Estudios citogenéticos de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae)

Cytogenetic studies of *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae)

Nilda ALCORCÉS DE GUERRA

Universidad de Oriente. Núcleo de Monagas. Postgrado en Agricultura Tropical. Laboratorio de Citogenética. Urbanización Juanico, Maturín, 6201, estado Monagas, Venezuela.
Emails: nildafel@gmail.com y nildafel@cantv.net

Recibido: 19/02/2009 Fin de primer arbitraje: 17/03/2009 Primera revisión recibida: 23/04/2009
Fin de segundo arbitraje: 13/07/2009 Segunda revisión recibida: 28/07/2009 Aceptado: 29/07/2009

RESUMEN

Con el objetivo de corroborar el número cromosómico, fórmula cariotípica, tipo de polen y profundizar el estudio de la meiosis de *Hibiscus sabdariffa* L., se utilizaron meristemas de raíces tratados con colchicina (0,05%) y anteras procedentes de flores jóvenes, colectadas en dos localidades del municipio Maturín, Monagas, Venezuela. Se encontró un número diploide de 2n = 72 cromosomas, con 32 pares metacéntricos y 4 pares submetacéntricos. Los pares cromosómicos 34 y 35 mostraron constricciones secundarias. En la meiosis se observaron entre 96,3 a 100,0% de células normales y un índice meiótico de 96,9 a 97,2%.

Palabra claves: *Hibiscus sabdariffa,* meiosis, número cromosómico, fórmula cariotípica.

ABSTRACT

With the objective to corroborate chromosome number, karyotypic formulae, pollen type and to do a deeper study of meiosis of *Hibiscus sabdariffa* L., root tips treated with colchicine (0.05%) and anthers from floral buds were used. They were collected from two localities of Maturin Municipality, Monagas State, Venezuela. A diploid chromosome number (2n = 72) was found, with 32 metacentric pairs and four submetacentric ones; 34 and 35 chromosome pairs showed secondary constrictions. Furthermore, normal cells between 96.3 to 100.0% and meiotic index between 96.9 to 97.2% were observed in meiosis.

Key words: *Hibiscus sabdariffa,* meiosis, chromosome number, karyotipic formulae

INTRODUCCIÓN

Hibiscus sabdariffa L. es una especie perteneciente a la familia Malvaceae, subfamilia Malvoideae, tribu Hibisceae. En esta subfamilia se ubican aproximadamente unos 112 géneros. El género *Hibiscus* ubicado en la sección Furcaria comprende aproximadamente 785 taxas específicas e infraespecificas, se citan para Venezuela 12 especies. Este género está ampliamente distribuido en la región tropical y subtropical (Adamson y O'Bryan 1981), con algunas especies de importancia económica, como fuente alimenticia y medicinal (Wilson y Menzel 1964; Dickel *et al*. 2006; Tolulope y Teixeira 2007). Existen varias especies dentro de *Hibiscus* donde se han realizado reportes del número cromosómico y no hay criterios de unificación en la información. Entre ellas, se puede citar *H. rosa-sinensis* con 2n = 36, 38, 40, 44, 46, 52, 70, 76, 84, 90, 92, 118, 132 y 144 (Ge *et al*. 1989, Munirajappa y Krishnappa 1989 y Sidhu *et al*. 1990); *H. vitifolius* 2n=34 y 96 (Dasgupta y Bhatt 1976, Dasgupta *et al*. 1980, Munirajappa y Krishnappa 1989 y Shanmughasundaram 1992, citados por Goldblatt y Johnson 1975, 1978, 1990, 1991, 1998, 2000).

Para *H. sabdariffa* Menzel y Wilson (1966) reportaron n=36; Kuwada, (1977), Kuwada y Mabuchi, 1977, n=36 y 2n=72; Bhatt y Dasgupta, (1977), n=36 y 2n=36 y 72; Huang *et al*. (1985, 1989) indicaron 2n=18 y 36 (citados por Goldblatt y Johnson, 1975-1978, 1984-1985); Naznin *et al*. (2006) realizaron bandeo cromosómico a *H. sabdariffa* var. HS-24 y reportan 2n=2x=72 con los cromosomas todos metacéntricos y su tamaño de 1,43-3.80 µm. Kuwada (1977) reportó que los híbridos F1 y F2 entre *Hibiscus acetosella* y *Hibiscus radiatus* presentaron 2n=72. Debido a la importancia

del cultivo en el oriente del país y a la diversa información citogenética, se hace necesario conocer el material existente en la zona, para lo cual se realizó el estudio citogenético del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron botones florales y frutos secos de *H. sabdariffa* L., provenientes de dos sitios de colección en el Municipio Maturín: Parcela Experimental de la Escuela de Ingeniería Agronómica UDO, Los Guaritos y del Parcelamiento del Bajo Guarapiche. El material fue evaluado en el Laboratorio de Citogenética de la UDO Monagas. El comportamiento de la meiosis se observó en botones florales, cosechados a mediados del mes de noviembre, en vista de que esta planta es anual y su ciclo de floración comienza en el mes ya citado. El material colectado consistió de botones florales de 2 a 7 mm de tamaño, colocados en Carnoy (3:1 etanol absoluto-ácido acético glacial). Luego fueron transferidos a una solución de HCl al 18% por 10 minutos y lavados con agua destilada durante 15 a 20 minutos, para suavizar un poco el tejido para el momento de la maceración. En un microscopio estereoscópico Nikon MCZ 45, se extrajeron las anteras con agujas punta fina, para luego ser transferidas a portaobjetos para macerar y colorearlos con orceína FLP 2%. Para el análisis de la meiosis se utilizó un microcopio MOTIC y se consideraron de profase I a telofase II y la formación de las tétradas. Aquellas tétradas que no presentaban las cuatro microsporas se consideraron anormales. Se realizó el cálculo del índice meiótico, donde IM = (número de tétradas normales/número de tétradas analizadas) x 100. Si el índice calculado resulta superior a 90%, demuestra una normalidad en proceso meiótico. La viabilidad del polen se realizó, revisando para cada sitio de colección 1265 granos. Se consideraron viables aquellos cuyo citoplasma se coloreó de tal manera que podían verse claramente los núcleos espermáticos, además de que el tamaño de los mismos fuera casi constante. Se revisaron 30 láminas en total, 15 para cada uno de los materiales de los dos sitios de colección. Para determinar el número cromosómico se observaron meristemas radicales obtenidos de la germinación de semillas completamente desarrolladas y en óptimo estado fitosanitario.

Los recuentos cromosómicos se establecieron con la hora mitótica de la especie. Para ello se trataron 30 ápices radiculares con colchicina al 0,05% m/v durante 2 h y luego con cloruro de sodio al 0,03% m/v, durante 10 min, para incrementar la frecuencia de células metafásicas con cromosomas dispersos. Luego fueron fijados en Carnoy (3:1 etanol absoluto-ácido acético glacial). Para la preparación de las láminas, los ápices fueron colocados en HCl 18% v/v durante 10 min y en agua destilada por otros 10 min. En un portaobjetos fueron disectados, macerados y posteriormente teñidos con orceína FLP al 2% m/v. Se colocó el cubreobjetos, se realizó el aplastamiento del tejido por presión manual para separar las células y se procedió a detectar células metafásicas con cromosomas dispersos, claramente visibles al microscopio óptico, para analizar el cariotipo de la especie. Las imágenes cariológicas se obtuvieron con la ayuda de un microscopio MOTIC, lo cual permitió seleccionar 20 células que mostraran cromosomas bien esparcidos, para proceder a medir la longitud de los brazos, determinar el índice centromérico y la relación de brazos, y clasificar de acuerdo con la nomenclatura de Levan *et al.* (1964).

RESULTADOS

La observación de los cromosomas somáticos mostró 2n = 72 (Figura 1). El tamaño de los cromosomas osciló entre 1,58 y 4,36 µm. De los 36 pares de cromosomas, seis son metacéntricos en el punto medio, 26 metacéntricos en la región media y cuatro submetacéntricos, observándose constricciones secundarias en los brazos cromosómicos de los pares 34 y 35. Estos resultados permiten proponer la fórmula cariotípica 12M+52m+8sm, indicando un cariograma simétrico por la predominancia de cromosomas metacéntricos (Figura 2), de acuerdo a Stebbins (1971).

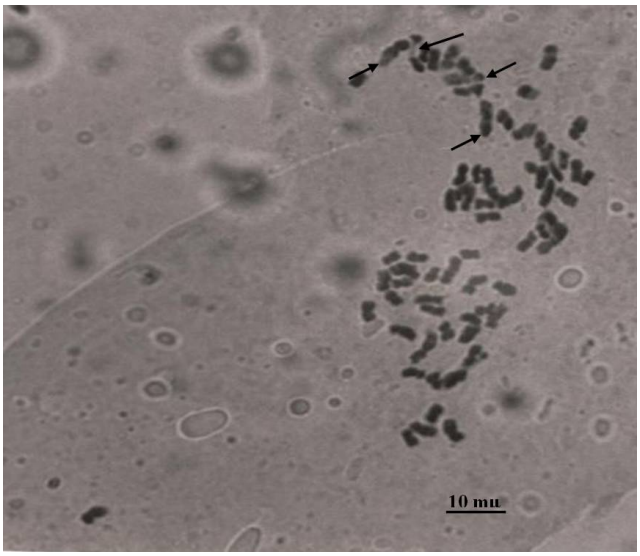

Figura 1. Célula cariotipable de *Hibiscus sabdariffa*.

Los resultados obtenidos del análisis de las fases meióticas se muestran en el Cuadro 1 y células en metafase I, anafase I, telofase I, profase II, tétradas y polen se muestran en las Figuras 3a-e. En los análisis realizados a las fases de la meiosis se puede inferir que el porcentaje de células normales está entre 96,3 a 100,0%. El porcentaje de tétradas normales, que corresponde al índice meiótico, entre 96,9 a 98,2%. El polen es espinulado.

DISCUSIÓN

Como puede observarse para ambos sitios de colección el porcentaje de células normales fue mayor en relación con el de las células anómalas. También el índice meiótico fue alto, lo que demuestra que los materiales evaluados presentan estabilidad en el proceso meiótico. Estudios realizados con nueve especies de *Syzygium cumini* indican que el comportamiento de la microporogénesis de esa especie es considerada normal debido a que el índice meiótico está por encima del 91% y la viabilidad del polen fue mayor de 93% (Pinto y Battistin, 2004). Estos resultados, al compararse con los de *H. sabdariffa*, indican que la especie presenta un alto porcentaje de células normales durante la meiosis y se infiere que un alto porcentaje de su polen es viable, debido al alto porcentaje de germinación que

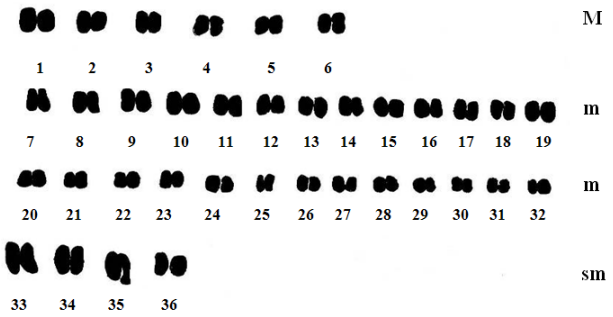

Figura 2. Cariograma de *Hibiscus sabdariffa.*

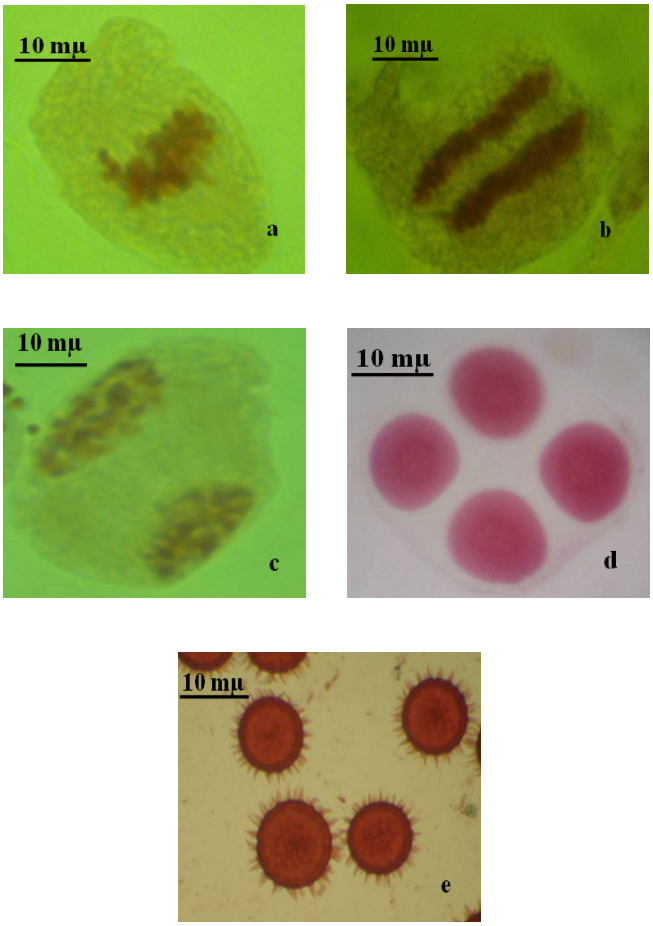

Figura 3. División meiótica de *Hibiscus sabdariffa*. a. Célula en Metafase I. b. Célula en Anafase I. c. Célula en Profase II. d. Tétradas de microsporas y e. Polen.

Cuadro 1. Análisis de la microporogénesis de *Hibiscus sabdariffa* L. colectado en dos localidades del Municipio Maturín, estado Monagas, Venezuela.

Meiosis I	Diacinesis			Metafase			Anafase		
Localidad	N	A	%	N	A	%	N	A	%
E. E. UDO	203	9	97,13	210	8	96,33	218	2	99,09
Bajo Gua.	237	4	98,34	229	7	97,03	100	0	100,00
Meiosis 2	Telofase			Profase			Tétradas		
Localidad	N	A	%	N	A	%	N	A	%
E. E. UDO	215	5	87,72	209	6	97,21	243	7	98,22
Bajo Gua.	286	3	98,96	285	7	97,60	291	9	96,90
Índice Meiótico	E. E. UDO			97,20%		Bajo Gua.		96,89%	

E. E. UDO: Estación Experimental de la Escuela de Ingeniería Agronómica, UDO, Los Guaritos.
Bajo Gua. : Parcelamiento del Bajo Guarapiche.
N= Células normales; A= Células anormales; %= Porcentaje de células normales.

presentaron las semillas. Esta especie es reportada por poseer un número cromosómico de n= 18; n= 36; 2n=36 y 2n=72 y además se plantea que presenta 72 cromosomas por se tratar de una especie tetraploide (Menzel y Wilson 1966, Menzel *et al*. 1986). En el presente estudio se contaron 36 bivalentes en las diacinesis, confirmando un 2n=72 cromosomas. Naznin *et al*. (2006), aplicando fluorescencia a una variedad de *H. sabdariffa*, mostraron la presencia de 72 cromosomas todos metacéntricos y no reportan constricciones secundarias en ninguno de los brazos. Sin embargo, el material de *H. sabdariffa* analizado en esta investigación mostró 72 cromosomas, metacéntricos en el punto medio, metacéntricos en la zona media y submetacéntricos, además de dos pares cromosómicos con constricciones secundarias.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, por el apoyo en la ejecución de este trabajo y a todas aquellas personas que ayudaron en la colecta de los materiales y en la revisión del mismo.

LITERATURA CITADA

Adamson, W. C. and J. E. O'Bryan. 1981. Inheritance of photosensitivity in roselle, *Hibiscus sabdariffa*. The Journal of Heredity 72: 443-444.

Dickel, M. L.; S. M. Kuze Rates and M. Rejane Ritter, M. 2007. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. Journal of Etnopharmacology. 109 (1): 60-71.

Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1975-1978. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden Press. 553 p.

Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1979-1980. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden Press. 427 p.

Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1984-1985. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden Press. 264 p.

Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1988-1989. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden Press. 238 p.

Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1990-1991. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden Press. 267 p.

Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1998-2000. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden Press. 297 p.

Levan, A.; K. Fredga and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

Menzel, M. and F. D. Wilson. 1966. Hybrids and Genome Relations of *Hibiscus sabdariffa, H. meeusei, H. radiatus* and *H. acetosella*. Amer. J. Bot. 53 (3): 270-275.

Menzel, M.; K. Richmond, C. Contolini and P. Huang. 1986. New intergenomic hybrids among some African diploid species of *Hibiscus* sect. *Furcaria.* Amer. J. Bot. 73 (2): 304-409.

Naznin, H.; A. Nazmul, A. A. Fakhruddin, B. Rabeya and S. A. Sheikh. 2006. Differential Fluorescent Banding and Isozyme Assay of *Hibiscus cannabinus* L. and *H. sabdariffa* L. (Malvaceae). Cytologia 71 (2): 175-180.

Pinto L., A. e A. Battistin. 2004. Microsporogenesis de nove acessos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels Myrtaceae oriundos do Rio Grande do sul Brasil. Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana, 11 (1): 192-205.

Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants.Edward Arnold (Publishers) Ltd., London. 216 p.

Tolulope O., M. and J. B. Teixeira R. 2007. Commonly used tropical medicinal plants exhibt distinct *in vitro* antioxidant activities against hepatotoxins in rat liver. Experimental and Toxicologic Pathology 58 (6): 375-460.

Wilson, F. D. 1999. Revision of *Hibiscus* section *Furcaria* (Malvaceae) in Africa and Asia. Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. (Bot.). 29 (1): 47-79.

Wilson, F. D. and M. M. Menzel. 1964. Kenaf (*Hibiscus cannabinus*), roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Econ. Bot. 18: 80-91.