

Datos sobre la cantidad de DNA en el género *Equisetum* L.

M. HORJALES LUACES, N. REDONDO ALVAREZ & A. BLANCO FERNÁNDEZ

Departamento de Biología Vexetal e Ciencia do Solo . Facultade de Ciencias
Universidade de Vigo. Apto. 874. 36200 Vigo. España

(Recibido, noviembre de 1996. Aceptado, enero de 1997)

Resumen

HORJALES LUACES, M., REDONDO ALVAREZ, N. & BLANCO FERNÁNDEZ, A. (1997). Datos sobre la cantidad de DNA en el género *Equisetum* L. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 7: 69-73

Se ha estudiado la cantidad de DNA nuclear mediante citometría de flujo en 6 taxones del género *Equisetum* procedentes de diferentes poblaciones naturales del Noroeste Ibérico. La cantidad de DNA nuclear es claramente diferente en el subgénero *Equisetum* (22-26 pg) y en el subgénero *Hippochaete* (Milde) Baker (38-53 pg).

Palabras clave: *Equisetum*, citometría, taxonomía, DNA.

Summary

HORJALES LUACES, M., REDONDO ALVAREZ, N. & BLANCO FERNÁNDEZ, A. (1997). Data on DNA content in *Equisetum* L. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)*, 7: 69-73

It has been studied the content of nuclear DNA by flow cytometry in 6 taxa of the genus *Equisetum* L. from different natural populations of the Iberian Northwest. The content of nuclear DNA is clearly different in the subgenus *Equisetum* (22-26 pg) and in the subgenus *Hippochaete* (Milde) Baker (38-53 pg).

Key words: *Equisetum*, cytometry, taxonomy, DNA.

INTRODUCCIÓN

El género *Equisetum* L. es un género complejo, de distribución cosmopolita, que incluye unas 15 especies y está dividido en dos subgéneros: subgénero *Hippochaete* (Milde) Baker y subgénero *Equisetum*. Esta división se realiza en función de la morfología de tallos y estructuras reproductoras y, principalmente, de la anatomía de tallos y hojas (HAUKE, 1963, 1978; PAGE, 1972).

HAUFLER (1989) señala el papel que ha jugado, en Pteridophyta, el trabajo de campo en una primera aproximación para establecer los límites de la variabilidad intraespecífica y, sobre todo,

las colecciones de plantas vivas. A partir de 1950, ha sido importante el estudio de los cromosomas y, más recientemente, los datos de isozimas que permiten establecer nuevas hipótesis acerca de los límites de cada especie. Los estudios cromosómicos señalan $2n = 216$, $n = 108$, valores que son constantes en todo el género (LÖVE *et al.*, 1977). El alto número gamético $n = 108$ para *Equisetum* parece ser indicativo de un alto grado de ploidía; sin embargo, los datos de electroforesis enzimática indican que *Equisetum* posee, en general, un número de loci por sistema enzimático acorde con el de Angiospermas y Gimnospermas diploides (SOLTIS, 1986). PCHI-

SERMOLLI (1987) recalca el interés de este dato de cara a esclarecer el proceso evolutivo en Pteridophyta.

Una de las técnicas que han sido utilizadas últimamente para estudiar la variabilidad intra e interespecífica de la cantidad de DNA en distintos taxones ha sido la citometría de flujo. JARRET *et al.* (1995), encuentran en *Paspalum* (donde se habían detectado variaciones en el tamaño de los cromosomas) una buena correlación entre el número de cromosomas y la cantidad de DNA, concluyendo que las medidas de la cantidad de DNA realizadas mediante citometría de flujo, pueden ser útiles para caracterizar los distintos citotipos en *Paspalum*.

En la Península Ibérica están citadas para el género *Equisetum* L. ocho especies (CASTROVIEJO *et al.*, 1986). Se ha estudiado, mediante citometría de flujo, la cantidad de DNA nuclear en seis taxones del Noroeste Ibérico, carácter taxonómico que puede contribuir a clarificar la posición sistemática de algunos taxones morfológicamente muy variables.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material recolectado, procedente de dieciséis localidades del Noroeste Ibérico, ha sido estudiado mediante citometría de flujo, realizándose cortes anatómicos sobre este mismo material. Dicho material se encuentra depositado en el herbario SANT.

El estudio citométrico se ha realizado en un Epics Elite con láser que emite a 488 nm. El fluorocromo utilizado ha sido Bromuro de Etidio, excepto en dos casos en los que se empleó 4',6-Diamidino-2-Phenilindol (DAPI) como colorante y láser ultravioleta. Se ha usado para la obtención de núcleos el medio Bergounioux (BERGOUNIOUX *et al.*, 1986). El patrón utilizado ha sido *Pisum sativum* L. con una cantidad de DNA nuclear de 8.37 pg.

En aquellas localidades que presentaban plantas de morfología uniforme se estudió un sólo individuo, así, *E. sylvaticum* se ha estudiado de la única localidad que hemos encontrado en el

Noroeste Ibérico, y consiste en una pequeña población de morfología uniforme. *E. hyemale* se ha estudiado de dos pequeñas poblaciones de Pontevedra de morfología también uniforme.

En aquellos lugares donde las plantas presentaban morfologías variadas se intentó estudiar un representante de cada grupo morfológico; tal es el caso de *E. ramosissimum* en Le: Villarroañe o Le: Rabanal de Luna, o el de *E. telmateia* en Po: Vigo, Vixiador.

De cada individuo se han realizado tres medidas. En cada análisis efectuado se han medido al menos 5000 núcleos y el coeficiente de variación en cada análisis ha sido inferior a 5. En la Tabla I se presentan los valores medios obtenidos por individuo.

RESULTADOS

En el subgénero *Equisetum*, se han identificado morfológica e histológicamente: *Equisetum arvense* L., *E. palustre* L., *E. telmateia* Ehrh. y *E. sylvaticum* L. Los valores obtenidos mediante citometría de flujo oscilan entre 21.7 y 27.2 pg, correspondiendo los valores más bajos (próximos a 22 pg) a *E. arvense* y *E. sylvaticum*, presentando el resto de los taxones valores próximos a 25 pg (Tabla I, Fig. 1).

En el subgénero *Hippochaete*, se han estudiado los taxones: *Equisetum ramosissimum* Desf. y *E. hyemale* L. Los valores obtenidos para *E. ramosissimum* son muy variables, desde 37.6 pg a 53.1 pg, aunque los valores que predominan están en torno a 44 pg. Dentro de este intervalo, se podrían establecer tres grupos:

- a) 38 pg,
- b) 41.9-47.7 pg
- c) 49.2-53.1 pg

En *E. hyemale*, sólo se han estudiado dos poblaciones y los valores obtenidos son de 42.25 y 43.8 pg, que corresponden al valor medio de *E. ramosissimum*.

Como ya se ha indicado, los datos de la bibliografía señalan para todo el género $n = 108$;

TABLA I. Cantidad de DNA en pg, en *Equisetum*.

| Especie | Localidad | pg de DNA | Especie | Localidad | pg de DNA | |
|-------------------------|--------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|-----------|-------|
| <i>E. arvense</i> | Le:Ardón | 22.32 | <i>E. ramosissimum</i> | Le:Rabanal de Luna | 27.04 | |
| | | 22.61 | | | 25.86 | |
| | | 22.68 | | | 25.70 | |
| | Le: Palanquinos | 24.27 | | 26.03 | | |
| | | 26.28 | | 23.68 | | |
| | | 22.93 | | 26.36 | | |
| | Le: Villanueva del Árbol | 24.36 | | Le:Ruiforcós | 27.20 | |
| | | 24.27 | | | 24.02 | |
| | Or: A Veiga de Cascallá | 24.90 | | Le: Vega de Infanzones | 23.77 | |
| | | 23.07 | | Le: Villarroaño | 25.28 | |
| | Or: Montefurado | 22.65 | | Lu:S. Miguel de Reinante | 24.52 | |
| | | 21.74 | | Or: Montefurado | 23.16 | |
| | | 22.30 | | Le: Palanquinos | 37.98 | |
| | <i>E. telmateia</i> | Po: Merza | | 22.42 | | 42.69 |
| | | | | 26.20 | 44.06 | |
| 23.40 | | | 53.07 | | | |
| C:Ortigueira | | 24.61 | Le: Vega de Infanzones | 41.85 | | |
| | | 24.00 | Le: Villanueva del Árbol | 37.58 | | |
| | | 25.84 | Le: Villarroaño | 37.58 | | |
| Le: Vega de Infanzones | | 25.86 | | 44.02 | | |
| | | 23.40 | | 45.28 | | |
| | | 26.10 | | 47.37 | | |
| O: Somiedo | | 25.92 | | 44.78 | | |
| | | 25.93 | | 45.03 | | |
| | | 24.90 | | 46.12 | | |
| Or: A Veiga de Cascallá | | 22.67 | | 44.53 | | |
| | | 25.11 | Le: Rabanal de Luna | 42.35 | | |
| | | 25.68 | | 42.44 | | |
| Po: Vigo, Vixiador | 24.27 | | 45.20 | | | |
| | 25.25 | | 43.85 | | | |
| | 25.22 | | 49.22 | | | |
| <i>E. sylvaticum</i> | Le:Lillo | 25.51 | | 51.39 | | |
| | | 24.68 | Or: A Rúa | 45.19 | | |
| | | 22.60 | Po: Eiras | 47.66 | | |
| <i>E. palustre</i> | Le:Palanquinos | 25.60 | | 45.40 | | |
| | | 26.00 | Po:Nerga* | 46.23 | | |
| | | 26.00 | Po: Eiras* | 43.08 | | |
| | | | Po: Merza | 42.25 | | |
| | | | <i>E. hyemale</i> | | | |

* Utilizando DAPI como colorante.

sin embargo, MANTON (1950) observa pequeñas diferencias citológicas en ambos subgéneros, en cuanto al tamaño de cromosomas, de tal modo que los cromosomas del subgénero *Equisetum* son más pequeños. Además, establece que en el subgénero *Equisetum* el número haploide máximo de cromosomas es de 108, posiblemente 107, mientras que en *Hippochaete* el número haploide mínimo es de 108, posiblemente 109. Todo esto

es indicativo de la dificultad del estudio de cromosomas en este género.

Los datos de citometría que se presentan parecen confirmar la hipótesis de MANTON (1950), ya que se puede establecer claramente la diferencia en cuanto a contenido de DNA de los dos subgéneros, encontrándose los valores más bajos en el subgénero *Equisetum*, en el cual MANTON (1950) encontraba los cromosomas

Equisetum

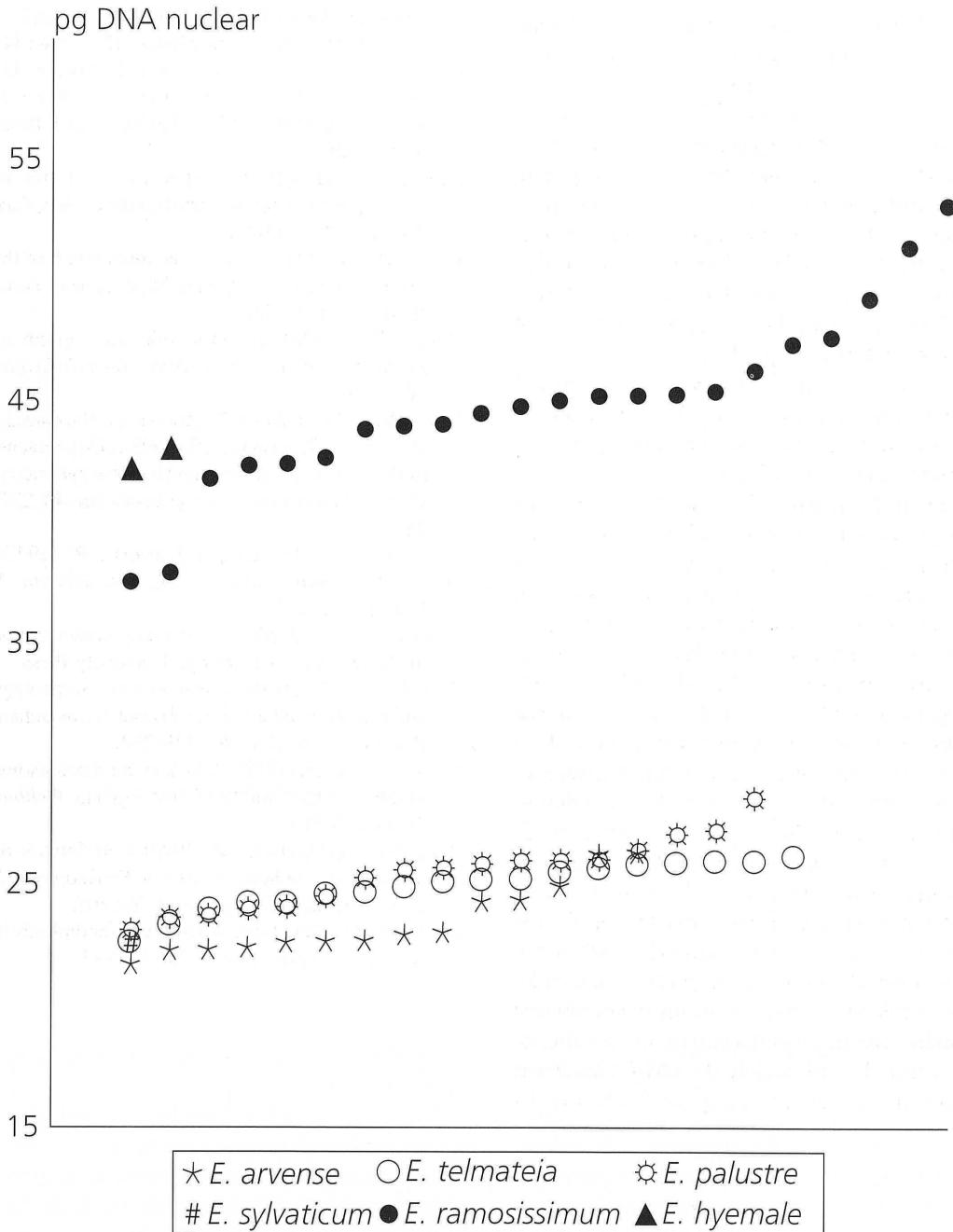


Fig. 1. Diagrama de dispersión de la cantidad de DNA en *Equisetum* L.

más pequeños, y valores próximos al doble en el subgénero *Hippochaete*, con cromosomas más grandes.

Los resultados obtenidos con la citometría de flujo, todavía escasos, nos permiten establecer diferencias claras en la cantidad de DNA nuclear entre los dos subgéneros, aunque el número cromosómico sea el mismo. Estas diferencias en la cantidad de DNA en taxones próximos, con el mismo número de cromosomas, ya se han puesto de manifiesto en otros casos, como para *Blechnum spicant* (L.) Roth subsp. *spicant* var. *spicant* (9,6 pg DNA) y *Blechnum spicant* (L.) Roth subsp. *spicant* var. *homophyllum* Merino ex Christ (15,9 pg DNA), ambos con $n = 34$ (REDONDO & HORJALES, 1993).

En el subgénero *Equisetum*, se intuyen dos grupos, ambos próximos a 25 pg, y donde la citometría no permite separar claramente los distintos taxones estudiados.

En el subgénero *Hippochaete*, se observan tres grupos con valores próximos a 45 pg: un primer grupo de *E. ramosissimum* con $2c = 38$ pg, un segundo grupo en el que además de *E. ramosissimum* estaría *E. hyemale* con un valor medio de 44 pg de DNA nuclear y un tercero de *E. ramosissimum* con 52 pg de DNA. En este subgénero, es difícil separar *E. ramosissimum* de *E. hyemale*, tanto desde el punto de vista de la citometría como a partir de los estudios anatómomoρφológicos. Por ambos métodos, también se observa una amplia variación dentro de *E. ramosissimum*, donde se intuyen distintos grupos, aunque a partir de estos datos preliminares no es posible establecer ninguna correlación entre la morfología y la cantidad de DNA nuclear. Consideramos que es preciso un estudio más detallado (recolección de un mayor número de individuos diferentes, distintos microhábitats, así como la utilización de otros caracteres taxonómicos) para sacar alguna conclusión firme.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGOUNIOUX, C., PERENNES, C., MIEGE, C. & GADAL, P. (1986). The effect of male sterility on protoplast division in *Petunia hybrida*. Cell Cycle comparison by flow cytometry. *Protoplasma*, **130**: 138-144.
- CASTROVIEJO, S., LAINZ, M., LÓPEZ GONZÁLEZ, G., MONTSERRAT, P., MUÑOZ GARMENDIA, F., PAIVA, J. & VILLAR L. (1986). *Flora Iberica*. Real J. Botánico, Madrid.
- HAUFLER, C.H. (1989). Species concepts in Pteridophytes. Summary and Synthesis. *Am. Fern Journal*, **79** (2): 90-93.
- HAUKE, R.L. (1963). A taxonomic monograph of the genus *Equisetum* subgenus *Hippochaete*. *Nova Hedwigia*, **8**: 1-123.
- HAUKE, R.L. (1978). A taxonomic Monograph of *Equisetum* subgenus *Equisetum*. *Nova Hedwigia*, **30**: 385-455.
- JARRET, R. L., OZIAS-AKINS, P., PHATAK, S., NADIMPALLI, R., DUNCAN, R. & HILLARD, S. (1995). DNA contents in *Paspalum* spp. determined by flow cytometry. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **42**: 237-242.
- LÖVE, A., LÖVE, D. & PICHI SERMOLLI, R. (1977). *Cytotaxonomical atlas of the Pteridophyta*. J. Cramer, Vaduz.
- MANTON, I. (1950) *Problems of cytology and evolution in Pteridophyta*. Cambridge University Press.
- PAGE, C.N. (1972). An interpretation of the morphology and evolution of the cone and shoot of *Equisetum*. *Bot. Jour. Linn. Soc.*, **65**: 359-397.
- PICHI SERMOLLI, R. (1987). A look at the chromosome numbers in the families of Pteridophyta. *Webbia*, **41**(2): 305-314.
- REDONDO, N. & HORJALES, M. (1993). Contribución de la citometría en la taxonomía de Pteridophyta. *X Simp. Nac. Bot. Criptogámica*. Tenerife.
- SOLTIS, D. E. (1986). Genetic Evidence for diploidy in *Equisetum*. *Amer. J. Bot.*, **73**: 908-913.