

DETERMINACIÓN DE CLONES DE ÁLAMO (*POPULUS*) MEDIANTE FLAVONOIDES

POPULUS CLONS DETERMINATION THROUGH FLAVONOIDS

VÍCTOR SILVESTRI Y C. YAÑEZ

Genética General y Aplicada. Facultad de Ciencias Agrarias. U.N.Cuyo
Alte. Brown 500, M. Drummond, Mendoza

RESUMEN

Las relaciones inter e intraespecíficas de los clones cultivados de álamo: *Populus deltoides* sub. *angulata*, *P. nigra* var. *thevestina*, *P. alba* y *Populus x euroamericano* (I-214) y de dos clones experimentales obtenidos en Mendoza (*P. nigra* var. *thevestina* x *P. deltoides* sub. *angulata*): Ge-98 y Ge-178, fueron analizados mediante flavonoides. Se concluye que la distribución obtenida de flavonoides no es afectada por las diferencias ecológicas, que no se mantienen los patrones específicos citados en la bibliografía y que la probable apomixis diplospórica de los clones Ge-98 y Ge-178 no puede ser descartada.

SUMMARY

The inter e intraspecific relationships of the cultivated poplar clons: Populus deltoides sub. angulata, P. nigra var. thevestina, P. alba y Populus x euroamericano (I-214), and of two experimental clons obtained in Mendoza: (P. nigra var. thevestina x P. deltoides sub. angulata): Ge-98 y Ge-178, were analysed through flavonoids. It was concluded that the obtained flavonoids distribution is not af-

ected by ecological differences, the specific matter mentioned in the bibliography is not maintained and the probable diplosporic apomixis of Ge-98 and Ge-178 clons can not be rejected.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de caracteres bioquímicos, como complemento de los morfológicos en taxonomía vegetal, se remonta a décadas pasadas (Silvestri y Lotti, 1987). El análisis de flavonoides fue propuesto como uno de los primeros intentos de utilizar este tipo de caracteres (Ronald, *et al.*, 1973; Silvestri y Lotti, 1987). En determinaciones en *Populus* (álamo), diferentes especies mostraban diferencias cualitativas a nivel interespecífico, pero no en el intraespecífico. Se encontraron relaciones genéticas, comparando los componentes de las especies paternas, *Populus deltoides* y *Populus nigra*, con los de los híbridos euroamericanos naturales conocidos (I-214, I-455) (Boccone, 1975).

El posterior desarrollo de la biología molecular permitió aprovechar inicialmente las diferencias a nivel proteico, especialmente en las isoenzimas (Silvestri, 1987; Weber & Stettler, 1981) y luego a

nivel de fragmentos de DNA (Rajora, 1988; Pérez de la Vega, 1997). El alto grado de polimorfismo encontrado en estos marcadores y la facilidad de su interpretación genética, desplazó el uso de los flavonoides.

No obstante, dada la carencia de antecedentes en nuestro medio, en esta nota comunicamos algunas experiencias locales de interés pues se comparan clones de especies diferentes e híbridos naturales y se incluyen clones experimentales obtenidos por cruzamientos dirigidos (Lotti, 1987; Silvestri y Lotti, 1987).

MATERIAL Y MÉTODO

Los clones cultivados analizados fueron *Populus deltoides* sub. *angulata* (Carolino); *Populus nigra* var. *thevestina* (Hamoui), *Populus alba* (Boleana) y *Populus x euroamericano* (I-214) (González Vázquez, 1953). Se incluyeron también dos clones experimentales obtenidos artificialmente en Mendoza, provenientes del cruzamiento de Hamoui por Carolino (Lotti, 1987) y que se designan como Ge-98 y Ge-178.

Se cultivaron cinco plantas de cada clon en macetas en invernáculo. Para la extracción y análisis de los flavonoides, se siguió la técnica sugerida por Boccone (Boccone, 1975), que consiste en tomar 5 gramos de hojas frescas finamente trituradas en un molino de martillo y luego llevar a 100 ml con alcohol metílico al 70 % (V/V). El extracto se somete luego a 70 °C en baño María y con refrigerante a reflujo, durante 15 minutos. Luego se enrasa nuevamente a 100 ml con alcohol y se conserva 12 horas en heladera (4 a 5 °C).

La separación de los flavonoides se hizo por cromatografía bidimensional con papel Whatman MM, usando como eluyente una mezcla de alcohol butílico terciario, ácido acético glacial y agua en proporciones 3:1:1 (TBA) para una dimensión y acético glacial : agua 15 a 85. (AG) para la otra.

Se consideraron por simplificación sólo los flavonoides que luego de exponer el papel a vapores de amoníaco dieron manchas amarillas.

En cada corrida se calculó la distancia entre el origen y los centros de las manchas (Lm) y la distancia entre el origen y el frente del eluyente (Le), lo que permitió calcular la relación de frente (Rf), como :

$$Rf = Lm / Le$$

Se efectuó una determinación por plan-ta, lo que representa cinco repeticiones (individuos) por clon.

RESULTADOS

Los valores medios de los Rf y los coeficientes de variación para los dos frentes de cada mancha y clon, se muestran en la Tabla 1.

Los clones analizados varían en el número y la posición de las manchas. El mayor número detectado fue en I-214 y en Ge-178, con cuatro manchas y los menores en Hamoui y en Ge-98, con sólo dos. Los Rf determinados presentan coeficientes de variación bajos, inferiores al 10%, excepto el correspondiente a la cuarta marca del carolino, donde alcanzan valores de 17 y 18 %, para los frentes TBA y AG respectivamente.

Tabla 1. Rf medios y coeficientes de variación para TBA y AG de los flavonoides característicos de los diversos clones de álamo

Table 1. Average Rf and variation coefficients for TBA and GB of characteristics flavonoids from different Populus clons

| Clon | Mancha | 1° | | 2° | | 3° | | 4° | |
|--------------|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | Rf | cv | Rf | cv | Rf | cv | Rf | cv |
| I-214 | TBA | 0,78 | 0,06 | 0,58 | 0,05 | 0,64 | 0,10 | 0,58 | 0,01 |
| | AG | 0,50 | 0,05 | 0,56 | 0,07 | 0,42 | 0,06 | 0,26 | 0,03 |
| P. alba | TBA | 0,70 | 0,04 | 0,77 | 0,10 | 0,54 | 0,03 | - | - |
| | AG | 0,41 | 0,06 | 0,69 | 0,13 | 0,63 | 0,07 | - | - |
| P. deltoides | TBA | 0,55 | 0,07 | 0,79 | 0,07 | 0,71 | 0,17 | - | - |
| | AG | 0,29 | 0,08 | 0,51 | 0,10 | 0,58 | 0,18 | - | - |
| Hamoui | TBA | 0,78 | 0,02 | 0,70 | 0,02 | - | - | - | - |
| | AG | 0,60 | 0,02 | 0,62 | 0,03 | - | - | - | - |
| Ge-98 | TBA | 0,75 | 0,03 | 0,68 | 0,03 | - | - | - | - |
| | AG | 0,44 | 0,03 | 0,61 | 0,04 | - | - | - | - |
| Ge-178 | TBA | 0,76 | 0,02 | 0,68 | 0,03 | 0,46 | 0,07 | 0,42 | 0,09 |
| | AG | 0,46 | 0,02 | 0,59 | 0,04 | 0,60 | 0,07 | 0,52 | 0,10 |

En la Figura 1 se muestra un esquema donde se representa, en forma simplificada, los cromatogramas de los clones incluidos en estas determinaciones.

Si se comparan los clones de las tres especies, *P. deltoide*, *P. alba* y *P. nigra* (Hamoui), se pueden apreciar distribuciones típicas. El clon Hamoui presenta sólo dos manchas, que con similar posición relativa, aunque con diferente Rf, se repiten en todos los casos. En *P. deltoides* aparecen tres, las dos comunes y una tercera de menor migración, situación que se revierte en *P. alba* donde la tercera tiene mayor migración en los frentes.

En I-214 se pueden observar tres mar-

cas que se aproximan a *P. deltoides*, más una cuarta mancha, ausente en los dos clones de las especies progenitoras incluidas en este conjunto. En cuanto a Ge-98 y Ge-178, puede verse en el primero sólo un par de marcas similares a Hamoui, mientras que en Ge-178 aparecen además otras dos que no estaban representadas en los restantes clones.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos son concordantes con los comunicados por Boccone (Boccone, 1975) para el caso de *P. alba* e I-214. Por el contrario en los casos Hamoui y *P. deltoides*, nuestros resultados no se

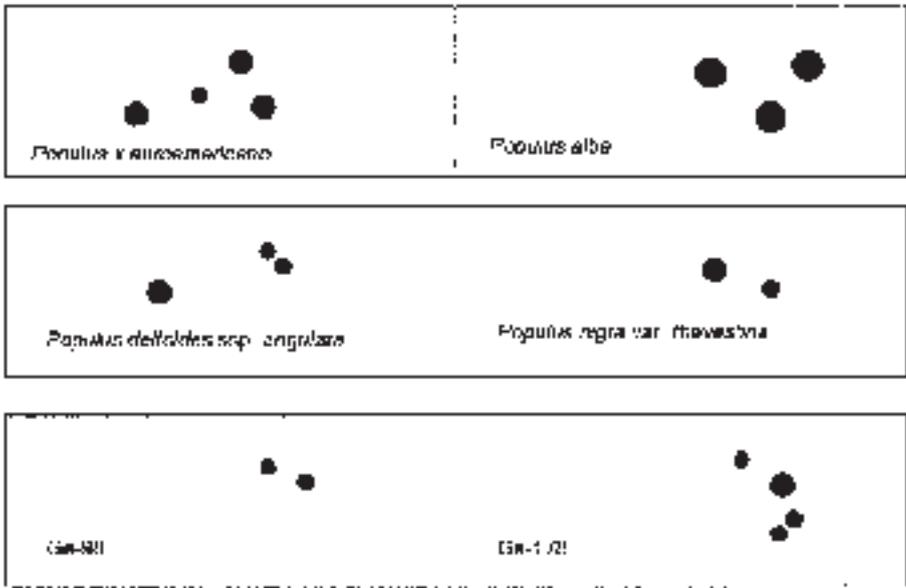


Figura 1. Representación esquemática de los cromatogramas de los diferentes clones de *Populus* estudiados

Figure 1. Chromatograms schematic representation of different analysed *Populus* clons

asemejan a los de clones representantes de *P. nigra* y *P. deltoides* de este autor. Esto indicaría que no se cumplió el patrón de especies que él propone. La similitud, cuando los clones son los mismos, sugiere que las variaciones que aparecen al comparar clones diferentes pero de la misma especie no pueden atribuirse a influencias de los diferentes ambientes.

En cuanto a los materiales experimentales, Ge-98 pertenecen a un lote de más de 50 individuos derivados de semillas obtenidas por las polinizaciones de Hamoui (femenino) por *P. deltoides* (masculino) (Lotti, 1987; Silvestri y Lotti, 1987). A pesar de la poca viabilidad comprobada del cruzamiento de un clon de *P.*

nigra femenino por un *P. deltoides* masculino (Lotti, 1987; Stettler, *et al.*, 1996), se logró un conjunto de primera generación totalmente homogéneo en cuanto a caracteres morfológicos y sólo con diferencias en el sexo. Esto último permitió obtener una segunda generación, también de fenotipos uniformes y similares a Hamoui. A este conjunto pertenece Ge-178. La falta de segregación en la segunda generación indujo a postular la existencia de apomixis diplospórica (Lotti, *et al.*, 1976).

La presencia, en nuestra pruebas, de dos manchas similares a Hamouí en el clon de primera generación (Ge-98) y las diferencia entre las manchas nuevas de

Ge-178, con las de *P. deltoides* e I-214, no permiten descartar dicha hipótesis.

Se puede concluir, con las limitaciones del bajo número de clones incluidos en las muestras, que: la distribución de los flavonoides detectados por el método no es afectada por las diferencias ecológicas; no se mantienen los patrones específicos citados en la bibliografía y no se puede rechazar la hipótesis del origen apomítico de los clones experimentales incluidos.

BIBLIOGRAFÍA

- BOCCONE, A., 1975. Differenze chemio-tassonomiche tra specie e cloni di pioppo a livello del contenuto in flavoni. Estrelto da Cellulosa e Carta N° 11.
- GONZÁLEZ VAZQUEZ, E., 1953. Los chopos y sus maderas Tipog. Moderna, Valencia.
- LOTTI, A., C. RIGONI, V. SILVESTRI, y V. GUTIÉRREZ, 1976. Apomixis probable en cruzamientos de *Populus nigra* (c.v. Hamuí) por *Populus deltoides* (c.v. Carolino). Actas del VII Congreso Anual de la Sociedad Argentina de Genética . Ushuaía.
- LOTTI, A., 1987. Plan de mejoramiento en álamo . Informe del convenio IFONA Rivadavia-UNC Cátedra de Silvicultura.F.C.Agrarias.
- PÉREZ DE LA VEGA, M., 1997. El uso de marcadores moleculares en genética vegetal y mejora. Invest. Agr., Prod. Prot. Veg. 12 (1,2,3): 34-59.
- RAJORA, P., 1988. Allozymas as Aids for identification and differentiation of soma *Populus maximowiczii*. Biochemical Systematics and Ecology 7/ 8: 635-640.
- RONALD, W., M. LEUZ and M. CUMMING, 1973. Biosystematics of the *Populus* L. Chemotaxonomy, phenology, fertility and segregates of native Manitoba species and variants. Can. J. Bot. 51 (12): 2443-2453.
- SILVESTRI, V., 1987. Aplicación de técnicas citológicas y bioquímicas en determinaciones en el género *Populus*. Cuaderno de Dasonomía N° 7- Instituto Forestal. Facultad de Ciencias Agrarias. U.N.C, 27-33 pp.
- SILVESTRI, V y A. LOTTI, 1987. Experiencias de mejoramiento genético en los álamos. Los Andes 19 de Julio, Mendoza.
- STETTLER, R.F., H. D. BRADDSHAW, F. E. HEILMAN (JR.), and T. M. HEINCKLEY, 1996. Biology of *Populus* and its implications for management and conservation. NRC Reseach Pres, Ontario Canada, 539 pp.
- WEBER, J. and R. STETTLER, 1981. Isoenzyme Variation among ten population of *Populus trichocarpa*. Silvac. Genetics 30: 23.