



**Trabajo de Intensificación para acceder al título de
Ingeniera Agrónoma**

Caracteres reproductivos en cuatro especies nativas de *Sphaeralcea* con interés ornamental



Alumna: Schwab, Gisela Elizabeth

Docentes tutores: Marinangeli, Pablo

Gutierrez, Agustina

-Docentes consejeros: Ureta, María Soledad

Gil, María Elena

Departamento de Agronomía- Universidad Nacional del Sur

2024

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a mi familia que siempre fue motor, acompañamiento e impulso en todos estos años. En especial a mis padres Angel y Adriana que se esforzaron mucho para que yo pudiera dedicar el tiempo necesario para llevar a cabo la carrera, y a mi hermano Cristian por estar siempre a mi lado.

A mi grupo scout que son mi segunda familia, me acompañaron en todo momento y entendieron cuando necesité más tiempo para estudiar.

A mis amigos de la universidad y compañeros de estudio que fueron un gran apoyo, con quienes compartimos y transitamos juntos hermosos momentos en este camino.

A Pablo Marinangeli y Agustina Gutierrez, mis tutores, quienes desde el primer momento dedicaron apoyo y su tiempo para explicarme, compartieron conmigo su conocimiento y pasión por las nativas, estuvieron predispuestos para acompañarme en este proceso.

Por último, y muy importante, a la Universidad Nacional del Sur y el Departamento de Agronomía que brindaron todos los momentos, espacios y materias para mi formación académica.

A todos muchas gracias.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
Hipótesis y Objetivos.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Región de colecta de especies nativas:	10
Material vegetal.....	11
Receptividad del estigma	13
Viabilidad de polen.....	14
Grado de autoincompatibilidad	15
RESULTADOS.....	18
Receptividad del estigma	18
Viabilidad del polen.....	19
Grado de autoincompatibilidad	21
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1-A) <i>Sphaeralcea bonariensis</i> . B) <i>Sphaeralcea australis</i> . (Fotos de Marinangeli Pablo, Gutierrez Agustina)	7
Figura 2- A) <i>Sphaeralcea crispera</i> . B) <i>Sphaeralcea mendocina</i> . (Fotos de Marinangeli Pablo, Gutierrez Agustina y del autor)	8
Figura 3- Distribución geográfica y sitios de recolección de las poblaciones estudiadas de <i>Sphaeralcea australis</i> , <i>S. crispera</i> , <i>S. mendocina</i> y <i>S. bonariensis</i> en la región pampeana Argentina	10
Figura 4- Carpa antiáfidos dentro del invernadero donde se mantuvieron las plantas y se realizaron los cruzamientos dirigidos (Foto del autor)	12
Figura 5- A) Flor emasculada con estigma expuesto, B) Estigma receptivo con presencia de burbujeo y C) Estigma no receptivo con ausencia de burbujeo	13
Figura 6- Campo de microscopio óptico, se visualizan granos de polen viables (color violeta) y no viables (color verde) con la técnica de Alexander	14
Figura 7- Plantas de las distintas especies con flores protegidas para someterlas a autofecundación.	15
Figura 8- Receptividad del estigma (%) en flores de <i>Sphaeralcea australis</i> , <i>S. bonariensis</i> , <i>S. crispera</i> y <i>S. mendocina</i> en función de la hora del día.	19
Figura 9- Viabilidad del polen (%) en <i>Sphaeralcea australis</i> (Sa), <i>S. bonariensis</i> (Sb), <i>S. crispera</i> (Sc) y <i>S. mendocina</i> (Sm) en diferentes momentos del día. Medias con letras diferentes indican diferencias significativas con el Test LSD de Fisher, $p < 0,05$. Cada barra vertical representa la media \pm error estándar.	20
Tabla 1- Cruzas interespecíficas recíprocas e intraespecíficas realizadas.	16
Tabla 2- Número de flores polinizadas (NFP), número de frutos producidos (NFP), porcentaje de fructificación (FP), número de semillas llenas (NFS), número de semillas vacías (NES) y porcentaje de fertilidad de semillas (SFP) para cruces intraespecíficos y cruces recíprocos interespecíficos entre <i>S. australis</i> (Sa), <i>S. bonariensis</i> (Sb), <i>S. crispera</i> (Sc) y <i>S. mendocina</i> (Sm)	22

INTRODUCCIÓN

El inicio de la floricultura comercial en Argentina data de principios del Siglo XX, al norte del Gran Buenos Aires, gracias a la contribución de distintas comunidades de inmigrantes, por lo que se considera una actividad productiva relativamente reciente.

El mercado de plantas ornamentales se caracteriza por presentar una oferta muy diversificada de especies y variedades, sin embargo, en Argentina, la producción florícola es poco variada, lo que retrasa el crecimiento del mercado tanto interno como externo. A su vez, la actividad florícola en nuestro país depende casi exclusivamente de variedades extranjeras e inclusive se pagan regalías por variedades que provienen de germoplasma argentino. Por otra parte, las variedades que actualmente el productor tiene a disposición han sido mejoradas genéticamente en otros países y no siempre están bien adaptadas a condiciones agroecológicas locales.

Las plantas nativas hacen un uso más eficiente de los factores ambientales como el agua y el resto de las variables climáticas, edáficas y biológicas, lo que permitiría un buen comportamiento bajo las condiciones locales y una menor demanda de mantenimiento. Por lo tanto, utilizar plantas nativas presenta ventajas por sobre las plantas exóticas debido a su adaptación frente a condiciones edafoclimáticas adversas. Asimismo, el uso de germoplasma nativo en programas de mejoramiento contribuye a la conservación de la biodiversidad (Masini y Rovere, 2015).

Argentina continental tiene una superficie cercana a los 2,8 millones de km², una geografía muy variada, numerosos tipos de climas y suelos y, como consecuencia, muchos tipos de vegetación. De acuerdo con Zuloaga *et al.* (2019), alrededor de 10.000 especies componen la flora argentina, entre las que se encuentran numerosas hierbas, arbustos y árboles con múltiples y coloridas flores con potencial ornamental que aún no han sido explorados.

La familia *Malvaceae* se distribuye en el mundo en regiones de clima templado y cálido, y está representada por 915 especies. En América del Sur se

encuentran 63 géneros pertenecientes a esta familia y 533 especies de hierbas, arbustos y árboles, de las cuales 315 son nativas, 202 endémicas y 16 exóticas (Zuloaga *et al.*, 2019). Algunas especies son económicamente importantes, como varias especies de *Gossypium*, incluido el algodón. Otras tienen propiedades medicinales (Martínez y Barboza, 2010) e interés ornamental (Gutierrez *et al.*, 2021). Algunos géneros de *Malvaceae* con potencial ornamental son *Pavonia*, *Lecanophora*, *Modiolastrum*, *Rynchosida* y *Sphaeralcea* (Ponce *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2008; Masini y Rovere, 2015; Gutierrez *et al.*, 2021).

El género *Sphaeralcea* que está escasamente estudiado, reúne especies nativas con características atractivas para la horticultura ornamental, como es el caso de *S. australis*, *S. crispa*, *S. bonariensis* y *S. mendocina* (Gutierrez y Marinangeli, 2018, Gutierrez *et al.*, 2021). También tienen tolerancia a estrés hídrico, altas y bajas temperaturas y a la elevada insolación, lo que las convierte en buenas candidatas para el desarrollo de materiales mejorados, adaptados y resistentes a condiciones climáticas extremas y para un paisajismo sustentable en el cuál se tiene especial cuidado en el consumo de recursos naturales (Gutiérrez *et al.*, 2019).

Los estudios sobre la morfología de las especies utilizadas en el presente trabajo citan que las cuatro especies son subarborescentes perennes, con tallos y hojas pubescentes de color grisáceo. Las inflorescencias son racimosas, y existe variación en el número de flores entre las distintas especies. La corola presenta cinco pétalos de dos colores distribuidos en forma de ojo basal y rayado, siendo estos colores distintos entre las especies. Para *Sphaeralcea bonariensis* (Figura 1.A), conocida como malva blanca, el color principal es salmón y morado el secundario, para *S. australis* (Figura 1.B), conocida como malvavisco, y *S. crispa* (Figura 2.A), conocida como malvavisco coral, el color principal es naranja y morado el secundario y para *S. mendocina* (Figura 2.B), conocida como malvón de campo, el color principal es rosado y morado el secundario (Dascanio, 2022).



Figura 1-A) *Sphaeralcea bonariensis*. B) *Sphaeralcea australis*. (Fotos de Marinangeli Pablo, Gutierrez Agustina)



Figura 2- A) *Sphaeralcea crispa*. B) *Sphaeralcea mendocina*. (Fotos de Marinangeli Pablo, Gutierrez Agustina y del autor)

El conocimiento de la biología reproductiva de las plantas es fundamental para los programas de mejoramiento clásico, ya que permite una mejor orientación y planificación de los cruzamientos. En el caso de las especies en estudio se conoce la morfología floral, las mismas son hermafroditas, abiertas, muy vistosas, actinomorfas, y el estigma y los estambres alcanzan la madurez al mismo tiempo, pero se desconoce su biología reproductiva. Este conocimiento es esencial para ser utilizado en las polinizaciones y para aumentar las posibilidades de una fertilización exitosa. Algunas de estas características reproductivas son la viabilidad del polen, la receptividad del estigma, el grado de autoincompatibilidad y la habilidad combinatoria. La viabilidad del polen y la receptividad del estigma juegan un papel importante en las hibridaciones exitosas (Figueiredo *et al.*, 2020). La viabilidad del polen es una medida de la

fertilidad masculina (Liu *et al.*, 2021), el polen viable es fundamental para el proceso de reproducción y su longevidad puede verse afectada por la temperatura y la humedad relativa (Ren *et al.*, 2019). La receptividad del estigma es la capacidad de recibir el polen por parte de la porción femenina, permitiendo que el polen se adhiera, hidrate y germine (Shivanna y Sawhney, 1997). La receptividad del estigma está relacionada con la actividad de enzimas como la peroxidasa, la esterasa y la deshidrogenasa (Galen y Plowright, 1987). Los estigmas receptivos tienen una alta actividad enzimática, que puede ocurrir a lo largo de diferentes fases del desarrollo de la flor. La observación de la actividad de estas enzimas se puede utilizar para caracterizar la receptividad del estigma (Zhang *et al.*, 2021). Para que ocurra el proceso de polinización, la transferencia de polen al estigma debe ocurrir durante el período en que el estigma está receptivo, de lo contrario, el polen no puede adherirse y germinar

Hipótesis y Objetivos

Hipótesis: Es posible la exploración del germoplasma nativo del género *Sphaeralcea* determinando aspectos de su biología reproductiva, mecanismos de apareamiento y posibilidades de hibridación intra e interespecífica para la obtención de material de partida de nuevas variedades ornamentales.

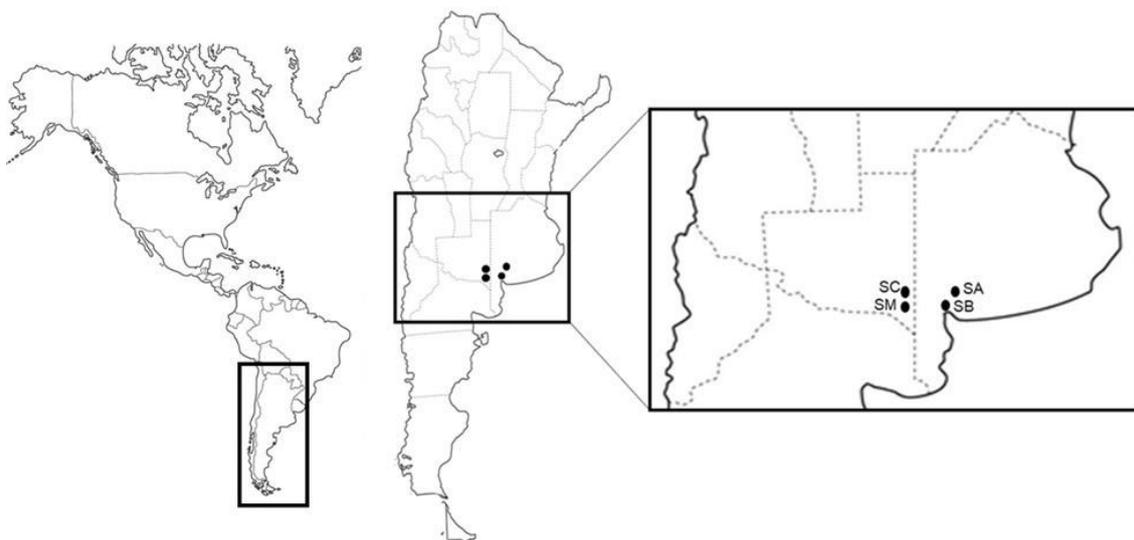
Objetivos:

- Determinar la viabilidad del polen de *S. australis*, *S. crispa*, *S. bonariensis* y *S. mendocina*.
- Precisar el momento apropiado de receptividad del estigma de las cuatro especies.
- Determinar el grado de autoincompatibilidad de las especies nativas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Región de colecta de especies nativas:

Se recolectaron semillas del género *Sphaeralcea* entre diciembre de 2020 y marzo de 2022 en cuatro sitios diferentes de la región pampeana, *S. australis* y *S. bonariensis* en la provincia de Buenos Aires y *S. crispa* y *S. mendocina* en la provincia de La Pampa (Figura 3).



Especie (Abreviación)	Localidad	Provincia	Georreferencia
<i>Sphaeralcea australis</i> (SA)	Tornquist	Buenos Aires	S38°40'76" W62°81'75"
<i>Sphaeralcea bonariensis</i> (SB)	Bahía Blanca	Buenos Aires	S38°45'29" W62°18'47"
<i>Sphaeralcea crispa</i> (SC)	Caleu Caleu	La Pampa	S38°48'29" W63°48'71"
<i>Sphaeralcea mendocina</i> (SM)	Caleu Caleu	La Pampa	S38°55'66" W63°49'76"

Figura 3- Distribución geográfica y sitios de recolección de las poblaciones estudiadas de *Sphaeralcea australis*, *S. crispa*, *S. mendocina* y *S. bonariensis* en la región pampeana Argentina.

La región pampeana es una extensa planicie ubicada al centro este de Argentina, entre los 31° y 39° de latitud sur. La porción sudoeste de la región pampeana, donde se recolectaron las especies en estudio, tiene clima semiárido caracterizado por la ocurrencia de largos períodos de sequía e inundaciones aisladas junto con períodos ventosos que afectan severamente la disponibilidad de agua (Aliaga *et al.*, 2017).

Material vegetal

Las semillas de las especies nativas recolectadas se conservaron a 4°C en seco con gel de sílice. Las semillas se germinaron después de tratamientos pregerminativos descritos por Gutiérrez *et al.* (2019) para romper la latencia.

Luego de la escarificación mecánica, que consistió en injuriar la cubierta seminal con bisturí, las semillas se colocaron en cajas Petri sobre papel de filtro, humedecido con agua destilada, en un cuarto de germinación a 20°C con un fotoperíodo de 12 h (ISTA, 2019). Este procedimiento fue utilizado en otros ejemplares de la familia *Malvaceae* por Erickson *et al.* (2016) y por Leperlier *et al.* (2020). Una vez germinadas se las trasplantó a bandejas plantineras en sustrato comercial (GROWMIX MultiPro ®) y se cultivaron en el invernadero del Centro de Recursos Naturales Renovables del Semiárido (CERZOS, CONICET – UNS) con temperatura controlada (18-28°C), riego y humedad relativa (55-85%) para continuar su crecimiento. Luego, cinco plantas de cada especie de *Sphaeralcea* se trasplantaron en macetas y se mantuvieron dentro de una carpa confeccionada con malla antiáfidos para evitar la entrada de insectos polinizadores (Figura 4).

Cuando los individuos alcanzaron la etapa reproductiva se estudió la viabilidad del polen y la receptividad del estigma de las flores en fase de antesis en diferentes momentos del día: 8:00 h, 10:00 h, 12:00 h, 14:00 h, 16:00 h y 18:00 h.

De las cinco plantas colocadas en macetas, de cada una de las cuatro especies, se seleccionaron al azar tres flores por planta, para evaluar un total de 60 anteras y 60 estigmas. Se utilizaron los mismos diseños experimentales para evaluar la viabilidad del polen y la receptividad del estigma.



Figura 4- Carpa antiáfidos dentro del invernadero donde se mantuvieron las plantas y se realizaron los cruzamientos dirigidos (Foto del autor)

Receptividad del estigma

La capacidad del estigma (Figura 5.A) de recibir el polen y permitir que se adhiera, hidrate y germine se denomina receptividad del estigma y se puede determinar evaluando la presencia de enzimas peroxidasa. (Rodríguez Rojas *et al.*, 2015).

Previo a la realización de los cruzamientos se estudió la receptividad del estigma de las cuatro especies de *Sphaeralcea* durante el transcurso del día (8:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00, y 18:00 h), cuando las flores estaban en apertura floral. Se tomaron al azar tres flores por planta y se utilizó el método de Osborn (Osborn *et al.*, 1988) para evaluar la receptividad del estigma en base a la reacción de la enzima peroxidasa bajo microscopio estereoscópico. El estigma se clasifica como receptivo cuando al colocar una gota de peróxido de hidrógeno al 40% sobre los estigmas de las flores se observa la producción de burbujas (Figura 5.B) y no receptivo cuando aplicando el mismo procedimiento se percibe ausencia de burbujas (Figura 5.C).

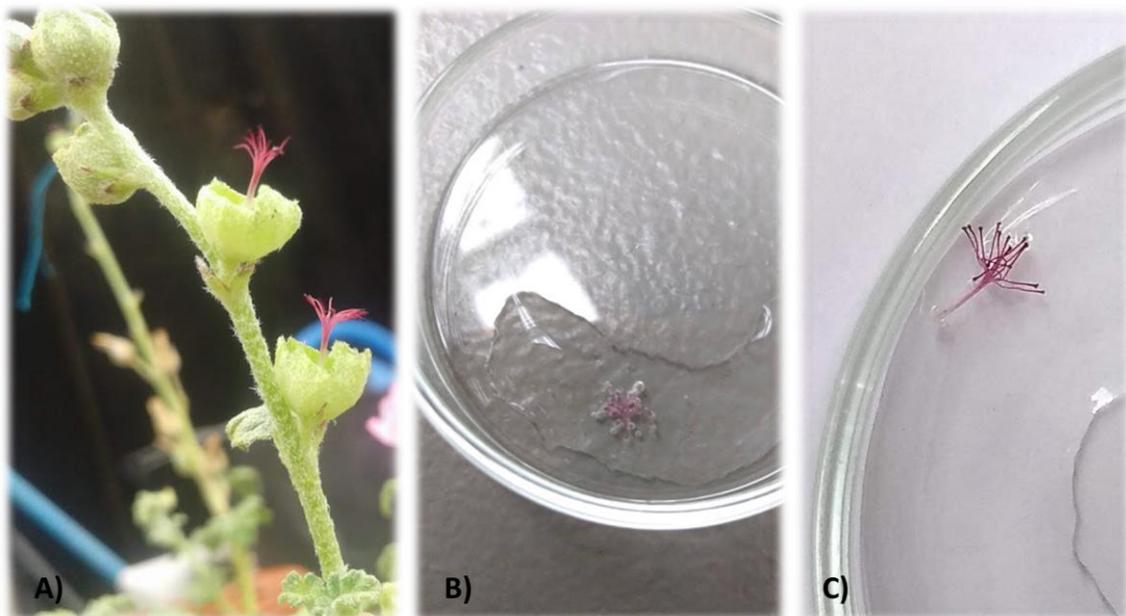


Figura 5- A) Flor emasculada con estigma expuesto, B) Estigma receptivo con presencia de burbujeo y C) Estigma no receptivo con ausencia de burbujeo

Viabilidad de polen

La viabilidad del polen es una medida de la fertilidad masculina (Liu *et al.*, 2021); es necesario que el polen sea viable para lograr la fecundación. La misma puede verse afectada por la temperatura y la humedad relativa. (Rodríguez Rojas *et al.*, 2015)

La estimación de polen viable se realizó con la técnica de Alexander (Alexander, 1980). Se recolectaron granos de polen de las anteras de tres flores por planta, se distribuyeron en portaobjetos de vidrio y se tiñeron con solución de Alexander. Los granos teñidos de color violeta intenso se tomaron como viables y los de color verde como no viables (Figura 6). Los conteos de granos de polen se realizaron en un microscopio óptico, sobre cuatro campos aleatorios por muestra. En cada campo se contaron 100 granos de polen, evaluando un total de 400 granos de polen por muestra. Para estimar el porcentaje de viabilidad del polen se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Viabilidad del polen (\%)} = \frac{\text{número de granos de polen viables}}{\text{número de granos de polen totales}} \times 100$$



Figura 6- Campo de microscopio óptico, se visualizan granos de polen viables (color violeta) y no viables (color verde) con la técnica de Alexander

Grado de autoincompatibilidad

Las polinizaciones se realizaron coincidiendo con la época de apertura floral o antesis. En cada tratamiento se utilizaron cinco plantas de cada especie (*S. australis*, *S. crispera*, *S. mendocina* y *S. bonariensis*) y se protegieron tres flores de cada planta el día antes de la antesis. Como control, se marcaron flores sin protección para observar la formación de frutos (cruzas naturales). Los tratamientos fueron: 1. las flores se sometieron a autofecundación natural (flores protegidas y sin manipular) (Figura 7), 2. auto fecundación artificial (flores protegidas y estigmas polinizados manualmente con polen de la misma flor) y 3. cruza artificiales (flores emasculadas y estigmas polinizados manualmente con polen conocido de diferentes plantas de las distintas especies). Se realizaron cruza interespecíficas recíprocas entre *S. australis*, *S. crispera*, *S. mendocina* y *S. bonariensis* e intraespecíficas dentro de cada especie nativa (Tabla 1). Después de la polinización, las flores fueron debidamente identificadas y mantenidas en la carpa antiáfidos hasta la cosecha del fruto.



Figura 7- Plantas de las distintas especies con flores protegidas para someterlas a autofecundación.

Tabla 1- Cruzas interespecíficas recíprocas e intraespecíficas realizadas.

Parental femenino (♀) x Parental masculino (♂)	
Cruzas recíprocas interespecíficas	
<i>S. australis</i>	<i>S. crispa</i>
<i>S. australis</i>	<i>S. mendocina</i>
<i>S. australis</i>	<i>S. bonariensis</i>
<i>S. bonariensis</i>	<i>S. crispa</i>
<i>S. bonariensis</i>	<i>S. australis</i>
<i>S. bonariensis</i>	<i>S. mendocina</i>
<i>S. crispa</i>	<i>S. australis</i>
<i>S. crispa</i>	<i>S. mendocina</i>
<i>S. crispa</i>	<i>S. bonariensis</i>
<i>S. mendocina</i>	<i>S. crispa</i>
<i>S. mendocina</i>	<i>S. australis</i>
<i>S. mendocina</i>	<i>S. bonariensis</i>
Cruzas intraespecíficas	
<i>S. australis</i>	<i>S. australis</i>
<i>S. bonariensis</i>	<i>S. bonariensis</i>
<i>S. crispa</i>	<i>S. crispa</i>
<i>S. mendocina</i>	<i>S. mendocina</i>

La fructificación de los tres experimentos se evaluó contando el número de semillas en relación con el número de flores polinizadas:

$$\text{Fructificación (\%)} = \frac{\text{número de frutos producidos}}{\text{número de flores polinizadas}} \times 100$$

La fertilidad se determinó como semilla llena en relación a la cantidad de semilla total.

$$Fertilidad (\%) = \frac{\text{número de semillas llenas}}{\text{número total de semillas (llenas + vacías)}} \times 100$$

Se clasificó la fructificación y fertilidad en baja, intermedia o alta teniendo en cuenta los siguientes rangos: 0 a 35 %, 36 a 65% y de 66 a 100% respectivamente.

RESULTADOS

Receptividad del estigma

El comportamiento de la receptividad del estigma fue diferente para las cuatro especies de *Sphaeralcea*, obteniendo distintos porcentajes máximos en diferentes momentos del día.

S. bonariensis mostró valores altos a las 8:00 hs y sostenidos en el tiempo hasta las 14:00 h cuando se encontró al 100%. *S. australis* y *S. crispa* tuvieron comportamientos similares con dos picos altos de receptividad, uno a las 8:00 h y el máximo a las 14:00 h, siendo este de 99% para *S. australis* y 93% para *S. crispa*. *S. mendocina* mostró un comportamiento distinto al resto durante las horas de la mañana, presentando valores de receptividad del estigma muy bajos con un crecimiento exponencial entre las 12:00 h y las 14:00 h cuando alcanzó el máximo porcentaje de receptividad de 92% (Figura 8).

A partir de las 14:00 h, cuando todas las especies tenían sus picos máximos de receptividad del estigma, los valores comenzaron a descender de diferentes formas. La disminución fue marcada en *S. australis* y *S. bonariensis* llegando a valores de 0% a las 18:00 h y gradual para *S. crispa* y *S. mendocina* hasta las 18:00 h cuando la receptividad fue nula (Figura 8).

Receptividad del estigma

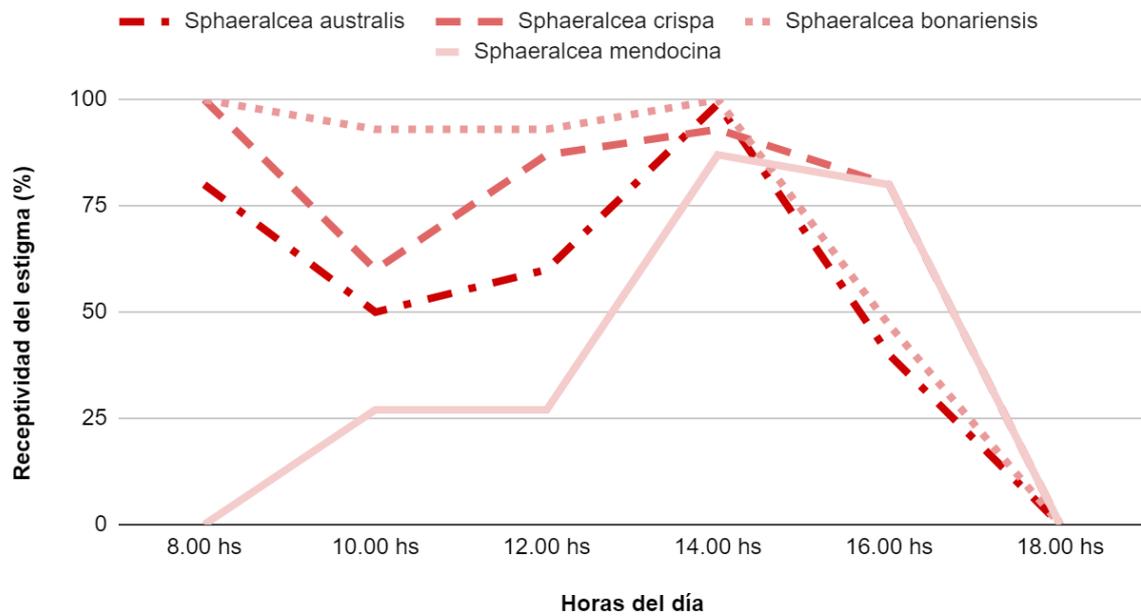


Figura 8- Receptividad del estigma (%) en flores de *Sphaeralcea australis*, *S. bonariensis*, *S. crispa* y *S. mendocina* en función de la hora del día.

Viabilidad del polen

Las cuatro especies de *Sphaeralcea* obtuvieron altos porcentajes de viabilidad del polen, aunque estos valores variaron a lo largo del día y entre especies. A las 14:00 h se registraron los valores más altos para *S. australis*, *S. bonariensis* y *S. crispa*, siendo dicho porcentaje de 99% para las primeras dos y 98% para la última, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellas, y a las 16:00 h para *S. mendocina* con un porcentaje de 99%. Para todas las especies los valores también fueron altos a las 12:00 h y los valores más bajos se registraron a las 18:00 h. (Figura 9)

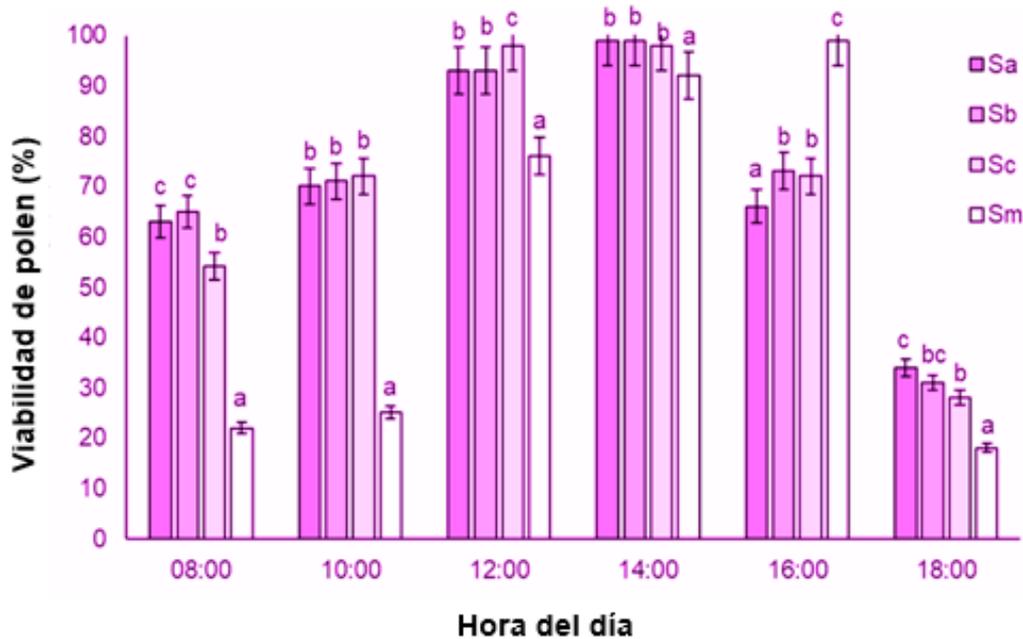


Figura 9- Viabilidad del polen (%) en *Sphaeralcea australis* (Sa), *S. bonariensis* (Sb), *S. crispa* (Sc) y *S. mendocina* (Sm) en diferentes momentos del día. Medias con letras diferentes indican diferencias significativas con el Test LSD de Fisher, $p < 0,05$. Cada barra vertical representa la media \pm error estándar.

Grado de autoincompatibilidad

En las autofecundaciones no se obtuvieron frutos para ninguna especie, mientras que en las cruzas inter o intraespecíficas todas lograron formar frutos a excepción de *S. mendocina* x *S. bonariensis* (Tabla 2).

Se observaron diferencias en el porcentaje de producción de frutos para las distintas especies cuando actuaban como progenitor femenino. Cuando se utilizó *S. crispa* como hembra se obtuvieron valores bajos que fueron de 7 a 33%, al usar *S. mendocina* los valores fueron intermedios entre 47 y 53% y fueron altos entre 67 y 100% para *S. australis* y *S. bonariensis*, respectivamente. En las cruzas intraespecíficas se repitió el mismo patrón, con bajos porcentajes de fructificación para *S. crispa* (13%), intermedios en *S. mendocina* (40%) y altos en *S. australis* y *S. bonariensis* (67% y 87%, respectivamente).

En cuanto a la fertilidad, en la mayoría de las cruzas interespecíficas se obtuvieron altos porcentajes de producción de semilla llena, con valores entre 78 a 91%. Sin embargo, en *S. australis* x *S. mendocina* fue intermedio (56%) y bajo para *S. bonariensis* x *S. mendocina* (4%) y *S. crispa* x *S. mendocina* (10%). Para cruzas intraespecíficas, la fertilidad fue alta para *S. bonariensis* (94%), *S. mendocina* (89%) y *S. crispa* (70%) e intermedio para *S. australis* (62%).

Tabla 2- Número de flores polinizadas (NFP), número de frutos producidos (NFP), porcentaje de fructificación (FP), número de semillas llenas (NSL), número de semillas vacías (NSV) y porcentaje de fertilidad de semillas (PFS) para cruces intraespecíficos y cruces recíprocos interespecíficos entre *S. australis* (Sa), *S. bonariensis* (Sb), *S. crispa* (Sc) y *S. mendocina* (Sm)

Cruzas interespecíficas recíprocas						
Cruzas (♀ x ♂)	NFP	NFP	PF (%)	NSL	NSV	PFS (%)
SaxSb	15	15	100	277	43	83.1
SaxSc	15	15	100	188	43	78.3
SaxSm	15	10	66.7	90	68	55.7
SbxSm	15	8	53.3	18	115	4.5
SbxSc	15	15	100	367	43	89.5
SbxSa	15	10	66.7	179	14	90.2
ScxSb	15	2	13.3	14	0	78.6
ScxSm	15	1	6.7	1	9	10
ScxSa	15	5	33.3	68	6	90.5
SmxSc	15	7	46.7	30	8	78.9
SmxSa	15	7	46.7	58	12	79.7

Cruzas intraespecíficas						
Cruzas (♀ x ♂)	NFP	NFP	PF (%)	NSL	NSV	PFS (%)
SaxSa	15	10	66.7	121	74	62.1
SbxSxb	15	13	86.7	283	17	94.3
ScxSc	15	2	13.3	21	9	70
SmxSm	15	6	40	63	8	86.7

DISCUSIÓN

El desarrollo de variedades ornamentales como recurso fitogenético puede convertirse en una fuente de divisas genuinas y de beneficio sustentable, para aquellos países que realicen un aprovechamiento racional de los mismos. La biodiversidad y su conservación son de importancia estratégica para el desarrollo de un país y en este sentido su uso sustentable ofrece objetivas posibilidades para el futuro.

Rodriguez Rojas *et al.* (2015), en su trabajo sobre la biología reproductiva de especies del género *Echeveria*, mencionan que conocer las características reproductivas de las especies es importante para realizar las polinizaciones en los cruzamientos y así aumentar las probabilidades de éxito de la fecundación para el desarrollo del mejoramiento genético. Conocer el momento en que el estigma es receptivo y el polen es viable son datos indispensables al momento de planificar cruza dirigidas exitosas. En este estudio, los métodos utilizados por Osborn *et al.* (1988) y Alexander (1980) para evaluar la receptividad del estigma y la viabilidad del polen, respectivamente, fueron efectivos para cumplir esos objetivos y luego lograr cruza exitosas en el género *Sphaeralcea*.

Estudios previos han señalado que la temperatura ambiental tiene efectos sobre los procesos de desarrollo de las plantas, la reproducción es uno de los más vulnerables, ya que puede afectar la receptividad del estigma, la germinación y crecimiento del tubo polínico, la longevidad del óvulo y el cuajado (Salazar Manrique, 2015). El calor ambiental puede atraer insectos a una flor abierta a través de la volatilización del aroma floral durante la antesis mientras ayuda a mantener un período de máxima receptividad al estigma (Consiglio y Bourne, 2001). La receptividad del estigma es un rasgo muy variable entre las especies del reino vegetal. Hay especies como *Carica papaya* L. donde las flores son receptivas antes de la apertura floral y hasta el cierre (Parés *et al.*, 2002), otras como *Passiflora edulis* son receptivas durante la antesis hasta el cierre de las flores (Ángel Coca *et al.*, 2011), en *Moringa oleifera* el estigma es receptivo desde el día anterior a la antesis hasta tres días después (Manduwa *et al.*, 2017).

Nuestro estudio para el género *Sphaeralcea* se realizó en la fase de antesis y mostró que *S. australis*, *S. crispera* y *S. bonariensis* ya tenían una alta receptividad del estigma durante la apertura de las flores. Este resultado indica que el estigma podría haber sido receptivo previamente, por lo que se necesitarán más estudios para evaluar este rasgo en la fase de pre antesis. *S. mendocina* obtuvo resultados positivos luego de la apertura floral y su máxima receptividad está claramente en la fase de antesis. El burbujeo fue nulo antes del cierre floral (18 h) para todas las especies.

En nuestros resultados, la receptividad del estigma fue alta entre las 12 h y las 14 h, que coincide con la hora del día en que se registraron las temperaturas ambientales máximas, con un promedio de 30,4 °C (Servicio Meteorológico Nacional, <https://www.smn.gob.ar/>).

En *Sphaeralcea*, todavía no hay evidencia de cómo los factores ambientales afectan la viabilidad del polen, pero nuestros resultados son una evidencia indirecta de que el polen no se veía afectado por las altas temperaturas del verano. Una posible explicación a estos resultados es que se trata de especies nativas adaptadas a las condiciones climáticas locales y por lo tanto las altas temperaturas no generan el estrés térmico que afecta la viabilidad durante el desarrollo del polen o en su estado maduro.

En la naturaleza la hibridación puede ser inviable debido a barreras reproductivas que impidan la llegada del polen, por ejemplo que las especies a hibridarse posean polinizadores específicos, y distintos una de otra, que posean distintos momentos reproductivos o que estén distanciadas por su distribución ecogeográfica (Bugallo y Facciuto, 2021). En los planes de mejoramiento estas barreras se evitan gracias a la hibridación artificial. Sin embargo, no se garantizan resultados positivos, ya que también existen barreras post-polinización, las cuales pueden ser precigóticas o postcigóticas (Bugallo y Facciuto, 2021). Dichas barreras son obstáculos que se deben superar al llevar adelante un plan de mejoramiento. Las barreras precigóticas actúan sobre la superficie del estigma o sobre el estilo y, en ocasiones, pueden aparecer sobre el ovario o los óvulos. Las barreras postcigóticas pueden actuar en diferentes

etapas del desarrollo embrionario o durante la germinación de semillas y el crecimiento híbrido (Shivanna, 2005). En nuestro estudio, la cruce de *S. mendocina* x *S. bonariensis* produjo frutos abortados y no pudo producir descendencia. El resto de los híbridos interespecíficos produjeron semillas con una viabilidad superior al 50%, a excepción de *S. bonariensis* x *S. mendocina* (4,5 %) y *S. crispa* x *S. mendocina* (10%). En todos los cruces intraespecíficos se obtuvieron semillas con un porcentaje de viabilidad superior al 60%.

Las barreras postcigóticas pueden ser de diversos orígenes, y se expresan como problemas en la germinación (Bugallo y Facciuto, 2021). Este rasgo podría ser objeto de futuras investigaciones para continuar con el conocimiento reproductivo del género *Sphaeralcea*.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que las especies del género *Sphaeralcea* estudiadas son autoincompatibles y alógamas, permitiendo que se crucen entre individuos de la misma especie y generen descendencia intraespecífica viable y también se crucen entre individuos de diferentes especies produciendo híbridos viables, aunque, con diferentes grados de compatibilidad reproductiva y capacidad de combinación entre ellas.

La viabilidad del polen de las cuatro especies de *Sphaeralcea* estudiadas varió de 20% a 99%. Para tres de ellas el máximo se dio entre las 12 y las 14 h, mientras que para *S. mendocina* se dio entre las 14 y las 16 h. En cuanto a la receptividad del estigma para las cuatro especies los valores más altos se encontraron entre las 12 y las 14 h. De esta manera, para obtener mayores probabilidades de éxito de la polinización en un programa de mejoramiento ornamental, las cruzas deberían realizarse entre las 12 y las 14h, ya que es cuando la mayoría de las flores abiertas están receptivas, y la viabilidad del polen es alta.

En nuestro estudio, la cruce de *S. mendocina* x *S. bonariensis* produjo frutos abortados y no pudo producir descendencia, por lo tanto es un cruzamiento que no se incluirá en el plan de mejoramiento. Las cruzas *S. bonariensis* x *S. mendocina*, *S. crispa* x *S. mendocina*, *S. mendocina* x *S. australis* y *S. crispa* x *S. crispa* lograron producir semillas viables, y son candidatas para iniciar el plan de mejoramiento ornamental.

BIBLIOGRAFÍA

ALEXANDER M. 1980, A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. *Stain Technology*. 55 (1): 13–18.

ALIAGA, V.S., FERRELLI, F. y PICCOLO, M.C. 2017. Regionalization of climate over the Argentine Pampas. *International Journal of Climatology*. 37(S1), 1237-1247.

ANGEL COCA C., NATES G., OSPINA R., MELO C., AMAYA M. 2011. Biología floral y reproductiva de la “gulupa” *Passiflora edulis* Sims. f. *edulis*. *Caldasia* 33(2):433-451.

BUGALLO, V. L., & FACCIUTO, G. R. 2021. Barreras de aislamiento reproductivo e hibridación interespecífica en el mejoramiento de *Passiflora* en la Argentina. En: *Plantas nativas ornamentales de Latinoamérica. Experiencias hacia la puesta en valor*, p. 188-205. Ediciones INTA. Instituto de Floricultura, Buenos Aires, Argentina.

CONSIGLIO T., BOURNE G. 2001. Pollination and breeding system of a neotropical palm *Astrocaryum vulgare* in Guyana: a test of the predictability of syndromes. *J. Trop. Ecol.* 17: 577-592.

DASCANIO, L. M. 2022. Caracterización morfológica de cuatro especies nativas del género *Sphaeralcea* con potencial ornamental y lineamientos para su aplicación paisajística. Trabajo de Intensificación de la Tecnicatura Universitaria en Parques y Jardines. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. 56 pp.

ERICKSON T., MERRITT D., TURNER S. 2016. Overcoming physical seed dormancy in priority native species for use in arid-zone restoration programs. *Australian Journal of Botany* 64(5) 401-416. <https://doi.org/10.1071/BT16059>

FIGUEIREDO M., PASSOS A., HUGHES F., SANTOS K., DOS SILVA A., SOARES T. 2020. Reproductive biology of *Physalis angulata* L. (Solanaceae). *Scientia Horticulturae* Volume 267, 109307

GALEN, C. & R. C. PLOWRIGHT. 1987. Testing the accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. *Can. J. Bot.* 65: 107- 111.

GUTIERREZ A., MARINANGELI P. 2018. Flora Argentina: un potente recurso genético. *Revista Bordeu*: 24 - 25.

GUTIÉRREZ A., VILLAMIL C., DASCANIO L., MARINANGELI P. 2021. Estudios en el género *Sphaeralceae* (*Malvaceae*), un importante recurso genético de la Argentina con potencial ornamental. En: *Plantas nativas ornamentales de Latinoamérica Experiencias hacia la puesta en valor*. Eds: Gabriela Facciuto, Mariana Pérez de la Torre. 54-72 pp. Ediciones INTA, Buenos Aires Argentina.

GUTIERREZ, A., VILLAMIL, C. B., MARINANGELI, P. A. 2019. Dormición y germinación de *Malvaceae* nativas ornamentales.

LEPERLIER C., RIVIERE J., LACROIX S., FOCK BASTIDE I. 2020. Overcoming germination barriers in four native Malvaceae shrub species of Reunion island to improve restoration in arid habitats. *Global Ecology and Conservation*, 21 : p. 1-11.

LIU S., LI Z., WU S., WAN X. 2021. The essential roles of sugar metabolism for pollen development and male fertility in plants. *The Crop Journal*. 9 (6): 1223-1236

MANDUWA D., DU TOIT E., ROBBERTSE P. 2017. Estudio sobre el efecto de la temperatura y la edad de la flor en la floración, el rendimiento del polen y la receptividad del estigma de *Moringa oleifera* Lam. *Revista sudafricana de botánica*. 109: 348.

MARTÍNEZ G., BARBOZA G. 2010. Farmacopea natural utilizada en la medicina tradicional Toba para el tratamiento de parasitosis y afecciones de la piel (Chaco Central, Argentina).

MASINI, C. A., ROVERE, A. E. 2015. Requerimientos germinativos de *Sphaeralcea mendocina* Philippi (Malvaceae), especie ruderal endémica de Argentina. En: Restauración ecológica en la diagonal árida de la Argentina 2. IADIZA, CONICET. Editores: E. Martínez Carretero, A. D. Dalmaso. Pp.203-214.

OSBORN M., KEVAN P., MEREDITH A. 1988 - Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. *Plant Systematics and Evolution* 159(1):85-94

PÁRES J., BASSO C., JÁUREGUI D. 2002 - Momento de antesis, dehiscencia de anteras y receptividad estigmática en flores de lechosa (*Carica papaya* L.) cv. cartagena amarilla. *Bioagro*, vol. 14, núm. 1, pp. 17-24

PONCE M., VIDELA E., FIORETTI S., GALAT E. 2006. Propagación de *Lecanophora heterofila*. Especie autóctona con potencial ornamental. *Rev. FCA UNCuyo*. Tomo XXXVIII. N° 2. 91-100

REN R., LI Z., LI B., XU J., JIANG X., LIU Y., ZHANG K. 2019 Changes of pollen viability of ornamental plants after long-term preservation in a cryopreservation pollen bank. *Cryobiology* (89): 14-20.

RODRIGUEZ-ROJAS, T. J., ANDRADE-RODRIGUEZ, M., CANUL-KU, J., CASTILLO-GUTIERREZ, A., MARTINEZ-FERNANDEZ, E., & GUILLEN-SANCHEZ, D. 2015. Viabilidad de polen, receptividad del estigma y tipo de polinización en cinco especies *Echeveria* en condiciones de invernadero. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* vol.6 no.1

SALAZAR MANRIQUE, F. J. 2015. Influencia de la temperatura y la humedad relativa en el periodo de floración y cosecha de palto (*Persea americana* Mill.) orgánico cv. Hass en Virú, La Libertad. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Trujillo, Perú. Disponible <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4126>. (Consultado: noviembre 023).

SHIVANNA K, MOHAN RY 2005. Contributions of Panchanan Maheshwari's school to angiosperm embryology through an integrative approach. *Curr. Sci.* p.89.

SHIVANNA K., & SAWHNEY V. 1997 Pollen biotechnology for crop production and improvement. Cambridge University Press. 464 pp.

TORRES Y., LONG A., ZALBA S. 2008. Reproducción de *Pavonia cymbalaria* (*Malvaceae*), una especie nativa con potencial ornamental. *Phyton* 77: 151-160.

ZHANG, H., WU, H., ZHOU, Q., ZHAO, R., SHENG, Q., & ZHU, Z. 2021. Flowering characteristics and reproductive biology of *Nymphaea* hybrid, a precious water lily. *Scientia Horticulturae*, 287, 110268.

ZULOAGA F., BELGRANO M., ZANOTTI C. 2019 - Actualización del catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur. *Darwiniana* 7: 208-278.