

Variabilidad intra-específica en especies de *Passiflora* nativas de Argentina: valor C y caracteres fenotípicos de importancia ornamental

Intraspecific variability in species of *Passiflora* native to Argentina: C-value and ornamental phenotypic characters

Bugallo, Verónica^{1, 2,*}; Facciuto, Gabriela²; Poggio, Lidia³.

1- Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía (FAUBA), Cátedra de Genética.

2- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Floricultura. 3- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

*bugallo@agro.uba.ar

Palabras clave: valor C, citometría de flujo, mejoramiento genético, plantas ornamentales, plantas nativas de Argentina.

Eje temático: 1- Gestión y conservación de recursos naturales

Modalidad: póster

Resumen

El género *Passiflora* posee más de 500 especies, 19 son nativas de Argentina. En el marco de un plan de mejoramiento para obtener variedades ornamentales a partir de nativas, el objetivo de este trabajo fue evaluar la diversidad intra-específica en especies del género. Los resultados mostraron que existe variabilidad intra-específica en el tamaño del genoma en las cuatro especies, en el diámetro floral en *P. elegans*, *P. caerulea* y *P. edulis f. flavicarpa*, en la superficie foliar en *P. edulis f. flavicarpa* y en la longitud de entrenudos en *P. edulis f. flavicarpa* y en *P. mooreana*. El tamaño genómico en estas especies mostró un ajuste mayor con el largo de entrenudos ($R^2=0,59$), intermedio con el diámetro floral ($R^2=0,20$) y bajo con la superficie foliar ($R^2=0,03$). La variación encontrada sugiere que se requiere un gran número de accesiones para lograr muestras representativas del pool génico de las cuatro especies analizadas.

Abstract

The *Passiflora* genus has more than 500 species, 19 are native to Argentina. Within the framework of a breeding program to obtain ornamental varieties from native species, the objective of this work was to evaluate the intra-specific diversity of species of the genus. The results showed that there is intra-specific variability in genomic size and flower diameter in *P. elegans*, *P. caerulea* and *P. edulis f. flavicarpa*, on the leaf area in *P. edulis f. flavicarpa* and the length of internodes in *P. edulis f. flavicarpa* and in *P. mooreana*. The genome size in these species showed a greater correlation with the length of internodes ($R^2 = 0.59$), intermediate with the floral diameter ($R^2 = 0.20$) and low with the leaf surface ($R^2 = 0.03$). The variation found suggests that a large number of accessions are required to achieve representative samples of the gene pool of the four species analyzed.

Introducción

Por muchos años, los recursos genéticos sudamericanos han sido explotados por empresas extranjeras para la obtención de variedades ornamentales (Facciuto et al., 2019; Bugallo et al., 2011). A partir del Convenio de Diversidad Biológica y el Protocolo de Nagoya (Naciones Unidas, 2011), los países del cono sur tienen la posibilidad de crear sus propias variedades a partir de germoplasma nativo y recibir los beneficios que de ellos se generen.

En el Instituto de Floricultura (INTA), se trabaja en un proyecto que tiene como objetivo la obtención de variedades ornamentales a partir de germoplasma nativo (Facciuto et al., 2019). Hasta el momento, se han generado 23 variedades de los géneros *Glandularia*, *Nierembergia*, *Handroanthus*, *Alstroemeria*, *Tecoma*, *Mecardonia* y *Calibrachoa*. De los dos últimos géneros, se han obtenido variedades comercializadas internacionalmente, beneficiando a la provincia que aportó los recursos genéticos empleados para obtenerlas.

El género *Passiflora* posee más de 500 especies distribuidas mayoritariamente en Centroamérica y Sudamérica. Los recursos genéticos de este género son de importancia por sus plantas frutales y medicinales, sin embargo, la mayor parte de las especies son empleadas

por sus características ornamentales (Ulmer & MacDougal, 2004). Argentina posee 19 especies nativas de *Passiflora* que habitan la zona central y norte del país (Deginani, 2001).

El plan de mejoramiento en *Passiflora* posee diversos objetivos: la obtención de plantas para paredes verdes o cercos vivos con buena capacidad de cobertura, flores grandes y coloridas y tolerancia a bajas temperaturas. La aparición de estas características en las progenies depende de su existencia en los genotipos del plantel de plantas madre de la colección. Por este motivo, el estudio de la variabilidad intra-específica en especies nativas de *Passiflora* resulta de gran importancia tanto en la selección de parentales para los cruzamientos como también en la de plantas a integrar la colección de trabajo, elección que ocurre durante los viajes de recolección.

El objetivo de este trabajo es evaluar la diversidad intra-específica en especies de *Passiflora* en caracteres como: cantidad de ADN por genoma, diámetro de la flor, superficie foliar y largo de entrenudos y estudiar su correlación.

Materiales y métodos

El material vegetal empleado para este estudio provino de la colección *in vivo* del Instituto de Floricultura y contó con tres especies de *Passiflora*: 4 genotipos de *P. elegans*, 10 de *P. caerulea*, 4 de *P. edulis f. flavicarpa* y 2 de *P. mooreana* (Tabla 1).

Se realizaron estimaciones de la cantidad de ADN por citometría de flujo de acuerdo con protocolo de Dolezel et al. (2007). Se utilizó como planta control *Hordeum vulgare* cv New Golden (10,4 pg de ADN). La suspensión de núcleos celulares fue teñida con buffer Otto II (Otto, 1990) con Ioduro de Propidio y analizada en un Citómetro de flujo Partec CyFlow Ploidy Analyzer (Partec, Alemania). Se realizaron, por lo menos, 3 estimaciones por genotipo.

Se midieron con un calibre al menos 5 flores y 10 segmentos internodales por genotipo. La estimación del área de la hoja fue realizada en un mínimo de 10 hojas por genotipo, en un Green Leaf Area Meter GA-5 (Tokio Photoelectrics).

Para los contrastes de cada parámetro entre los genotipos, se realizaron Análisis de la Varianza (ANOVA) en un diseño completamente aleatorizado y se compararon las diferencias por tests de suma de los cuadrados (BSS), con un nivel de significación de 0,05. Las correlaciones entre caracteres fueron estudiadas por medio de regresiones. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el programa InfoStat, versión 2013 (Di Renzo et al., 2013).

Tabla 1. Especies, genotipos, origen y nivel de ploidía de plantas de *Passiflora* en la colección *in vivo* del Instituto de Floricultura (IF).

Especie	Código IF	Genotipo	Origen	Nivel de ploidía (Bugallo et al., 2020)
<i>P. elegans</i>	06-618	Ele4	Santo Tomé, Corrientes	2n = 2x
	06-619#1	Ele1	Santo Tomé, Corrientes	2n = 2x
	06-619#2	Ele2	Santo Tomé, Corrientes	2n = 2x
	06-619#3	Ele3	Santo Tomé, Corrientes	2n = 2x
<i>P. caerulea</i>	20051202C1	Cae10	Cerro Azul, Misiones	2n = 2x
	20071124A2	Cae9	Chañar Ladeado, Santa Fe	2n = 2x
	20071124A9	Cae5	Chañar Ladeado, Santa Fe	2n = 2x
	20071124A8	Cae7	Chañar Ladeado, Santa Fe	2n = 2x
	20091012J4	Cae2	San Martín, Corrientes	2n = 2x
	20140424A1	Cae3	Donación	2n = 2x
	20110423E1	Cae4	Donación	2n = 2x
	05-43	Cae6	Castelar, Buenos Aires	2n = 2x
	20050608A2	Cae8	INTA, Buenos Aires	2n = 2x
	20050608A1	Cae1	INTA, Buenos Aires	2n = 2x
<i>P. edulis f. flavicarpa</i>	20050707A3	EdF3	Donación	2n = 2x
	12-170	EdF1	Donación	2n = 2x
	07-247	EdF4	Donación	2n = 2x
	12-391	EdF2	Donación	2n = 2x
<i>P. mooreana</i>	20061201A1	Moo2	Matacos, Formosa	2n = 2x
	20070125B1	Moo4	Mercedes, Corrientes	2n = 4x

Resultados y discusión

Se estimaron los parámetros de cantidad de ADN por genoma haploide, diámetro de flor, superficie de la hoja y largo de los entrenudos para cuatro especies de *Passiflora*. El tamaño del genoma en *P. mooreana*, los diámetros de flor de *P. elegans* y las medias de superficie foliar y largo de entrenudos para las cuatro especies estudiadas, se reportan por primera vez.

Los resultados mostraron que existe variabilidad intra-específica en el tamaño de genoma y en el diámetro de flor en *P. elegans*, *P. caerulea* y *P. edulis f. flavicarpa* (Tabla 2). En los genotipos estudiados de *P. edulis f. flavicarpa*, la especie con hojas más grandes entre las analizadas, la superficie de la hoja mostró variación intra-específica. En el largo de los entrenudos se registraron diferencias entre genotipos en las especies *P. edulis f. flavicarpa* y *P. mooreana* (Tabla 2).

Típicamente los ecólogos suelen dirigir sus esfuerzos a la conservación de especies. Sin embargo, la importancia ecológica de la diversidad intra-específica radica en su capacidad de modelar la estructura genética de una población, aumentando su resiliencia demográfica y su potencial evolutivo (Des Roches et al., 2018).

A partir de los resultados obtenidos, se puede sugerir que el muestreo en especies con alta variabilidad genotípica debería ser más intenso para resultar representativo. Tanto para los objetivos del plan de mejoramiento como, fundamentalmente, para posibles estrategias de conservación en este género, la intensidad del muestreo debería ser alta para evitar la deriva génica. En poblaciones pequeñas, la deriva génica podría causar el alejamiento de los rangos óptimos reduciendo la aptitud media de la población (Bolnick et al., 2011).

Se encontró una correlación $R^2=0,20$ entre el tamaño del genoma y el diámetro de flor. Este valor fue inferior al encontrado por Yotoko et al. (2011) de 0,54. Sin embargo, las diferencias encontradas pueden ser atribuidas a la inclusión de especies con mayor ajuste que las estudiadas en este trabajo. La superficie foliar no mostró correlación con el tamaño de genoma, exhibiendo un coeficiente de correlación $R^2=0,03$. Por otra parte, el mayor grado de ajuste de la cantidad de ADN genómico se halló con el largo de entrenudos, con un $R^2=0,59$. Tanto la superficie foliar como el largo de entrenudos son variables de importancia en el mejoramiento de *Passiflora* con fines ornamentales por su aplicación para paredes y cercos vivos, donde la superficie cubierta de hojas determina el cumplimiento de su objetivo (Busilacchi et al., 2008). En caracteres ecológicamente funcionales, la variabilidad fenotípica de una población le otorga mayor probabilidad de persistir y tolerar cambios ambientales en un escenario de cambio climático (Henn et al., 2018).

Tabla 2. Resultados promedio de las estimaciones de valor C, diámetro de flor, superficie de la hoja y largo de entrenudos para especies de *Passiflora*. Medias con distinta letra indican diferencias significativas en ANOVA-BSS ($p<0,05$), entre genotipos para cada uno de los parámetros estimados.

Especie	Genotipo	Valor C (pg.)	Diámetro de flor (mm)	Superficie de la hoja (cm ²)	Largo de entrenudos (mm)
<i>P. elegans</i>	Ele1	1.07±0.10 A	52.34±3.19 B	-	39.06±16.34 A
	Ele2	-	45.23±3.15 A	24.70±3.88 A	40.06±16.57 A
	Ele3	1.34±0.17 B	49.41±3.41 B	30.36±4.37 A	44.89±6.52 A
	Ele4	1.32±0.09 B	46.34±4.28 A	22.90±2.14 A	41.93±8.74 A
<i>P. caerulea</i>	Cae1	1.42±0.04 B	77.84±3.12 E	46.56±12.51 B	70.86±4.87 B
	Cae2	1.48±0.02 B	59.06±1.69 C	-	65.02±17.11 B
	Cae3	-	66.91±3.73 D	-	83.41±8.38 B
	Cae4	-	67.51±3.62 D	-	56.20±9.20 B
	Cae5	1.80±0.02 C	84.18±3.14 F	60.90±18.77 B	66.83±18.36 B
	Cae6	1.33±0.06 B	-	42.66±9.04 B	-
	Cae7	1.72±0.07 C	-	-	-
	Cae8	1.68±0.04 C	-	-	-
	Cae9	1.54±0.08 B	-	-	-
	Cae10	1.53±0.10 B	-	-	-
<i>P. edulis f. flavicarpa</i>	EdF1	-	87.16±2.13 F	176.03±27.71 D	123.16±3.73 C
	EdF2	-	75.35±2.97 E	156.63±22.08 C	122.77±25.34 C
	EdF3	1.54±0.06 B	-	-	-
	EdF4	1.74±0.33 C	71.40±4.69 D	-	71.49±22.50 B
<i>P. mooreana</i>	Moo2	1.71±0.21 C	48.80±3.07 B	19.07±7.65 A	45.11±8.40 A
	Moo4	1.65±0.17 C	49.64±0.30 B	21.13±3.69 A	68.91±10.01 B

Conclusiones

Existe variabilidad intra-específica en el tamaño de genoma y en el diámetro de flor en *P. elegans*, *P. caerulea* y *P. edulis f. flavicarpa*; en el área de la hoja en *P. edulis f. flavicarpa* y en el largo de los entrenudos en *P. edulis f. flavicarpa* y en *P. mooreana*.

El tamaño del genoma en estas especies correlacionó en mayor medida con el largo de entrenudos, hubo un ajuste intermedio con el diámetro de la flor y no se encontró relación con la superficie foliar.

La variación encontrada sugiere que se requiere un gran número de accesiones para lograr muestras representativas del pool génico de las cuatro especies analizadas para abarcar la variabilidad en los caracteres estudiados en este como así también en otros de interés para el plan de mejoramiento.

Bibliografía

- BOLNICK, D.I.; P. AMARASEKARE; M.S. ARAÚJO; R. BÜRGER; J.M. LEVINE; M. NOVAK; V.H.W. RUDOLF; S.J. SCHREIBER; M.C. URBAN y D. VASSEUR. 2011. Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends Ecol Evol.* 26(4):183-192. doi:10.1016/j.tree.2011.01.009
- BUGALLO, V; S. CARDONE; M.J. PANNUNZIO y G. FACCIUTO. 2011. Breeding advances in *Passiflora* (passionflower) native from Argentina. *Global Science Books* 5:23-34.
- BUSILACCHI, H; C. SEVERIN; M. GATTUSO; A. AGUIRRE; O. DI SAPIO y S. GATTUSO. 2008. Field culture of micropropagated *Passiflora caerulea* L. histological and chemical studies. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7(5): 257-263.
- DEGINANI, N. 2001. Las especies argentinas del género *Passiflora*. *Darwiniana* 39: 43-129.
- DES ROCHES, S.; D. M., POST; N. E. TURLEY; J. K. BAILEY; A. P. HENDRY; M. T. KINNISON; J. A. SCHWEITZER y E. P. PALKOVACS. 2018. The ecological importance of intraspecific variation. *Nature Ecology & Evolution*, 2(1), 57-64.
- DI RIENZO, J.A.; F. CASANOVES; M.G. BALZARINI; L. GONZALEZ; M. TABLADA y C.W. ROBLEDO. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DOLEŽEL, J.; J. GREILHUBER y J. SUDA. 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature protocols*, 2(9), 2233.
- FACCIUTO, G.; P. BOLOGNA; V. BUGALLO y M. RIVERA. 2019. Desarrollo de plantas ornamentales a partir de recursos genéticos argentinos. *RG News* 5(1): 13-17. Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos.
- HENN, J. J.; V. BUZZARD; B. J. ENQUIST; A. H. HALBRITTER; K. KLANDERUD; B. S. MAITNER; S. T. MICHALETZ; C. PÖTSCH; L. SELTZER; R. J. TELFORD; Y. YANG; L. ZHANG y V. VANDVIK. 2018. Intraspecific trait variation and phenotypic plasticity mediate alpine plant species response to climate change. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1548.
- NACIONES UNIDAS. 2011. The Nagoya Protocol on Access to Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of Benefits Arising from Their Utilization to the Convention on Biological Diversity. Disponible en <https://www.cbd.int/abs/doc/protocol/nagoya-protocol-en.pdf>
- OTTO, F. 1990. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Crissman H, Darzynkiewicz Z, editors. *Methods in cell biology*. New York, NY.
- ULMER T. y J.M. MACDOUGAL. 2004. *Passiflora*: passionflowers of the World. Timber Press, Cambridge. Pp. 1-430.
- YOTOKO, K.S.C.; M.C. DORNELAS; P.D. TOGNI; T.C. FONSECA; F.M. SALZANO; S.L. BONATTO y L.B. FREITAS. 2011. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. *Plos One* 6(3), e18212.