

Números cromosómicos y análisis de la meiosis en tres especies de *Tropaeolum* (Tropaeolaceae)

Chromosome numbers and meiotic analysis in three species of *Tropaeolum* (Tropaeolaceae)

ALDO RUBÉN ANDRADA^{1*}, VALERIA DE LOS ÁNGELES PÁEZ¹ & EVA BULACIO²

¹Instituto de Genética, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

²Laboratorio de Taxonomía Fanerogámica. Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

*arandrada@lillo.org.ar

RESUMEN

Tropaeolum (Tropaeolaceae) incluye aproximadamente 100 especies distribuidas desde México hasta el sur de Argentina y Chile. En Argentina habitan 15 especies entre los 700 y 3500 m s.n.m. Los recuentos cromosómicos para el género revelan un número cromosómico básico $x = 14$. En el presente trabajo se realizaron estudios citogenéticos en tres especies ampliamente distribuidas en el Noroeste Argentino: *T. argentinum*, *T. atrocapillare* y *T. capillare*. Los botones florales se trataron con técnicas citogenéticas clásicas. El número gametofítico encontrado en las tres especies analizadas fue de $n = x = 14$. Durante la división celular se observaron asociaciones cromosómicas secundarias y numerosas irregularidades tales como cromosomas rezagados, puentes de cromatina y segregaciones desbalanceadas. Nuestros resultados representan los primeros estudios citológicos de estas especies y evidencian el carácter diploide para los taxones de esta región.

PALABRAS CLAVE: Números cromosómicos, meiosis, *Tropaeolum*, viabilidad del polen.

ABSTRACT

Tropaeolum (Tropaeolaceae) comprises approximately 100 species mainly distributed from México to South of Argentina and Chile. Fifteen species inhabit in Argentina at 700-3500 m altitude. Chromosome counts in this genus indicate a constant basic chromosome number $x = 14$. In this paper, three species widespread in the Northwestern of Argentina were cytogenetically studied: *T. argentinum*, *T. atrocapillare* and *T. capillare*. Flower buds were treated by classical cytogenetical techniques. The gametophytic chromosome number from the three species here analysed was $n = x = 14$. During cell division, secondary chromosomal associations and a lot of irregularities were observed such as lagging chromosomes, chromatin bridges and unbalanced segregations. Our results, which highlight the diploid character in taxa from this region, disclose the first cytological studies of these species.

KEYWORDS: Chromosome numbers, meiosis, pollen viability, *Tropaeolum*.

INTRODUCCIÓN

El género *Tropaeolum* L. (Tropaeolaceae) incluye en Sudamérica más de 100 especies de hierbas trepadoras, distribuidas desde México hasta el sur de Argentina y Chile, principalmente por la Cordillera de los Andes. Las 15 especies reconocidas en Argentina habitan el noroeste, sur y este del país (Bulacio 2015).

Tropaeolum argentinum Buchenau, *T. atrocapillare* Sparre y *T. capillare* Buchenau de la sección *Tropaeolum* Sparre (Andersson & Andersson 2000) se caracterizan por

ser hierbas anuales y trepadoras. *Tropaeolum argentinum* y *T. capillare* habitan en el noroeste argentino y Bolivia, en áreas de transición entre el bosque chaqueño y los bosques montanos desde los 800 a 1500 m s.n.m., mientras que, *T. atrocapillare* es endémica del norte de Argentina y ocupa el nivel superior del bosque montano, entre los 2300-2700 m s.n.m.

El uso de las especies está documentado por diferentes autores. Antiguamente muchas de ellas fueron utilizadas en medicina popular como antiescorbúticos (Saint-Hilaire 1825, Martius 1843, Hieronymus 1882, Pailleaux & Bois

1899) mientras que otras, en la actualidad, se utilizan como diuréticos (Gasparotto *et al.* 2009). Asimismo, *Tropaeolum tuberosum* Ruiz *et Pav.* ssp. *tuberosum* cultivada en regiones del altiplano, representa una alternativa para la alimentación de las comunidades andinas (Fernández 1973, Brücher 1989, Hermann 1992) y otras como *T. pentaphyllum* Lam. ssp. *pentaphyllum* y *T. polyphyllum* Cav. son utilizadas como plantas ornamentales por la belleza de sus flores (Milano & Molinari 1955).

Son escasos los antecedentes citogenéticos para el género *Tropaeolum*, sólo predominan artículos que revelan los números cromosómicos y nivel de ploidía. De las aproximadamente 100 especies que comprende el género, se conocen los recuentos cromosómicos de 9 de ellas. La meiosis tampoco ha sido analizada profundamente en el género. Huynh (1967) realizó una recopilación de recuentos cromosómicos, con el objeto de resolver la sistemática del género *Tropaeolum*. El autor reconoce dos números básicos, $x = 13$ y $x = 14$. El primero de estos números habría derivado de progenitores con números básicos de $x = 6$ y $x = 7$. Posteriormente, Lewis (1980) postuló que Tropaeolaceae exhibe predominantemente el número básico $x = 14$. Asimismo, investigaciones preexistentes mencionan fenómenos de poliploidía y disploidía para *Tropaeolum*, como en *T. tricolor* Sweet. con $n = 26$ y $2n = 52$ para las poblaciones silvestres de *T. tuberosum* (Huynh 1967, Hermann 1992, Grau *et al.* 2003, Cadima-Fuentes 2006, Malice & Baudoin 2009). Sin embargo, en esta última especie, en ejemplares cultivados se reportaron series aneuploides con números cromosómicos somáticos variados desde $2n = 18$ y otros como $2n = 27, 36, 43, 48, 51$ y 64 (Grau *et al.* 2003, Ortega *et al.* 2007). Tampoco existen en el género antecedentes relacionados con la viabilidad del polen, aunque se registran estudios de la morfología polínica (Huynh 1967, Garalla & Bulacio 2011).

El objetivo del presente trabajo fue determinar los números cromosómicos gametofíticos, analizar el comportamiento meiótico y estimar la viabilidad del polen en poblaciones naturales de *Tropaeolum argentinum*, *T. atrocapillare* y *T. capillare*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material estudiado fue recolectado en poblaciones de diferentes localidades de la provincia de Tucumán y Salta (Argentina). Los ejemplares herborizados se depositaron en el Herbario Fanerogámico de la Fundación Miguel Lillo (LIL) (Figs. 1, 5, 9).

Tropaeolum argentinum. ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Trancas, camino de Choromoro a Chuscha, S 26°23'38" W 65°22'02", 890 m, 4/III/2014 Ayarde- Bulacio 2705 (LIL).

Tropaeolum atrocapillare. ARGENTINA. Prov. Salta, Dpto. Santa Victoria, S 22°15'07" W 64°57'44", 2310 m, 5/

IV/2014. A. Slanis y D. Dieguez 2100 (LIL).

Tropaeolum capillare. ARGENTINA. Prov. Tucumán, Dpto. Trancas, camino de Choromoro a la Higuera, S 26°23'21" W 65°28'06", 1100 m, 16/IV/2014 Ayarde-Bulacio 2709 (LIL).

Para realizar este estudio se seleccionaron botones florales jóvenes de 10 plantas de cada especie; *T. argentinum* y *T. capillare* se fijaron *in situ* en solución Farmer (alcohol etílico-ácido acético en proporción 3:1 respectivamente) durante 24 h. Para el caso de *T. atrocapillare* que crece en lugares de difícil accesibilidad, tres plantas fueron cedidas generosamente por el Lic. Alberto Slanis del Laboratorio de Taxonomía Vegetal Fanerogámica de la Fundación Miguel Lillo. Con el propósito de que estas plantas llegaran en buenas condiciones durante su traslado hasta el Laboratorio de Genética desde la provincia de Salta hasta Tucumán, los ejemplares se mantuvieron en hielo durante 24 h a temperaturas próximas a 0 °C, entonces los botones florales fueron fijados en Farmer (alcohol etílico-ácido acético 3:1). El material fijado se conservó posteriormente en alcohol etílico 70% a 4 °C. Los botones florales se sometieron a hidrólisis ácida en HCl 1N a 60 °C durante 15 min. La coloración y montaje de las preparaciones microscópicas se realizaron con unas gotas de hematoxilina propiónica al 2%, a la cual se añadieron cristales de citrato férrico. Para el análisis de la meiosis se observaron 120 células madre de polen en cada estadio de la meiosis. Para el estudio de la viabilidad de los granos de polen se utilizó la solución de Müntzig, mezcla de glicerina-carmin acético al 1% en la proporción 1:1 (Sharma & Sharma 1965). El número de granos de polen considerados para estimar la viabilidad fue de 1000 granos por especie.

Los preparados se observaron en un microscopio Nikon eclipse E 200, equipado con una cámara Moticam 1000 (1.3 Mp.) con la cual se tomaron las microfotografías. Las ilustraciones se procesaron con el software CorelDRAW X3.

RESULTADOS

Todas las accesiones estudiadas presentan número gametofítico $n = 14$ y diferentes tipos y porcentajes de irregularidades según la etapa analizada de la división meiótica (ver Tabla 1).

Tropaeolum argentinum: En etapa temprana de la división meiótica, en paquitene se observaron dos nucléolos en el 12,15% de las células, mientras que en el 87,85% restante se evidencia solo un nucléolo. Los 14II (14 bivalentes) en diacinesis (Figs. 2 y 3) presentaron asociaciones cromosómicas secundarias formadas por seis o siete bivalentes, conformando dos grupos en el 90% de las observaciones; no fue posible establecer si las asociaciones

secundarias son extremo-extremo o del tipo lado-lado, debido al pequeño tamaño de los cromosomas, la agrupación de los mismos y a su grado de asociación con el nucléolo; el 25% de las diacinesis contienen asociaciones de cromosomas con el nucléolo (Fig. 13). El comportamiento del complemento cromosómico durante la división I fue regular (Fig. 14), con excepción de anafase I (AI), donde se observaron puentes de cromatina en un 6,5% de las células analizadas (Fig. 15).

Las etapas de la división II también fueron generalmente regulares, sólo se observaron irregularidades en metafase II (MII) en porcentajes de 1%, las cuales consistieron en cromosomas rezagados. La viabilidad estimada de los granos de polen fue alta, con 99,7% de los granos de polen con coloración positiva. El 0,3% de los granos restantes (inviabiles) se presentan no coloreados (Fig. 4).

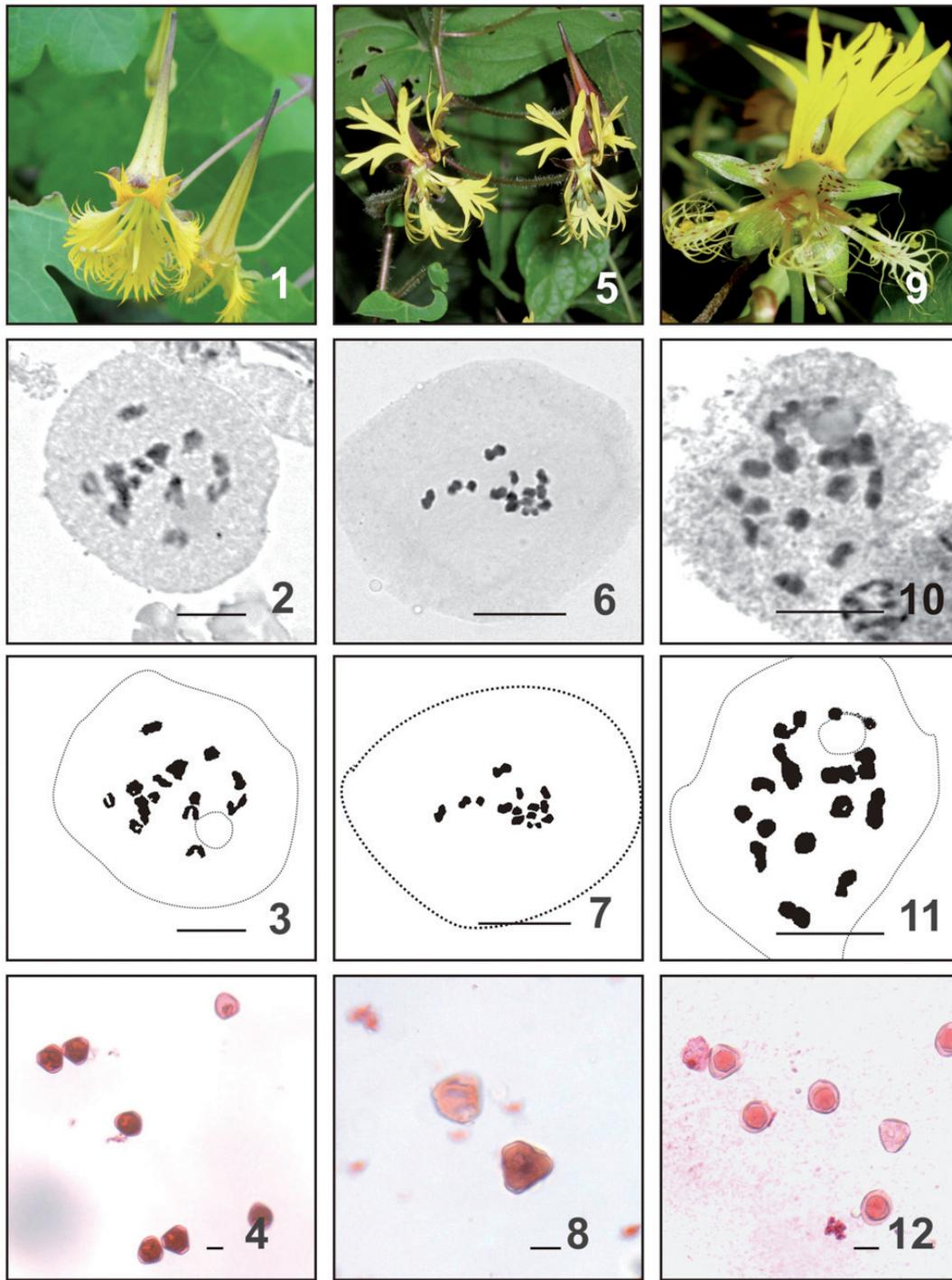
TABLA 1. Valores de las irregularidades meióticas y viabilidad del polen expresados en porcentajes. Número gametofítico (n), metafase (M), anafase (A), telofase (T). / Values of meiotic irregularities and pollen viability expressed as percentages. Gametophyte number (n), metaphase (M), anaphase (A), telophase (T).

ESPECIES	n	IRREGULARIDADES MEIÓTICAS %						VIABILIDAD %
		DIVISIÓN I			DIVISIÓN II			
		M	A	T	M	A	T	
<i>Tropaeolum atrocapillare</i>	14	43,00	93,00	-	76,00	80,00	60,00	93,00
<i>T. argentinum</i>	14	-	6,50	-	1,00	-	-	99,70
<i>T. capillare</i>	14	13,48	1,00	1,00	84,27	2,12	-	95,30

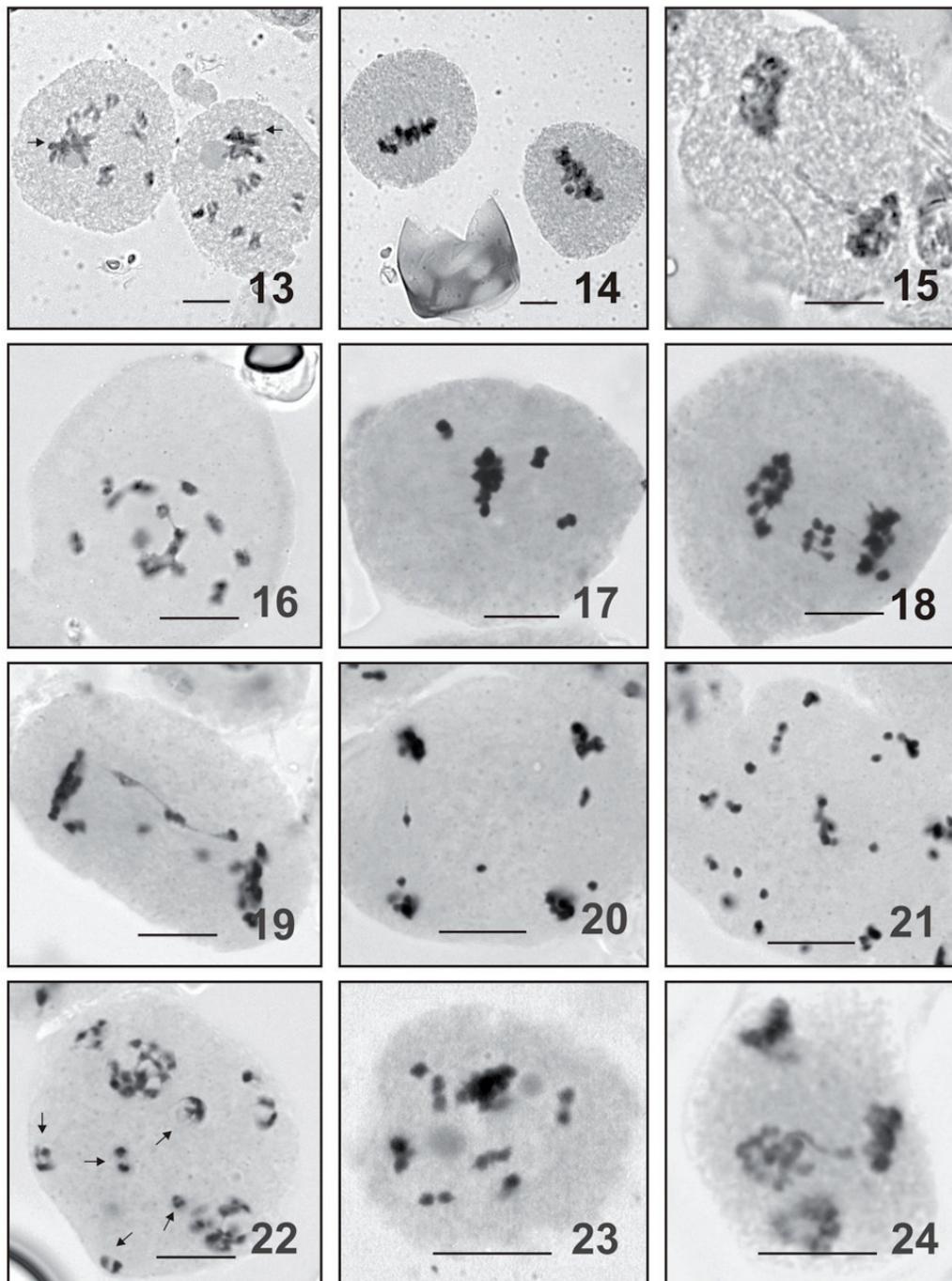
Tropaeolum atrocapillare: En paquitene se identificaron entre uno y tres nucléolos. Se observaron los 14II en diacinesis y prometafase avanzada (Figs. 6 y 7); en el 6% de las CMP (células madres del polen) se pusieron en evidencia asociaciones cromosómicas secundarias similares a las observadas en *T. argentinum*, aunque éstas involucraban de 3-5 bivalentes (Fig. 16). Se observaron numerosas irregularidades en ambas divisiones meióticas. En metafase I (MI) las células revelaron cromosomas fuera de la placa ecuatorial en el 43% de ellas (Fig. 17). Los meiocitos en AI evidenciaron cromosomas rezagados y formación de puente de cromatina en el 93% de los casos (Figs. 18 y 19). En la segunda etapa de la división meiótica, en metafase, el 76% de las células analizadas exhibieron irregularidades representadas por, cromosomas rezagados, cromosomas fuera de la placa medial y cromosomas fragmentados; en anafase II (AII) en el 80% de las CMP se observaron cromosomas rezagados, así como bivalentes y univalentes dispuestos al azar y dispersos en el citoplasma (Figs. 20 y 21); en el 60% de las telofase II (TII) se desarrollaron micronúcleos, hasta un número máximo de 10, distribuidos al azar (Fig. 22). En *T. atrocapillare* la viabilidad del polen

fue alta, reflejada en el 93% de granos coloreados y con sólo 0,7% de no inviables (Fig. 8).

Tropaeolum capillare: En esta especie se observa de uno a tres nucléolos en paquitene. Las diacinesis exhibieron 14II (Fig. 10), en el 87% de ellas se presentaron asociaciones secundarias compuestas por 6-7 bivalentes aún más agrupados que en *T. argentinum* (Fig. 23). El análisis del resto de las etapas de la primera división meiótica permitió la observación del 13,48% de las MI con cromosomas que segregan tempranamente, AI normales y Telofase I (TI) con irregularidades en bajo porcentaje (1%), relacionadas con la presencia de puentes de cromatina. En la segunda etapa de la división se presentaron ciertas irregularidades, en MII cromosomas rezagados con un porcentaje del 84,27%, similares a los observados MI y AII con falta de coordinación de los cromosomas durante la segregación, generando 1% de segregaciones desbalanceadas; en esta etapa también se observaron 1,12% de puentes de cromatina (Fig. 24). El taxón presentó un 95,3% de granos de polen coloreados, lo que sugiere una alta viabilidad; los granos inviables 5,7% no se colorearon (Fig. 12).



FIGURAS. 1-4: *Tropaeolum argentinum*. 1) aspecto general de la flor; 2) diacinesis, $n = 14$; 3) representación gráfica de Fig. 2; 4) granos de polen. Figs. 5-8: *Tropaeolum atrocapillare*. 5) aspecto general de la flor; 6) prometafase I, $n = 14$; 7) representación gráfica de Fig. 6; 8) granos de polen. Figs. 9-12: *Tropaeolum capillare*. 9) aspecto general de la flor; 10) diacinesis, $n = 14$; 11) representación gráfica de Fig. 10; 12) granos de polen. Figs. 2-3, 6-7, 10-11 escala = 10 μm ; Figs 4, 8 y 12 escala = 20 μm . / Figs. 1-4: *Tropaeolum argentinum*. 1) general appearance of the flower; 2) diakinesis, $n = 14$ II; 3) graphic representations of figure 2; 4) pollen grains. Figs. 5-8: *Tropaeolum atrocapillare*. 5) general appearance of the flower; 6) prometaphase I, $n = 14$ II; 7) graphic representations of figures 6; 8) pollen grains. Figs. 9-12: *Tropaeolum capillare*. 9) general appearance of the flower; 10) Diakinesis, $n = 14$ II; 11) graphic representations of figures 10; 12) pollen grains. Figs. 2-3, 6-7, 10-11 scale = 10 μm , Figs. 4, 8 and 12 scale = 20 μm .



FIGURAS. 13-15: *Tropaeolum argentinum*. Figs. 13) diacinesis con asociaciones secundarias, 14) MI normal, 15) AI con puente de cromatina. 16-22: *Tropaeolum atropicillare*. 16) diacinesis con asociaciones secundarias, 17) MI con cromosomas fuera de placa ecuatorial, 18) AI con cromosomas rezagados, 19) AI con puente, 20) AII con cromosomas rezagados, 21) AII cromosomas rezagados y bivalentes y univalentes dispuestos al azar dispersos en el citoplasma, 22) TII con micronúcleos adicionales. Figs. 23-24: *Tropaeolum capillare*. 23) diacinesis con asociaciones secundarias, 24) AII con puente de cromatina. Escala = 10 μ m. / Figs. 13-15: *Tropaeolum argentinum*. Fig. 13) diakinesis with secondary associations, 14) normal MI, 15) chromatin bridges during AI. 16-22: *Tropaeolum atropicillare*. 16) secondary associations in diakinesis, 17) MI with chromosomes outside of equatorial plate, 18) lagged chromosomes during AI, 19) chromatin bridges in AI, 20) AII with lagged chromosomes, 21) AII with lagged chromosomes and bivalents and univalents spread in the cytoplasm, 22) additional micronucleus in TII. Figs. 23-24: *Tropaeolum capillare*. 23) secondary associations during diakinesis, 24) AII with chromatin bridges. Scale = 10 μ m.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El número básico predominante de $x = 14$ en la familia Tropaeolaceae que postuló Lewis (1980) se correlaciona con los números cromosómicos gametofíticos de las tres especies estudiadas en este trabajo. Sin embargo, fue expuesto por Huynh (1967) en sus investigaciones que el genoma con número básico $x = 13$ tiene origen aneuploide; y a los hipotéticos progenitores les corresponderían los números básicos $x = 6$ y $x = 7$. En las investigaciones de Jelenkovic *et al.* (1980) en *Ricinus communis* L. y las llevadas a cabo por Mukherjee & Datta (2005) en especies de *Ocimum* L., los autores hipotetizaron que las asociaciones cromosómicas secundarias son un indicador de la ocurrencia de diploidización secundaria. En todos los taxones estudiados en este trabajo estuvieron presentes las asociaciones cromosómicas secundarias, lo que sugiere que $x = 14$ es un número básico derivado.

Tropaeolum atrocapillare exhibió numerosas irregularidades durante la meiosis, entre ellas podemos mencionar bivalentes y univalentes dispuestos al azar en AI, cromosomas rezagados en anafase, complemento cromosómico fragmentado y la formación de micronúcleos. Raghuvanshi & Pathak (1973) registraron cromosomas dispuestos al azar en *T. majus* L. en plantas poliploides inducidas por pretratamiento con colchicina (irregularidades similares a las observadas en AI en *T. atrocapillare*) y aseveraron que estas aberraciones se deben a la fragmentación de los husos como consecuencia de la exposición a esta droga. Aunque nuestro material no fue sometido a tratamiento con colchicina, los cromosomas dispuestos al azar podrían explicarse a través de las investigaciones de Huskins (1948), quien comprobó que los efectos inducidos por la colchicina durante la división celular pueden ser reproducidos mediante shock térmico con bajas temperaturas. Debido a que el material de *T. atrocapillare* fue sometido a temperatura próxima a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h, estas bajas temperaturas podrían haber inducido alteraciones en la formación de los husos y finalmente concluir en las aberraciones observadas.

Se observaron micronúcleos durante la microsporogénesis de *T. atrocapillare*, las cuales, según estudios en *Tropaeolum majus* (Raghuvanshi & Pathak 1973), *Rubus* L. (Thompson 1962) y otras plantas (Grant 1978), se habrían originado debido a fallas durante el proceso de segregación cromosómica, por ejemplo, a efectos de las bajas temperaturas como en este caso. El alineamiento incorrecto de las fibras del huso, asinapsis o defectos en la recombinación pueden resultar de este modo en la exclusión de uno o más cromosomas del núcleo resultante, produciendo gametas aneuploide y generando micronúcleos post-meióticos (De Storme & Mason 2014). Sin embargo, no es el caso en *T. atrocapillare*, quien presentó una elevada viabilidad de los granos de polen superior al 90%. Además,

esta especie crece en lugares montañosos de Santa Victoria (Provincia de Salta) completamente aislada de otras especies de *Tropaeolum*, por lo que las irregularidades que presenta se deberían al shock térmico que sufrieron las muestras.

T. argentinum y *T. capillare* también exhibieron algunas irregularidades como segregaciones desbalanceadas, cromosomas que tardíamente alcanzan la placa media en MI y MII y cromosomas adelantados. Estos resultados sugieren que en el género *Tropaeolum* aún en diploides, el comportamiento del complemento cromosómico durante la división meiótica no es totalmente regular. Las fallas durante la segregación cromosómica representan los mecanismos ideales para la formación de gametas genéticamente desbalanceadas, tales como meiocitos hipoploides, hiperploides o gametas no reducidas. La variedad de números cromosómicos reportados para *T. tuberosum* se justifican por estos mecanismos donde el taxón se comporta como un complejo poliploide con presencia de series aneuploides ascendente y/o descendente (Arbizu & Tapia 1992, Grau *et al.* 2003, Cadima-Fuentes 2006).

La estimación de la viabilidad de los granos de polen arrojó valores similares en todas las especies, con porcentajes altos, superiores al 90%. Los valores mencionados no se correlacionan con el porcentaje de irregularidades encontradas, sobre todo en *T. atrocapillare*. En este caso, la alta viabilidad exhibida por el taxón afianza la hipótesis de que las aberraciones observadas sean producto del estrés provocado por la exposición del material a bajas temperaturas.

No se conocen antecedentes de recuentos cromosómicos para el género *Tropaeolum* en poblaciones de Argentina; los números obtenidos para las accesiones estudiadas son reportados por primera vez. Así mismo, estos recuentos ponen de manifiesto complementos cromosómicos diploides en esta región, con número básico $x = 14$.

AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos expresar nuestro agradecimiento al Lic. Alberto Slanis del Laboratorio de Taxonomía Vegetal Fanerogámica de la Fundación Miguel Lillo, por haber cedido generosamente material que fue sumamente importante en la elaboración de este trabajo. También agradecemos al editor y a los dos revisores anónimos por sugerir mejoras sustanciales durante la lectura crítica del manuscrito.

REFERENCIAS

- ANDERSSON, L., ANDERSSON, S. 2000. A molecular phylogeny of Tropaeolaceae and its systematic implications. *Taxon* 49(4): 721-736.

- ARBIZU, C., TAPIA, M. 1992. Tubérculos Andinos. En: Hernández, J.E., León, J. (eds.). Cultivos marginados, otra perspectiva de 1492. FAO-Producción y protección vegetal No. 26, p. 147-161.
- BRÜCHER, H. 1989. Useful plants of Neotropical origin and their wild relatives. Springer Verlag. X. 296 pp.
- BULACIO, E. 2015. La familia Tropaeolaceae en Argentina. Estudio morfoanatómico y taxonómico. Tesis doctoral (inérito). Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina. 221 pp.
- CADIMA-FUENTES, X. 2006. Tubérculos. En: Moraes, R.M., Øllgaard, B., Kvist, L.P., Borchsenius, F., Balslev, H. (eds.), Botánica económica de los andes centrales, pp. 347-369. Universidad Mayor de San Andrés, Plural Editores, La Paz, Bolivia.
- DE STORME, N., MASON, A. 2014. Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. Current Plant Biology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpb.2014.09.002>
- FERNÁNDEZ, J. 1973. Sobre la dispersión meridional de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz et. Pav. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 15(1): 106-112.
- GARRALLA, S., BULACIO, E. 2011. El polen de las especies argentinas de *Tropaeolum* (Tropaeolaceae). Darwiniana 49(2): 119-130.
- GASPAROTTO, A.J.R., BOFFO, M.A., LOURENÇO, E.L., STEFANELLO, M.E., KASSUYA, C.A., MARQUES, M.C. 2009. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. Journal Ethnopharmacology 122(3): 517-522.
- GRANT, W.F. 1978. Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. Environmental Health Perspectives 27: 37-43.
- GRAU, A., ORTEGA DUEÑAS, R., NIETO CABRERA, C., HERMANN, M. 2003. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 25. International Potato Center, Lima, Peru/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 55 pp.
- HERMANN, M. 1992. Raíces y tubérculos andinos: prioridades de investigación para un recurso alimentario pospuesto. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 32 pp.
- HIERONYMUS, J. 1882. Plantae diaphoricae florum argentinae. Boletín de la Academia Nacional de Córdoba 4: 207-531.
- HUSKINS, C. 1948. Segregation and reduction in somatic tissues I. Initial observation on *Allium cepa*. Journal of Heredity 39: 311-325.
- HUYNH, K.L. 1967. Caryosystematique dans le genre *Tropaeolum* L. 1: *T. cochabambae* Buch., *T. pubescens* H. B. K. et *T. tricolor* Sweet. Bulletin de la Société Botanique de Suisse 77: 309-313.
- JELENKOVIC, G., SHIFRIS, O., HARRINGTON, E. 1980. Association and distribution of meiotic chromosomes in a haploid of *Ricinus communis* L. Cytologia 45: 571-577.
- LEWIS, W.H. 1980. Polyploidy in Angiosperms: Dicotyledons. In: Lewis, W.H. (ed.). Polyploidy. Biological relevance. Vol. 13, pp. 241-268. Plenum Press, New York.
- MALICE, M., BAUDOIN, J.P. 2009. Genetic diversity and germplasm conservation of three minor Andean tuber crop species. Biotechnologie Agronomie Société et Environnement. 13(3): 441-448.
- MARTIUS, C.F.P. 1843. Systema materiae medicae vegetabilis brasiliensis. F. Fleischer, Leipzig and F. Beck. Wien. 155 pp.
- MILANO, V.A., MOLINARI, E.P. 1955. Tropaeolaceae. Plantas cultivadas en la República Argentina. Ministerio de Agricultura Ganadería, Instituto de Botánica Agrícola 7(97): 5-14. Buenos Aires.
- MUKHERJEE, M., DATTA, A.K. 2005. Secondary Chromosome Associations in *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L. Cytologia 70(2): 149-152.
- ORTEGA, O.R., DURAN, E., ARBIZU, C., ORTEGA, R., ROCA, W., POTTER, D., QUIROS, C.F. 2007. Pattern of genetic diversity of cultivated and non-cultivated mashua, *Tropaeolum tuberosum*, in the Cusco region of Peru. Genetic Resources and Crop Evolution 54(4): 807-821.
- PAILLEAUX, A., BOIS, D. 1899. Le potager d'un curieux. Histoire, culture and usages de 250 plantes comestibles, 3ed. Librairie Agricole de la Maison Rustique. Paris. 678 pp.
- RAGHUVANSHI, S.S., PATHAK, C.S. 1973. Ploidy barrier in *Tropaeolum majus* L. Caryologia 27(2): 225-235.
- SAINT-HILAIRE, A. 1825. Tropaeolaceae. Flora Brasiliae Meridionalis 1: 96-97.
- SHARMA, A.K., SHARMA, A. 1965. Chromosome Techniques: Theory and Practice. Butterworth & Co. (Publishers), London. 474 pp.
- THOMPSON, M.M. 1962. Cytogenetics of *Rubus*. III. Meiotic instability in some higher polyploids. American Journal of Botany 49: 575-582.
- WILSON, G.B. 1950. Cytological effects of some antibiotics. Journal of Heredity 41: 227-231.

Recibido: 22.05.2017
Aceptado: 24.07.2018