

## Genetic and environmental effects on the phenotypic structure of *Antirrhinum*

### Efectos genéticos y medioambientales en la estructura fenotípica de *Antirrhinum*

R. Alcantud\*, J. Weiss, M. Egea-Cortines

Instituto de Biotecnología Vegetal (IBV), Campus Muralla del Mar, Edificio I+D+I, Universidad Politécnica de Cartagena, 30202, Cartagena. Spain

\*raquelalcantudrodriguez@gmail.com

#### **Abstract**

***Antirrhinum majus* has been used as a model plant in genetics since the beginning of the 20 Century. Species of *Antirrhinum* have also been used in studies of natural variation. In the present study we used *A. majus* line 165E in order to study the effect of various temperature regimes over the vegetative and generative development with special emphasis on pollen viability and volatile profile. These two parameters are of special importance for pollination.**

**Keywords:** flower; pollen; segregation; temperature; volatiles.

#### **Resumen**

***Antirrhinum majus* se ha utilizado como planta modelo en genética desde el principio del siglo XX. Varias especies de *Antirrhinum* se han utilizado también en estudios de variación natural. En el presente ensayo hemos utilizado *A. majus* línea 165E para estudiar el efecto de diferentes combinaciones de temperaturas sobre caracteres vegetativos y generativos con especial énfasis en la viabilidad del polen y el perfil de volátiles. Estos dos parámetros son de especial importancia para la polinización.**

**Palabras clave:** flor; polen; segregación; temperatura; volátiles.

## **1. INTRODUCCIÓN**

Hoy en día junto con *Arabidopsis thaliana*, *Antirrhinum* es uno de los modelos más utilizados para estudios de los genes involucrados en el desarrollo de las plantas; además de ser una especie de interés ornamental, *Antirrhinum* también es objeto de estudio en desarrollo floral o en la síntesis y emisión de volátiles [1]; estos últimos están cobrando una especial importancia ya que parece estar negativamente influido por el incremento de la temperatura [2]. En la actualidad los protocolos de transformación y análisis fenotípicos están desarrollados en su totalidad [3].

En el presente trabajo, aplicando estos protocolos y utilizando *Antirrhinum majus* (línea 165E), se ha estudiado el efecto de la temperatura en la viabilidad del polen, el tamaño de las flores y la concentración de antocianinas en pétalos. Nuestro objetivo es comprender mejor el efecto medioambiental sobre el desarrollo generativo en el género *Antirrhinum*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

El material vegetal utilizado fue plantas de *Antirrhinum majus* 165E. Las plantas fueron sembradas inicialmente en vermiculita en una cámara de cultivo y trasladadas más tarde a los invernaderos de la Finca Experimental Tomás Ferro, donde se trasladaron a un sustrato combinado con fibra de coco, vermiculita, perlita y turba.

### 2.2 Estudio del efecto de la temperatura

Diez plantas de la línea *A. majus* 165E fueron colocadas en distintas cámaras de crecimiento bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad. Las temperaturas aplicadas para el ensayo estándar fueron 22°C/16°C, el ensayo de temperatura baja fueron 15°C /5°C el ensayo de temperatura alta fueron 30°C /23°C durante el día y la noche, respectivamente. Las muestras de flores fueron tomadas en los días 0, 3 y 5 de floración (estadio o stage I, II, III) (Fig.1). Estas muestras se destinaron a la medición del tamaño de la flor y longitud del pedúnculo, la viabilidad del polen y el análisis del color. Las medidas se tomaron usando un calibre. El polen fue teñido con una solución de lactophenol blue y observado bajo el microscopio con 10 aumentos para determinar su viabilidad. Finalmente para el color de las flores se midieron las antocianinas (Fig. 2) utilizando un método de extracción con Metanol:HCL y un espectrofotómetro UV-1600 (SHIMADZU, Kyoto , Japón).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios realizados en especies de interés en producción y floricultura muestran que el número de flores producidas por una planta y su tamaño está controlado genéticamente [6, 7], y en ocasiones como respuesta al medio ambiental.

El desarrollo de metodologías y ensayos previos en cuanto a la viabilidad del polen [3] y volátiles [8] en las especies *A. tortuosum* y *A. majus* nos proporcionan información valiosa preliminar que nos permite una comparación de estos parámetros bajo diferentes condiciones ambientales, como la temperatura.

En nuestro ensayo la viabilidad del polen fue menor en las flores aclimatadas a altas temperaturas, con una oscilación entre un 20% y un 60%, lo que puede afectar negativamente a la reproducción y la producción de semillas, mientras que en las flores aclimatadas a bajas temperaturas oscilaron entre un 90% y un 95%, (Fig. 3). El color de las flores varió entre tratamientos, el grupo de flores de bajas temperaturas presentó una mayor concentración de antocianinas [9] mientras que el grupo de altas temperaturas mostró una baja concentración (Fig. 2)

Los estudios del efecto de temperatura sobre características vegetativas y generativas en *A. majus* línea 165E se concentran a parte del análisis de la viabilidad del polen, también en la cantidad de clorofila en hojas, en el análisis de volátiles, la longitud del pedúnculo, el color de las flores y el nivel de antocianinas extraídas de tejido de pétalos bajo las diferentes temperaturas.

## 4. CONCLUSIONES

Las distintas condiciones de temperatura tienen un efecto sobre parámetros florales que pueden afectar al éxito de la polinización, como la viabilidad de polen, el tamaño de las flores y la concentración de antocianinas en los pétalos.

## 5. AGRADECIMIENTOS

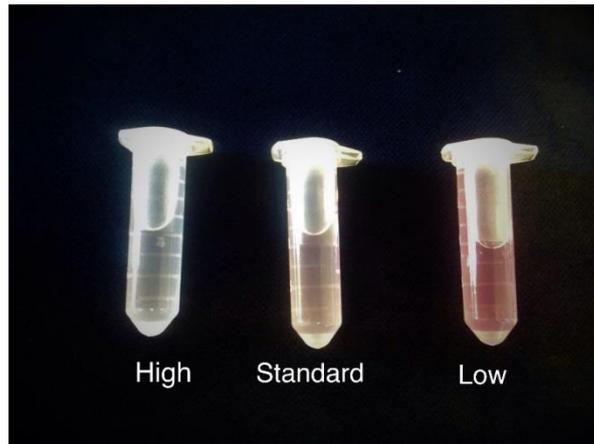
Se agradece a la unidad de Genética Molecular del IBV la colaboración de los doctorandos, la colaboración del SAIT y la tutela de los doctores Julia Weiss y Marcos Egea. El trabajo se enmarca dentro del proyecto BFU- 2013-45148-R y BFU-2017 88300-C2-1-R.

## 6. REFERENCIAS

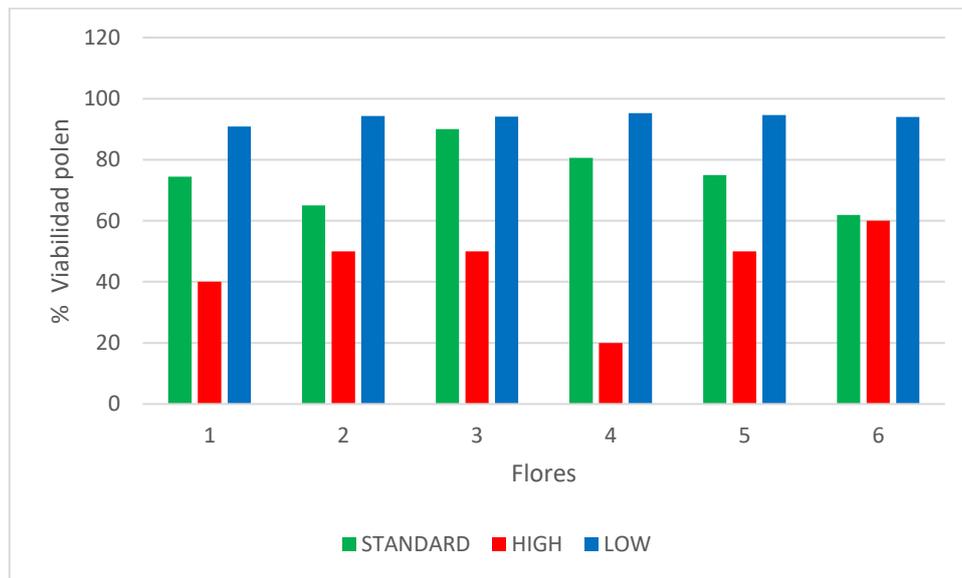
- [1] Dudareva N., Pichersky E., Gershenzon J. 2004. Biochemistry of plant volatiles. *Plant physiol.* 135(4): 1893-1902.
- [2] Cna'ani A., Mühlemann JK., Ravid J., Masci T., Klempien A., Nguyen T., Dudareva N., Pichersky E & Vainstein A. 2015. *Petunia X hybrida* floral scent production is negatively affected by high-temperature growth conditions. *Plant, Cell and environment.* 38:1333-1346.
- [3] Bayo-Canha A., Delgado-Benarroch L., Weiss J., Egea-Cortines M. 2007. Artificial decrease of leaf area affects inflorescence quality but not floral size in *Antirrhinum majus*. *Scientia horticultrae.* 113(4):383-386.
- [4] Ruíz-Ramón F., Águila D. J., Egea-Cortines M., Weiss J. 2014. Optimization of fragrance extraction: daytime and flower age affect scent emission in simple and double narcissi. *Industrial Crops and Products.* 52:671-678.
- [5] Alaimo MG., Melati MR & Scialabba A. 1997. Pollen grain stereostructure, viability and germination; correlation with temperature of *Antirrhinum tortuosum* Bosc. *Acta Botánica Gallica.* 144:1171-181.
- [6] Byzova M. V., Franken J., Aarts M. G., de Almeida-Engler J., Engler G., Mariani C., Angenent, G. C. 1999. *Arabidopsis* STERILE APETALA, a multifunctional gene regulating inflorescence, flower, and ovule development. *Genes & development.* 13(8):1002-1014.
- [7] A Manchado-Rojo M., Delgado-Benarroch L., Roca M.J., Weiss J., Egea-Cortines M. 2012. Quantitative requirements of *Deficiens* and *Globosa* for late petal development show a complex transcriptional network topology of B function. *Plant Journal.* 72: 294-307. doi:10.1111/j.1365-313X.2012.05080.x
- [8] Ruiz-Hernández V., Hermans B., Weiss J., Egea-Cortines M. 2017. Genetic analysis of natural variation in *Antirrhinum* scent profiles identifies benzoic acid carboxymethyl transferase as the major locus controlling methyl benzoate synthesis. *Front. Plant. Sci.* 8.
- [9] Zhang X., Xu Z., Yu X., Zhao L., Zhao M., Ha X., Qi S. 2019. Identification of Two Novel R2R3-MYB Transcription factors, PsMYB114L and PsMYB12L, Related to Anthocyanin Biosynthesis in *Paeonia suffruticosa*. *Int. J. Mol. Sci.* 20: 1055.



**Figura 1.** Flores de tratamientos Standard, High y Low.



**Figura 2.** Antocianinas extraídas de flores en tratamientos Standard, High y Low.



**Figura 3.** % Viabilidad del polen en 6 flores, en los tratamientos Standard, High y Low.