

Avances en estudios de meiosis en híbridos intergenéricos entre *Petunia* y *Calibrachoa*

Advance in meiosis studies in intergeneric hybrids between *Petunia* and *Calibrachoa*

Víctor José Milicia¹, Silvia Elena Chorzempa², María Fabiana
Rodríguez³, María Silvina Soto⁴

victormilicia@hotmail.com¹, chorzempa2000@yahoo.com.ar², mariafabianar@yahoo.com.ar³,
soto.maria@inta.gob.ar⁴

¹⁻³ Cátedra de Horticultura y Floricultura. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad
Nacional de Lomas de Zamora, 1832, Lomas de Zamora, Argentina.

² Cátedra de Genética. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Lomas de
Zamora, 1832, Lomas de Zamora, Argentina.

⁴ Instituto de Floricultura. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 1686, Hurlingham,
Argentina.

Recibido 27/12/2022; Aceptado: 22/02/2023

Resumen: Gran cantidad de las especies ornamentales que se cultivan en el mundo provienen de germoplasma sudamericano mejorado. El enorme potencial ornamental que tiene la flora de nuestro país, aún no se ha aprovechado en toda su magnitud. La familia Solanaceae, aunque cosmopolita, presenta la mayor concentración de géneros y especies en Sudamérica. Las contribuciones sobre Solanáceas de Argentina que tratan de cromosomas meióticos son fragmentarias. Estudios previos permitieron la obtención de un híbrido intergenérico entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa hybrida* var. *kabloom yellow* denominado HPC. El mismo presentó un 95% de polen estéril y un 5% de polen fértil, siendo este último valor suficiente para permitir su utilización como planta puente en cruzamientos con diferentes especies de los géneros *Petunia* y *Calibrachoa*. Los objetivos del presente trabajo fueron observar los cromosomas del híbrido HPC mediante citogenética clásica para determinar el grado de homología cromosómica existente entre sus especies parentales y la constitución meiótica del híbrido a utilizar como planta puente en futuros cruzamientos con diferentes especies de *Petunia* y *Calibrachoa*. La presencia de polen estéril se debe a su meiosis irregular con univalentes, bivalentes y tetravalentes, puente sin fragmento y husos multipolares, mientras que los granos de polen fértiles podrían ser producto de mecanismos de eliminación de dos cromosomas y reducción del número cromosómico gamético con el fin de formar gametas balanceadas que permiten la producción de nuevas plantas híbridas en los cruzamientos puente con el género *Petunia*. Futuros estudios con aplicación de las técnicas de hibridación *in situ*, como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y la hibridación genómica *in situ* (GISH), permitirán presentar un modelo auténtico para analizar los cromosomas individuales, los segmentos cromosómicos o

los genomas de plantas híbridas y de esta forma confirmar si los cromosomas perdidos efectivamente pertenecen al género *Calibrachoa*.

Palabras-clave: Solanaceae., hibridación intergenérica., floricultura, plantas ornamentales., citogenética.

Abstract: A large number of the ornamental species cultivated in the world come from improved South American germplasm. The enormous ornamental potential of the flora of our country has not yet been fully exploited. The Solanaceae family, although cosmopolitan, presents the highest concentration of genera and species in South America. Contributions on Solanaceae from Argentina dealing with meiotic chromosomes are fragmentary. Previous studies allowed obtaining an intergeneric hybrid between *Petunia inflata* and *Calibrachoa hybrida* var. kabloom yellow called HPC. It presented 95% sterile pollen and 5% fertile pollen, the latter being sufficient to allow its use as a bridge plant in crosses with different species of the *Petunia* and *Calibrachoa* genera. The objectives of this work were to observe the chromosomes of the HPC hybrid by means of classical cytogenetics to determine the degree of chromosomal homology between its parental species and the meiotic constitution of the hybrid to be used as a bridge plant in future crosses with different species of *Petunia* and *Calibrachoa*. The presence of sterile pollen is due to its irregular meiosis with univalent, bivalent, and tetravalent, fragmentless bridge, and multipolar spindles, while fertile pollen grains could be the product of mechanisms of elimination of two chromosomes and reduction of the gametic chromosome number with the in order to form balanced gametes that allow the production of new hybrid plants in bridge crosses with the genus *Petunia*. Future studies using in situ hybridization techniques, such as fluorescence in situ hybridization (FISH) and genomic in situ hybridization (GISH), will make it possible to present an authentic model for analyzing individual chromosomes, chromosome segments, or plant genomes. hybrids and thus confirm whether the missing chromosomes really belong to the genus *Calibrachoa*.

Keywords: Solanaceae., intergeneric hybridization., floriculture, ornamental plants., cytogenetics.

1. Introducción

Gran cantidad de las especies ornamentales que se cultivan en el mundo provienen de germoplasma sudamericano mejorado por empresas fuera de la región (Chen, 2021). El enorme potencial ornamental que tiene la flora de nuestro país, aún no se ha aprovechado en toda su magnitud, ni por las grandes empresas florícolas internacionales ni por el sector productivo local que cuenta con los recursos fitogenéticos a su alcance (Faciutto *et al.*, 2019).

La familia *Solanaceae* Adans cuenta con alrededor de 100 géneros y 2800 especies, distribuidas en su mayoría en regiones tropicales, subtropicales y templadas. Muchos de los miembros de esta familia son fuentes de recursos para la industria farmacéutica, tal es el caso de *Nicotiana* L., *Datura* L. y *Atropa* L., así como también otros miembros son importantes fuentes de alimento como:

Capsicum L., *Lycopersicum* Hill., *Physalis* L. y sobre todo *Solanum* L. Otra importante utilización para muchos de sus géneros es el uso ornamental, en el cual se incluyen géneros como: *Brugmansia* L., *Cestrum* L., *Nierembergia* Ruiz & Pav., *Petunia* Juss., *Physalis*, *Solanum* entre otros (Berry y D'Arcy, 2018).

El género *Petunia* está constituido por 15 especies presentes en el sur de América entre los 22° y 39 ° S. En la Argentina habitan 7 especies en una altitud que se extiende desde el nivel del mar hasta 2000 msm (Stehmann y Greppi, 2013). En el año 1985 Wijsman y De Jong separaron el género *Petunia* en *Petunia* y *Calibrachoa* basando esta división en el número de cromosomas ($x = 18$ y 14 , respectivamente ($2n$)). Posteriormente nuevos estudios citológicos, moleculares y anatómicos de semillas y hojas aportaron mayor información que justificó la separación de estos géneros (Kulcheski *et al.*, 2006; Ando *et al.*, 1992, 2005; Stehmann *et al.*, 1996; Watanabe *et al.*, 1996, 1999; Reis *et al.*, 2002). En 1990, 15 especies del género *Petunia* fueron transferidas al género *Calibrachoa* (Wijsman, 1990) y se agregaron 10 especies adicionales (Stehmann y Semir, 1997).

En la actualidad el género *Calibrachoa* está constituido por 25 especies, distribuidas en el sur de América entre los 18° y 37 ° S con la excepción de *C. parviflora* (Juss.) D'Arcy que crece también en América Central y del Norte y en Europa como planta invasora (Stehmann, 1999). En la Argentina habitan 12 especies nativas siendo su centro de distribución principal la región mesopotámica (Greppi *et al.*, 2013). Morfológicamente el género *Calibrachoa* se distingue por el hábito de crecimiento subarborescente, menos frecuentemente herbáceo, corola infundibuliforme, zigomorfa, prefloración recíproca (el lóbulo anterior induplicado cubre a los otros cuatro lóbulos conduplicados), anteras amarillas y células de la cubierta seminal con pared anticlinal recta. Por su parte, *Petunia* posee, en general, hábito herbáceo, corola infundibuliforme, campanulada o hipocraterimorfa, zigomorfa o actinomorfa, prefloración imbricada, anteras amarillas o violáceas y células de la cubierta seminal con pared anticlinal ondulada (Greppi *et al.*, 2013).

La familia Solanaceae, aunque cosmopolita, presenta la mayor concentración de géneros y especies en Sudamérica. En particular, las contribuciones sobre Solanáceas de Argentina que tratan de cromosomas meióticos son fragmentarias (por ej. Barboza, 1988; Bernardello, 1982; Bernardello *et al.*, 1990; Brücher, 1970; Brücher y Ross, 1953; Covas y Schnack, 1946; Di Fulvio, 1976, 1978, 1984a, 1984b; Hunziker *et al.*, 1985; Marks, 1966; Moore, 1981; Moscone, 1992; Ratera, 1938, 1940, 1942, 1943, 1944, 1947, 1952, 1954, 1969; Schnack y Covas, 1947; Subils, 1979).

Investigaciones realizadas por Milicia *et al.*, 2021 permitieron la obtención de un híbrido intergenérico entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa hybrida* var. *kabloom yellow* denominado HPC. El mismo presentó un 95% de polen estéril y un 5% de polen fértil, siendo este último valor suficiente para permitir la utilización de HPC como planta puente para realizar cruzamientos con diferentes especies de los géneros *Petunia* y *Calibrachoa*. El análisis del comportamiento meiótico del híbrido puente obtenido (HPC), permitirá determinar el número y los tipos de asociaciones

cromosómicas (uni, bi, trí, tetravalentes, etc.) y las irregularidades que se presentan en las células estudiadas, constituyendo una valiosa herramienta para esclarecer las relaciones filogenéticas y taxonómicas, haciendo valiosos aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en éstas plantas. En este sentido, los objetivos del presente trabajo fueron observar los cromosomas del híbrido intergenérico HPC mediante citogenética clásica para determinar el grado de homología cromosómica existente entre sus especies parentales y la constitución meiótica del híbrido a utilizar como planta puente en futuros cruzamientos con diferentes especies de *Petunia* y *Calibrachoa*.

2. Materiales y métodos

Para los estudios de meiosis se recolectaron pimpollos de 3 mm de longitud de las plantas híbridas obtenidas a través de cruzamientos entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa hybrida* var. *kabloom yellow* (Híbrido HPC) y *Petunia inflata* y HPC. Inmediatamente después de su recolección, el material biológico fue fijado en una solución de etanol a 96° y ácido acético glacial 3:1 v/v, y conservado en la misma solución en la heladera. Posteriormente los botones florales fueron colocados en microtubos con una solución de ácido acético 45% durante 30 minutos, para luego colocarlos en porta-objetos donde se aislaron las anteras bajo lupa trinocular marca Biotraza modelo XTD-317T. Las anteras se tiñeron con una gota de colorante orceína acética a 2%, para posteriormente machacarlas con un mango macizo de metal de 5 mm de diámetro por 10 cm de largo para separar las células madre de las micrósporas y eliminar el tejido de la cubierta. El producto de las anteras machacadas y teñidas se cubre con un cubreobjetos. Seguidamente el portaobjeto con la preparación se calentó durante 30 segundos con un calentador a base de alcohol, cuidando de no llegar a la ebullición del preparado. Luego se procedió a su aplastado manual. Los meiocitos se analizaron en diacinesis, metafase I, anafase I, telofase I y telofase II en un total de 100 células. Se tomaron microfotografías a las células meióticas a través de un microscopio óptico binocular marca Biotraza modelo NLCD-307B acoplado en forma integral con una cámara táctil Pixera DIRactor a un sistema de cómputo que tiene el software Pixera Viewfinder Pro para análisis de imágenes.

3. Resultados y discusión

En el presente estudio se da a conocer el número cromosómico del híbrido HPC y su comportamiento meiótico durante la microsporogénesis. A partir de los estudios de meiosis realizados en el híbrido se determina que su número cromosómico es $2n = 16$ valor intermedio entre sus parentales (*Petunia inflata* y *Calibrachoa hybrida* var. *kabloom yellow*) (Fig.1 a,b,c).

El apareamiento cromosómico fue irregular en la mayoría de las células analizadas. Diferentes configuraciones meióticas fueron identificadas, observándose la presencia de univalentes y bivalentes heteromórficos en distintas combinaciones durante las etapas de profase y metafase I, encontrando 36 células con 6 bivalentes (II) y 4 univalentes (I), 25 células con 7 bivalentes y 2 univalentes, 20 células con 4 bivalentes y 8 univalentes, 12 células con 3

bivalentes y 10 univalentes, 4 células con 2 bivalentes y 12 univalentes y 3 células con 3 bivalentes, 4 univalentes y 1 cuadrivalente (Fig.1, 2 y 3). Otro tipo de irregularidad meiótica encontrada fue la formación de puentes sin fragmento (Fig. 1d).

Figura 1.

Irregularidades meióticas en células madre del polen en el híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a- 7 II + 2 I en metafase I. b- 4 II + 8 I en diacinesis. c- 6 II + 4 I en metafase I. d- Puente sin fragmento. Flechas rojas indican bivalentes. Flechas azules indican univalentes. Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020

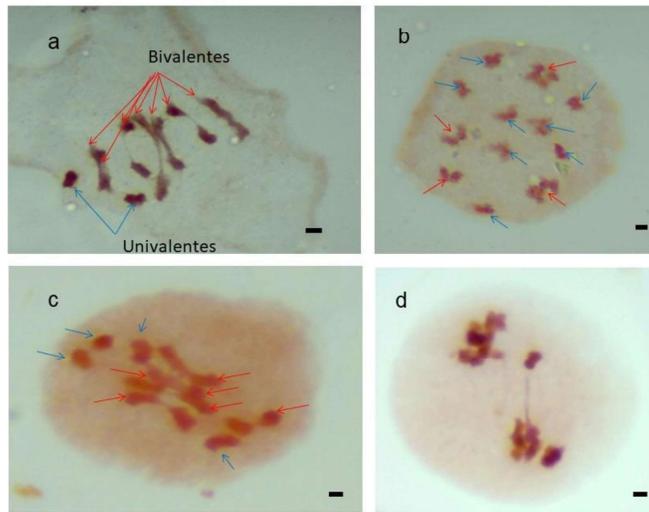


Figura 2

Irregularidades meióticas en células madre del polen en el híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a- 6 bivalentes + 4 univalentes en metafase I. Flechas rojas indican bivalentes. Flechas azules indican univalentes. Barra = 50 μ m. Fuente: Milicia 2020.

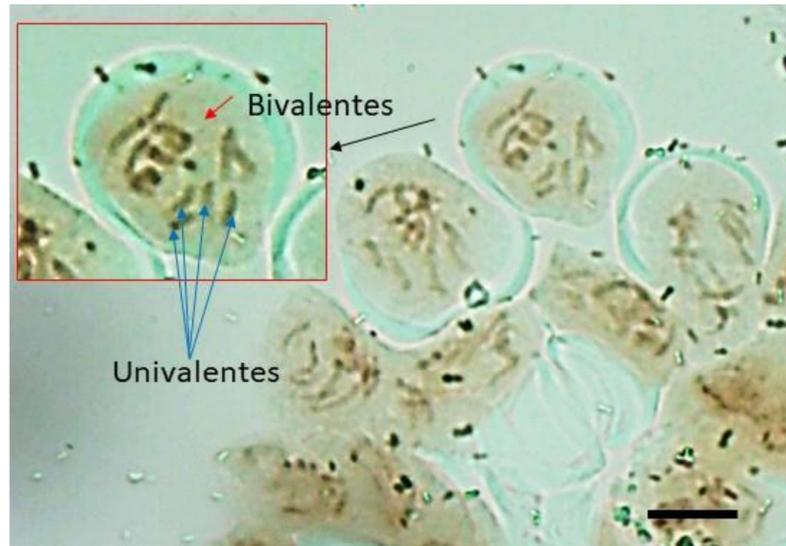
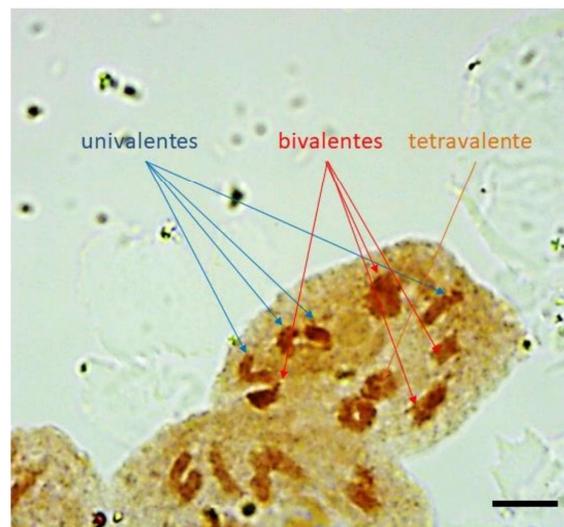


Figura 3.

Irregularidades meióticas en células madre del polen en el híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a- 4 bivalentes + 4 univalentes + 1 tetravalente en metafase I. Flechas rojas indican bivalentes. Flechas azules indican univalentes. Flecha naranja indica tetravalente. Barra = 50 μ m. Fuente: Milicia 2020



La presencia de husos acromáticos formando 3 polos fue otra de las irregularidades meióticas observadas en la meiosis de HPC (Fig.4). Además, se encontraron anafases con migraciones desbalanceadas y desincronizadas donde se observan cromosomas atrasados y/o adelantados con respecto al plano ecuatorial (Fig.5). En varias células se han observado dos cromosomas que parecen tener un comportamiento independiente respecto del resto debido a que migran en una dirección diferente (Fig.6 y 7).

Figura 4

Irregularidades meióticas en células madre del polen en el híbrido HPC entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a- Huso acromático tripolar. b- Izquierda: telofase regular con 2 polos. Derecha: telofase irregular con 3 polos. Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020

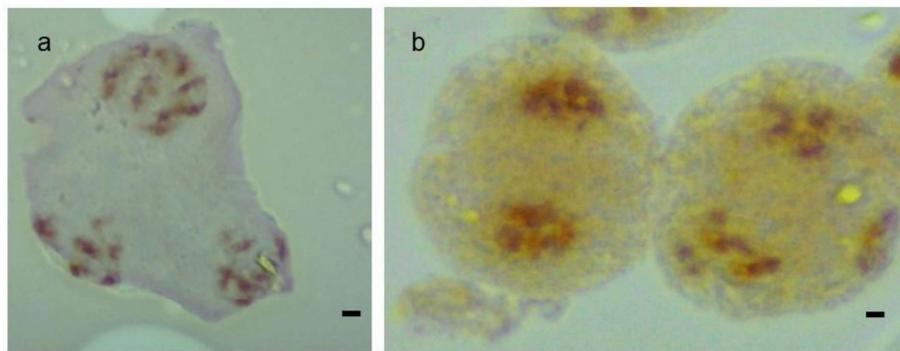


Figura 5

Irregularidades meióticas en células madre del polen en híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. Anafases I desincronizadas con cromosomas atrasados y/o adelantados. Barra = 100 μ m. Fuente: Milicia 2020

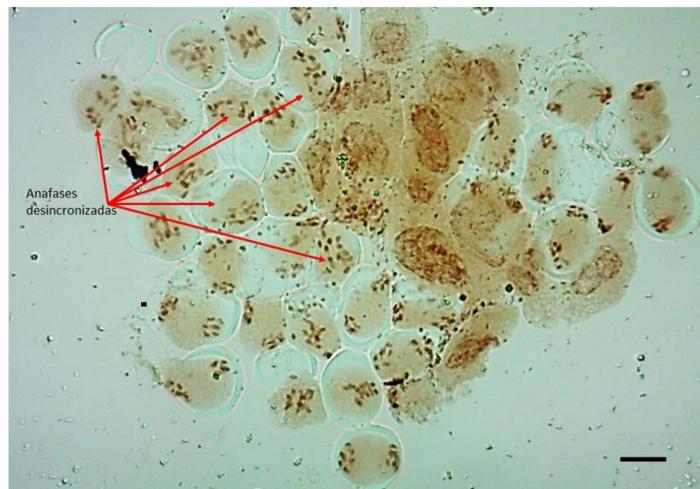


Figura 6

Irregularidades meióticas en células madre del polen en híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a-, b-,c-,d-: Anafases I desincronizadas con presencia de dos cromosomas que migran en dirección diferente al resto (flechas azules). Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020.

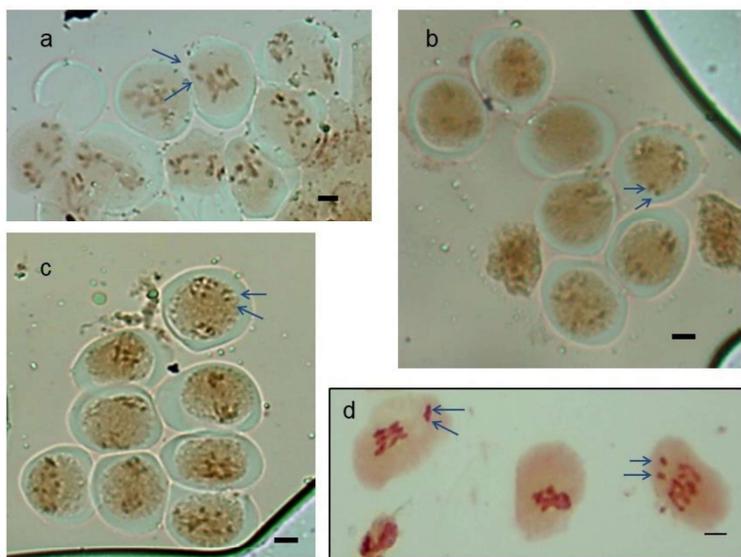


Figura 7

Irregularidades meióticas en células madre del polen en híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. Anafases I desincronizadas con presencia de dos cromosomas que migran en dirección diferente al resto (flechas azules). Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020



En este sentido, en varias células madre del polen de HPC se observa en la etapa de telofase de la meiosis I la presencia de polos donde se recuentan 7 cromosomas (Fig.8). De igual manera, durante la meiosis II del híbrido HPC en la etapa de telofase II nuevamente se recuentan 7 cromosomas en los polos de varias células. También se observan células con diferente número de cromosomas en los polos y algunas de ellas con presencia de 5 polos (Fig.9).

Estudios realizados durante la meiosis I de los cruzamientos puente entre *P. inflata* y HPC también muestran la presencia de células con 7 cromosomas en los polos (Fig.10).

Figura 8

Telofases I meióticas en células madre del polen en híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a-, b-, c-, d-: Las flechas azules indican polos con 7 cromosomas. Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020.

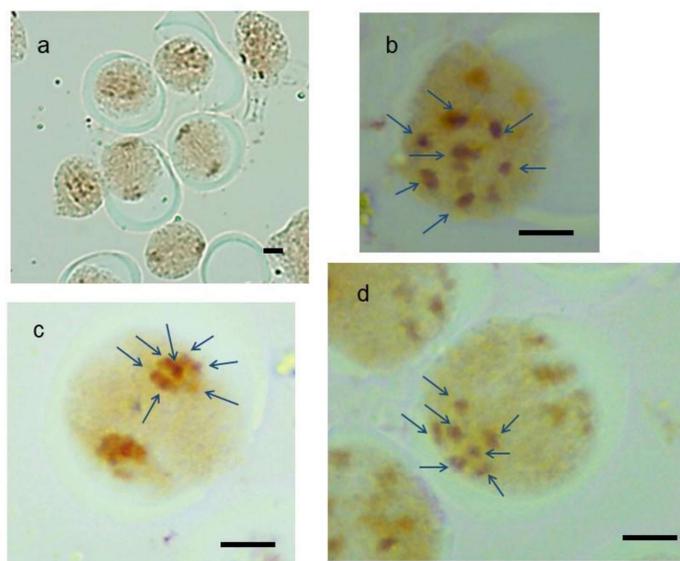


Figura 9.

Telofases II meióticas en células madre del polen en híbrido entre *Petunia inflata* y *Calibrachoa x hybrida* var. Kabloom yellow. a- La flecha azul indica el recuento de 7 cromosomas en uno de los polos. Barra = 100 μ m. b- La flecha azul indica una célula con 5 polos y diferente número de cromosomas en ellos. Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020.

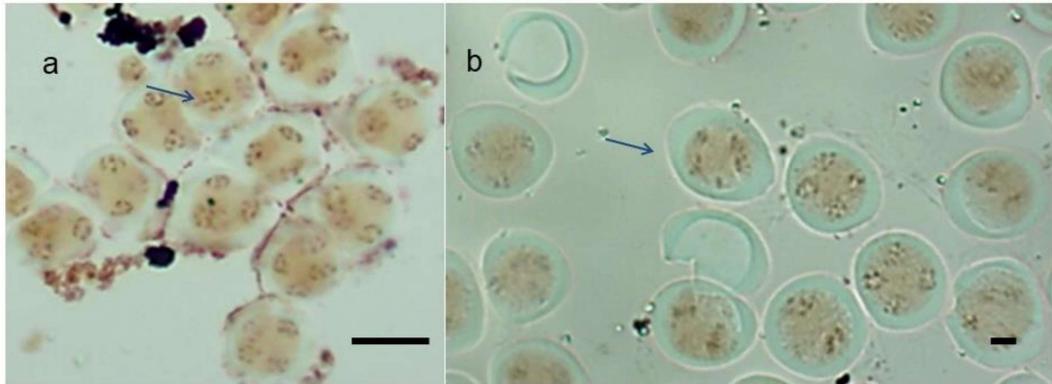
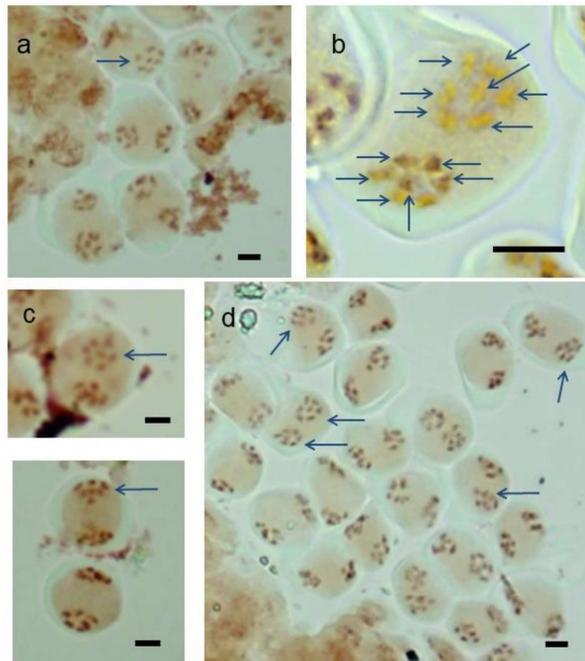


Figura 10

Telofases I meióticas en células madre del polen en cruzamientos puente entre *Petunia inflata* y HPC. a-, c-, d-: Las flechas azules indican polos donde se recuentan 7 cromosomas. b- Detalle de una de las células donde las flechas azules señalan cada uno de los cromosomas. Barra = 10 μ m. Fuente: Milicia 2020.



Las células madre del polen del híbrido puente HPC presentaron 16 cromosomas, número intermedio entre las dos especies parentales (*P. inflata* $2n=2x=14$; *C.x hybrida* var. Kabloom yellow $2n=2x=18$). Resultados similares fueron encontrados por Jin (2020) y otros investigadores en cruzamientos intergenéricos entre *Raphanus sativus*, *Brassica oleracea* y *Brassica campestris*. Por otro lado, Li *et al.* (2017) obtuvieron híbridos intergenéricos con un número de cromosomas intermedio entre sus parentales al cruzar *Brassica oleracea* por *Sinapis alba*.

Durante la microesporigénesis se observaron anomalías cromosómicas lo cual indica la presencia de fallas en el apareamiento meiótico de gran parte de las células madre del polen. La alta presencia de univalentes incide en anafases desbalanceadas, ya que originan segregación aleatoria de los cromosomas no apareados. Esto puede causar la formación de gametos con números cromosómicos irregulares, que impiden su fertilidad como ocurre en varias células durante la meiosis de HPC (Gómez Martínez y Reyes Valdés, 2016). En general el grado de apareamiento meiótico es una medida de la homología que existe entre los cromosomas. Si el híbrido analizado es fértil y posee formación de bivalentes se puede deducir que hay afinidad (homología) entre los genomas parentales (Poggio *et al.*, 2004). El grado de irregularidades meióticas es una estimación de diferencias génicas y estructurales de las entidades en estudio. Configuraciones meióticas anormales con la existencia de diferente grado de asociación cromosómica presentan univalentes, bivalentes heteromórficos o multivalentes en profase-metafase I y, en estadios posteriores puentes, fragmentos, husos multipolares, etc. que pueden deberse a heterocigosis para distintos tipos de rearrreglos estructurales (Poggio *et al.*, 2004). La falta de homología origina fallas en los entrecruzamientos y en el establecimiento de quiasmas, ya que una función de éstos es orientar a los cromosomas durante la etapa de metafase I (Mézar, *et al.*, 2015). Las alteraciones en los mecanismos de su establecimiento y mantenimiento originan errores en la segregación, que llevan a la producción de gametos desbalanceados (Ji *et al.*, 2022). Irregularidades cromosómicas similares se hallaron en cruzamientos intergenéricos entre *Oryza sativa* y *Luziola peruviana* donde se muestra la presencia de diferentes anomalías cromosómicas con número variable de bivalentes y univalentes, que llevan a la formación de gametos desequilibrados y granos de polen estériles (Moreno *et al.*, 2014). En cruzamientos intergenéricos entre *Helianthus annuus* y *Tithonia rotundifolia* se han detectado irregularidades en el apareamiento meiótico lo cual impide una segregación cromosómica balanceada y no permite la formación de gametos viables. Esto resulta en una barrera a la reproducción sexual de los híbridos (Gómez Martínez y Reyes Valdés, 2016).

La observación de células meióticas de HPC en la etapa de metafase y anafase I mostró la presencia de dos cromosomas que se mantienen apartados y migran en dirección diferente al resto, lo que podría estar relacionado con la posterior eliminación de estos cromosomas que dejarían de ser parte del complemento cromosómico de los granos de polen viables del híbrido HPC, tal como se observa durante la etapa de telofase I y II, donde se cuentan 7 cromosomas en cada polo de las células, en lugar de 8 como sería lo esperable en un híbrido diploide con $2n=2x=16$.

La eliminación de cromosomas se establece como un proceso dinámico de estabilización del genoma que ocurre durante la hibridación y ha sido estudiado en diferentes tipos de Poaceae, y otros híbridos intergenéricos (Chaudhary *et al.*, 2013; Kalinka *et al.*, 2010). En cruzamientos entre *Oryza sativa* y *Luziola peruviana* se produce incompatibilidad genómica y se evidencia la eliminación de cromosomas. Es posible que algunos factores puedan desencadenar la delección para la estabilización del genoma recién formado, sin embargo, la base de los mecanismos celulares involucrados en el proceso de eliminación cromosómica es escasamente entendida (Moreno *et al.*, 2014).

La eliminación de cromosomas en híbridos se explica por la asincronía durante la síntesis de nucleoproteínas y procesos de división celular, formación de husos multipolares, degradación cromosómica por nucleasas específicas e inactivación de centrómeros, incompatibilidad del centrómero y proteínas de los cinetocoros entre los progenitores, no disyunción de cromosoma uniparental durante la anafase y la formación de micronúcleos (Moreno *et al.*, 2014; Chaudhary *et al.*, 2013). Afecta preferentemente a los cromosomas de una de las dos especies involucradas; la forma y velocidad de este proceso, así como la transmisión de cromosomas recombinantes en los siguientes procesos meióticos son cruciales para la estabilización del cariotipo de la progenie y concluye con la incorporación estable de material genético (Moreno *et al.*, 2014). La delección cromosómica es un proceso dinámico que genera la estabilización del genoma en cruzamientos intergenéricos por el reconocimiento y posterior eliminación del ADN, producto de la activación de endonucleasas y la fragmentación de uno de los genomas (Moreno *et al.*, 2014) por lo que se podría asumir que procesos semejantes pudieran regir la estabilización del genoma durante la formación de granos de polen fértiles en HPC los que presentan 7 cromosomas y de esta manera permiten aumentar la compatibilidad en los cruzamientos puente con *Petunia inflata* formando cigotos balanceados capaces de formar semillas fértiles y por consiguiente de aumentar el porcentaje de germinación.

Los avances en biología molecular y citogenética han traído desarrollos revolucionarios en la investigación de la mitosis y la meiosis, la estructura y manipulación de cromosomas, la expresión y regulación de genes y el silenciamiento de los mismos. Los estudios citogenéticos actuales ofrecen herramientas a través de imágenes que permiten integrar la genética, epigenética e información citológica que se pueden emplear para mejorar la investigación genómica molecular y cromosómica en taxones de plantas. Las técnicas de hibridación *in situ*, como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y la hibridación genómica *in situ* (GISH), pueden identificar morfologías y secuencias cromosómicas, la cantidad y distribución de varios tipos de cromatina en los cromosomas y la organización del genoma durante la etapa de metafase de la meiosis. Las técnicas FISH y GISH presentan un modelo auténtico para analizar los cromosomas individuales, los segmentos cromosómicos o los genomas de plantas híbridas naturales y artificiales. El uso de estos enfoques abre nuevas vías para identificar con precisión las diferencias del genoma (Cui *et al.*, 2022; Younis *et al.*, 2015). Futuros estudios a través de la técnica de hibridación *in situ* permitirán conocer si los cromosomas perdidos efectivamente pertenecen al género *Calibrachoa*.

4. Conclusiones

Durante la hibridación intergenérica, en un mismo núcleo existen genomas de aspectos reproductivos, citogenéticos y evolutivos distintos de manera que el apareamiento cromosómico durante la meiosis es irregular en la mayoría de las células analizadas conformando diferentes configuraciones meióticas como la presencia de univalentes, bivalentes heteromórficos, cuadrivalentes, formación de puentes sin fragmento, husos acromáticos multipolares, anafases con migraciones desbalanceadas y desincronizadas con cromosomas atrasados y/o adelantados con respecto al plano ecuatorial. Estas irregularidades llevan a la formación de gametos desbalanceados en cuanto a su número cromosómico y a la formación de granos de polen estériles.

A partir de los resultados obtenidos se podría inferir que en los granos de polen fértiles de HPC la eliminación de cromosomas se establece como un proceso dinámico de estabilización del genoma que ocurre durante la hibridación por medio de la activación de endonucleasas, de esta manera, la delección cromosómica llevó a la obtención de un porcentaje menor (5%) de polen fértil suficiente para permitir los cruzamientos puentes entre HPC con *P. inflata* aumentando de esta manera el número de plantas híbridas entre estos géneros.

En este sentido, futuros estudios con aplicación de las técnicas de hibridación *in situ*, como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y la hibridación genómica *in situ* (GISH), permitirán presentar un modelo auténtico para analizar los cromosomas individuales, los segmentos cromosómicos o los genomas de plantas híbridas y de esta forma confirmar si los cromosomas perdidos efectivamente pertenecen al género *Calibrachoa*.

5. Referencias bibliográficas.

Ando, T.; Ueda, Y. y Hashimoto, G. (1992). Historical survey and present status of systematics in the genus *Petunia* Jussieu (Solanaceae). *Technical Bulletin of Faculty of Horticulture* (Chiba University), 45, 17-26.

Ando, T.; Kokubun, H.; Watanabe, H.; Tanaka, N.; Yukawa, T.; Hashimoto, G.; Marchesi, E.; Suárez, E. y Basualdo, L. (2005). Phylogenetic analysis of *Petunia* sensu Jussieu (Solanaceae) using chloroplast DNA RFLP. *Annals of Botany*, 96, 289-297.

Bernardello, L. (1982). Estudios en *Lycium* (Solanaceae) II. Recuentos cromosómicos en entidades argentinas. *Hyckenia*, 1 (60), 321-328.

Barboza, G. (1988). Estudios morfológicos en *Jaborosa* (Solanaceae): Análisis comparado de las estructuras vegetativas y reproductivas relativas a la evolución del género. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Bernardello, L.; Stiefkens, L. y Piovano, M. (1990). Números cromosómicos en Dicotiledóneas argentinas. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica*, 26 (3-4), 149-157.

Berry, P. y D'Arcy, W. (2018). *Solanales*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/plant/Solanales>.

Brücher, E. y Ross, H. (1953). La importancia de las especies tuberíferas de *Solanum* del noroeste argentino como fuente de resistencia a las enfermedades. *Lilloa*, 26, 453-488.

Brücher, E. (1970). Chromosomenzahlen argentinischer, chilenischer und venezolanischer Wild kartoffeln (*Solanum* sect. *Tuberarium*). *Cytologia*, 35, 153-170.

Chaudhary, H., Tayeng, T., Kaila, V. and Rather, S. (2013). Enhancing the Efficiency of Wide Hybridization Mediated Chromosome Engineering for High Precision Crop Improvement with Special Reference to Wheat × *Imperata cylindrica* System. *Nucleus*, 56, 7-14.

Chen, J. (2021). Ornamental plant research inaugural editorial. *Ornamental Plant Research*, 1(1), 1-2.

Covas, G. y Schnack, B. (1946). Número de cromosomas en Antófitas de la región de Cuyo (República Argentina). *Revista Argentina de Agronomía*, 13 (3), 153-16.

Cui, L., Chen, T., Zhao, X., Wang, S., Ren, X., Xue, J., & Zhang, X. (2022). Karyotype Analysis, Genomic and Fluorescence In Situ Hybridization (GISH and FISH) Reveal the Ploidy and Parental Origin of Chromosomes in *Paeonia* Itoh Hybrids. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11406.

Di Fulvio, T. (1976). Recuentos cromosómicos en *Nierembergia* (Solanaceae). *Kurtziana*, 9, 141-142.

Di Fulvio, T. (1978). Cromosomas gaméticos de *Nierembergia aristata* y *Bouchetia anómala* (Solanaceae). *Kurtziana*, 11, 118.

Di Fulvio, T. (1984a). Poliploidía en *Nierembergia* (Solanaceae). *Kurtziana*, 17, 25-30.

Di Fulvio, T. (1984b). Número cromosómico de *Nolana rostrata* (Solanaceae). *Kurtziana*, 17, 169.

Facciuto, G. R., Bologna, P., Bugallo, V. L. y Rivera, M. C. (2019). Recursos genéticos ornamentales nativos de Argentina: de la colecta a la producción. *Revista RG news*, 5(1), 13-17.

Gómez Martínez, M. y Reyes Valdés, M. H. (2016). Irregularidades meióticas en híbridos intergenéricos *Helianthus annuus* L. x *Tithonia rotundifolia* (Mill.) SF Blake. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(2), 117-121.

Hunziker, J.; Xifreda, C. y Wulff, A. (1985). Estudios cromosómicos en Angiospermas de Sudamérica. *Darwiniana*, 26 (1-4), 7-14.

Ji, X.; Lelivelt, C.; Wijnker, E. and de Jong, H. (2022). Is partial desynapsis in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) pollen mother cells linked to aneuploidy in the crop? *Euphytica*, 218(6), 79.

Jin, P.; Zhu, Z.; Guo, X.; Chen, F.; Wu, Y.; Chen, J.; ... and Zhu, Z. (2020). Production and characterization of intergeneric hybrids by crossing radish with turnip and with Chinese kale. *Euphytica*, 216, 1-15.

Kalinka, A.; Achrem, M. and Rogalska, S. (2010) Cytomixis-Like Chromosomes/Chromatin Elimination from Pollen Mother Cells (PMCs) in Wheat-Rye Allopolyploids. *Nucleus*, 53, 69-83.

Kulcheski, F.; Muschner, R.; Lorenz-Lemke, A.; Stehmann, J.; Boniato, S.; Salzano, F. y Freitas, L. (2006). Molecular phylogenetic analysis of *Petunia* Juss. (Solanaceae). *Genetica*, 126, 3-14

Li, J.; Zhang, C.; Guan, C.; Luo, L.; Ren, L.; Wei, W.; ... and Fang, X. (2017) Analysis of intergeneric sexual hybridization between transgenic *Brassica oleracea* and *Sinapis alba*. *Euphytica*, 213, 1-10.

Marks, G. (1966). The origin and significance of intraspecific polyploidy: experimental evidence from *Solanum chacoense*. *Evolution*, 20 (4), 552-557.

Mézard, C.; Jahns, M. T. and Grelon, M. (2015). Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. *Trends in Genetics*. 31(7), 393-401.

Milicia, V. J., Rodríguez, M. F., Hagiwara, J. C., & Soto, M. S. (2021). Utilización de plantas puente en el mejoramiento del complejo *calibrachoa-Petunia*. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 37(2), 136-150.

Moore, D. (1981). Chromosome numbers of Fuegian Angiosperms. *Boletim. Sociedade. Broteriana. Ser 2*, 53 (2), 995-1012.

Moreno, P.; Caetano, C. M.; Olaya, C. A.; Agrono, T. C. and Torres, E. A. (2014). Chromosome elimination in intergeneric hybrid of *Oryza sativa* × *Luziola peruviana*. *Agricultural Sciences*, 5(13), 1344.

Moscone, E. (1992). Estudios de cromosomas meióticos en Solanaceae de Argentina. *Darwiniana*, 261-297.

Poggio, L.; Naranjo, C.; Echenique, V.; Rubinstein, C. y Mroginski, L. (2004). Capítulo 5 Citogenética. En *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*. 69-79.

Ratera, E. (1938). Determinación del número de cromosomas de varias especies de papas indígenas de la República Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, 1 (1): 1-8.

Ratera, E. (1940). Determinación del número de cromosomas de los *Solanum aculeados* de los alrededores de Buenos Aires *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, 1 (6), 1-7.

Ratera, E. (1942). Cariología de algunas variedades cultivadas de papas sudamericanas. *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, 9(3), 254-261.

Ratera, E. (1943). Número de cromosomas de algunas Solanáceas argentinas (1). *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, 10 (2), 318-325.

Ratera, E. (1944). Número de cromosomas de algunas Solanáceas argentinas (Segunda contribución). *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, 2 (9): 1-8.

Ratera, E. (1947). Número de cromosomas de *hycium ciliatum* Schlecht., y *Lycium elongatum* Miers. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 2 (1), 43-44.

Ratera, E. (1952). Número de cromosomas de algunas Solanáceas argentinas (Tercera contribución). *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, 13 (2), 280-284.

Ratera, E. (1954). Número de cromosomas de *Solanum stuckertii* Bitter. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 5 (3), 153-154.

Ratera, E. 1969. Estudios cariológicos en Solanáceas. II. *Revista del Instituto Municipal de Botánica*, 3 (2), 59-66.

Reis, C.; Sajo, M. y Stehmann, J. (2002). Leaf Structure and taxonomy of *Petunia* and *Calibrachoa* (Solanaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45, 59-66.

Schnack, B. y Covas, G. (1947). Estudios cariológicos en Antófitas. *Haumania*, 1 (1), 1-10.

Stehmann, J.; Semir, J.; Dutilh, J. y Forni-Martins, E. (1996). Solanaceae. IOPB Chromosome Data. International Organization of Plant Biosystematics *Newsletter* 26-27, 24.

Stehmann, J. y Semir, J. (1997). A new species and new combinations in *Calibrachoa* (Solanaceae). *Novon*, 7, 417-419.

Stehmann, J. (1999). Estudos taxonômicos na tribo Nicotianeae G. Don (Solanaceae): revisão de *Petunia* Jussieu, das 187 J. A. GREPPI ET AL. Notas en *Calibrachoa* espécies brasileiras de *Calibrachoa* La Llave and Lexarza e o estabelecimento do novo gênero *Petuniopsis* Stehmann and Semir. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas

Stehmann, J. y Greppi, J. (2013). *Petunia*. En: Barboza, G.; Zuloaga, F.; Belgrano, M. y Anton, A. (eds). *Flora Argentina: Flora vascular de la República Argentina. Dicotyledoneae, Solanaceae*, Instituto de Botánica Darwinion, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, pp.127–134.

Subils, R. (1979). Cromosomas gaméticos de *Leptoglossis linifolia* (Solanaceae). *Lorentzia*. 3, 19-20.

Watanabe, H.; Ando, T.; Iida, S.; Susuki, A.; Buto, K.; Tsukamoto, T.; Hashimoto, G. y Marchesi E. (1996). Cross Compability of *Petunia* Cultivars and *P. axillaris* with Native taxa of *Petunia* in Relation to their Chromosome number. *J. Japan, Soc. Hort. Sci.*, 65, 625-634.

Watanabe, H.; Ando, T.; Nishino, E.; Kokobun, H.; Tsukamoto, T.; Hashimoto G. y Marchesi, E. (1999). Three groups of species in *Petunia* sensu Jussieu (Solanaceae) inferred from the intact seed morphology. *American Journal of Botany*, 86, 302-305.

Wijsman, H. (1990). On the interrelationships of certain species of *Petunia*. VI. New names for the species of *Calibrachoa* formerly included into *Petunia* (Solanaceae). *Acta Botanica Neerlandica*, 39, 101-102.

Younis, A.; Ramzan, F., Hwang, Y. and Lim, K. (2015). FISH and GISH: molecular cytogenetic tools and their applications in ornamental plants. *Plant Cell Reports*.34, 1477-1488.