



**80**

**SEPTIEMBRE  
2018**

# **ACTAS DE HORTICULTURA**

**Comunicaciones Técnicas  
Sociedad Española de Ciencias Hortícolas**

## **IX CONGRESO DE MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS**

**MURCIA 2018**

**Editores:** **Jesús García Brunton  
Olaya Pérez Tornero  
José E. Cos Terrer  
Leonor Ruiz García  
Elena Sánchez López**



CONGRESO DE  
**MEJORA GENÉTICA**  
DE PLANTAS 2018

**Murcia 18-20 de septiembre**

# **ACTAS DE HORTICULTURA Nº 80**

## **ORGANIZADOR**

**Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario**

## **Colaboradores**

**Sociedad Española de Ciencias Hortícolas**

**Sociedad Española de Genética**

## **Patrocinadores**





CONGRESO DE  
**MEJORA GENÉTICA**  
DE PLANTAS 2018

**Murcia 18-20 de septiembre**

Editores:

Jesús García Brunton

Olaya Pérez Tornero

José E. Cos Terrer

Leonor Ruiz García

Elena Sánchez López

ISBN: 978-84-09-03766-7



## **Murcia 18-20 de septiembre**

### **Comité organizador:**

Jesús García Brunton - IMIDA

Olaya Pérez Tornero - IMIDA

José E. Cos Terrer - IMIDA

Leonor Ruiz García - IMIDA

Elena Sánchez López- IMIDA

### **Comité científico:**

Lucía de la Rosa - CRF-INIA, Alcalá de Henares, Madrid

Cristina Mallor - CITA, Zaragoza

Leonardo Velasco - IFAPA, Churriana, Málaga

Celia Martínez Mora - IMIDA, Murcia

Juan José Ruiz - UMH, Orihuela

M<sup>a</sup> José Díez - COMAV-UPV, Valencia

David Ruiz - CEBAS-CSIC, Murcia

Conchita Royo - UDLL-IRTA, Lleida

M<sup>a</sup> José Jordán - IMIDA, Murcia

M<sup>a</sup> José Rubio - CITA, Zaragoza

Jaime Prohens - COMAV-UPV, Valencia

Raúl de la Rosa Navarro - IFAPA, Alameda del Obispo, Córdoba

José Ignacio Ruiz de Galarreta - NEIKER, Vitoria-Gasteiz

Fanny Álvaro Sánchez - UDLL-IRTA, Lleida

## **Desarrollo de una colección de líneas de introgresión de *Solanum incanum* en el fondo genético de *S. melongena* y detección de QTLs implicados en caracteres de interés**

**G. Mangino<sup>1</sup>, P. Gramazio<sup>1</sup>, S. Vilanova<sup>1</sup>, E. García-Fortea<sup>1</sup>, J. Prohens<sup>1</sup> y M. Plazas<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera 14, 46022 Valencia

<sup>2</sup> Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universitat Politècnica de València, Camino de Vera 14, 46022 Valencia

**Palabras clave:** *Solanum melongena*, *S. incanum*, introgresión, especies silvestres, QTLs.

### **Resumen**

*Solanum incanum* es una especie silvestre altamente tolerante a la sequía considerada como parte del germoplasma secundario de la berenjena común (*S. melongena*). Con anterioridad a este trabajo, a través de un esquema de retrocruces con selección asistida por marcadores, se desarrolló una colección de materiales de introgresión avanzados y un conjunto de 25 líneas de introgresión fijadas (ILs) en el cual se utilizó *S. incanum* como parental donante. A partir de estos materiales se desarrollaron otras 20 ILs fijadas, totalizando 45 ILs, en las cuales está representado el 71,1% del genoma de *S. incanum*. Los materiales de introgresión obtenidos representan unos recursos extremadamente útiles para la disección genética de caracteres de interés. Por esta razón, recientemente, se evaluó un subconjunto de 16 ILs en dos ambientes distintos, donde se fenotiparon utilizando 20 descriptores morfológicos de planta, flor y fruto para detectar QTLs vinculados a estos caracteres. De esta forma, se identificaron 9 QTLs, distribuidos en 6 grupos de ligamiento, correspondientes principalmente a caracteres indicativos de tamaño de planta y flor. Esta información será de utilidad para la conservación y utilización de estos recursos genéticos en programas de mejora.

### **INTRODUCCIÓN**

Las colecciones de materiales de introgresión avanzados representan una excelente estrategia de reproducción para incorporar la variación natural de interés en los programas de mejoramiento modernos. Las líneas de introgresión (ILs) se generan por retrocruzamiento, a partir de un cruce F1 entre un genotipo donante seleccionado, generalmente germoplasma exótico o silvestre, y un fondo genético común, generalmente un cultivar de élite. La selección asistida por marcadores de líneas con introgresiones receptor-donante y antecedentes genéticos recurrentes se realiza en cada generación. Además de la introducción de una nueva variabilidad en los cultivos, las ILs han demostrado una mayor eficacia en la estimación de QTLs respecto a otras poblaciones segregantes, como F2 o líneas dobles haploides (Yin et al., 2016).

En el caso de la berenjena común (*S. melongena*), la primera colección de líneas de introgresión se desarrolló por nuestro grupo y consiste en 25 ILs fijadas que cubren el 61,7% del genoma del parental donante, *S. incanum* (Gramazio et al., 2017). *S. incanum* es una especie silvestre que crece naturalmente en las zonas desérticas y presenta una considerable tolerancia a la sequía (Knapp et al., 2013). Debido a las características de esta especie silvestre, el análisis de los materiales de introgresión producidos será extremadamente

interesante para obtener información útil para la mejora de la berenjena. Además, el desarrollo de ILs puede ser útil no solo para diseccionar la base genética de los caracteres de interés, sino también para desarrollar variedades de berenjena con nuevos caracteres, incluidos caracteres complejos como la resistencia a la sequía, introgresados a partir de *S. incanum*.

En este trabajo, describimos el progreso en la obtención y selección de la colección de material introgresado y su uso en la identificación de QTLs relacionados a caracteres de interés.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los parentales utilizados consistieron en una accesión de *S. melongena* (AN-S-26) y una accesión silvestre de *S. incanum* (MM557). AN-S-26 es una variedad tradicional andaluza sin espinas con frutos morados, grandes y de forma obovoide. MM557, recolectada en Israel, presenta frutos verdes, pequeños y de forma subovoide y espinas en el tallo, hojas y cáliz.

Para la obtención de nuevas líneas de introgresión, plantas seleccionadas de retrocruces avanzados (Gramazio et al., 2017) se polinizaron a mano en un invernadero libre de polinizadores y los cruces se realizaron entre el parental recurrente AN-S-26 y las plantas seleccionadas por presentar los fragmentos objetivo. Una vez conseguida una planta con el fragmento objetivo en heterocigosis se procedió a su autofecundación para la fijación del fragmento introgresado. Los descendientes se seleccionaron utilizando diferentes marcadores moleculares (COSII, SSR, SNP) para las regiones genómicas objetivo.

Para la identificación de QTLs, se seleccionó un subconjunto de 16 ILs de la colección final (Figura 1). De cada IL se cultivaron 5 plantas en dos ambientes distintos (aire libre e invernadero) y se utilizaron 20 descriptores morfológicos de planta, flor y fruto, la mayoría de las cuales fueron desarrollados por EGGNET (Muñoz-Falcon et al., 2009). Para cada réplica se obtuvo un valor medio y se realizaron análisis de varianza. El valor medio de cada línea se comparó a los del parental *S. melongena* usando el test de Dunnett ( $p < 0.05$ ). Se consideró que se había detectado un QTL cuando las ILs individuales eran significativamente distintas ( $p < 0.05$ ) de *S. melongena* en ambos los ambientes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la colección de materiales de introgresión avanzados y de las ILs desarrolladas previamente, se realizaron dos ciclos de retrocruzamiento y/o autofecundación y una selección por marcadores moleculares, con 5-6 marcadores por grupo de ligamiento. En cada ciclo se ensayó un número de plantas entre 250 y 300 con el fin de seleccionar las plantas con los genotipos más interesantes. Generalmente la cantidad de semillas obtenida de material desarrollado resultó variable, aunque la tasa de éxito de los cruces ha sido alta y sin relevantes problemas de fertilidad. Actualmente disponemos de plantas de la generación BC5S3, BC5S4, BC6S1, BC6S2 que se genotiparán con la técnica SPET (Single Primer Enrichment Technology) para evaluar con una mayor precisión la fijación en homocigosis de los fragmentos introgresados de *S. incanum*. Entre las nuevas líneas de introgresión, se obtuvieron 20 nuevas, lo cual supone un total de 45, las cuales cubren el 71,7% del genoma de *S. incanum*.

La combinación de datos fenotípicos y genotípicos permitió la detección de 9 QTLs, distribuidos en 6 grupos de ligamiento (Tabla 1). Se encontraron valores significativos para QTLs correspondientes principalmente a caracteres indicativos de tamaño de planta y flor. En total, tres líneas (SMI\_2.4, SMI\_3.1 y SMI\_8.1) presentaron QTLs para valores

superiores a *S. melongena* para la altura y anchura media de planta, así como para la longitud del estigma. SMI\_2.4 mostró valores elevados de peso medio del fruto con respecto a la berenjena cultivada. Por otra parte, los valores para la longitud de pedicelo y pedúnculo resultaron significativamente inferiores a *S. melongena* en 4 casos (SMI\_1.3, SMI\_4.1, SMI\_8.1 y SMI\_12.6).

Los resultados muestran que el material de introgresión desarrollado representa un recurso útil para la identificación de QTLs relacionados a caracteres de interés. Esta información será de utilidad para la conservación y utilización de estas herramientas genéticas en programa de mejora.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó como parte de la iniciativa "Adaptación de la agricultura al cambio climático: recolección, protección y preparación de especies silvestres relacionadas de cultivos", que cuenta con el respaldo del Gobierno de Noruega. El proyecto es administrado por Global Crop Diversity Trust con el Millennium Seed Bank del Royal Botanic Gardens, Kew UK, y se implementa en asociación con bancos de germoplasma nacionales e internacionales e institutos de mejora genética vegetal de todo el mundo. Más información sobre el proyecto se puede encontrar en el sitio web <http://www.cwrdiversity.org/>. Este trabajo también ha recibido financiación del Programa de Investigación Horizonte 2020 de la Unión Europea dentro del contrato No. 677379 (proyecto G2P-SOL: Linking genetic resources, genomes and phenotypes of Solanaceous crops) y del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (proyecto AGL2015-64755-R del MINECO/FEDER). Giulio Mangino agradece a la Conselleria d'Educació, Cultura i Esport de la Generalitat Valenciana la concesión de un contrato predoctoral dentro del programa Santiago Grisolia (GRISOLIAP/2016/012). Edgar García-Fortea agradece a la Universitat Politècnica de València la concesión de un contrato predoctoral (Programa de Ayudas de Investigación y Desarrollo PAID-01-17). Mariola Plazas agradece al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad la concesión de un contrato postdoctoral dentro de programa Juan de la Cierva-Formación (FCJI-2015-24835).

### Referencias

- Gramazio, P., Prohens, J., Plazas, M., Mangino, G., Herraiz, F.J., and Vilanova, S. (2017). Development and Genetic Characterization of Advanced Backcross Materials and An Introgression Line Population of *Solanum incanum* in a *S. melongena* Background. *Front. Plant Sci.* 8:1477. doi: 10.3389/fpls.2017.01477
- Knapp, S., Vorontsova, M. S., Prohens, J. (2013). Wild relatives of the eggplant (*Solanum melongena* L.: Solanaceae): new understanding of species names in a complex group. *PLoS ONE* 8:e57039. doi: 10.1371/journal.pone.0057039
- Muñoz-Falcon, J.E., Prohens, J., Vilanova, S., and Nuez, F. 2009. Diversity in commercial varieties of black eggplants and implication for broadening the breeders' gene pool. *Ann. Appl. Biol.* 154: 453-465.
- Yin, X., Struik, P., Gu, J., and Wang, H. (2016). "Modelling QTL-trait-crop relationships: past experiences and future prospects," in *Crop Systems Biology*, eds X. Yin and C. Stuik

Tabla 1. QTLs identificados en las 16 ILs seleccionadas a partir de la colección final.

Carácter	QTL	Línea	Cromosoma	Posición física (Mb)	Variación con respecto a <i>S. melongena</i> (aire libre)	Variación con respecto a <i>S. melongena</i> (invernadero)
Altura planta (cm)	<i>alp1</i>	SMI_8.1	8	3-109	14.14	16.46
Anchura planta (cm)	<i>anp1</i>	SMI_2.4	2	75-81	6.53	3.49
	<i>anp2</i>	SMI_3.1	3	7-86	4.36	3.57
Longitud estigma (cm)	<i>lest1</i>	SMI_8.1	8	3-109	0.52	0.43
Longitud pedicelo (cm)	<i>lpdc1</i>	SMI_4.1	4	4-105	-2.74	-2.49
	<i>lpdc2</i>	SMI_8.1	8	3-109	-3.16	-2.28
	<i>lpdc3</i>	SMI_12.6	12	3-96	-2.94	-3.02
Longitud pedúnculo (cm)	<i>lpdu1</i>	SMI_1.3	1	27-36	-1.01	-0.71
Peso medio (g)	<i>pm1</i>	SMI_2.4	2	75-81	-28.9	-46.3



Figura 1. Representación gráfica de los genotipos de las ILs seleccionadas para la identificación de QTLs. Las filas indican los códigos de las ILs y las columnas indican los números de cromosomas. Las introgresiones homocigotas del parental donante se representan en rojo, el fondo genético del parental receptor se representa en azul.