

COMPARACIÓN DEL CARIOTIPO DE *Eucalyptus globulus*  
Y *Eucalyptus cladocalyx* (Myrtaceae)

Comparison of karyotype of *Eucalyptus globulus*  
and *Eucalyptus cladocalyx* (Myrtaceae)

Freddy Mora<sup>1,2</sup>, Claudio Palma-Rojas<sup>2</sup> \* y Pedro Jara-Seguel<sup>2,3</sup>

ABSTRACT

Mitotic metaphase plates were analyzed in *Eucalyptus globulus* Labill. and *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell. The chromosomes were observed by squashing root tips, pre-treated with 8-Hydroxyquinoline and stained with the Feulgen reaction. Both, *E. globulus* and *E. cladocalyx* had a karyotype of  $2n = 22$ , with 1A symmetry level, and chromosome sizes varying between 0.68 and 2.03  $\mu\text{m}$ . Mean chromosome size differed significantly between *E. cladocalyx* (1.42  $\mu\text{m}$ ) and *E. globulus* (1.02  $\mu\text{m}$ ) ( $P < 0.01$ ). The greater chromosomal size of *E. globulus* suggests a greater amount of DNA, probably originated by structural alterations. This evolutionary pattern of karyotype morphology might be associated, as well, with a high level of conservation in chromosome morphology.

**Key words:** chromosome, plants cytogenetics, *Eucalyptus*.

RESUMEN

Se analizaron placas metafásicas mitóticas de *Eucalyptus globulus* Labill. y *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell. Los cromosomas se observaron mediante aplastado de meristemas radiculares, previamente tratados con 8-Hidroxiquinolina y teñidos con la reacción de Feulgen. Las dos especies mostraron un cariotipo  $2n = 22$ , con un nivel de simetría 1A y con tamaños cromosómicos que variaron entre 0,68 y 2,03  $\mu\text{m}$ . El tamaño cromosómico promedio difirió significativamente al comparar entre *E. globulus* (1,42  $\mu\text{m}$ ) y *E. cladocalyx* (1,02  $\mu\text{m}$ ) ( $P < 0,01$ ). El mayor tamaño cromosómico de *E. globulus* sugiere una mayor cantidad de ADN, originado probablemente por alteraciones cromosómicas estructurales. Este patrón de evolución del cariotipo estaría asociado, además, con un alto nivel de conservación en la morfología cromosómica.

**Palabras clave:** cromosoma, citogenética vegetal, *Eucalyptus*.

<sup>1</sup> Instituto Forestal, Pedro Pablo Muñoz 200, La Serena, Chile. E-mail: fmora@minagri.gob.cl

<sup>2</sup> Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena, Chile. E-mail: cpalma@userena.cl \*Autor para correspondencia.

<sup>3</sup> Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Temuco, Chile.

Recibido: 24 de mayo de 2003. Aceptado: 22 de septiembre de 2003

## INTRODUCCIÓN

*Eucalyptus globulus* Labill. es una de las especies más plantada en el mundo, debido a su rápida tasa de crecimiento y a una buena calidad pulpable de la madera, cuya densidad varía desde 650 a 800 kg m<sup>-3</sup> (Yang y Fife, 2000). Por otro lado, *E. cladocalyx* F. Mull. tiene una tasa de crecimiento significativamente menor, pero posee una madera de alta durabilidad, cuya densidad varía desde 1.100 a 1.200 kg m<sup>-3</sup> (Waters *et al.* 2000).

*E. cladocalyx* se adapta en zonas con precipitación desde 200 a 300 mm y tiene capacidad para tolerar períodos prolongados de sequía, reaccionando favorablemente ante el mejoramiento de las condiciones hídricas (Wrann *et al.*, 1993). *E. globulus*, en tanto, crece favorablemente en la zonas con pluviometría desde 500 hasta 1.200 mm de precipitación, aun cuando puede crecer con precipitaciones superiores a los 2.000 mm. Por lo anterior, la hibridación entre estas dos especies permitiría la obtención de plantas con características intermedias con mejor densidad de la madera y tolerancia al déficit hídrico que *E. globulus*.

La información acerca de las caracterizaciones genéticas de *Eucalyptus* es relativamente escasa, y puede ser de considerable utilidad en la determinación del potencial de cruzamiento entre genotipos compatibles. Desde el punto de vista citogenético, todas las especies del género *Eucalyptus* hasta ahora descritas, tienen un número cromosómico básico  $x = 11$  (Eldridge *et al.*, 1993; Potts y Witshire, 1997, citados por Potts *et al.*, 2001). Los únicos antecedentes documentados para este género son las diferencias en la morfología cromosómica (Moran *et al.*, 2000; Thamarus *et al.*, 2000), en el tamaño del genoma y en el contenido de ADN nuclear (Potts *et al.*, 2001).

La factibilidad de hibridación interespecífica de *E. globulus* con otras especies de interés comercial ha sido ampliamente probada con otras 14 especies del mismo género (Potts *et al.*, 2001). A su vez, se han desarrollado híbridos artificiales utilizando *E. cladocalyx* con sólo cuatro especies

de interés económico en Australia: *E. platypus*, *E. spathulata*, *E. flindersii*, y *E. viridis* (Potts *et al.*, 2001).

Diferentes estudios de hibridación realizados con *Eucalyptus*, han mostrado que *E. camaldulensis* ( $2n = 22$ ) hibrida exitosamente con *E. globulus* y *E. cladocalyx* (Griffin *et al.*, 1988), sin embargo, no hay antecedentes de híbridos naturales entre estas dos especies (McComb *et al.*, 2000; Sasse *et al.*, 2000, citados por Potts *et al.*, 2001).

El objetivo de este estudio fue describir y comparar la morfometría del cariotipo de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus cladocalyx*, para aportar información citogenética que podría ser de utilidad en la generación de posibles híbridos entre estas especies.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El material biológico se obtuvo del banco de semillas del Instituto Forestal, ubicado en Concepción, Chile. Las semillas de *E. globulus* provenían de diferentes árboles del ensayo Los Hermanos, localizado en Cañete (38°18' lat. Sur; 73°21' long. Oeste), VIII Región, y las semillas de *E. cladocalyx*, se colectaron de diferentes árboles del ensayo Iltá, localizado en Illapel (31°38' lat. Sur; 71°19' long. Oeste), IV Región. Cien semillas de cada especie se hicieron germinar sobre papel húmedo en placas Petri, en oscuridad y a una temperatura de 20°C durante seis días, en el Laboratorio de Citogenética de la Universidad de La Serena, La Serena. Puntas de raíces jóvenes entre 10 y 15 mm de longitud se colocaron en una solución de 8-Hidroxiquinolina 0,002 M (Merck) durante 4 h a temperatura ambiente. Posteriormente, las puntas de raíces se fijaron en una mezcla de etanol-ácido acético (3:1) a 4°C por 48 h y se tiñeron mediante la reacción de Feulgen (Feulgen, 1924). Los cromosomas metafásicos se observaron mediante la técnica de aplastado del meristema radicular.

Se seleccionaron diez placas metafásicas de ambas especies, cuyas imágenes se capturaron con un videomicroscopio (Nikon Eclipse 400), conectado a un computador MS DOS, y utilizando

el programa Image-Pro ® Plus 4.0 (Media Cybernetics, 1998). Posteriormente, en impresiones fotográficas se midió la longitud del brazo corto y del brazo largo de cada par cromosómico. Con los valores relativos del brazo corto y del brazo largo, expresados como porcentaje de la longitud total del set haploide, se confeccionó un idiograma para cada especie. Para comparar el tamaño cromosómico promedio entre ambas especies se utilizó la prueba de significación *t*-Student. Además, para cada especie se determinó el nivel de asimetría cromosómica (Stebbins, 1971; Romero-Zarco, 1986; Jara-Seguel, 2001). La nomenclatura usada para la descripción de la morfología cromosómica fue la propuesta por Levan *et al.* (1964).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las dos especies de *Eucalyptus* analizadas mostraron un cariotipo  $2n = 22$ , con un nivel de simetría 1A. El cariotipo de *E. globulus* estaba constituido por diez pares de cromosomas metacéntricos y un par submetacéntrico. *E. cladocalyx*, en tanto, presentó un cariotipo con los 11 pares metacéntricos (Figura 1A, B; Cuadro 1). Los tamaños cromosómicos fluctuaron entre 0,68 y 1,36  $\mu\text{m}$ , en *E. cladocalyx*, y entre 0,85 y 2,03  $\mu\text{m}$ , en *E. globulus*.

**Cuadro 1. Morfología cromosómica (MC) para las dos especies de *Eucalyptus* estudiadas.**

**Table 1. Chromosome morphology (MC) for the two *Eucalyptus* species studied.**

Par cromosómico	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Eucalyptus cladocalyx</i>
	MC	MC
1	m	m
2	m	m
3	m	m
4	m	m
5	m	m
6	m	m
7	m	m
8	m	m
9	sm	m
10	m	m
11	m	m

m: metacéntrico; sm: submetacéntrico.

Al igual que los resultados de este estudio, Matsumoto *et al.* (2000) encontraron un cariotipo  $2n = 22$  cromosomas en otras siete especies de *Eucalyptus* (*E. deanei*, *E. dunni*, *E. grandis*, *E. maculata*, *E. propinqua*, *E. saligna* y *E. tereticornis*). Todas estas especies presentaron cariotipos altamente simétricos y con valores de tamaño cromosómico muy cercanos, cuyos largos promedios variaron desde 0,58 a 1,39  $\mu\text{m}$ . En general, el análisis del cariotipo indicó homogeneidad en la morfología y en el número cromosómico en estas especies, aunque también se han descrito números diploides  $2n = 24$ . Sin embargo, de acuerdo a la evidencia recopilada, un número básico  $x = 11$  sería el más representado dentro del género.

*E. globulus* mostró un tamaño cromosómico promedio significativamente mayor que *E. cladocalyx* ( $P < 0,01$ ) (Cuadro 2). En la Figura 2A, B se muestran los idiogramas que representan la morfología cromosómica de cada especie.

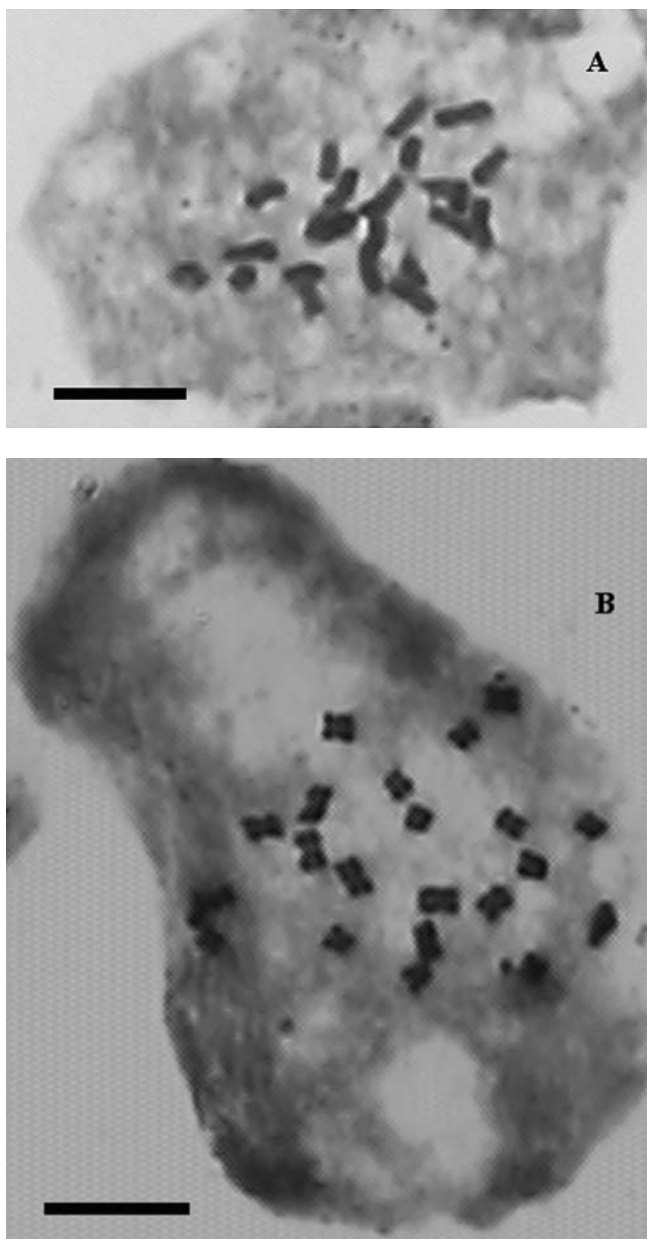
**Cuadro 2. Longitud total del set haploide y tamaño cromosómico promedio ( $\pm$  intervalo de confianza, 95%) para cada especie.**

**Table 2. Total haploid length and mean chromosomal size ( $\pm$  confidence interval, 95%) per species.**

Especie	Longitud total del set haploide ( $\mu\text{m}$ )	Tamaño cromosómico promedio ( $\mu\text{m}$ )
<i>Eucalyptus globulus</i>	15,64	1,42 + 0,4 a
<i>Eucalyptus cladocalyx</i>	11,19	1,02 + 0,2 b

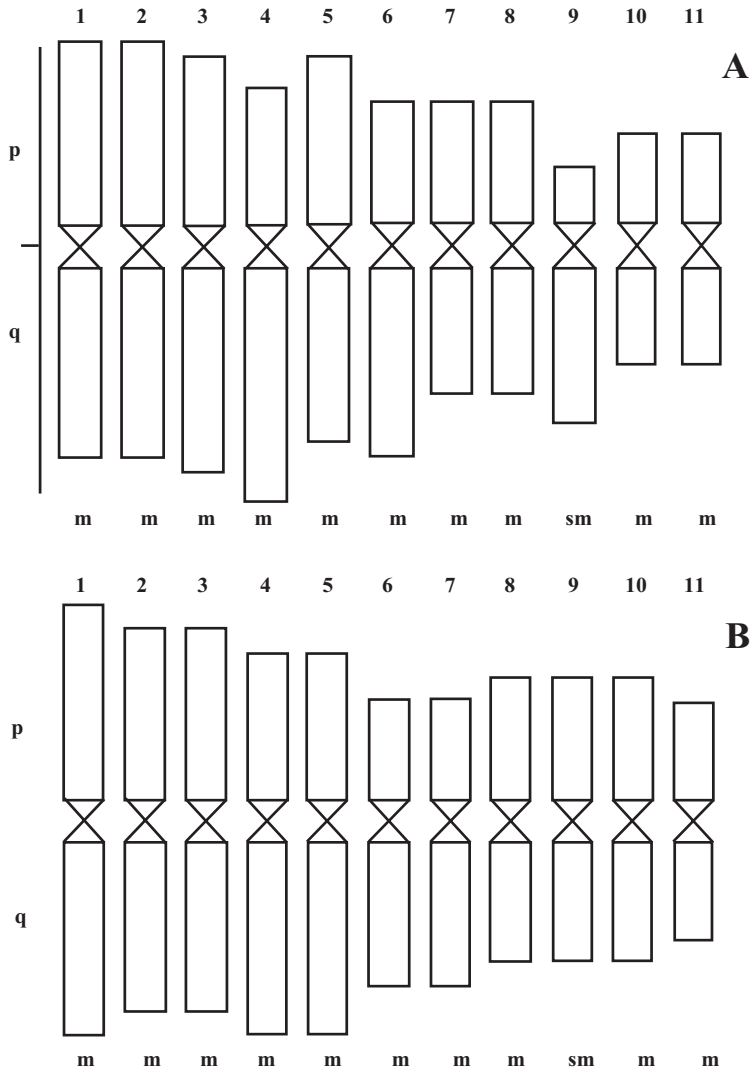
Letras diferentes indican diferencias significativas según *t*-Student ( $p < 0,01$ ).

Las diferencias de tamaño cromosómico entre ambas especies sugieren que *E. globulus* tendría una mayor cantidad de ADN nuclear que *E. cladocalyx*. El origen de esta diferencia podría explicarse por alteraciones cromosómicas estructurales, tales como duplicaciones, deleciones y adiciones, de modo similar a lo propuesto por Matsumoto *et al.* (2000).



**Figura 1. Metafase de (A) *Eucalyptus globulus* y (B) *Eucalyptus cladocalyx*. (Barra 5  $\mu$ m). 100x.**

**Figure 1. Metaphase of (A) *Eucalyptus globulus* and (B) *Eucalyptus cladocalyx*. (Bar 5  $\mu$ m). 100x.**



**Figura 2. Idiogramas que representan la morfología cromosómica de *Eucalyptus globulus* (A) y *Eucalyptus cladocalyx* (B) ( $2n = 22$ ).**

**Figure 2. Idiograms that represent the chromosomal morphology of *Eucalyptus globulus* (A) and *Eucalyptus cladocalyx* (B) ( $2n = 22$ ).**

p = longitud del brazo corto; q = longitud del brazo largo, m = metacéntrico, y sm = submetacéntrico.

## CONCLUSIONES

La longitud promedio del cariotipo de *Eucalyptus globulus* es significativamente mayor que el cariotipo de *Eucalyptus cladocalyx*. Estas dife-

rencias se podrían haber originado por mecanismos de evolución cromosómica, asociados además a un alto nivel de conservación en la morfología cromosómica.

## LITERATURA CITADA

- Feulgen, R., and H. Rossenbeck. 1924. Mikroskopisch-chemischer nachweis einer nucleinsäure vom typus der thymonucleinsäure und darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen präparaten. Hoppe-Seylers zeitschrift für physiologische Chemie 135:203-248.
- Griffin, A. R., I. P. Burgess, and L. Wolf. 1988. Patterns of natural and manipulated hybridisation in the genus *Eucalyptus* L'Herit. - a review. Aust. J. Bot. 36:41-66.
- Jara-Seguel, P. 2001. Citogenética comparada de dos especies silvestres del género *Alstroemeria* Lin y su relación con *Bomarea salcilla* (Lin) Mirbel y *Leontochir ovallei* Phil. (Alstromeriaceae). 80 p. Tesis de Magister. Universidad de La Serena, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, La Serena, Chile.
- Levan, A., D. Fredga, and A.A. Sandverg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.
- Matsumoto, S., M. Marin-Morales, C. Ruas, and P. Ruas. 2000. Cytogenetic analysis of seven species of *Eucalyptus* L'Her. (Myrtaceae). Caryologia 53:205-212.
- Media Cybernetics. 1998. Media Cybernetics 41N40000-22717. Silver Spring, Maryland, USA.
- Moran, G.F., P.A. Butcher, M.E. Devey, and K. Thamarus. 2000. Genetic mapping and application in breeding. p. 177-183. In H.S. Dungey, M.J. Dieters and D.G. Nikles (eds.) Hybrid breeding and genetics of forest trees. Proceedings of Queensland Forestry Research Institute (QFRI) - Cooperative Research Centre for Sustainable Production Forestry (CRC-SPF) Symposium. 9-14 April 2000. Cooperative Research Centre, Noosa, Queensland, Australia.
- Potts, B.M., R.C. Barbour, and A.B. Hingston. 2001. Genetic pollution from farm forestry: using eucalypt species and hybrids. 108 p. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC), Kingston, Australia.
- Romero-Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35:526-531.
- Stebbins, G. 1971. Chromosomal evolution in the higher plants. 216 p. Edward Arnold Publisher, London, UK.
- Thamarus, K., K. Groom, J. Murrell, and G. Moran. 2000. A genetic map and QTL analysis of wood and pulp traits in *Eucalyptus globulus*. p. 510-513. In H.S. Dungey, M.J. Dieters and D.G. Nikles (eds.) Hybrid breeding and genetics of forest trees. Proceedings of Queensland Forestry Research Institute (QFRI) - Cooperative Research Centre for Sustainable Production Forestry (CRC-SPF) Symposium. 9-14 April 2000. Cooperative Research Centre, Noosa, Queensland, Australia.
- Waters, M., R. Webb, and B. Hamilton. 2000. Sugar gum for farm forestry. Notes Series N° AG0892. 4 p. Department of Primary Industries (DPI), Victoria, Australia.
- Wrann, J., F. Andrade, y C. Alvear. 1993. Técnicas de establecimiento para *Eucalyptus cladocalyx* y *Eucalyptus camaldulensis* en la zona árida y semiárida de Chile. p. 417-438. Actas Simposio Los eucaliptos en el desarrollo forestal de Chile, Pucón, Chile. 24-26 Noviembre de 1993. Instituto Forestal (INFOR), Santiago, Chile.
- Yang, J.L., and D. Fife. 2000. Wood properties of three provenances of plantation-grown *Eucalyptus globulus* Labill. I. Growth strain. p. 301-309. Proceedings conference: The future of eucalypts for wood products. Launceston, Tasmania, Australia. 19-24 March 2000. International Union of Forest Research Organizations (IUFRO), Vienna, Austria.