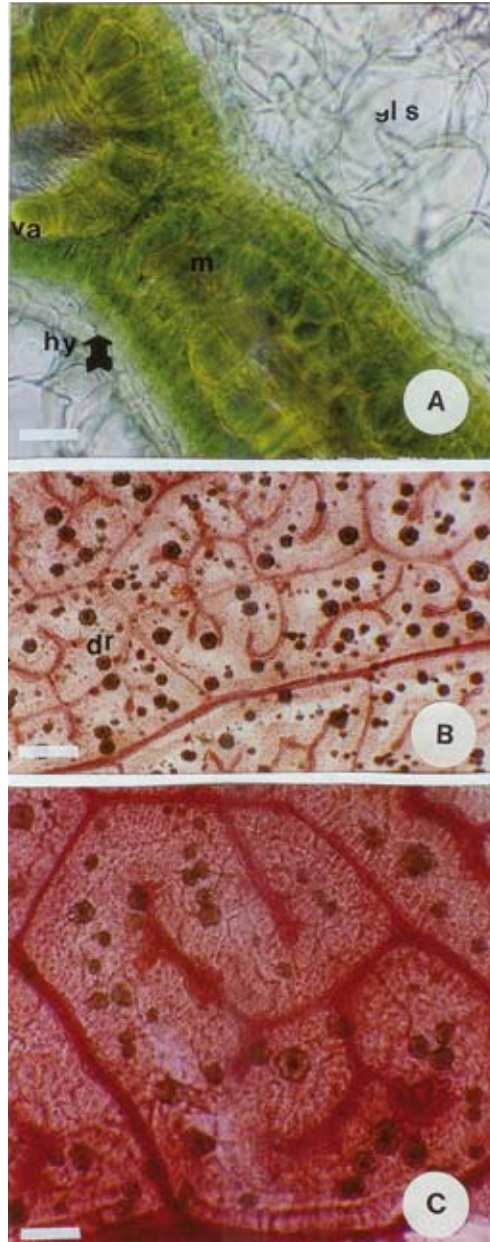


Fig. 8. Endomorfología de hoja. **A:** corte transversal (material fresco sin procesar); **B:** venación de la lámina; **C:** detalle de areola. Abreviaturas: drusas (dr); glándulas de sal (gl s); hipodermis (hy); mesófilo (m); vaina del haz (va). Barras: A = 45 μm ; B = 179 μm ; C = 109 μm .

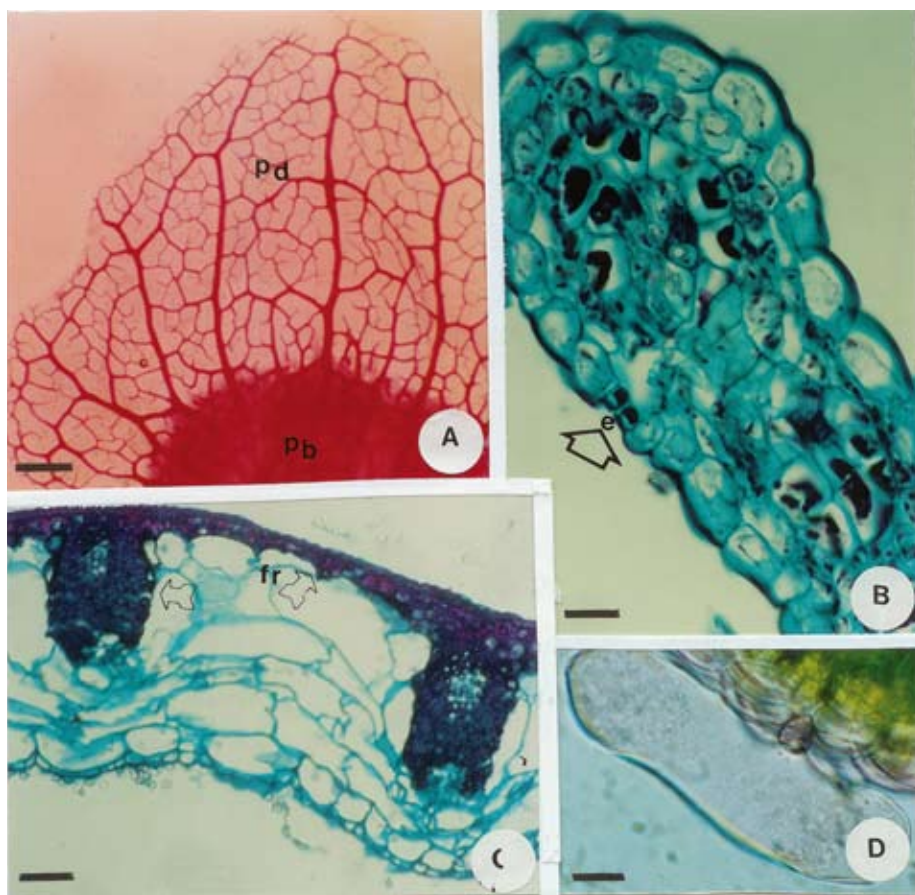


Fig. 9. Endomorfología de la bractéola fructífera. **A.** bractéola diafanizada; **B:** corte transversal de la porción distal libre; **C.** corte transversal de la porción basal; **D.** glándula de sal. Abreviaturas: estoma (e); fibras (fr); porción basal (pb); porción distal libre (pd). Barras: A = 179 μm ; B, C y D = 20 μm .

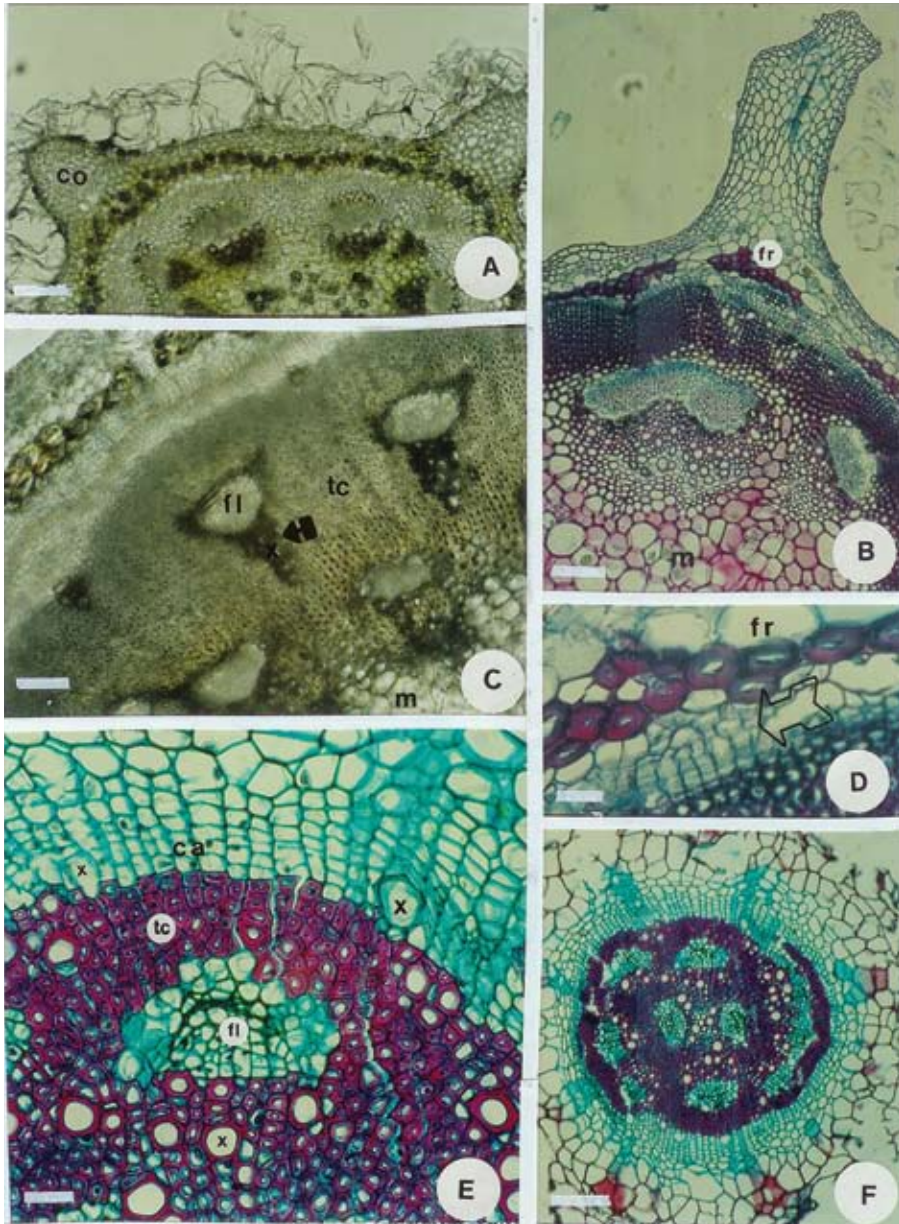


Fig. 10. Endomorfología de tallo y de raíz. **A:** corte transversal de un tallo joven; **B y D:** corte transversal a la altura del octavo entrenudo; **C y E:** aspecto del tallo secundario; **F:** raíz con estructura secundaria. Abreviaturas: cambium (ca); colénquima (co); fibras (fr); floema (fl); médula (m); tejido conjuntivo (tc); xilema (x). Barras: A, C y F = 109 μm ; B = 45 μm ; D y E = 20 μm .