

CITOGENÉTICA EVOLUTIVA EN LEGUMINOSAS AMERICANAS

Lidia Poggio^{1, 2}, Shirley M. Espert^{1, 2} & Renée H. Fortunato^{2, 3, 4}

RESUMEN

(Citogenética evolutiva en Leguminosas americanas) Se presentan las características cromosómicas descritas hasta el momento en Leguminosas americanas. A través del análisis de estos datos en conjunto con los morfológicos y las filogenias moleculares se proponen hipótesis acerca de los cambios cromosómicos ocurridos durante el proceso de divergencia y especiación de la familia. Los estudios cromosómicos indican una gran variación intergenérica, inter e intraespecífica, además de una amplia diversificación en el tamaño del genoma entre géneros, especies y poblaciones. A partir del número básico ancestral $x=7$ se deduce que la especiación híbrida poliploide ha sido muy importante en la diversificación de la familia. Por procesos de dispoloidía creciente y decreciente, tanto a nivel diploide como poliploide se originarían números básicos secundarios y series poliploides modificadas. En la parafilética subfamilia Caesalpinioideae habría predominado el proceso de dispoloidía decreciente de $n=14$ a $n=11$. En la monofilética subfamilia Mimosoideae, ocurrió un evento principal de evolución del número cromosómico de 14 a 13. Por último en Papilionoideae, la subfamilia más derivada de Leguminosae, se observó reducción del número básico de 14 a 7, pasando por números gaméticos de 11 y 8. Por otro lado, el origen recurrente de los poliploides y la ocurrencia de rearrreglos intergenómicos, hibridación y poliploidía secundaria, son procesos que dificultan la agrupación natural de los taxones en algunos grupos de la familia Leguminosae.

Palabras clave: Leguminosae, citogenética, poliploidía, evolución cromosómica, hibridación, América.

ABSTRACT

(Evolutionary cytogenetics in American Legumes) Chromosomal features described so far for American legumes are reviewed and analyzed, simultaneously with morphological and molecular characters. This is an invaluable opportunity to propose hypotheses about chromosome changes during the family divergence and speciation processes. The chromosome studies showed wide inter-generic, inter and intra-specific variability, as well as marked differences in genome sizes between genera, species and populations. By postulating an ancestral basic number of seven ($x=7$) it is possible to deduce that polyploid hybrid speciation was very important in the diversification of the family as a whole. Due to increasing and decreasing diploidy processes, secondary basic numbers and modified polyploids series could have arisen both at diploid and polyploid levels. On the other hand, recurrent origin of polyploids, occurrence of inter-genomic rearrangements, hybridization and secondary polyploidy are all processes that make it difficult to group the taxa within the Leguminosae family in a natural sequence.

Key words: Leguminosae, cytogenetics, polyploidy, chromosome evolution, hybridization, America.

INTRODUCCIÓN

La citogenética brinda valiosos aportes para la resolución de problemas taxonómicos, evolutivos y aplicados, contribuyendo al conocimiento del origen y evolución de distintos grupos. Dado que los cromosomas son guías de afinidades filogenéticas e indicadores de las clasificaciones sistemáticas es importante analizar, mediante técnicas de citogenética clásica y molecular (FISH, GISH), las características

del cariotipo, el comportamiento meiótico en híbridos y poliploides, y la variación intra- e interespecífica en el tamaño del genoma. Asimismo los estudios citogenéticos permiten realizar valiosos aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en plantas.

La especiación híbrida es muy común en el reino vegetal, en especial la originada por poliploidía. Los estudios cromosómicos son

Artigo recebido em 09/2006. Aceito para publicação em 01/2008.

¹Laboratorio de Citogenética y Evolución, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

³Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Castelar 1712, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

⁴Autor para correspondencia: rfortunato@cni.inta.gov.ar

importantes para analizar la presencia de zonas híbridas con la finalidad de detectar la formación de nuevas subespecies por introgresión y conocer el impacto de la hibridación natural en la formación de complejos híbridos homoploides y/o poliploides (Grant 1985).

Los estudios citogenéticos permiten deducir el número básico, dato muy importante para proponer hipótesis filogenéticas en un grupo. Las principales características que aportan información a la evolución cromosómica son: posición del centrómero, número, tipo y posición de zonas organizadoras del nucleolo, tamaño absoluto y relativo de los cromosomas, cantidad y distribución de heterocromatina, composición del ADN repetido (por técnicas de citogenética molecular) y contenido de ADN total. Leitch *et al.* (1998) investigaron la evolución del tamaño del genoma en Angiospermas analizando en forma conjunta los valores del contenido de ADN existente y árboles filogenéticos robustos basados en caracteres moleculares y morfológicos. La superposición de ambos tipos de estudios permitieron concluir que las angiospermas ancestrales poseían genomas pequeños (menor o igual a 1,4 pg considerando 1 pg= 10-12gr =965 Mbp) siendo la adquisición de grandes genomas una condición derivada que habría surgido repetidamente en la evolución de distintas familias. La presencia del carácter ancestral (genomas pequeños) ha sido retenida en muchos grupos actuales. Soltis *et al.* (2003) confirman que los genomas mayores ocurren en clados que ocupan posiciones derivadas.

Los datos cromosómicos existentes en Leguminosas americanas revelan una gran variación entre géneros, especies de un mismo género y taxones infraespecíficos, encontrando números haploides (n) que varían entre 5 y 15. Goldblatt (1981) analizó los resultados cromosómicos y dedujo que el número básico ancestral en la familia es $x=7$. Este autor propuso que por procesos de poliploidía se originaron, posteriormente, especies con $2n=28$ ($x=14$); asimismo las tribus más

especializadas son las que poseen números cromosómicos más bajos, los que habrían surgido por reducción aneuploide.

Durante la presente revisión, en concordancia con Goldblatt (1981), se encontró que aunque en la mayoría de los casos los estudios citológicos sólo indican el número cromosómico, estos datos son sumamente útiles para delimitar grupos dentro de la familia.

Los cambios cromosómicos pueden producirse, durante el proceso evolutivo, en cualquier sentido y muchas veces en forma cíclica. En citogenética, a diferencia de otras disciplinas, no hay leyes o principios establecidos para utilizar los términos ancestral o derivado, a excepción de la poliploidía cuya reversión es poco frecuente (Jackson 1971; Stebbins 1971; Poggio & Naranjo 2004).

En este trabajo se realiza una revisión de las características cromosómicas representativas descritas hasta el momento en leguminosas americanas. El análisis de estos datos en conjunto con la caracterización taxonómica y las filogenias moleculares permitirá establecer hipótesis acerca de los cambios cromosómicos ocurridos durante el proceso de divergencia y especiación de la familia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los números cromosómicos fueron relevados de Goldblatt (1981) y de la base de datos Trópicos, Missouri Botanical Garden, USA (<http://mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.html>); mientras que para el tamaño del genoma se consultó Benett & Leitch (2003), actualizada en <http://www.rbkew.org.uk/cval/homepage.html>.

La evolución de los números cromosómicos fue estudiada en base a uno de los cladogramas propuestos por Lewis *et al.* (2005), el cual representa un resumen de los estudios filogenéticos realizados en Leguminosae en base a secuencias nucleares y de cloroplasto. Sobre este cladograma se optimizó el número gamético, que fue tratado como un carácter multiestado no ordenado. Para la optimización se utilizó el programa WinClada (Nixon 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Modelos de evolución cromosómica

Para explicar la variación encontrada en los números somáticos ($2n$) y gaméticos (n) se postulan dos modelos de evolución cromosómica, los cuales no son mutuamente excluyentes: paleopoliploidía a partir de números cromosómicos bajos y disploidía (creciente, decreciente).

El modelo de la paleopoliploidía postula que las especies basales, probablemente ya extintas, poseían $2n=14$ (número básico $x=7$), siendo poliploides la mayoría de las especies actuales con $2n=28$ ($n=14$; $4x$, $x=7$) y un número básico derivado de $x=14$. Procesos de hibridación y poliploidía secundarios pueden originar series poliploides ($2n=28, 56$) y nuevos números básicos secundarios. De acuerdo a esta propuesta la mayoría de las especies actuales de Leguminosas serían poliploides.

La disploidía se refiere a la existencia de cambios cromosómicos disploides decrecientes o crecientes. En este caso los rearrreglos cromosómicos (fusiones o fisiones cromosómicas) disminuyen o aumentan el número de cromosomas y alteran su morfología. Grehilhuber & Ehrendorfer (1988) presentan varios modelos de disploidía para explicar variaciones en el número cromosómico. Estos procesos se pueden dar en especies ancestrales diploides, con series descendentes (14 a 12 a 10), o ascendentes (14 a 16 a 18), o en niveles más elevados de ploidía (28 a 26 a 24 a 22) llevando a la existencia de series poliploides modificadas ($2n=14, 28, 26, 24$). Por otro lado pueden ocurrir procesos cíclicos, como fusión o fisión, seguidos por poliploidía y, en algunos casos, ocurrencia posterior de disploidía. Es interesante destacar que las fusiones y fisiones mantienen el contenido génico y el tamaño del genoma constantes. En ambos casos se producen cambios en el número de grupos de ligamiento que podrían estar relacionados con el surgimiento de barreras de aislamiento reproductivo y procesos de especiación. En el caso de las fusiones se origina un pequeño fragmento con centrómero que puede perderse

o, como fuera postulado para algunos grupos de angiospermas, originar cromosomas supernumerarios, frecuentes en algunas especies de distintos géneros de Leguminosas: *Leucaena*, *Astragalus*, *Mimosa*, *Cassia*, *Millettia*, *Tephrosia*, *Indigofera*, *Desmodium*, *Erythrina*, *Vicia*, *Medicago*, *Trifolium*, *Crotalaria*, *Genista* (Tropicos: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.html>).

La gran variación encontrada en los números cromosómicos puede ser explicada por la actuación conjunta de ambos modelos (paleopoliploidía y disploidía): especies ancestrales con $2n=14$ pueden originar especies con $2n=28$ cromosomas, y la posterior ocurrencia de cambios disploides (crecientes o decrecientes) explicarían la presencia de otros números cromosómicos frecuentes (26, 24, 22, etc.) (Fig. 1a).

Además de los dos modelos postulados, también es posible interpretar la variación cromosómica como derivada por hibridación y poliploidía secundaria. El cruzamiento de taxones con número cromosómico $2n=12$ y $2n=14$ originarían híbridos $2n=13$ que por poliploidía darían especies de $2n=26$ cromosomas, por lo tanto estas especies serían de origen híbrido (alopoliploides), siendo $x=13$ un número básico secundario o derivado (Fig. 1a), pudiendo surgir por un nuevo evento de poliploidía individuos $2n=52$ (poliploidía secundaria). Si sólo se dispone de los datos cromosómicos es difícil discernir si una especie se originó por disploidía decreciente, o por hibridación y poliploidía secundaria.

Algunos géneros presentan números cromosómicos poco frecuentes (Ej. *Ononis*: $2n=30$); en este caso se originan números básicos secundarios ($x=15$) por hibridación y poliploidía. Posteriormente podrían ocurrir cambios disploides (decrecientes o crecientes) dando lugar a $2n=28$ ($x=14$) o $2n=32$ ($x=16$) (Fig. 1b).

Para discernir entre los modelos propuestos es necesario un conocimiento completo del grupo desde un enfoque multidisciplinario que incluya, además de los análisis cromosómicos,

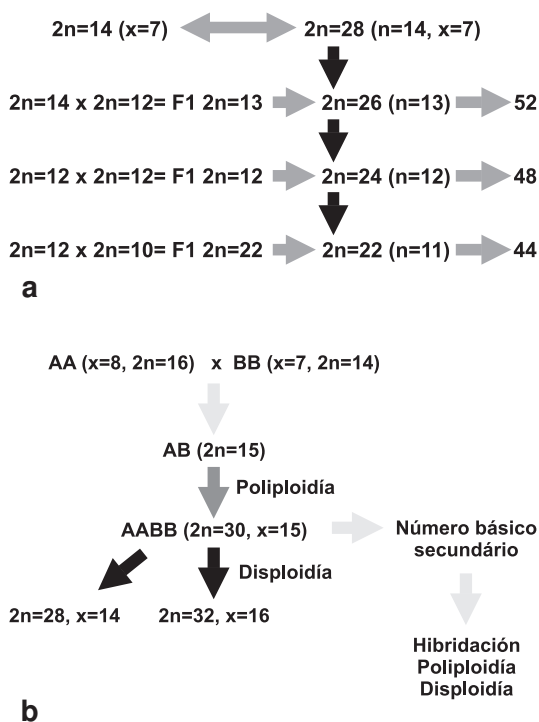


Figura 1 - a. Modelo general de evolución cromosómica en Leguminosae. En gris claro se indican eventos de poliploidía, en negro eventos de disiploidía. b. Ejemplo de evolución cromosómica.

estudios morfológicos y moleculares. Solo de esta manera se podrán revelar casos de poliploidía ancestral o críptica, entender las relaciones evolutivas dentro de complejos poliploides y distinguir entre su origen único o recurrente.

Actualmente las técnicas de citogenética molecular, como *hibridación in situ*, han permitido realizar aportes relevantes en este tipo de estudios (Bennett 1995). Una de las aplicaciones de esta técnica es la obtención de un mapa físico, funcional y estructural del genoma (FISH) utilizando secuencias de distinto origen (Naganowska & Zielinska, 2002; Sede *et al.* 2006): Figuras 2g, h. Mediante esta técnica, en *Arachis* se realizó el mapeo físico de regiones rRNA aportando evidencias acerca de los progenitores diploides de *A. hypogaea* (Seijo *et al.* 2004) y, en *Vicia*, permitió resolver la taxonomía de grupos complejos (Ruijin *et al.* 2001). Moscone *et al.* (1999) lograron mediante marcadores moleculares identificar cromosomas en

Phaseolus. Asimismo, con ADN genómico total como sonda (GISH) se pueden revelar homologías específicas, principalmente en secuencias repetidas, posibilitando: reconocer especies parentales en híbridos y poliploides, analizar afinidades genómicas interespecíficas, detectar reestructuraciones cromosómicas y existencia de apareamiento intergenómico y recombinación (Bennett 1995; Sharma & Sharma 2001). Antecedente de la aplicación de esta técnica en Leguminosae es el grado de afinidad genómica mostrada entre distintas especies de *Phaseolus* (Mercado-Ruaro & Delgado Salinas 2000).

Variación del tamaño del genoma

El tamaño del genoma es un carácter clave en la biodiversidad, siendo útil en un contexto filogenético y en el análisis de los mecanismos involucrados en la evolución cromosómica (Bennett & Leitch 2005).

En relación al número de especies que posee la familia Leguminosae, son pocos los datos que incluyen el tamaño del genoma. La búsqueda bibliográfica realizada indicó ca. 600 datos en un rango de 400 a 26,000 Mbp/1C. En la familia el valor C por genoma básico es en general muy bajo, a excepción de géneros y/o especies especializadas o cultivadas, en las que se encuentra una gran variación intra e interespecífica (<http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>; Doyle & Luckow 2003).

En Papilionoideae hay grupos con muy bajo contenido de ADN, que oscila entre 417–466 Mpb (*Vigna*, *Phaseolus*, *Lotus*). Por otro lado en la tribu Dalbergieae existen representantes con mayor valor C (*Dalbergia* 1.200 Mbp, *Arachis* 1.400–3.400 Mbp). Aunque los datos indican la existencia de genomas pequeños en la mayoría de las leguminosae (Doyle & Luckow 2003), en la tribu Fabeae hay un drástico aumento en el tamaño a nivel diploide y una importante variación interespecífica (2.000–14.000 Mbp, en *Lathyrus*, *Vicia*, *Lens*, *Pisum*).

Por su parte la subfamilia Mimosoideae todas las especies estudiadas hasta el momento,

poseen genomas pequeños (*Prosopis*, *Acacia*: 200 Mbp a 500 Mbp/1C).

En Caesalpinoideae no se conoce el tamaño del genoma del género basal de Leguminosas: *Cercis* ($2n=14$), pero entre los representantes de la tribu Cercideae, *Bauhinia* ($2n=28$ y 26 ; Fig. 2f) posee un genoma de 588 Mbp. En el resto de las Caesalpinoideae y Mimosoideae estudiadas el valor C oscila entre 600 y 900 Mbp. Sobre esta base Doyle & Luckow (2003) deducen que las leguminosas basales poseerían genomas pequeños.

Análisis filogenético de la variación cromosómica

De acuerdo a los antecedentes filogenéticos (Kaas & Wink 1996; Wojciechowski 2003; Wojciechowski *et al.* 2004), las subfamilias Papilionoideae y Mimosoideae serían monofiléticas y Caesalpinoideae sería parafilético (Fig. 3). En el cladograma (Fig. 3) se observa una tendencia hacia la disminución del número cromosómico como resultado de una dispoloidía decreciente.

Las especies de Caesalpinoideae presentan una gran variación en el número somático, con $2n=14, 16, 20, 22, 24, 26$, y 28 cromosomas. Los géneros con $2n=14$ ($x=7$) como *Cassia*, *Senna* y *Cercis*, estarían indicando que la poliploidía ocurrió temprano en el proceso evolutivo. Cabe destacar que *Cercis* sería el género de origen más basal en Leguminosas (Goldblatt 1981; Lewis *et al.* 2005). En *Senna* y *Cassia* están presentes ambos niveles de ploidía: $2n=14$ y $2n=28$ (Fig. 2d), existiendo en este último género especies con $2n=21$, lo que sugiere la probable presencia de hibridación entre entidades con distintos niveles de ploidía. A su vez en la tribu Detariae, la mayoría de los géneros que crecen en Sudamérica poseen $n=12$ cromosomas. El análisis de los datos indica que en esta subfamilia habría predominado el proceso de dispoloidía decreciente ($n=14$ a $n=11$), existiendo series poliploides en algunos géneros como *Caesalpinia* ($2n=12$ y $2n=24$); asimismo en representantes de *Chamaecrista* que crecen

en Brasil ($2n=14, 16$ y 32), se ha postulado una evolución cromosómica por dispoloidía y posterior poliploidía (Biondo *et al.* 2006). En relación a la morfología cromosómica, los estudios realizados en Caesalpinoideae muestran cromosomas pequeños (menor a $3\ \mu\text{m}$) y cariotipos simétricos, siendo muy poco frecuente la presencia de cromosomas con centrómero terminal o subterminal (Zanin & Cangiano 2001).

En la monofilética Mimosoideae, ocurrió un evento principal de evolución del número cromosómico de 14 a 13 (Fig. 3). El género *Dinizia* presenta $n=14$, mientras que las tribus Acaciaeae, Ingaeae y Mimoseae poseen como número gamético más común $n=13$ ($2n=26$); sobre la base que *Dinizia* es considerado género basal de la subfamilia (Lewis *et al.* 2005) el número cromosómico de estas tribus se habría originado por dispoloidía decreciente a partir de $n=14$. No obstante, es importante mencionar que en Mimoseae hay representantes genéricos con $n=14$ como *Prosopis* (Fig. 2a) y *Neptunia*, y en otros grupos de la subfamilia también varios géneros que presentan series poliploides, como *Samanea* ($13, 26$), *Inga* ($13, 26$) y *Acacia* ($13, 26, 39, 52, 104$); el recuento $2n=39$ indicaría la existencia de hibridación entre taxones con distinto nivel de ploidía.

Un caso interesante es *Prosopis* ($2n=28$), el cual fue considerado un paleopoliploide ($x=7$); en este género ocurre frecuente hibridación e introgresión interespecífica, y escasa poliploidía (Hunziker *et al.* 1975; Naranjo *et al.* 1984; Hunziker *et al.* 1986). A su vez en representantes de Brasil, Paraguay y Argentina de *Mimosa* se han registrado distintos niveles de ploidía ($13, 26, 52$) (Seijo 2000; Seijo *et al.* 2004).

Los géneros monotípicos del Sur de Sudamérica: *Piptadenopsis* y *Mimozyanthus* presentan $2n=28$ cromosomas; ambos son conflictivos desde el punto de vista sistemático y estarían relacionados, de acuerdo a la filogenia molecular propuesta por Luckow *et al.* (2005), con *Prosopidastrum* y *Leucaena*. En este último género hay evidencias citogenéticas, morfológicas y moleculares que

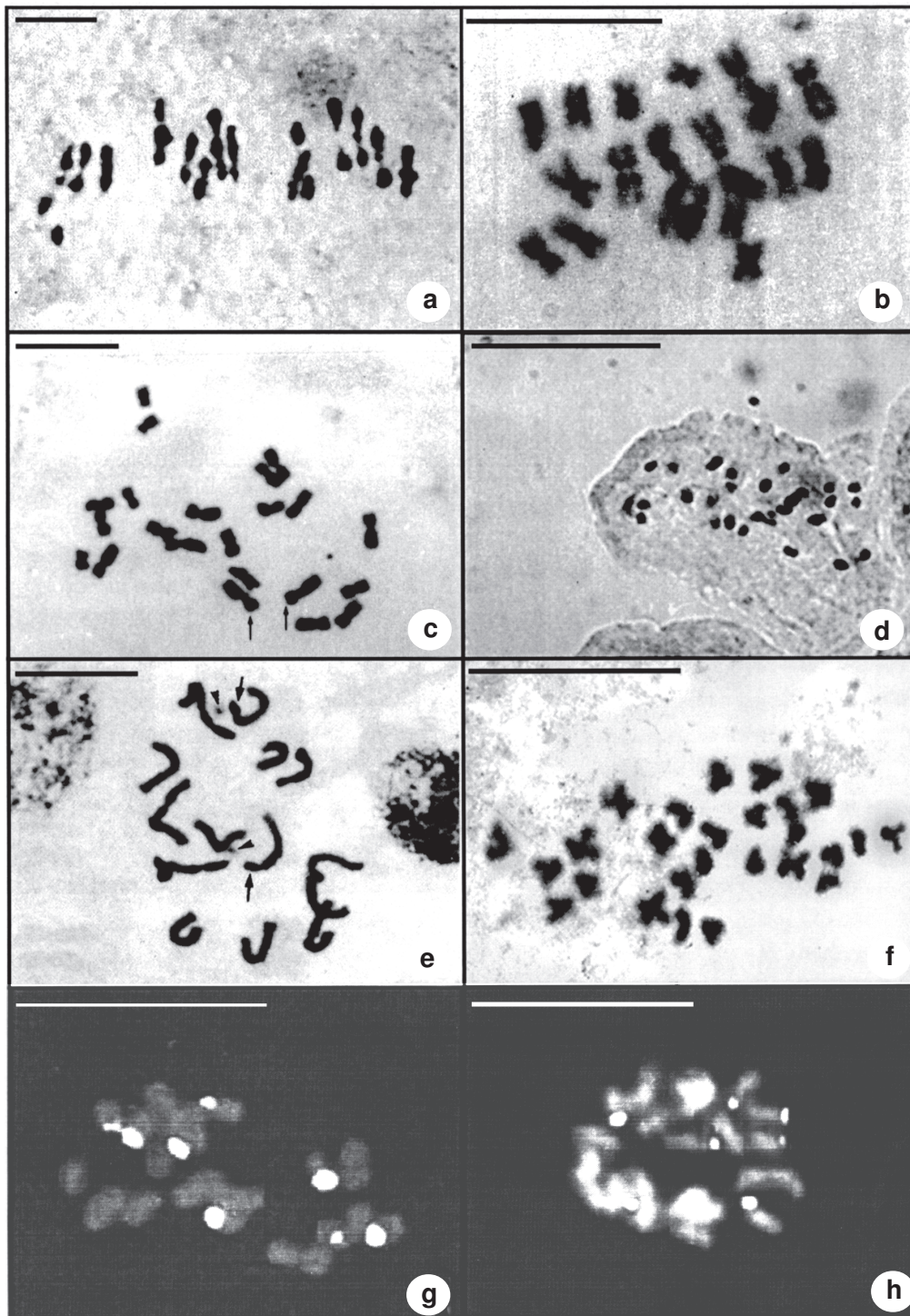


Figura 2 – a. Cromosomas meióticos de *Prosopis ruscifolia*, $2n=28$ (Hunziker *et al.* 1975); b. bandeo C de células en metafase de *Phaseolus coccineus* ssp. *coccineus*, $2n=22$ (Castagnaro *et al.* 1990); c. células somáticas en metafase de *Astragalus pehuenches*, $2n=22$ (Dopchiz *et al.* 1995); d. metafase de *Senna chloroclada* $2n=28$; e. cromosomas somáticos de *Vicia pampicola*, $2n=14$ (Naranjo *et al.* 1998); f. metafase de *Bauhinia uruguayensis*, $2n=26$; g. hibridación in situ de *Galactia fiebrigiana*, $2n=20$ (Sede *et al.* 2006); h. hibridación in situ de *Collaea stenophylla*, $2n=20$, usando como sonda la región rDNA pTa71 (Sede *et al.* 2006). La barra en las figuras a-f representa $10\ \mu\text{m}$ y g-h $5\ \mu\text{m}$

sugieren que la hibridación interespecífica y poliploidía han sido relevantes en su evolución (n=13, 26, 52,104/14, 28, 56, 112); como antecedente se indica que *Leucaena* presenta especies de origen híbrido homoploide y poliploide, y polimorfismo numérico para cromosomas accesorios (cromosomas B), lo cual complica los análisis convencionales de relaciones específicas tanto a nivel taxonómico como evolutivo (Hughes *et al.* 2002; Boff & Schifino Wittman 2003). *Calliandra* es atípico en la

tribu Ingeae, por ser el único representante genérico con 2n=16 cromosomas.

Papilionoideae constituye un grupo monofilético que habría aparecido hace 45–50 millones de años (Wojciechowski 2003). En esta subfamilia los grupos más derivados presentan reducción del número básico de 14 a 7, pasando por números gaméticos de 11 y 8 (Fig. 3).

A continuación se detallan antecedentes de variación cromosómica en algunos géneros de esta subfamilia.

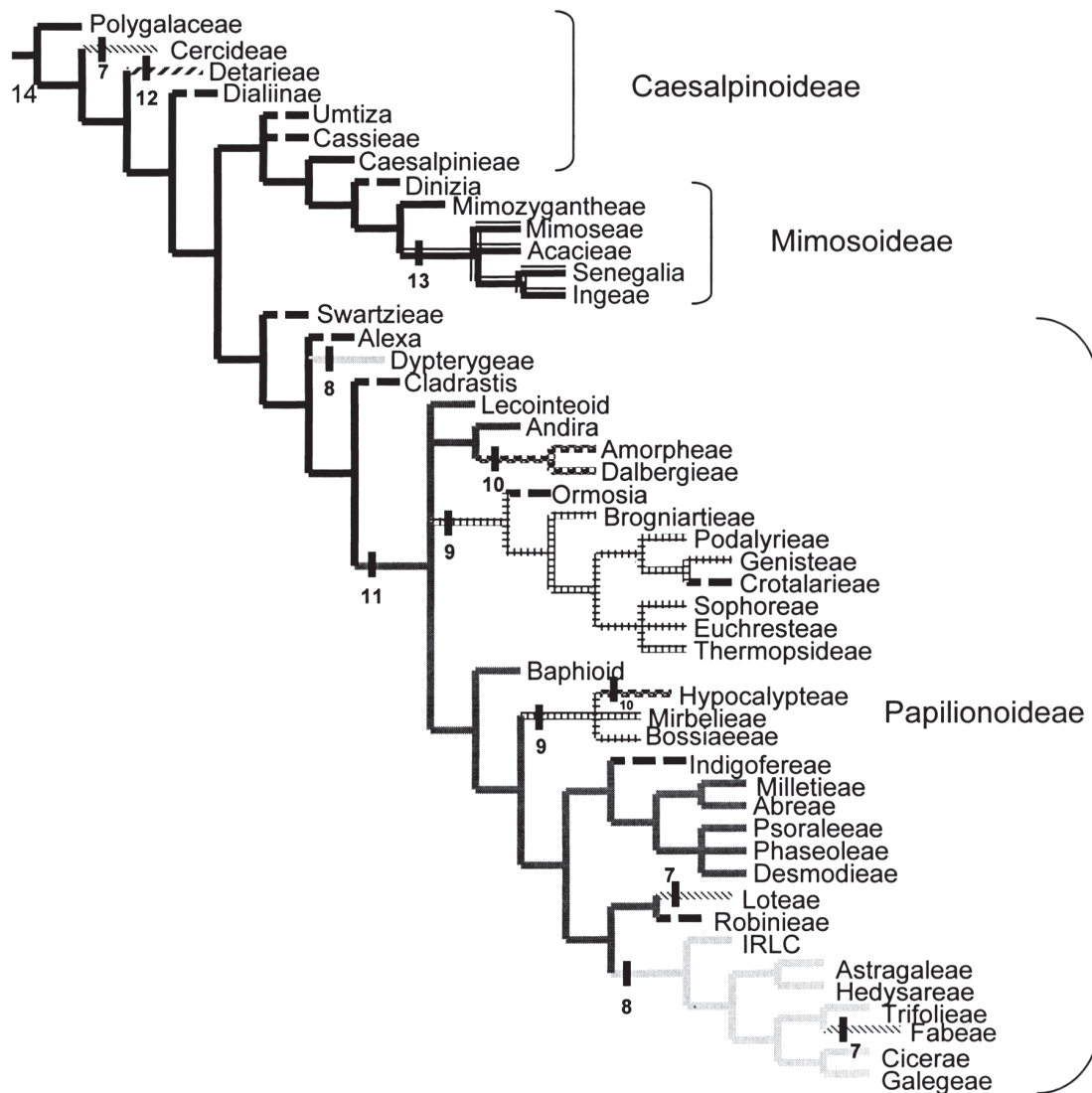


Figura 3 - Cladograma de Leguminosae (Lewis *et al.* 2005), con el carácter “número cromosómico” optimizado; los estados se indican con distintos colores de ramas, la línea punteada representa una reconstrucción ambigua.

Lupinus (tribu Genisteae) presenta una gran variación cromosómica y series poliploides ($n=12, 18, 19, 20, 21, 24, 26, 36, 38, 40, 42, 48, 50$). En este género existirían varios números básicos, surgidos por cambios disploides que habrían originado series poliploides: $x=6$ ($2n=12, 18, 24, 36, 48, 96$); $x=5$ ($2n=40, 50, 100$); y $x=9$ ($2n=18, 36, 54, 52$). Algunos números gaméticos (ej. 19, 21) son números básicos secundarios que surgieron por alopoliploidía. El contenido de ADN en este género oscila entre 0.97 y 2.44 pg (2C) (Naganowska *et al.* 2003).

En la tribu Crotalariae, *Crotalaria* presenta como números cromosómicos más frecuentes $2n=16, 32$ ($x=8$); sin embargo hay algunas especies con $2n=14$ ($x=7$). En este género las características cromosómicas corroboran la agrupación de especies en distintas secciones (Almada *et al.* 2006).

En Phaseoleae, el género *Phaseolus* presenta generalmente $2n=22$ ($x=11$), aunque se han registrado especies con $2n=20$ (Fig. 2b). El tamaño del genoma varía entre 1.5 a 1.98 pg (2C). Esta variación estaría relacionada a cambios en cantidad y posición de heterocromatina y a características ecológicas y climáticas (Castagnaro *et al.* 1990; Mercado-Ruaro & Delgado Salinas 1998; Mercado-Ruaro & Delgado Salinas 2000). Los registros cromosómicos en *Camptosema* son $2n=22$ y $2n=20$ (Turner & Irwin 1961; Coleman & Smith 1969; Sede *et al.* 2003; Sede *et al.* en prensa); esta variación numérica se observa principalmente en especies que crecen en el Sur de Sudamérica y, que además poseen caracteres morfológicos relacionados con *Galactia* y *Collaea*, dificultando la delimitación genérica. Asimismo, estos dos últimos géneros presentan también registros con $n=10, 2n=20$ (Turner 1956; Krapovickas 1965; Fernández 1977; Coleman & Demenezes 1980; Seijo & Vanni 1999; Bossi & Daviña 2000; Sede *et al.* 2003). Las especies hasta el momento estudiadas del complejo *Galactia-Collaea-Camptosema* han mostrado variación interespecífica, y pequeño tamaño de cromosomas, ambos tipos de datos están imposibilitado utilizar la localización de zonas rDNA mediante FISH para la diferenciación

genérico-específica (Fig. 2g-h) (Sede *et al.* 2006).

Astragalus (tribu Astragaleae) presenta una gran variación en el número, tamaño y morfología cromosómica ($n=6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15$). Este género posee cariotipos bimodales (Fig. 2c), variación en el tipo y posición de satélites, y en el contenido de ADN ($2C=2.8-3.7$ pg) (Dopchiz *et al.* 1995).

El género *Arachis* (tribu Dalbergieae, sensu Lavin *et al.* 2001; Klitgaard & Lavin 2005) posee la mayoría de las especies con $2n=2x=20$ ($x=10$) cromosomas, sin embargo, Lavia (1998) describió un nuevo número básico ($x=9; 2n=18$). Esta autora propone que $x=9$ sería derivado de $x=10$ por aneuploidía (displodida decreciente).

En la tribu Fabeae, *Vicia* posee gran variación en el número y morfología cromosómica (Fig. 2e): $2n=10, 12, 14, 24, 28$ ($x=5, 6, 7$). Su contenido de ADN varía entre 3.66–27.07 pg (2C) (Naranjo *et al.* 1998); mientras que en *Lathyrus* el número cromosómico es constante ($2n=14$) y las especies sudamericanas se diferencian por su fórmula cariotípica (Seijo & Fernández 2003). Ambos géneros se caracterizan por poseer el mayor tamaño del genoma descrito para leguminosas.

CONCLUSIONES

La revisión de los datos cromosómicos existentes en Leguminosas americanas revelan una gran variación en el número gamético (5 a 15), morfología cromosómica y tamaño del genoma (0.4–15 pg/1C). La variación encontrada puede explicarse por varios modelos: paleopoliploidía, displodía (creciente o decreciente), hibridación y poliploidía secundaria o, su combinación. Dado que los cambios cromosómicos pueden ocurrir en forma cíclica, se analizaron los números gaméticos conjuntamente con los datos filogenéticos moleculares con el propósito de validar las hipótesis propuestas, y comprender los mecanismos de evolución cromosómica que han ocurrido en los distintos grupos.

Los datos indican que los dos modelos propuestos en forma combinada, han sido importantes en la evolución de la familia, existiendo una tendencia a la disminución del número cromosómico en la mayoría de los grupos. El análisis del tamaño del genoma sugiere que las leguminosas basales poseían genomas pequeños, mientras que ha ocurrido un aumento del contenido de ADN en los taxones más derivados (Fabaceae).

La evaluación realizada permite establecer la dirección de los cambios cromosómicos (variación numérica y tamaño del genoma) y postular que la hibridación y poliploidia jugaron un rol preponderante en la evolución de la Familia. Los resultados de este estudio en entidades conflictivas de Leguminosae serán de gran utilidad para establecer grupos naturales.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Comité organizador del IX Congreso Latinoamericano de Botánica (Santo Domingo, República Dominicana), por la invitación recibida para presentar este trabajo en el marco del Simposio de Leguminosas. Asimismo, LP hace extensivo su agradecimiento a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 14119), al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET: PIP 5927) y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, y RHF a CONICET (PIP 5560) y a Myndel Botanica Foundation, Convocatoria 2002, 2004 y 2005, por los subsidios otorgados para recolectar, procesar y analizar las muestras del material que ha sido base de esta presentación. Los autores también quieren expresar su gratitud al Sr. Diego Fink por la configuración realizada de la lámina de fotos de cromosomas y FISH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almada, R. D.; Daviña, J. R. & Seijo, J. G. 2006. Karyotype analysis and chromosome evolution in southernmost South American species of *Crotalaria* (Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 150: 329-341.

- Benett, M. D. & Leitch, I. J. 2003. Plant DNA C-values database. Royal Botanic Gardens, Kew. [www. rbgkew.org/cval/homepage.html](http://www.rbgekew.org/cval/homepage.html)
- Bennett, M. D. 1995. The development and use of genomic in situ hybridization (GISH) as a new tool in plant biosystematics. *In*: Brandham, P. E. & Bennett, M. D. *Kew Chromosome Conference IV*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 167-183.
- Bennett, M. D. & Leitch, I. J. 2005. Genome size evolution in plants. *In*: Ryan Gregory, T. *The evolution of genome*. Elsevier Academic Press: 740.
- Biondo, E.; Miotto, S. T. S. & Schifino-Wittmann, M. T. 2006. Cytogenetics of species of *Chamaecrista* (Leguminosae-Caesalpinioideae) native from southern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 150: 429-439.
- Boff T. & Schifino-Wittman, M. T. 2003. Segmental allopolyploidy and paleopolyploidy in species of *Leucaena* Benth: evidence from meiotic behavior analysis. *Hereditas* 138(1): 27-35.
- Bossi, F. S. & Daviña, J. R. 2000. Cromosomas de cuatro especies de *Galactia*. *Bonplandia* 20: 175-179.
- Castagnaro, A., Poggio, L. & Naranjo, C. A. 1990. Nuclear DNA content variation in *Phaseolus* (Fabaceae). *Darwiniana* 30: 195-200.
- Coleman, J. R. & Demenezes, E. M. 1980. Chromosome numbers in Leguminosae from the State of Sao Paulo, Brazil. *Rhodora* 82: 475-481.
- Coleman, J. R. & Smith, L. B. 1969. Chromosome numbers of some Brazilian angiosperms. *Rhodora* 71: 548-551.
- Dopchiz, L.; Gomez Sosa, E. & Poggio, L. 1995. Karyotype and nuclear DNA content of six species of *Astragalus*. *Cytologia* 60: 329-335.
- Doyle, J. J. & Luckow, M. A. 2003. The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology* 131: 900-910.

- Fernández, A. 1977. Números cromosómicos en Angiospermas. *Hickenia* 1: 83-86.
- Goldblatt, P. 1981. Cytology and the phylogeny of Leguminosae. *In*: Polhill, R. M. & Raven, P. H. *Advances in legume systematics*. Royal Botanic Gardens, Kew, 2: 427-463.
- Grant, V. 1985. *The evolutionary process*. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 499p.
- Grehilhuber, J. & Ehrendorfer, F. 1988. *Karyological approaches to plant taxonomy*. ISI Atlas of Science. Vol. 1.
- Hughes C. E.; Bailey, C. D. & Harris, S. A. 2002. Divergent and reticulate species relationships in *Leucaena* (Fabaceae) inferred from multiple data sources: insights into polyploid origins and nrDNA polymorphism. *American Journal of Botany* 89: 1057-1073.
- Hunziker, J. H.; Poggio, L.; Naranjo, C. A.; Palacios, R. A. & Andrada, B. 1975. Cytogenetics of some species and natural hybrids in *Prosopis* (Leguminosae). *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 17: 253-262.
- Hunziker, J. H.; Saidman, B. O.; Naranjo, C. A.; Palacios, R. A.; Poggio, L. & Burghardt, A. D. 1986. Hybridization and genetic variation of Argentine species of *Prosopis*. *Forest Ecol. Management* 16: 301-315.
- Jackson, R. C. 1971. The karyotype in systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2: 327-368.
- Kaas, E. & Wink, M. 1996. Molecular evolution of the Leguminosae: phylogeny of the three subfamilies based on rbc-L sequences. *Biochemical Systematics and Ecology* 24: 365-378.
- Klitgaard, B. B. & Lavin, M. 2005. Tribe Dalbergieae *sens. lat.* *In*: Lewis, G. P.; Schrire, B. D.; Mackinder, B. & Lock, M. *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 307-335.
- Krapovickas, A. 1965. Recuentos cromosómicos de leguminosae. *Kurtziana* 2: 91-94.
- Lavia, G. I. 1998. Karyotype of *Arachis palustris* and *A. praecox* (Section *Arachis*). Two species with basic number $x=9$. *Cytologia* 63: 177-181.
- Lavin, M.; Pennington, R.; Klitgaard, B. B.; Spreti, J.; De Lima, H. & Gasson, P. 2001. The dalbergioid legumes (Fabaceae): delimitation of a pantropical monophyletic clade. *American Journal of Botany* 88: 503-533.
- Leitch, I. J.; Chase, M. W. & Bennett, M. D. 1998. Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. *Annals of Botany* 82: 85-94.
- Lewis, G. P.; Schrire, B. D.; Mackinder, B. & Lock, M. (eds). 2005. *Legumes of the world*. Kew: 577p.
- Luckow, M.; Fortunato, R.; Sede, S. & Livshultz, T. 2005. The phylogenetic affinities of two mysterious monotypic mimosoids from Southern South America. *Systematic Botany* 30: 585-602.
- Mercado-Ruaro, P. & Delgado Salinas, A. 1998. Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). *American Journal of Botany* 85: 1-9.
- _____. 2000. Cytogenetic studies in *Phaseolus* L. (Fabaceae). *Genetics and Molecular Biology* 23(4): 985-987.
- Moscone, E. A.; Klein, F.; Lambrou, M.; Fuchs, J. & Schweizer, D. 1999. Quantitative karyotyping and dual color FISH mapping of 5S and 18S 25S rDNA probes in the cultivated *Phaseolus* species (Leguminosae). *Genome* 42: 1224-1233.
- Naganowska, B.; Wolko, B.; Liwska, E. & Kaczmarek, Z. 2003. Nuclear DNA content variation and species relationships in the genus *Lupinus* (Fabaceae). *Annals of Botany* 92: 349-355.
- Naganowska, B. & Zielinska, A. 2002. Physical mapping of 18S-25S rDNA and 5S rDNA in *Lupinus* via fluorescent in situ hybridization. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 665-670.
- Naranjo, C. A.; Ferrari, M.; Palermo, A. & Poggio, L. 1998. Karyotype DNA content and meiotic behavior in five South American species of *Vicia* (Fabaceae). *Annals of Botany* 82: 757-764.

- Naranjo, C. A.; Poggio, L. & Enus Zeiger, S. 1984. Chromatography of phenols, morphology and cytogenetics in three species and natural hybrids of *Prosopis* (*P. affinis*, *P. alba* and *P. nigra*) (Leguminosae, Mimosoidae). *Plant Systematics and Evolution* 144: 257-276.
- Nixon, K. C. 2002. WinClada, 1.00.08. Ithaca, NY.
- Poggio, L. & Naranjo, C. A. 2004. Citogenética. *In*: Echenique, V.; Rubinstein, C. & Mroginski, L. *Biología y mejoramiento vegetal*. Editorial INTA. Pp. 69-79.
- Ruijin, L.; Taylor, S. & Jenkins, G. 2001. Unravelling the phylogeny of tetraploid *Vicia amoena* (Fabaceae) and its diploid relatives using chromosomal landmarks. *Hereditas* 134: 219.
- Sede, S.; Fortunato, R. & Poggio, L. 2006. Chromosome evaluation of southern South American species of *Camptosema* and allied genera (Diocleinae-Papilionoideae-Fabaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 152: 235-243.
- Sede, S.; Greizerstein, E. J.; Dezi, R.; Fortunato, R. & Poggio, L. 2003. Chromosome studies in the Complex *Galactia-Collaea-Camptosema* (Fabaceae). *Caryologia* 56: 295-301.
- Seijo, G. 2000. Números cromosómicos de especies de *Mimosa* (Leguminosae) de Paraguay. *Bonplandia* 10: 163-167.
- Seijo, G. & Vanni, R. 1999. Números cromosómicos en Leguminosas de Paraguay. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 34: 119-122.
- Seijo, J. G. & Fernández, A. 2003. Karyotype analysis and chromosome evolution in South American species of *Lathyrus* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 90: 980-987.
- Seijo, J. G.; Lavia, G. I.; Fernández, A.; Krapovickas, A.; Ducasse, D. & Moscone, E. A. 2004. Physical mapping of the 5S and 18S-25S rRNA genes by FISH as evidence that *Arachis duranensis* and *A. ipaensis* are the wild diploid progenitors of *A. hypogaea* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 91: 1294-1303.
- Sharma, A. K. & Sharma, A. 2001. Chromosome painting. Principles, strategies and scope. Kluwer Academic Publishers, 179p.
- Soltis, D. E.; Soltis, P. S.; Benett, M. D. & Leitch, I. J. 2003. Evolution of genome size in the angiosperms. *American Journal of Botany* 90: 1596-1603.
- Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Addison Wesley Publ., Reading, Massachusetts, 216p.
- Turner, B. L. 1956. Chromosome numbers in the Leguminosae I. *American Journal of Botany* 43: 577-581.
- Turner, B. L. & Irwin, H. S. 1961. Chromosome numbers of some Brazilian Leguminosae. *Rhodora* 63: 16-19.
- Wojciechowski, M. F. 2003. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an early 21st century perspective. *In*: Klitgaard, B. B. & Bruneau, A. *Advances in legume systematics, part 10*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 5-35.
- Wojciechowski, M. F.; Lavin, M. & Sanderson, M. 2004. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 91: 1846-1862.
- Zanin, L. A. & Cangiano, M. A. 2001. El cariotipo de *Hofmannseggia glauca* (Fabaceae). *Darwiniana* 39: 11-13.