
FLORICULTURA

Anatomical and colorimetric components in flowers of *Passiflora* species and hybrids with *P. alata*

Componentes anatómicos y colorimétricos en flores de especies de *Passiflora* e híbridos con *P. alata*



Bugallo, V. ^{1,2}; Facciuto, G. ²

1- Cátedra de Genética, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Buenos Aires - UBA. Av. San Martín 4453, (1417) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 2- Instituto de Floricultura, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA. Nicolás Repetto (ex Las Cabañas) y De Los Reseros S/N, (1686) Hurlingham, Argentina. Autor de correspondencia: bugallo@agro.uba.ar

Recibido: 11/06/2021

Aceptado: 18/08/2021

ABSTRACT

Bugallo, V.; Facciuto, G. 2021. Anatomical and colorimetric components in flowers of *Passiflora* species and hybrids with *P. alata*. Horticultura Argentina 40 (102): 14-24. <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s18519342/pgzcnfdqb>

Among the more than 500 known species of *Passiflora*, 19 of them are native to Argentina. In the framework of a breeding program to obtain ornamental varieties from native species, the objective of this work was to know the anatomical and colorimetric components that determine flower color in *Passiflora* species and their hybrids. For this, anatomical studies of the cellular components of the epidermis of the petals were carried out and the colorimetric values on the CIEL*a*b* scale were analyzed in 4 species (*P. alata*, *P. cincinnata*, *P. amethystina* and *P. caerulea*) and 6 hybrids of crosses with *P. alata*. All the plants presented intracellular structures

with irregular spindle-shaped to granular morphology, identified as anthocyanic vacuolar inclusions (AVIs). AVIs were also found as colored solid bodies in spherical, rod and irregularly folded shapes in the epidermal cells of the petals of *P. alata* and with spherical to elongated morphologies in *P. cincinnata* and in the *P. alata* x *P. cincinnata* hybrid. These structures were found in cells with accumulation of pigment in the vacuole. No correlation was found between the presence of solid AVIs and the colorimetric parameters. The presence of solid AVIs only in the hybrid among the species with this character, suggests that inheritance would be quantitative, expressed as a threshold characteristic.

Additional Keywords: Ornamental breeding, native plants to Argentina, interspecific hybridization, CIEL*a*b* scale, anthocyanic vacuolar inclusions.

RESUMEN

Bugallo, V.; Facciuto, G. 2021. Componentes anatómicos y colorimétricos en flores de especies de *Passiflora* e híbridos con *P. alata*. Horticultura Argentina 40 (102): 14-24. <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s18519342/pgzcnfdqb>

Entre las más de 500 especies conocidas de *Passiflora*, 19 de ellas son nativas de Argentina. En el marco de un programa de mejoramiento para obtener variedades ornamentales a partir de especies nativas, el objetivo de este trabajo fue conocer los componentes anatómicos y colorimétricos que determinan el color de flor en especies de *Passiflora* y sus híbridos. Para ello, se realizaron estudios anatómicos de los componentes celulares de la epidermis de los pétalos y se analizaron los valores colorimétricos en *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. amethystina*, *P. caerulea* y 6 híbridos de cruzamientos con *P. alata*. Todas las plantas presentaron estructuras intracelulares de morfología irregular

filamentosa a granular, identificadas como inclusiones vacuolares antociánicas (AVIs) en las células epidérmicas de los pétalos. También se encontraron AVIs como cuerpos sólidos coloreados en formas esféricas, de bastón y plegados irregulares en los pétalos de *P. alata* y con morfologías esféricas a alargadas en *P. cincinnata* y en el híbrido *P. alata* x *P. cincinnata*. Estas estructuras fueron halladas en las células con mayor acumulación de pigmento en la vacuola. No se encontró correlación entre la presencia de AVIs sólidas y los parámetros colorimétricos. La presencia de AVIs sólidas sólo en el híbrido entre las especies con esta característica, sugiere que su herencia sería cuantitativa y se expresaría como un carácter umbral.

Palabras claves adicionales: mejoramiento de ornamentales, plantas nativas de Argentina, híbridos interespecíficos, escala CIEL*a*b*, inclusiones vacuolares antociánicas.

1. Introducción

Entre las más de 500 especies conocidas de *Passiflora*, 19 de ellas son nativas de Argentina (Deginani, 2001). Sus llamativas flores, rusticidad y la escasa dificultad para la hibridación interespecífica lo convierten en un género candidato para la obtención de variedades ornamentales. Entre las especies argentinas más destacadas se encuentra *P. alata*, con grandes flores de color rojo oscuro; *P. cincinnata*, con pétalos lila-violáceo; *P. amethystina*, con corola azul y *P. caerulea* que, si bien posee flores blancas, aporta gran rusticidad y tolerancia a bajas temperaturas (Bugallo *et al.*, 2011). La hibridación interespecífica ha generado numerosas variedades ornamentales y, algunas de ellas fueron obtenidas a partir de especies argentinas, como *P. "Blue Carnival"*, *P. "Catherina Howard"*, *P. "Jeeny"*, *P. "Lada"*, *P. "Linda"*, *P. "Rinconata"* y *P. "Vladena"* (de cruzamientos *P. cincinnata* x *P. caerulea*), *P. "Excel"* (de *P. edulis f. edulis* x *P. caerulea*) y *P. "Rattana"* (de *P. edulis f. edulis* x *P. edulis f. flavicarpa*) (Ulmer & MacDougal, 2004).

El color de las flores es el resultado de complejas rutas metabólicas que reflejan la historia evolutiva de un género (Clegg & Durbin, 2000). Entre los pigmentos vegetales se encuentran los carotenoides y las betalainas de colores amarillo a rojo. Las antocianinas, una clase de flavonoides derivados de la fenilalanina, son hidrosolubles y aportan colores

desde el rojo, pasando por el violeta y hasta el azul. Estas últimas pueden modificar su color según la presencia de co-pigmentos, iones metálicos y la acidez del medio (Tanaka *et al.*, 2008).

Las antocianinas cumplen diversas funciones eco-fisiológicas: proveen indicación visual a polinizadores y dispersores de semillas y protegen a las plantas de algunas condiciones de estrés (Pourcel *et al.*, 2010; Grotewold, 2006). Las antocianinas son sintetizadas en una ruta metabólica por acción de varias enzimas asociadas con el retículo endoplasmático, en el citoplasma de las células y luego son incorporadas en las vacuolas (van der Kooi *et al.*, 2016; Zhao & Tao, 2015). En general, se encuentran uniformemente distribuidas en el lumen vacuolar, sin embargo, en algunas especies, se acumulan en estructuras discretas llamadas antocianoplastos o inclusiones vacuolares antociánicas (AVIs = anthocyanic vacuolar inclusions) (Chanoca *et al.*, 2015; Pourcel *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2006).

La presencia de AVIs se ha reportado en unos pocos cultivares ornamentales de *Salvia*, *Antirrhinum*, *Dianthus*, *Eustoma* (lisianthus), *Sinningia* y *Delphinium* (Markham *et al.*, 2000). En el género *Passiflora*, se han encontrado AVIs de formas irregulares en *P. amethystina* que, junto con la solución coloreada dispersa en las vacuolas de algunas células epidérmicas, explican el color azul de sus pétalos (Bugallo *et al.*, 2017). La presencia de AVIs poseería un efecto intensificador del color de las flores o provocaría el viraje hacia los tonos azules, observados en *Eustoma* y *Dianthus* (Markham *et al.*, 2000). El color de las flores es uno de los caracteres de mayor importancia en el mejoramiento de plantas ornamentales (Noda, 2018). Si bien las cartas de color son ampliamente usadas para establecer este parámetro, generan errores por la subjetividad del muestreo (Cui *et al.*, 2019). En el estudio colorimétrico, la escala CIE L*a*b* (CIELAB) es un modelo cromático objetivo usado para describir todos los colores perceptibles por el ojo humano. Este método, descompone el color en tres parámetros que representan la luminosidad de color (L*), su posición en una escala entre rojo y verde (a*) y en otra entre amarillo y azul (b*) (Buckley & Giorgianni, 2015).

En el marco de un programa de mejoramiento para obtener variedades ornamentales a partir de especies argentinas, el objetivo de este trabajo fue conocer los componentes anatómicos y colorimétricos que determinan el color de flor en especies de *Passiflora* y sus híbridos.

2. Materiales y métodos

2.1. Material vegetal:

Se analizaron las flores de 10 genotipos de 4 especies nativas de *Passiflora* empleadas como parentales en cruzamientos (1 genotipo de *P. amethystina*, 3 de *P. caerulea*, 2 de *P. cincinnata* y 4 de *P. alata*) y 6 híbridos interespecíficos correspondientes cruzamientos de *P. alata* con las otras especies (2 *P. amethystina* x *P. alata*, 2 *P. alata* x *P. cincinnata* y 2 *P. alata* x *P. caerulea*). Las flores fueron recolectadas en antesis, en horas de la mañana entre 1 y 4 horas después del momento de su apertura, ya que la duración de cada flor es de un día. Los estudios se realizaron en abril y mayo del año 2017. Todo el material vegetal analizado pertenece a la colección *in vivo* del Instituto de Floricultura del INTA, en Buenos Aires. La misma se mantiene bajo invernáculo con temperatura mínima de 10°C.

2.2. Estudios anatómicos:

Para estudiar el sitio celular donde se aloja el pigmento, se realizó una disección de la epidermis adaxial de los pétalos de flores de las especies y de los híbridos interespecíficos. Para ello, se cortó la superficie de los pétalos con un bisturí y se extrajo la capa superior con una pinza (peeling). La muestra se montó en agua destilada en un portaobjeto, se observó bajo microscopio Olympus BX 50 con campo claro y se fotografió con cámara digital Olympus C-5060.

A partir de las microfotografías, se analizó la superficie ocupada por cuerpos coloreados en relación con la superficie total de la célula que los contenía con el programa ImageJ.

2.3. Colorimetría:

Se tomaron valores del color en la parte central de la cara adaxial de pétalos de flores con un colorímetro Minolta CR-321. Se registraron los datos en la escala CIELab (L = luminosidad, -a/+a = escala de verde a rojo, -b/+b escala de azul a amarillo). Cada genotipo se evaluó en tres pétalos al azar de cada flor y en tres flores de cada genotipo.

2.4. Análisis de los datos:

Los datos de superficie relativa de cuerpos coloreados sobre total celular y los de colorimetría se analizaron estadísticamente por medio de ANOVA con contraste entre la suma de los cuadrados (BSS = between sum of squares), utilizando el programa InfoStat (versión 2013, Universidad Nacional de Córdoba) (Di Rienzo *et al.*, 2013).

3. Resultados y discusión

El estudio microscópico de las células de la epidermis adaxial de los pétalos exhibió diferencias entre las especies nativas de *Passiflora* analizadas en este trabajo. Los resultados de los análisis anatómicos mostraron que las tres especies con flores de color, *P. alata*, *P. amethystina* y *P. cincinnata* (Figura 1. a, b y c), poseen acumulación de sustancias coloreadas en las vacuolas en algunas de las células epidérmicas de los pétalos. Las células que reservan sustancias pigmentadas se encuentran intercaladas con otras incoloras (Figura 1.a1, b1 y c1). La especie de flores blancas *P. caerulea* reservaría sólo sustancias incoloras (Figura 1.d1, 2 y 3). Sin embargo, se observó que las cuatro especies estudiadas presentaron estructuras intracelulares de morfología irregular filamentosa a granular (Figura 1. a2, b3, c2, d3), identificadas como inclusiones vacuolares antocianicas (AVIs). En la especie *P. amethystina*, estas estructuras habían sido reportadas anteriormente (Bugallo *et al.*, 2017). Además, se registró la presencia de cuerpos sólidos coloreados en formas esféricas, de bastón y plegados irregulares en las células epidérmicas de los pétalos en *P. alata* y con morfologías esféricas a alargadas en *P. cincinnata* (Figura 1.a2 y c2). Estas estructuras fueron halladas en las células con mayor acumulación de pigmento en la vacuola, pero no se observaron en las incoloras.

Las antocianinas son un grupo de metabolitos secundarios que poseen las plantas, responsables de coloraciones naranja, rojo, púrpura y azul en flores y frutos. Son sintetizadas en el citoplasma y transferidas activamente hacia el interior de las vacuolas (Kallam *et al.*, 2017). En este proceso, los agregados de antocianinas sintetizados en el retículo endoplasmático entran en estrecho contacto con la superficie vacuolar y son fagocitados por la membrana y liberados en el lumen de la vacuola (Chanoca *et al.*, 2015). La localización de las antocianinas dentro de vacuolas es fundamental para prevenir la oxidación y es lo que permite su función como pigmentos, reguladas por el nivel de acidez del lumen (Pourcel *et al.*, 2010).

Mackon *et al.* (2021) encontraron dos formas en la presentación de las antocianinas en estigmas de arroz: libre en solución y formando cuerpos o estructuras vesiculares. Ambas formas se concentrarían dentro del lumen de las vacuolas y no en el citoplasma. Zhang *et al.* (2006) describen a los AVIs en forma de vesícula como propios de las células epidérmicas abaxiales, mientras que las formas irregulares y las de bastón serían características de la cara adaxial.

En estudios realizados en pétalos de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), Markham *et al.* (2000) observaron este tipo de estructuras sólidas y lograron aislarlas de las vacuolas celulares por medio de micropipetas. Con este estudio, confirmaron que poseen carácter estructural y no son meramente una concentración localizada de antocianinas. En trabajos anteriores, se había propuesto que los cuerpos coloreados de forma esférica, encontrados en pétalos de lisianthus y hojas de repollo colorado podrían ser organelas provistas de membranas, a las que llamaron antocianoplastos (Small & Pecket. 1982). Por este motivo, Markham *et al.* (2000) realizaron observaciones de las estructuras utilizando microscopía electrónica, y comprobaron que los cuerpos coloreados sólidos presentaban forma irregular y no poseían membrana. A partir de esta última característica, se descartó la posibilidad de que se tratara de organelas, favoreciendo la hipótesis de que se trataría de otra forma de inclusiones vacuolares antociánicas (AVIs) (Kallam *et al.*, 2017).

La acumulación de AVIs se correlacionaría fuertemente con la formación de cianidin-3-O-grucósido (C3G) y sus derivados. En plántulas normales de *Arabidopsis*, las AVIs se acumulan sólo en algunas células mientras que, en mutantes con fallas en la glicosilación de las antocianidinas, se forman AVIs en todas las células epidérmicas de los cotiledones (Pourcel *et al.*, 2010). Este estudio sugeriría que la presencia de pigmento en unas pocas células estaría controlada genéticamente, pudiéndose alterar este mecanismo mediante la inducción de mutaciones o la eliminación de genes, generando variantes para el color de flor.

Los estudios anatómicos en las epidermis de los pétalos en los híbridos *P. amethystina* x *P. alata*, *P. alata* x *P. caerulea* y *P. alata* x *P. cincinnata* mostraron la presencia de sustancias pigmentadas dispersas en las vacuolas de algunas células y, al igual que en las especies, estructuras intracelulares de morfología irregular filamentosa a granular (Figura 1.e, f y g). Sin embargo, sólo se registró la presencia de cuerpos sólidos coloreados (AVIs) en el híbrido *P. alata* x *P. cincinnata*, producto del cruzamiento de las dos especies con esta característica (Figura 1. f2).

La presencia de AVIs sólidas sólo en el híbrido entre padres con esta característica, y la ausencia de esta en los otros híbridos de *P. alata* sugiere que la herencia del carácter sería cuantitativa. En este tipo de herencia, la variación fenotípica observada es el resultado de la interacción de múltiples genes de efecto reducido. En el caso de las AVIs sólidas, su presencia podría ser explicada si se tratara de caracteres umbral, expresándose sólo cuando ambos parentales heredan la característica al híbrido.

En cuanto al tamaño de las AVIs sólidas, se realizaron mediciones sobre las microfotografías y se observó que el porcentaje de superficie relativa de los cuerpos coloreados respecto del total celular fue de $0,56 \pm 0,37$ para *P. alata*, de $0,45 \pm 0,46$ para *P. cincinnata* y de $0,30 \pm 0,39$ para el híbrido entre ambas, sin diferencias significativas entre ellas ($p > 0,05$).

Markham *et al.* (2000) y Pourcel *et al.* (2010) afirman que a medida que se condensan las AVIs, se expresa un cambio en las propiedades del color de las flores en intensidad y matiz, ambos parámetros relacionados con el componente colorimétrico L*.

En la Tabla 1, se presentan los resultados de los análisis colorimétricos, exhibiendo la media para cada parámetro en especies e híbridos, así como la discriminación estadística de las pruebas BSS ($p > 0,05$). La colorimetría para los pétalos lila-violáceo de *P. cincinnata*

difirió de las otras especies en los tres parámetros (Tabla 1). Si bien esto podría deberse a que es la única de las especies estudiadas con este color, *P. alata* y *P. amethystina*, de flores rojas y azules respectivamente, mostraron valores casi idénticos de luminosidad y similares en su componente a^* . La mayor diferencia en el color de los pétalos entre estas especies estuvo dada por el componente colorimétrico b^* que resultó de valor positivo (hacia el amarillo) para *P. alata* y negativo (hacia el azul) para *P. amethystina*, en la escala que mide desde el amarillo hasta el azul.

Entre los híbridos interespecíficos obtenidos con *P. alata* se encontraron diferencias en los valores colorimétricos (Tabla 1). En los cruzamientos en los que *P. alata* actuó como parental femenino (*P. alata* x *P. caerulea* y *P. alata* x *P. cincinnata*), los componentes colorimétricos L y a presentaron valores intermedios a los de los padres, mientras que en la escala b^* , los híbridos mostraron herencia transgresiva, con valores fuera del rango encontrado en sus padres. En el cruzamiento en que *P. alata* actuó como parental masculino (*P. amethystina* x *P. alata*), el componente L^* en los híbridos mostró un valor estadístico similar al de ambos padres. Por otro lado, los componentes a^* y b^* no mostraron consistencia en el tipo de herencia en los distintos híbridos.

La presencia de AVIs sólidas no produjo valores más bajos de luminosidad (L), ni más negativos en el componente colorimétrico b (más azul) (Tabla 1). Por lo tanto, no se encontró correlación entre la presencia de AVIs sólidas y los parámetros colorimétricos. Además de las distintas formas de acumulación de antocianinas, el pH vacuolar poseería gran influencia en la determinación final del color de los pétalos. A pH ácido, por debajo de dos, se favorecería la formación del ion rojo *flavylium*, mientras que los incrementos en este valor convertirían a este en distintos compuestos que harían virar el color hacia púrpuras y azules (Houghton *et al.*, 2021).

En un estudio cromatográfico, Aizza *et al.* (2019), encontraron en la corona de *P. coccinea* dos de los tres precursores de la antocianidina, la cianidina y la pelargonidina. Esta especie, de flores rojas, presentaría suprimida la ruta de la delfinidina, por lo cual no tendría la vía a los colores azul o violeta. Estos autores, también analizaron la especie *P. incarnata* de flores color violeta, que atribuyeron a la presencia de malvidina y un híbrido entre ambas, la variedad *P. "Lady Margaret"*. Sorprendentemente, encontraron que el híbrido entre *P. coccinea* y *P. incarnata* expresaba las rutas metabólicas de antocianina de ambos padres, por lo que la herencia de este carácter sería codominante (Aizza *et al.*, 2019).

A partir de estos estudios, resultaría interesante poder realizar una comparación de los compuestos químicos presentes en los pétalos de las especies argentinas de *Passiflora*. Se han generado muchas preguntas relativas a los resultados presentados en este trabajo: ¿los distintos colores de flor en las especies se producen por el mismo compuesto a diferente pH o se trata de compuestos diferentes?, ¿cuántos genes están involucrados en la determinación del color de flor en el género?, ¿las AVIs sólidas se deben a la acumulación del compuesto diluido en la vacuola o se trata de otra sustancia?, ¿qué pasos en la ruta metabólica determinan un cambio en la selección de los polinizadores?. Será necesario profundizar en estudios moleculares, histológicos, bioquímicos y citogenéticos para dar respuesta certera a estos interrogantes.

Table 1. Colorimetric analysis of flower petals of *Passiflora* species and interspecific hybrids. CIELab colorimetric scale: L = luminosity, -a / + a = from green to red, -b / + b from blue to yellow. The numbers in the table indicate the mean value of the colorimetric parameter for each species or hybrid. Different letters indicate significant differences in the BSS tests (p 0.05) for each variable. The analyzes were carried out in Buenos Aires in 2017.

Tabla 1. Análisis colorimétrico de los pétalos en flores de especies e híbridos interespecíficos de *Passiflora*. Escala colorimétrica CIELab: L = luminosidad, -a/+a = de verde a rojo, -b/+b de azul a amarillo. Los números en la tabla indican la media del parámetro colorimétrico para cada especie o híbrido. Letras distintas indican diferencias

Especie/ cruzamiento	n	L*			a*						b*					
<i>P. caerulea</i>	27	A								F	A					
		81,35								-10,69	24,69					
<i>P. cincinnata</i>	18	B							E			C				
		60,55							17,72			-3,43				
<i>P. alata x P. caerulea</i>	18	B							E				D			
		60,40							19,09				-6,60			
<i>P. alata x P. cincinnata</i>	18		C											D		
			47,85											-6,66		
<i>P. amethystina x P. alata</i>	18			D	A										E	
				41,69	42,53										-10,75	
<i>P. alata</i>	36			D		B										
				41,18		38,16									20,59	
<i>P. amethystina</i>	9			D			C									F
				40,23			33,21									-33,33

significativas en las pruebas BSS (p 0,05) para cada variable. Los análisis fueron realizados en Buenos Aires en 2017.

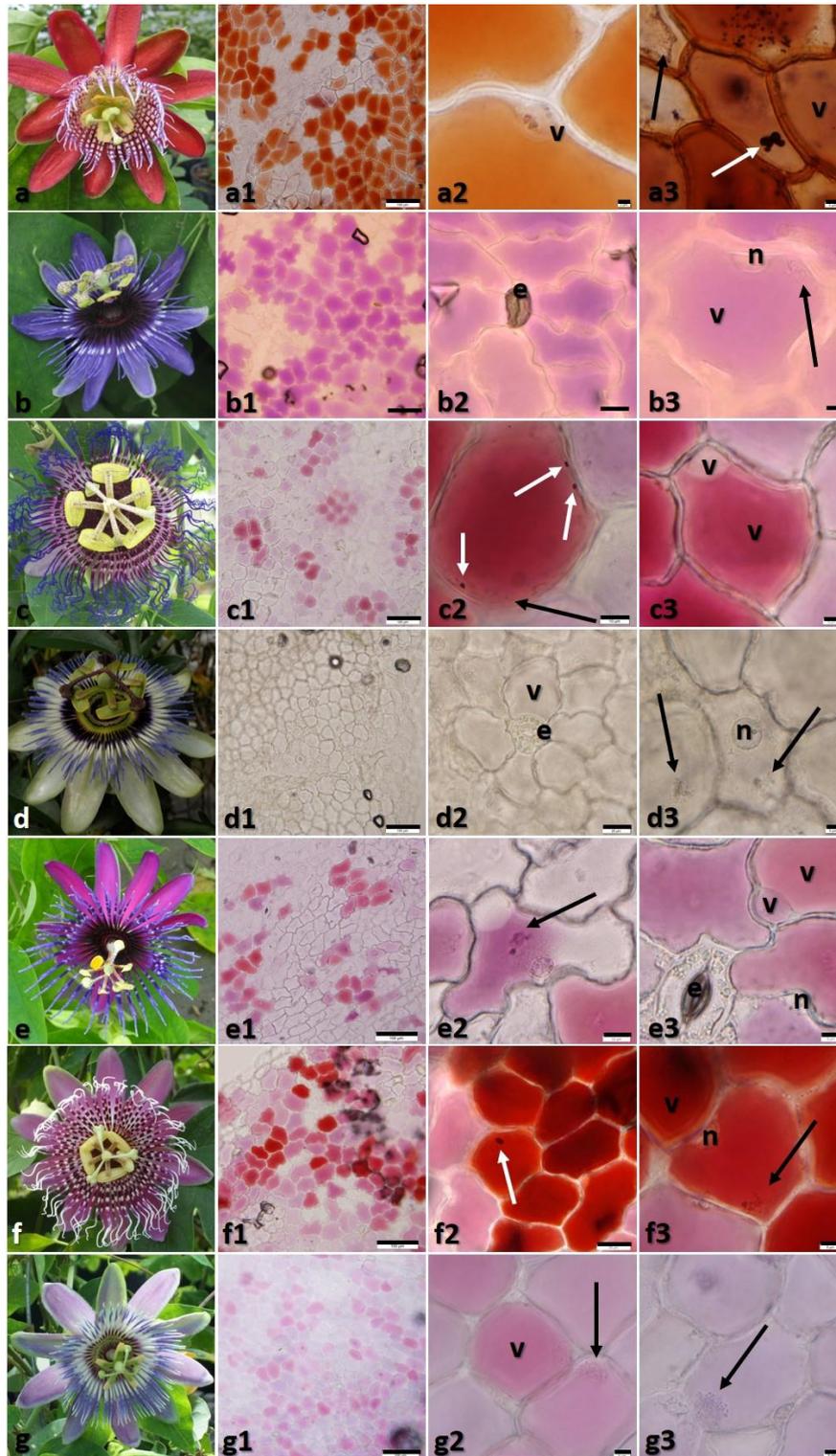


Figure 1. Study of the anatomical components that determine the color of the flowers in species and interspecific hybrids of *Passiflora*. Row a: *P. alata*; b: *P. amethystina*; c: *P. cincinnata*; d: *P. caerulea*; e: *P. amethystina* x *P. alata* hybrids; f: *P. alata* x *P. cincinnata* and g: *P. alata* x *P. caerulea*. Column 1: view of the epidermis, bar = 100 μm. Columns 2 and 3: details of the epidermal cells. Black arrows indicate irregular, filamentous to granular anthocyanin vacuolar inclusions. White arrows indicate colored bodies. e: stoma; v: vacuole; n: nucleus. Column 2, bars at a = 2 μm; b, e and f = 20 μm; c and d = 10 μm;

and g = 5 µm. Column 3, bars = 5 µm. The photographs were taken in Buenos Aires in 2017.

Figura 1. Estudio de los componentes anatómicos que determinan el color de las flores en especies e híbridos interespecíficos de *Passiflora*. Fila a: *P. alata*; b: *P. amethystina*; c: *P. cincinnata*; d: *P. caerulea*; e: híbridos *P. amethystina* x *P. alata*; f: *P. alata* x *P. cincinnata* y g: *P. alata* x *P. caerulea*. Columna 1: vista de la epidermis, barra = 100 µm. Columnas 2 y 3: detalles de las células epidérmicas. Flechas negras indican inclusiones vacuolares antociánicas irregulares de forma filamentosa a granular. Flechas blancas indican cuerpos coloreados. e: estoma; v: vacuola; n: núcleo. Columna 2, barras en a = 2 µm; b, e y f = 20 µm; c y d = 10 µm; y g = 5 µm. Columna 3, barras = 5 µm. Las fotografías fueron tomadas en Buenos Aires en 2017.

4. Conclusiones

Los estudios anatómicos mostraron que las tres especies con flores de color, *P. alata*, *P. amethystina* y *P. cincinnata* y los híbridos (*P. amethystina* x *P. alata*, *P. alata* x *P. caerulea* y *P. alata* x *P. cincinnata*), poseen acumulación de sustancias coloreadas en solución en las vacuolas en algunas de las células epidérmicas de los pétalos, intercaladas con otras incoloras. Todas las especies e híbridos estudiados presentaron inclusiones vacuolares antociánicas (AVIs) de morfología irregular filamentosa a granular. Se registró la presencia de AVIs sólidas en *P. alata*, *P. cincinnata* y en los híbridos *P. alata* x *P. cincinnata*. Su herencia sería cuantitativa expresándose como carácter umbral, sólo cuando ambos parentales heredan la característica al híbrido.

En los análisis colorimétricos en flores de los híbridos *P. alata* x *P. caerulea* y *P. alata* x *P. cincinnata*, mostraron valores intermedios a los parentales en los componentes L y a. Por otro lado, los componentes a y b no mostraron un patrón hereditario consistente en los híbridos. No se encontró correlación entre los parámetros colorimétricos y la presencia de AVIs sólidas.

La superficie epidérmica de los pétalos mostró numerosas células sin pigmento, carácter que resulta de la expresión de uno o pocos genes. Por lo tanto, en el marco del plan de mejoramiento, la inducción de mutaciones representaría una posibilidad de alterar genes que determinan la acumulación de antocianinas en unas pocas células, lo cual generaría nuevos colores de flor.

5. Bibliografía

- Aizza, L. C. B.; Sawaya, A. C. H. F.; Dornelas, M. C. 2019. Identification of anthocyanins in the corona of two species of *Passiflora* and their hybrid by ultra-high-performance chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry (UHPLC-ESI-MS/MS). *Biochemical systematics and ecology*, 85, 60-67.
- Buckley R.R.; Giorgianni E.J. 2015. CIELAB for Color Image Encoding (CIELAB, 8-Bit; Domain and Range, Uses). In: Luo R. (eds) *Encyclopedia of Color Science and Technology*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bugallo, V.; Pannunzio, M. J.; Cardone, S.; Facciuto, G. 2011. *Breeding Advances in Passiflora Native to Argentina*. Floriculture and

- Ornamental Biotechnology, Global Science Books, UK. 5 (1): 23-34.
- Bugallo, V; Pannunzio, M.J.; Facciuto, G. 2017. Análisis colorimétrico en flores de especies e híbridos de *Passiflora*. Horticultura Argentina, 36(90): 5-12.
- Chanoca, A.; Kovinich, N.; Burkel, B.; Stecha, S.; Bohorquez-Restrepo, A; Ueda, T.; Eliceiri, K.W.; Grotewold, E; Otegui, M. 2015. Anthocyanin vacuolar inclusions form by a microautophagy mechanism. The plant cell, 27(9): 2545-2559.
- Clegg, M.T.; Durbin, M.L. 2000. Flower color variation: a model for the experimental study of evolution. PNAS, 97(13):7016-7023.
- Cui, H.; Zhang, Y.; Shi, X.; Gong, F.; Xiong, X.; Kang, X.; Xing, G.; Li, S. 2019. The numerical classification and grading standards of daylily (*Hemerocallis*) flower color. PLoS ONE 14(6): e0216460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216460>
- Deginani, N. 2001. Las especies argentinas del género *Passiflora*. Darwiniana 39(1-2): 43-129.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo C.W. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. Annual Review of Plant Biology, 57: 761-780.
- Houghton, A.; Appelhagen, I.; Martin, C. 2021. Natural Blues: Structure Meets Function in Anthocyanins. Plants, 10(4), 726.
- Kallam, K.; Appelhagen, I.; Luo, J.; Albert, N.; Zhang, H.; Deroles, S.; Hill, L; Findlay, K; Andersen OM; Davies, K; Martin, C. 2017. Aromatic decoration determines the formation of anthocyanic vacuolar inclusions. Current Biology, 27(7), 945-957.
- Mackon, E.; Ma, Y.; Mackon, G.C.J.D.E.; Li, Q.; Zhou, Q.; Liu, P. 2021. Subcellular localization and vesicular structures of anthocyanin pigmentation by fluorescence imaging of Black Rice (*Oryza sativa* L.) stigma protoplast. Plants, 10: 685. <https://doi.org/10.3390/plants10040685>
- Markham, K.R.; Gould, K.S.; Winefield, C.S.; Mitchell, K.A.; Bloor, S.J.; Boase, MR. 2000. Anthocyanic vacuolar inclusions-their nature and significance in flower coloration. Phytochemistry 55: 327-336.
- Noda, N. 2018. Recent advances in the research and development of blue flowers. Breeding Science, 17132.
- Pourcell, L; Irani, N.G.; Lu, Y.; Riedl, K.; Schwartz. S.; Grotewold, E. 2010. The formation of anthocyanic vacuolar inclusions in *Arabidopsis thaliana* and implications for the sequestration of anthocyanin pigments. Molecular plant, 3(1): 78-90.
- Small, C.J.; Pecket, R.G. 1982. The ultrastructure of anthocyanoplasts in red cabbage. Planta. 154, 97-99.
- Tanaka, Y.; Sasaki, N.; Ohmiya, A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. The Plant Journal, 54: 733-746.
- Ulmer, T; MacDougal, J M. 2004. *Passiflora*: passionflowers of the World. Timber Press, Cambridge, UK. 1-430.
- van der Kooi, C.J.; Elzenga, J.T.M.; Staal M.; Stavenga, D.G. 2016. How to colour a flower: on the optical principles of flower coloration. Proceedings of the Royal Society Botany, 283: 20160429.
- Zhang, H.; Wang, L.; Deroles, S.; Bennett, R. & Davies, K. 2006. New insight into the structures and

formation of anthocyanic vacuolar inclusions in flower petals. *BioMed Central Plant Biology*, 6:29.

Zhao, D. & Tao, J. 2015. Recent advances on the development and regulation of flower color in ornamental plants. *Frontiers in plant science*, 6: 261.

Horticultura Argentina es licenciado bajo Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial 2.5 Argentina.