

CARACTERIZACION POR MEDIO DE MARCADORES MOLECULARES, COMO BASE EN EL MEJORAMIENTO GENETICO DEL GENERO *Passiflora* L.

Inés Sánchez¹, Fernando Angel², Diego Fajardo¹, Maria Fernanda Castillo¹, Mario Lobo¹, Mikkel Grum³, Joe Tohme², William Roca²

¹Programa Nacional de Recursos Genéticos de CORPOICA. ²Unidad de Biotecnología CIAT. ³IPGRI - Américas.

INTRODUCCION

El género *Passiflora*, cuenta con unas 400 especies, llamadas comunmente granadillas, curubas, badeas, pasifloras, pasionarias, parchas, parchitas, tumbo, curubo, curubito, maracuyá, taxo, etc. Se encuentran, desde el nivel del mar hasta los subpáramos. Han evolucionado con diferentes sistemas de polinización y ciclos de vida (1). Constituyen una riqueza muy valiosa, tanto a nivel económico, como de recursos genéticos. Su flor ha despertado gran interés en la industria de plantas ornamentales en Europa. Algunas pasifloras tienen propiedades sedativas, antiespasmódicas y antibacteriales (2). En América Latina, centro de diversidad y origen, es el fruto, el que tiene mayor importancia a nivel de la agroindustria.

La caracterización y análisis de la diversidad genética de las pasifloras, es prioridad en los países andinos a través de la REDARFIT (Red Andina de Recursos Fitogenéticos), para la elaboración de esquemas de mejoramiento y de conservación *ex situ*.



OBJETIVOS

- Caracterizar y analizar por medio de marcadores moleculares la diversidad genética de especies del género *Passiflora* para su futura conservación y utilización.
- Analizar el polimorfismo intrapoblacional y su dinámica, en poblaciones de *Passiflora* colectadas en Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela.
- Analizar las distancias genéticas entre las diferentes poblaciones de *Passiflora*.

MATERIALES Y METODOS

Se colectan esquejes en la zona andina de Colombia, que luego son conservados en el Centro de Investigaciones de la Selva, Rio Negro, (Ant.) a 1800 msnm. En Ecuador, Perú y Venezuela se colectan y se conservan en sus respectivos bancos de donde se envían hojas para el proceso de extracción del ADN, utilizándose el método de DELLAPORTA et al. (1983) (3). Para los marcadores RAPD, se siguió la metodología de WILLIAMS et al. (1990) (4). Se analizaron 125 entradas pertenecientes a 26 especies. Se evaluaron 183 "primers" de los cuales 50 fueron utilizados por su repetibilidad resolución y buen nivel de polimorfismo. Con los marcadores de RFLP, se realizaron digestiones de ADN total de 36 entradas de 12 especies de pasifloras, con 4 enzimas de restricción: *Hind* III, *Eco* RI, *Ava* I y *Hae* III, con 8 sondas heterólogas de cloroplasto, cpADN, (*Petunia* y Mung Bean). Los procedimientos de hibridación y marcaje se realizaron según previa descripción de ANGEL et al. (1993) (5).



Pasifloras, La Selva, Rionegro (Antioquia)

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados con RAPD, indican un alto nivel de polimorfismo intraespecífico en *P. ligularis*, *P. maliformis* y *P. edulis* dando bases para el mejoramiento genético de éstas especies. Las entradas del subgénero *Tacsonia*, presentan rangos de similaridad más estrechos, insinuando un importante flujo de genes por hibridaciones interespecíficas, con importantes implicaciones para la taxonomía actual.

Con los resultados de RFLP de cpDNA se obtuvieron 32 hibridaciones de las cuales 28 presentaron patrones polimórficos. Las combinaciones sonda-enzima de restricción con mayor polimorfismo fueron MB1/*Ava*I y MB10/*Eco*RI. Seis de las ocho sondas evaluadas, detectaron al menos un caso de polimorfismo intraespecífico. Las digestiones con *Eco* RI, las distancias genéticas y el análisis de agrupamientos, muestran un alto grado de polimorfismo de cpADN, en *P. ligularis*, *P. edulis* y *P. maliformis*; concordando en un 75% con la variación obtenida con RAPD.

Dado el carácter conservativo del DNA de cloroplasto, éstos resultados son de gran importancia para la conservación de los recursos genéticos nativos, para el mejoramiento de especies promisorias como las pasifloras, permitiendo abordar procesos evolutivos, elucidar posibles hibridaciones, introgresiones y analizar flujos genéticos.

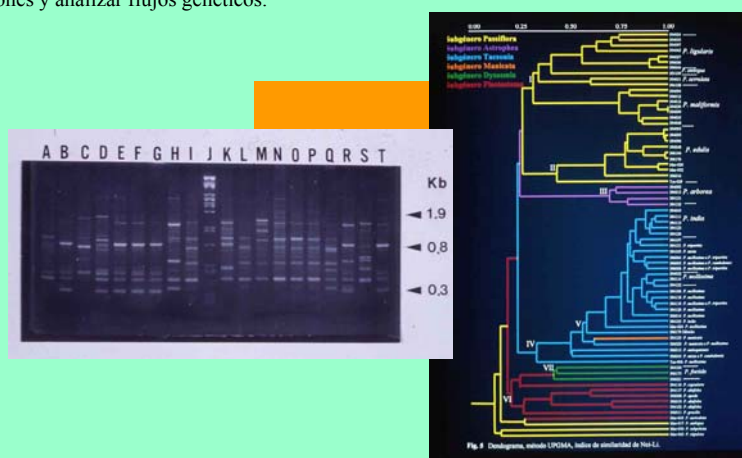
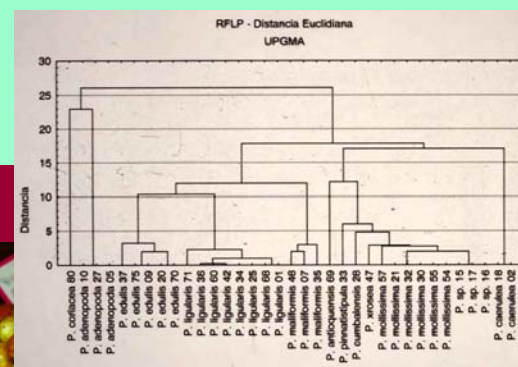


Fig. 8. Dendrograma, método UPGMA, índice de similitud de Nei-Li.



VARIACION INTRA-ESPECIFICA DE PASIFLORAS

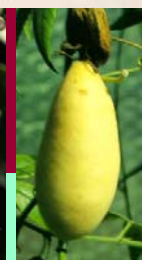
Especie	E. R.	Sonda	Cp	Mutacion	Entrada
<i>P. maliformis</i>	<i>Eco</i> RI	MB1	IR	2.5 Kb	35
<i>P. maliformis</i>	<i>Eco</i> RI	P19	IR	1.4	07, 48
				3.0	35
<i>P. maliformis</i>	<i>Hind</i> III	MB2	IR-SSC	4.4	07
				-	35,48
<i>P. maliformis</i>	<i>Hae</i> III	MB8	LSC	4.0	48
				1.4	07,35



P. edulis (maracuyá)



P. maliformis (gulupa)



P. mollissima (curuba)



P. caerulea (ornamental)

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Estos resultados, permiten cuantificar el grado de variabilidad intraespecífica en especies con mayor potencial económico como *P. ligularis* (granadillas) y las especies del subgénero *Tacsonia* (curubas), *P. mollissima* y *P. sp.* India, para la implementación de programas de conservación y mejoramiento de dichas especies.
- Los resultados con RAPD, marcadores nucleares, muestran altos índices de similaridad entre las especies del subgénero *Tacsonia*, insinuando flujo genético entre ellas.
- Los cpDNA, muestran diferentes grados de polimorfismo en unas pocas especies; *P. maliformis*, presenta alta variación intraespecífica en tres entradas estudiadas; dos de las cuales provienen de la misma región.
- No se observa correlación de la variación con la situación geográfica; estudios posteriores permitirán elucidar si existe o no, alguna relación.
- Se recomienda aumentar el muestreo con más entradas, representando un número mayor de especies y abarcando una zona de distribución geográfica más amplia. Se utilizarán marcadores AFLP, por su poder discriminante, en el subgénero *Tacsonia* tratando de aclarar problemas de taxonomía, especialmente entre las especies denominadas por los taxónomos *P. mixta*, *P. mollissima*, *P. tripartita* y la conocida solamente como curuba india.

REFERENCIAS

- ESCOBAR, L.K., 1988. Flora de Colombia. 10. Passifloraceae. Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.
- PERRY, N.B; G.D. ALBERTSON; J. W. BLUNT; A.L.COLE; M.H. MUNRO & WALKER, 1991. Planta médica 57(2): 129-131.
- DELLAPORTA, S.L.; J. WOOD & J.B. HICKS, 1993. Plant Mol Biol Rep 1: 19-21.
- WILLIAMS, J.G.K.; A.R. RUBELIK, K.J. LIVAK; J.A. RAFALSKI & S.V. TINGEY, 1990. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.
- ANGEL, F.; ARIAS, D.I.; TOHME, J.; IGLESIAS, C. & ROCA, W. 1993. Journal of Biotechnology 31:103-113.