

## DE TAL PALO TAL SEMILLA. APOMIXIS EN POBLACIONES SILVESTRES DE ARAZÁ

Mercedes Souza-Pérez<sup>1</sup>, Vaio Magdalena<sup>1</sup>, Pritsch Clara<sup>1</sup>, Hormaza Iñaki<sup>2</sup>, Speroni Gabriela<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía, Universidad de la República

<sup>2</sup> Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, la Mayora, Málaga

[msouza@fagro.edu.uy](mailto:msouza@fagro.edu.uy)

**Palabras clave:** *Psidium cattleianum* f. *lucidum*, reproducción, progenie, variabilidad genética, poblaciones.

### Antecedentes

En varios años de investigación llevados a cabo desde la Facultad de Agronomía en conjunto con el INIA se han logrado contestar varias preguntas sobre la biología reproductiva básica de *Psidium cattleianum*, 'arazá'. La mayoría de ellas fueron posibles de investigar gracias a la presencia de plantas seleccionadas y cultivadas en los módulos de plantas nativas de los jardines de introducción de la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía Salto y del INIA Las Brujas, Canelones.

El 'arazá' es una especie poliploide, de número básico de cromosomas  $x = 11$  (Rye, 1979), de la que se han reportado varios niveles de ploidía en la literatura, desde  $4x$  hasta  $12x$  (Atchison, 1947; Costa y Forni-Martins, 2007; De Souza *et al.*, 2014; Machado, 2016; Machado *et al.*, 2021). En las poblaciones silvestres de Uruguay se han encontrado los niveles  $5x$ ,  $6x$ ,  $7x$  y  $8x$  (Mazzella *et al.*, 2016) y en los estudios de variabilidad genética realizados con RAPD e ISSR se observó que dentro de las poblaciones predomina un único genotipo multilocus (Núñez *et al.*, 2019). A partir de cruzamientos dirigidos de plantas cultivadas se constató que la descendencia es genéticamente igual a la madre en la mayoría de los casos, si bien en algunos individuos aparecen genes paternos (Scaltritti *et al.*, 2014). Estos resultados coinciden con los reportes previos que proponen que la especie presenta apomixis como modo de reproducción (Ellshoff *et al.*, 1995; Henriques *et al.*, 2004; Vignale y Bisio, 2005; Wilson, 2011).

En los estudios de la biología del desarrollo de órganos reproductivos, se observó que los óvulos forman sacos embrionarios no reducidos, debido a que no ocurre meiosis de la célula madre de la megáspora (Souza-Pérez y Speroni, 2017). En base a estos resultados se propuso la apomixis de tipo diplospórica para la especie. Adicionalmente, mediante tratamientos realizados en polinizaciones manuales se confirma que es necesaria la polinización y llegada de tubo polínico al óvulo para la formación de fruto y semillas (Fidalgo y Kleinert, 2009; Speroni *et al.*, 2018). A esta condición se la denomina apomixis pseudógama, lo que significa que la especie no requiere de fecundación para generar el embrión, pero si para generar el endosperma de la semilla.

El estudio de semillas resultantes de polinizaciones dirigidas entre plantas cultivadas de *Psidium cattleianum* f. *lucidum* y *Psidium cattleianum* f. *cattleianum* aclaró varios de los fenómenos previamente observados. Se observó, mediante el uso de la citometría de flujo que

determina la relación de contenido de ADN embrión: endosperma, que se forman diferentes tipos de semillas (Da Luz *et al.*, 2018). En este trabajo se constató que gran parte de las semillas provienen de apomixis displospórica, con pseudogamia.

Este resumen consiste en la presentación de avances de uno de los capítulos de mi tesis de doctorado titulada "Identidad de células reproductivas e incidencia de la apomixis en poblaciones silvestres de *Psidium cattleianum* f. *lucidum*". En este trabajo estudio la biología reproductiva del arazá desde distintos abordajes, buscando explicar algunas de las causas y conocer cuáles son las consecuencias de los mecanismos de reproducción presentes en la especie. La tesis se desarrolla en modalidad sándwich entre la Facultad de Agronomía, Universidad de la República, bajo la dirección de la Dra. Gabriela Speroni y supervisión de las Dras. Clara Pritsch y Magdalena Vaio y el Instituto de Hortofruticultura Subtropical y mediterránea, la Mayora, Málaga, bajo la dirección del Dr. Iñaki Hormaza y supervisión del Dr. Jorge Lora.

### **Objetivo**

En este capítulo de la tesis se intenta responder ¿cuáles es el modo de reproducción predominante en las poblaciones uruguayas de *Psidium cattleianum* f. *lucidum* con diferentes niveles de ploidía? Para responder esta pregunta planteamos un abordaje que combina: el estudio de variabilidad genética de la progenie con respecto a las plantas madre y de la relación de contenido de ADN embrión: endosperma en las semillas.

### **Metodología**

Se eligieron cinco poblaciones representantes de los cuatro niveles de ploidía presentes en Uruguay. En cada población se seleccionaron 15 plantas madre que fueron marcadas y georreferenciadas. De cada planta se colectaron hojas y frutos de los que se extrajeron las semillas. Parte de las semillas fueron germinadas para obtención de progenie. Se confirmó la ploidía de las plantas madre mediante citometría de flujo Greilhuber *et al.* (1983) y se extrajo el ADN de las hojas. Se realizó la amplificación por PCR y análisis de fragmentos en la totalidad de las plantas adultas con marcadores tipo microsatélites (SSR), 18 transferidos de *Psidium guajava* (Risterucci *et al.*, 2005; Mehmood *et al.*, 2015; Tuler *et al.*, 2015; Bernardes *et al.*, 2018) y 11 específicos de *Psidium cattleianum* (Machado *et al.*, 2021). Se realizó extracción de ADN de la progenie y amplificación por PCR y análisis de fragmentos con los SSR seleccionados como informativos en las plantas madre. El análisis de contenido de ADN relativo endosperma: embrión se realizará mediante citometría de flujo siguiendo el protocolo de Matzk *et al.* (2000).

### **Resultados preliminares**

Los niveles de ploidía de las plantas madre fueron uniformes dentro de la población y coinciden con el nivel reportado para cada población, 5x, 6x 7x y 8x. Se seleccionaron nueve SSR informativos, seis específicos y tres transferidos. La selección se basó en la nitidez de los picos, la presencia de polimorfismos entre poblaciones y la repetibilidad de las pruebas. El análisis preliminar de los resultados obtenidos parece indicar que los polimorfismos de los

marcadores se asocian a diferencias entre poblaciones, mientras que a nivel intra-población parecerían muy bajo o nulos. De los análisis preliminares de la progenie con SSR se observa que las plantas hijas parecerían ser idénticas a las plantas madre.

Actualmente se está avanzando en el análisis de contenido relativo de ADN embrión: endosperma de las semillas.

### Consideraciones finales

Los resultados preliminares parecen apoyar que el modo de reproducción que predomina en las poblaciones silvestres es la apomixis. Lo que desde el punto de vista agronómico significaría que plantas obtenidas de las poblaciones silvestres a través de la propagación por semilla serán, en su mayoría, genéticamente idénticas a la planta madre.

### Referencias bibliográficas

- Atchison E. 1947. Chromosome Numbers in the Myrtaceae. *American Journal of Botany*, 34: 159–164.
- Bernardes OC, Tuler AC, Ferreira A, Carvalho AF, Nogueira MS, Silva Ferreira A.M. 2018. Transferability of *Psidium* microsatellite loci in Myrteae (Myrtaceae): a phylogenetic signal. *Euphytica* 214. <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2195-2>
- Costa IR, Forni-Martins ER. 2007. Karyotype analysis in South American species of Myrtaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 155: 571–580. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2007.00704.x>
- Da Luz C, Vaio M, Fuchs J, Speroni G. Apomixis y sexualidad en *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae): determinación por citometría de flujo en semillas. XII Congreso Latinoamericano de Botánica, Asociación Latinoamericana de Botánica. Quito, Ecuador. Memorias XII Congreso Latinoamericano de Botánica e-ISBN 978-9978-395-57-8
- De Souza AD, Resende LV, De Lima IP, Martins LSS, Techio VH. 2014. Chromosome number and nuclear DNA amount in *Psidium* spp. resistant and susceptible to *Meloidogyne enterolobii* and its relation with compatibility between rootstocks and commercial varieties of guava tree. *Plant Systematic and Evolution*, 301: 231–237. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1068-y>
- Ellshoffl ZE, Gardner DE, Wickle C, Smith CW. 1995. Annotated Bibliography of the genus *Psidium*, with emphasis on *P. cattleianum* (strawberry guava) and *P. guajava* (common guava), forest weeds in Hawai'i. Honolulu, Hawaii.
- Fidalgo ADO, Kleinert ADMP. 2009. Reproductive biology of six Brazilian Myrtaceae: is there a syndrome associated with buzz-pollination? *New Zealand Journal of Botany*, 47: 355–365. <https://doi.org/10.1080/0028825x.2009.9672712>
- Greilhuber J, Volleth M, and Loidl J. 1983. Genome size of man and animals relative to the plant *Allium cepa*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 25(6): 554–560. <https://doi.org/10.1139/g83-084>
- Henriques AT, Castro CM, Gonçalves ED, Corrêa ER, Pizzoli G, Zuanazzi JAS, Antunes LE, Raseira MC, Apel M, Marin R, Limberger R, Trevisan R, Franzon RC. 2004. Espécies Frutíferas nativas do Sul do Brasil. Embrapa Clima temperado, Pelotas, RS.
- Machado MR. 2016. Distribuição geográfica e análise cariotípica de citótipos de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). Thesis. Universidad Estadual de Campinas.
- Machado MR, de Oliveira AF, Alves MF, de Souza PA, Forni-Martins ER. 2021. Population Genetics of Polyploid Complex *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae): Preliminary Analyses Based on New

Species-Specific Microsatellite Loci and Extension to Other Species of the Genus. *Biochemical Genetics*, 59(1): 219-234. <https://doi.org/10.1007/s10528-020-10002-1>

Núñez E, Silva M, Da Luz C, Vaio M, Speroni G, Pritsch C. 2019. Análisis genético y genómico de poblaciones silvestres de arazá amarillo. *Anales del XII Simposio internacional de Recursos Genéticos para las Américas y el Caribe (SIRGEAC)*. Disponible en: [https://sirgeac.org/SIRGEAC.2019-Anales-LibroResumens-ISBN-\(978-9974-94-766-5\).pdf](https://sirgeac.org/SIRGEAC.2019-Anales-LibroResumens-ISBN-(978-9974-94-766-5).pdf)

Matzk F, Meister A, Schubert I. 2000. An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots. *The Plant Journal*, 21(1): 97–108.

Mazzella C, Speroni G, Pritsch C., Souza-Pérez M, Bonifacino M, Vázquez S, Vaio, Trujillo C, Cabrera, Vignale B. Arazá, especie frutal de interés: sistema reproductivo, distribución natural y citotipos en Uruguay. 2016. XVI Congreso Latinoamericano de Genética y IV Congreso de la Sociedad Uruguaya de Genética. Montevideo, Uruguay.

Mehmood A, Luo S, Ahmad NM, Dong C, Mahmood T, Sajjad Y, Jaskani MJ, Sharp P. 2016. Molecular variability and phylogenetic relationships of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars using inter-primer binding site (iPBS) and microsatellite (SSR) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63: 1345–1361. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0322-7>

Risterucci AM, Duval MF, Rohde W, Billotte N. 2005. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* L. *Molecular Ecology Notes*, 5: 745–748. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01050.x>

Rye B. 1979. Chromosome number variation in the Myrtaceae and its Taxonomic Implications. *Australian Journal of Botany*, 27: 547–573.

Scaltritti JP, Raffo M, Bernal J, Speroni G, Pritsch C. 2014. Diversidad Genética en *Psidium cattleianum*: Desarrollo de marcadores ISSR. VI Encuentro sobre pequeñas frutas e frutas nativas do Mercosul. Resumos e palestras. Ed. Brasília, DF: Embrapa. p 122. ISBN: 978-85-7035-308-5

Souza-Pérez M, Speroni G. 2017. New apomictic pathway in Myrtaceae, inferred from *Psidium cattleianum* female gametophyte ontogeny, *Flora*. 234: 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.06.010>

Speroni G, Trujillo C, Souza-Pérez M, Da Luz C. ¿Es necesaria la fecundación en la especie apomíctica *Psidium cattleianum* Sabine? *Memorias XII Congreso Latinoamericano de Botánica*. 2nda Ed. Latacunga. Universidad Técnica de Cotopaxi y Universidad Central del Ecuador, p. 408. e-ISBN 978-9978-395-57-8, UTC

Tuler AC, Carrijo TT, Nória, LR, Ferreira A, Peixoto AL, Silva Ferreira MF. 2015. SSR markers: a tool for species identification in *Psidium* (Myrtaceae). *Molecular Biology Reports*, 42: 1501–1513. <https://doi.org/10.1007/s11033-015-3927-1>

Vázquez Medina S. 2014. *Psidium cattleianum* Sabine y *Acca sellowiana* (Berg.) Burret (Myrtaceae): caracterización cromosómica y cariotípica en poblaciones silvestres y genotipos seleccionados en programas nacionales de mejoramiento. Tesis de grado. Facultad de Agronomía Universidad de la República.

Vignale B, Bisio L. 2005. Selección de frutales nativos en Uruguay. *Agrociencia* IX, 35–39.

Wilson PG. 2011. Myrtaceae, in: Kubitzki, K. (Ed.), *Families and Genera of Vascular Plants*. Springer, Berlin, pp. 212–271.