

ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN POBLACIONES DE *BAUHINIA FORFICATA* SUBSP. *PRUINOSA* (PEZUÑA DE VACA O BUEY, PATA DE VACA) MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES

Investigador USAL: López, Micaela (micaela.lopez@usal.edu.ar).

Investigadores Externos: Fortunato, Renée Hersilia; Spotorno, Viviana Graciela.

Alumnos Practicantes USAL: Mirra, Fabiana; Vázquez, Camila.

Palabras clave: Bauhinia; SSRs; Poblaciones.

Resumen

En la flora argentina crecen cerca de 10 000 especies, muchas de las cuales tienen registros de uso medicinal. La información con la que se cuenta es principalmente de estudios etnobotánicos y químicos, sin embargo, pocas son las especies en las que se ha caracterizado la diversidad genética de las poblaciones nativas junto con la presencia de los compuestos asociados a su actividad medicinal. Esta clase de estudios permitirían la selección de plantas para el mejoramiento y cultivo que lleven a una mejor comercialización de la planta medicinal y la producción de fitofármacos.

En particular, la pezuña de vaca, *Bauhinia. forficata* subsp. *pruinosa* (Vogel) Fortunato & Wunderlin crece naturalmente desde Paraguay, sur de Brasil hasta Argentina, y tiene antecedente de uso ornamental y terapéutico (diurético, antidiarreico, hipoglucemiante). Este proyecto tiene como objetivo determinar la variabilidad genética las poblaciones de esta especie usando marcadores moleculares.

Se ha reportado que SSRs (Simple Sequence Repeats) provenientes de *Cercis canadensis* L. y *C. chinensis* muestran resultados en especies afines. Es por ello que se evaluó la transferencia de un set de SSRs en las poblaciones de *Bauhinia*. Estos resultados asociados a los que se obtengan de las evaluaciones químicas permitirán conocer su relación con los biotipos que se identifiquen.

Se realizó la extracción de ADN de hojas jóvenes y se utilizaron marcadores moleculares del tipo “microsatélite” (SSRs). Los SSRs consisten en repeticiones de 1, 2, 3 o 4 nucleótidos de ADN presentes en el genoma, y las diferencias entre estas repeticiones permiten diferenciar individuos y así caracterizar poblaciones. Estos marcadores sirven para, por ejemplo, identificar individuos, diferenciar variedades de cultivos, asistir programas de mejoramiento genético e identificar biodiversidad. Se utilizó la técnica de PCR y los productos de amplificación fueron visualizados mediante una técnica conocida como “electroforesis en geles de poliacrilamida”.

En total, se evaluaron 15 SSRs (6 provinieron de *C. chinensis* y 9 de *C. canadensis*). De estos 15 SSRs, 11 mostraron productos de amplificación. Entre ellos, 9 presentaron diferencias interpopulacionales, que podrían indicar variabilidad química y por lo tanto resta correlacionar la actividad biológica de los distintos biotipos. Además, algunos SSRs mostraron más de un *locus*, información

que respalda lo señalado por Poggio *et al.*, que la subfamilia *Cercidoideae*, *Bauhinia* ($2n=28$) se generó por hibridación y poliploidía a partir del ancestro *Cercis* ($2n=14$).

Este trabajo permite contribuir a la conservación y utilización sostenible de la especie en cuestión a través del estudio de las poblaciones naturales y el desarrollo de materiales base de quimiotipos selectos para su introducción a cultivo.

Keywords: Bauhinia; SSRs; Populations.

Abstract

There are approximately 10,000 species in the Argentine flora, many of which have records of medicinal use. Nowadays, the information available mainly comes from ethnobotanical and chemical studies; however, there are few species in which the genetic diversity of native populations have been characterized together with the presence of compounds associated with their medicinal activity. This kind of studies would allow the selection of plants to obtain such an improvement and cultivation leading to a better commercialization of the medicinal plant and production of phytopharmaceuticals.

Particularly, cow hoof, *Bauhinia forficata* Link subsp. *pruinosa* (Vogel) Fortunato & Wunderlin, grows naturally in Paraguay, South of Brazil and Argentina, and it has been used for ornamental and therapeutic (diuretic, antidiarrheal, hypoglycaemic) purposes. This project aims to determine the genetic variability of the populations of this species by using molecular markers.

It has been reported the use of SSRs coming from *Cercis canadensis* L. and *C. chinensis* in related species. Therefore, the transferability of an SSR set was assessed in *Bauhinia* populations. These results associated with those obtained from chemical assessments will help to determine its relationship with identified biotypes.

DNA of young leaves was extracted and microsatellite molecular markers (SSRs) were used. SSRs consist in 1, 2, 3 or 4 repetitions of DNA nucleotides present in the genome. The differences among these repetitions make it possible to identify individuals and, thus, characterize populations. These markers are used to identify individuals, characterize crop varieties, assist genetic improvement programs and identify biodiversity. The PCR technique was performed and the amplification products were visualized through a known technique named “electrophoresis in polyacrylamide gels”.

In total, 15 SSRs were evaluated (6 from *C. chinensis* and 9 from *C. canadensis*), out of which 11 showed amplification products; among these, 9 showed interpopulational differences, which could suggest chemical variability and, therefore, it should be necessary to correlate the biological activity of diverse biotypes. Furthermore, some SSRs showed more than one locus, which supports that the subfamily *Cercidoideae*, *Bauhinia* ($2n = 28$) was generated by hybridization and polyploidy from the *Cercis* ancestor ($2n = 14$), as suggested by Poggio *et al.* (2008).

This research contributes to the conservation and sustainable use of the studied species through the study of natural populations and the development of base materials of selected chemotypes for cultivation.