



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^a José Díez - COMAV-UPV, Valencia

David Ruiz - CEBAS-CSIC, Murcia

Conchita Royo - UDLL-IRTA, Lleida

M^a José Jordán - IMIDA, Murcia

M^a 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

Obtención de retrocruces avanzados de *Solanum elaeagnifolium* en el fondo genético de *S. melongena* para la mejora genética de la berenjena.

E. García-Fortea¹, P. Gramazio¹, S. Vilanova¹, G. Mangino¹, J. Prohens¹ y M. Plazas²

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

² 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. elaeagnifolium*, introgresión, especies silvestres, germoplasma terciario, sequía.

Resumen

Solanum elaeagnifolium es una planta adventicia originaria de América altamente tolerante a la sequía considerada como parte del germoplasma terciario de la berenjena común (*S. melongena*). Con anterioridad a este trabajo se obtuvieron varios híbridos interespecíficos de *S. melongena* con *S. elaeagnifolium* mediante rescate de embriones. Se realizaron alrededor de 800 cruzamientos entre los híbridos F1 como parental femenino (dada su muy baja viabilidad del polen) y el parental *S. melongena* para obtener 22 frutos, de los cuales solo 1 fue partenocárpico. Las semillas de la generación BC1 fueron morfológicamente normales y su germinación fue aceptable, del 50%. A partir de 20 plantas BC1, con una viabilidad del polen promedio alrededor del 20%, se obtuvo semilla BC2 en 17 de ellas. Cada una de estas familias BC2 germinaron y se realizaron extracciones de DNA en varias plantas, con el fin de genotiparlas, seleccionarlas y retrocruzarlas para obtener la generación BC3, con el objetivo final de desarrollar líneas de introgresión. Los materiales desarrollados son de gran interés para la mejora genética de la berenjena, en particular para tolerancia a estreses abióticos como la sequía.

INTRODUCCIÓN

La berenjena común (*S. melongena*), un cultivo originario del Viejo Mundo domesticado en el sudeste asiático se encuentra relacionada con un gran número de especies silvestres del subgénero *Leptostemonum*. Se han conseguido obtener híbridos interespecíficos y retrocruzamientos con bastantes especies relacionadas del Viejo Mundo, incluyéndose el desarrollo de líneas de introgresión con *S. incanum* (Plazas et al., 2016). También se han obtenido híbridos interespecíficos (sexuales o por hibridación somática) con varias especies del Nuevo Mundo de gran interés en la mejora genética de esta especie (como *S. aculeatissimum*, *S. elaeagnifolium*, *S. sisymbriifolium*, *S. torvum*, o *S. viarum*) por sus resistencias o tolerancias a estreses bióticos y abióticos (Kouassi et al., 2016; Rotino et al., 2014). De hecho, alguna de ellas, como *S. torvum*, se utiliza de forma regular como portainjertos de berenjena por sus resistencias a múltiples enfermedades de suelo y a nematodos. No obstante, estos híbridos son altamente estériles.

Una de las especies americanas de mayor interés en la mejora de la berenjena es *S. elaeagnifolium*. Esta es una maleza originaria de desiertos y bosques secos del norte y el sur de América perteneciente al clado *Elaeagnifolium* (Knapp et al., 2017) y altamente tolerante a la sequía. A pesar de su evidente interés en la mejora de la berenjena, la obtención de híbridos interespecíficos no ha sido descrita hasta hace poco (Kouassi et al.,

2016). A partir de cientos de cruzamientos realizados entre seis accesiones distintas de *S. melongena* y una de *S. elaeagnifolium*, obtuvimos frutos con una de las accesiones, la accesión MEL3. Utilizando la técnica de rescate de embriones in vitro se obtuvieron nueve híbridos F1, los cuales presentaban baja viabilidad del polen. Debido a que entre las especies americanas de *Solanum*, las del clado *Elaeagnifolium* sean las más cercanas a las especies del Viejo Mundo (Knapp et al., 2017), aumenta las posibilidades de poder aprovechar de esta especie filogenéticamente alejada para la mejora de la berenjena a través de la obtención de materiales avanzados de retrocruzamientos.

En esta comunicación se detalla por primera vez la obtención de retrocruzamiento entre *S. melongena* y una especie americana (*S. elaeagnifolium*). Consideramos que estos resultados pueden abrir la vía al aprovechamiento de las características de interés de *S. elaeagnifolium* en la mejora de la berenjena.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los parentales utilizados consistieron en una accesión de *S. melongena* (MEL3) (Fig.1A) y una accesión silvestre de *S. elaeagnifolium* (ELE2) (Fig.1B). MEL3 es una accesión de Costa de Marfil, la cual ha sido utilizada en un programa de mejora mediante introgresiones (Plazas et al., 2016), que presenta frutos semi largos. ELE2 fue colectada como una planta adventicia en Grecia y presenta pequeños frutos redondeados (Kouassi et al., 2016). Ambos parentales tienen frutos verdes con vetas de color verde oscuro (Fig.1E). También se utilizaron réplicas clonales del híbrido interespecífico *S. melongena* x *S. elaeagnifolium* (F1) (Fig.1C), obtenido mediante rescate de embriones (Kouassi et al., 2016).

Para conseguir las generaciones de retrocruces entre MEL3 y el híbrido interespecífico F1, éste último fue utilizado como parental femenino debido a la baja viabilidad del polen, y empleando el polen de MEL3 para obtener la generación BC1 (Fig.1D). Además, las plantas BC1 obtenidas se emplearon como parentales femeninos para el desarrollo de la generación BC2. Todas las plantas usadas para las hibridaciones crecieron en macetas de 15 L con fibra de coco, las cuales fueron fertirrigadas usando un sistema de irrigación por goteo. Las hibridaciones se llevaron a cabo en horas tempranas de la mañana en un invernadero libre de insectos. Las flores se etiquetaron y los frutos se cosecharon en su estadio de madurez fisiológica, exceptuando un primer fruto en un cruce entre MEL3 y el híbrido F1, el cual se recogió inmaduro para aplicar el protocolo de rescate de embriones descrito por (Plazas et al., 2016). Las semillas de los frutos maduros se extrajeron manualmente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de realizar alrededor de 800 cruzamientos entre el híbrido interespecífico F1 y MEL 3, se obtuvieron 22 frutos, que presentaron un desarrollo normal. El primer fruto que se formó se cosechó antes de la madurez fisiológica, encontrándose semillas desarrolladas en su interior. A partir de ellas, se pudieron rescatar 10 embriones, los cuales se desarrollaron en plantas BC1 fenotípicamente normales. El desarrollo normal de las semillas sugirió que no existían problemas de degeneración del embrión y el rescate de embriones se abandonó a partir de este momento, dejando el resto de los frutos con semillas BC1 desarrollar hasta su punto de madurez fisiológica (Fig.1F). Exceptuando un fruto que fue partenocárpico, los 21 restantes obtenidos sobre el híbrido F1 polinizados con el polen de MEL3, presentaron un rango de semillas entre 4 y 40 (media \pm SD = 12.32 \pm 8.13 semillas/fruto).

La viabilidad del polen en MEL3 fue superior al 90% mientras que en ELE2 fue de alrededor del 50%. Por otra parte, la viabilidad del polen del híbrido era muy inferior adquiriendo valores inferiores al 3%. En cambio, en los individuos de la BC1 fue variable, mostrando un aumento considerable respecto al híbrido, con valores con un promedio en torno al 20%. El bajo porcentaje de cuajado en el retrocruzamiento del híbrido F1 con el parental MEL3, comparado con los retrocruzamientos con otros híbridos interespecíficos de berenjena (Kouassi et al., 2016), probablemente sea debido a un mayor grado de esterilidad de los gametos de este híbrido. Por otra parte, el hecho de que no cuajase ningún fruto con semillas en las flores no polinizadas sugiere que la esterilidad del polen es un factor más limitante que el de los óvulos.

Todas las semillas del fruto del primer retrocruzamiento (BC1) con mayor número de éstas (40) se pusieron a germinar, obteniéndose 20 plantas BC1 (germinación del 50%). Estas 20 plantas se cultivaron en el siguiente ciclo para la obtención de la generación BC2. Se hicieron múltiples cruzamientos (alrededor de 3.000), utilizando las plantas BC1 como parental femenino y obteniéndose al menos un fruto en 17 de las 20 plantas BC1. Si se asumiese una segregación y recombinación normales en los gametos del híbrido F1 significaría que el porcentaje de genoma de *S. elaeagnifolium* representado en estas 17 plantas sería del 1-0.517 (>0.99999). A pesar de que es probable que existan distorsiones en la segregación y recombinación en el híbrido interespecífico, una gran parte del genoma de *S. elaeagnifolium* se encuentre representado en estas plantas. Con estas 17 plantas se obtuvieron un total de 92 frutos (entre 1 y 9 frutos por planta), todos ellos con semillas y un rango de 1 a 150 semillas/fruto (media \pm SD = 62.86 ± 35.99 semillas/fruto). Quince semillas BC2 se germinaron por cada una de las familias BC2 para obtener un mínimo de 10 plantas para utilizar la selección asistida por marcadores moleculares y desarrollar un programa de obtención de líneas de introgresión. Dada la alta tolerancia a sequía de *S. elaeagnifolium* (Knapp et al., 2017), es altamente probable que algunas de las futuras líneas de introgresión presenten una mayor tolerancia que la berenjena cultivada.

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). 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). 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). 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

- Knapp, S., Sagona, E., Carbonell, A.K.Z., Chiarini, F. (2017). A revision of the *Solanum elaeagnifolium* clade (*Elaeagnifolium* clade; subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). *PhytoKeys*, 84, 1–104.
- Kouassi, B., Prohens, J., Gramazio, P., Kouassi, A.B., Vilanova, S., Galán-Ávila, A., Herraiz, F.J., Kouassi, A., Seguí-Simarro, J.M., Plazas, M. (2016). Development of backcross generations and new interspecific hybrid combinations for introgression breeding in eggplant (*Solanum melongena*). *Scientia Horticulturae*, 213, 199–207.
- Plazas, M., Vilanova, S., Gramazio, P., Rodríguez-Burruezo, A., Fita, A., Herraiz, F.J., Ranil, R., Fonseca, R., Niran, L., Fonseca, H., Kouassi, B., Kouassi, A., Kouassi, A., Prohens, J. (2016). Interspecific Hybridization between Eggplant and Wild Relatives from Different Genepools. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 141, 34–44.
- Rotino, G. L., Sala, T., Toppino, L. (2014). Eggplant. In *Alien Gene Transfer in Crop Plants*, Volume 2 (pp. 381–409). New York, NY: Springer New York.

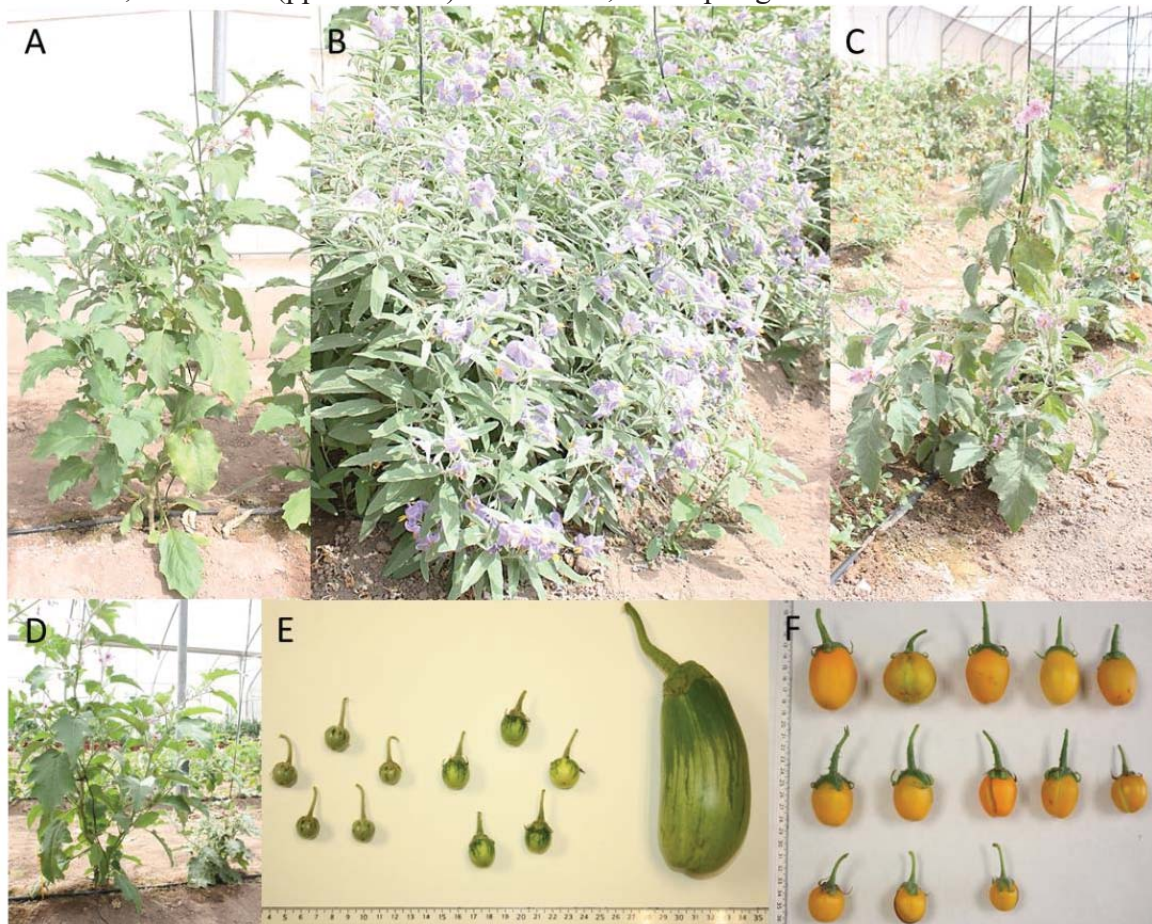


Figura 1. Material vegetal utilizado: planta de *S. melongena* (MEL3) (A); planta de *S. elaeagnifolium* (ELE2) (B); planta del híbrido *S. melongena* x *S. elaeagnifolium* (F1) (C); dos plantas del primer retrocruzamiento (BC1) del híbrido interespecífico hacia *S. melongena* mostrando diferencias extremas en el tamaño de la planta (D); frutos de *S. elaeagnifolium* (izquierda), híbrido interespecífico F1 (centro) y *S. melongena* (derecha) (E); segregación para el tamaño y la forma de los frutos del primer retrocruzamiento (BC1) del híbrido interespecífico F1 hacia el parental *S. melongena* en madurez fisiológica (F). Escala en cm.