

Un modelo para desbloquear y movilizar genes de varias especies apomícticas en un plan de mejoramiento genético

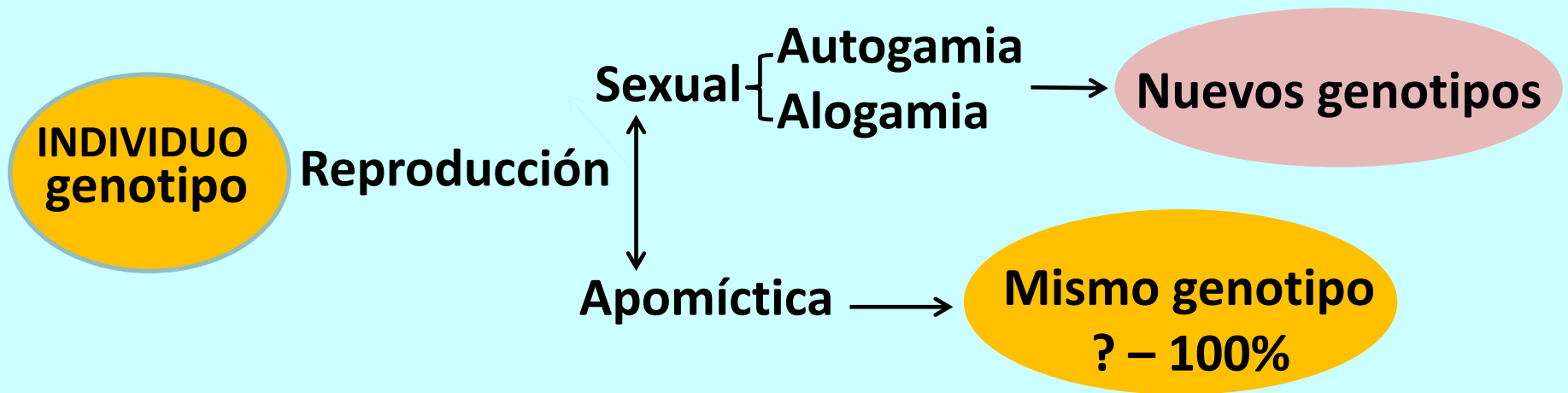
Camilo L. Quarín

Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad Nacional del Nordeste
Corrientes - Argentina



Mejoramiento genético: "El arte y la ciencia de mejorar el **genotipo** de las plantas en relación con su utilización económica". Smith (1986)

El **genotipo** se refiere al conjunto de genes y a la combinación de alelos que porta un individuo.



Género *Paspalum*

- Subg. *Ceresia* con 25 especies
- Subg. *Anachyris* con 6 especies
- ~ 30 Grupos con ~300 especies



Grupo **PLICATULA**

- ✓ Más de 30 especies en Sudamérica
- ✓ Buenas forrajeras naturales
- ✓ Algunas se cultivan para forraje:

P. plicatulum
P. guenoarum
P. atratum
P. nicorae



Patricia Novo



PLICATULA

- ✓ En general son especies multiploides: $2x$, $4x$, ($3x$, $5x$, $6x...$)

Citotipos {

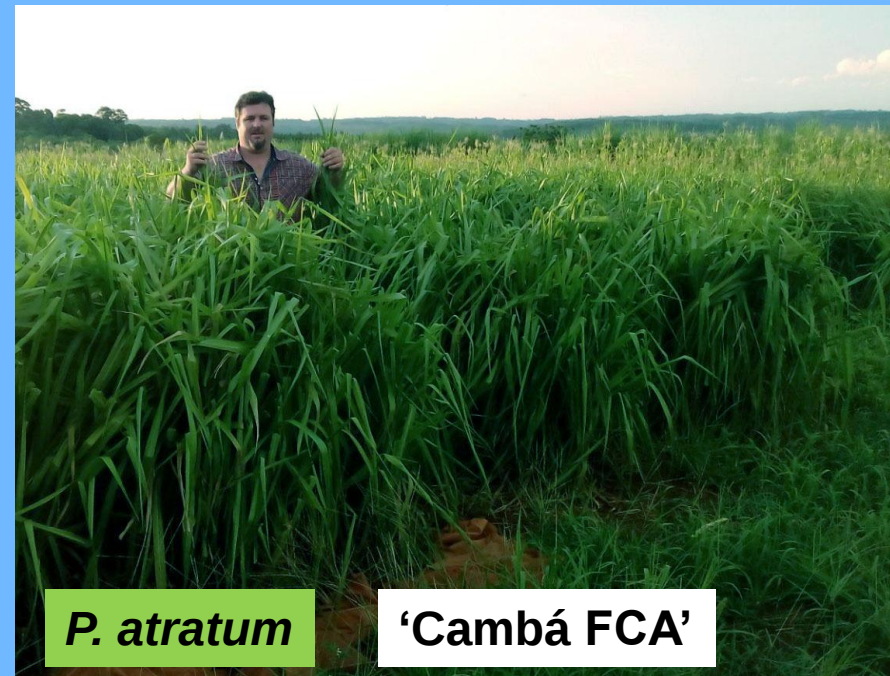
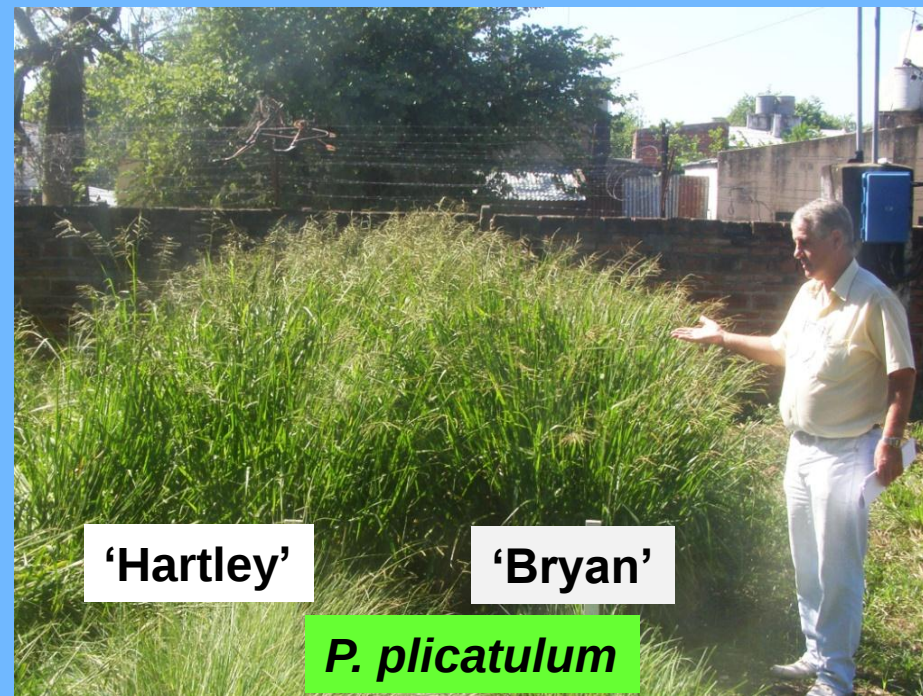
- Diploides, $2n = 2x = 20$, sexuales y alógamos
- Tetraploides, $2n = 4x = 40$, apomícticos
- Poliploides raros, $3x$, $5x$, $6x...$, apomícticos

- ✓ Para algunas solo se conocen $4x$ apomícticos



- Seleccionar los mejores biotipos silvestres y cultivarlos

Algunos cultivares obtenidos por selección de biotipos en el grupo Plicatula

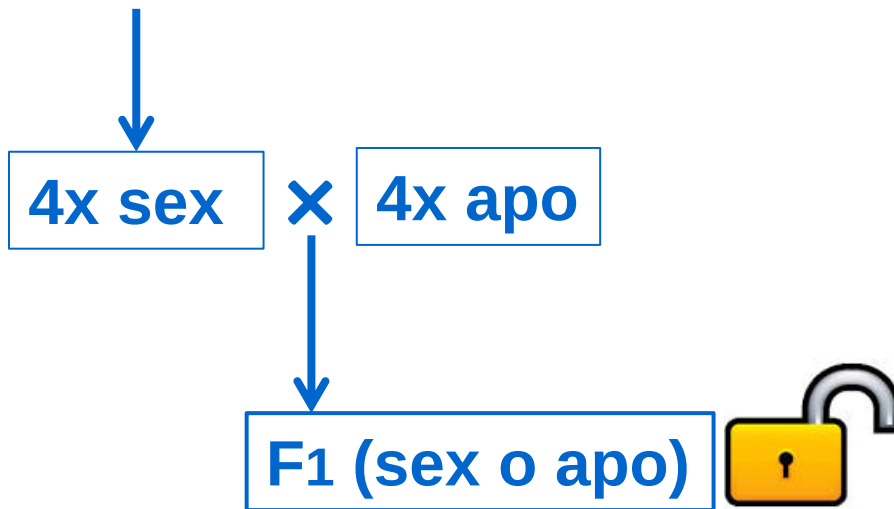


➤ Transferir genes o cambiar la combinación de alelos mediante cruzamientos

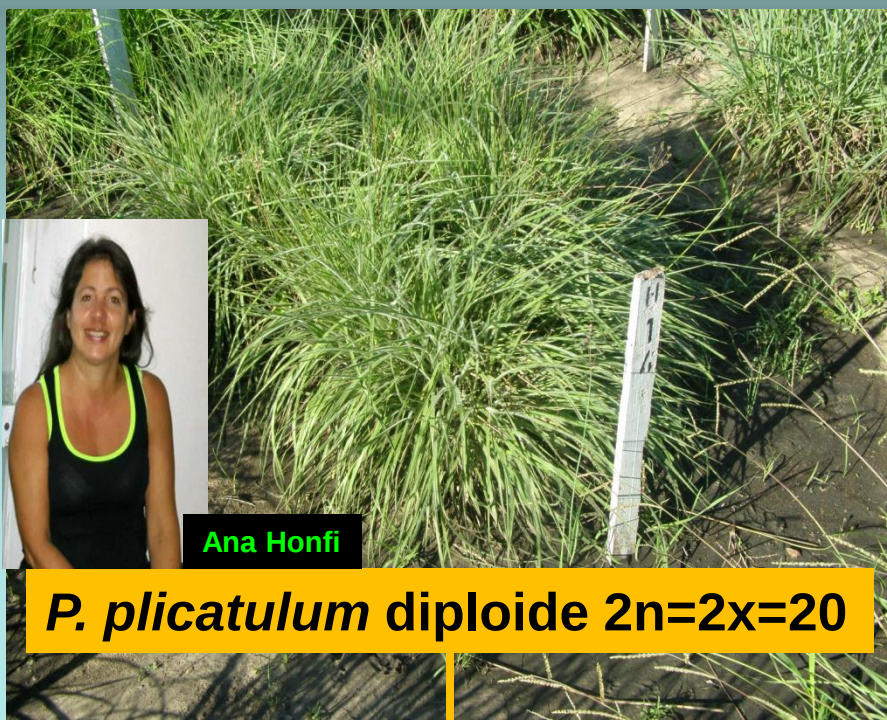


Cómo desbloquear?

2x sex + colchicina

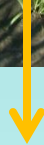


Burton & Forbes (1960)

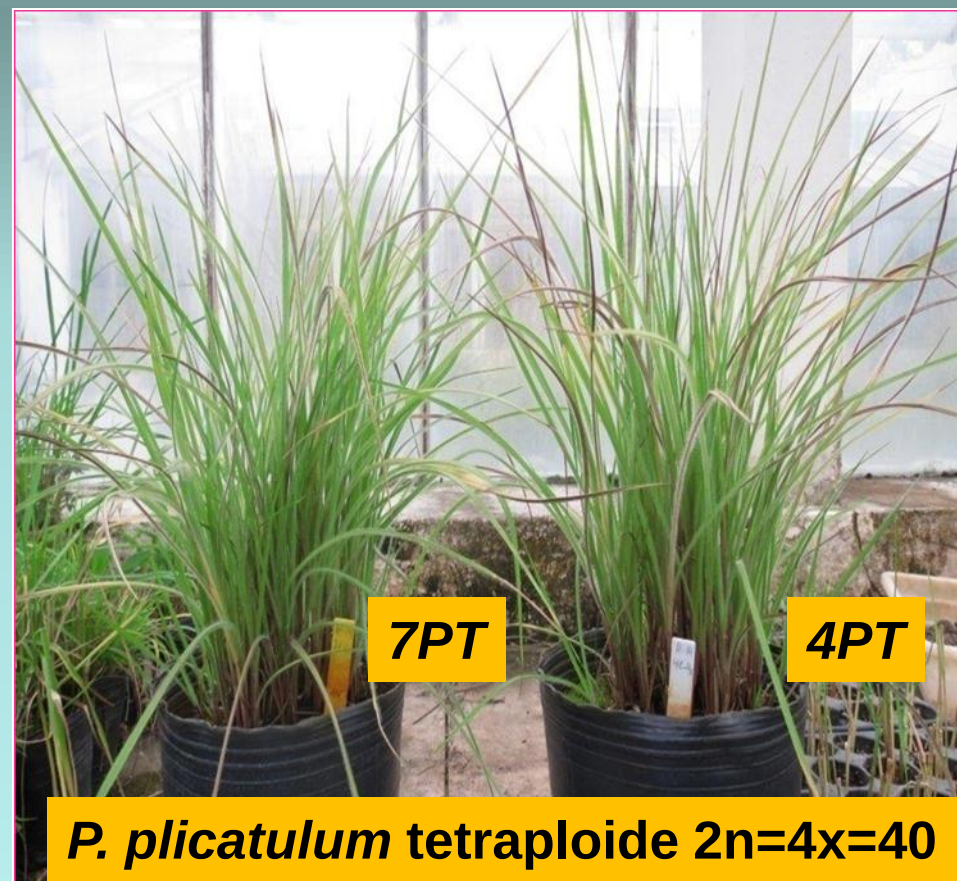


Ana Honfi

P. plicatulum diploide $2n=2x=20$



Tratamiento colchicina →



P. plicatulum tetraploide $2n=4x=40$

4PT = reproducción sexual, 100% autoestéril

7PT = sexual, autoestérilidad (>96%)

Sartor et al. 2009



➤ Parentales masculinos: 22 accesiones 4xA (12 especies).

- *P. chaseanum* (1)

- *P. nicorae* (2)

- *P. compressifolium* (1)

- *P. oteroi* (1)

- *P. guenoarum* (5)

- *P. palustre* (1)

- *P. lenticulare* (2)

- *P. plicatulum* (3)

- *P. macedoi* (1)

- *P. rojasii* (1)

- *P. modestum* (1)

- *P. wrightii* (3)



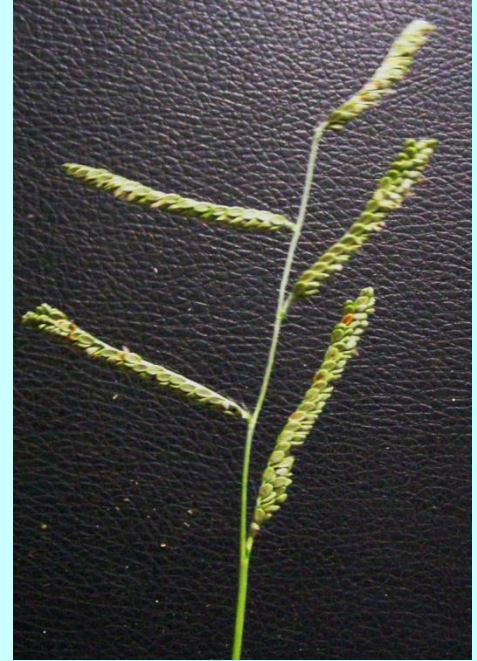
'Baio'

'Azulão'

P. guenoarum 4x apomícticos



P compressifolium

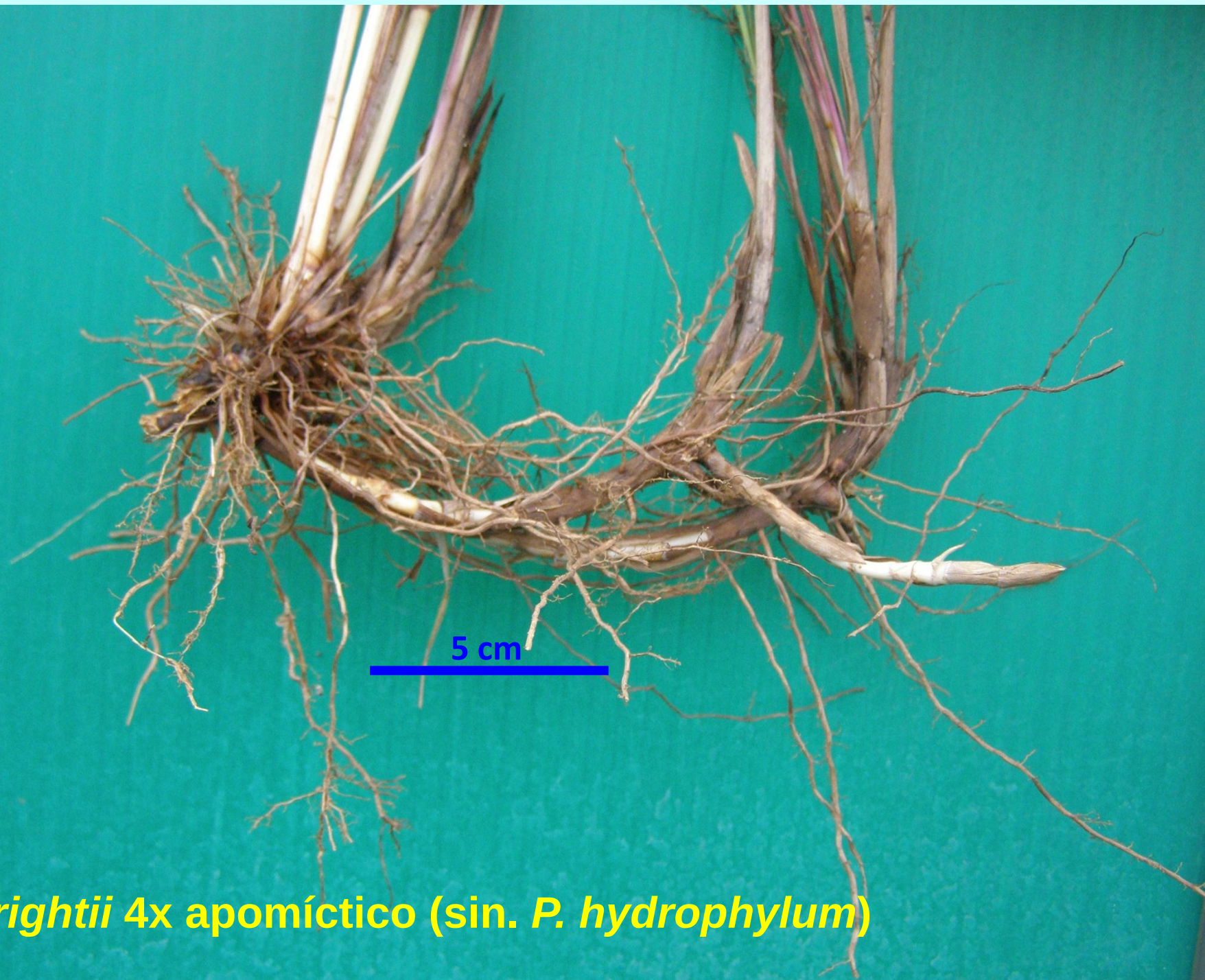




***P. nicorae* 4x apomíctico**



***P chaseanum* 4x apomíctico**



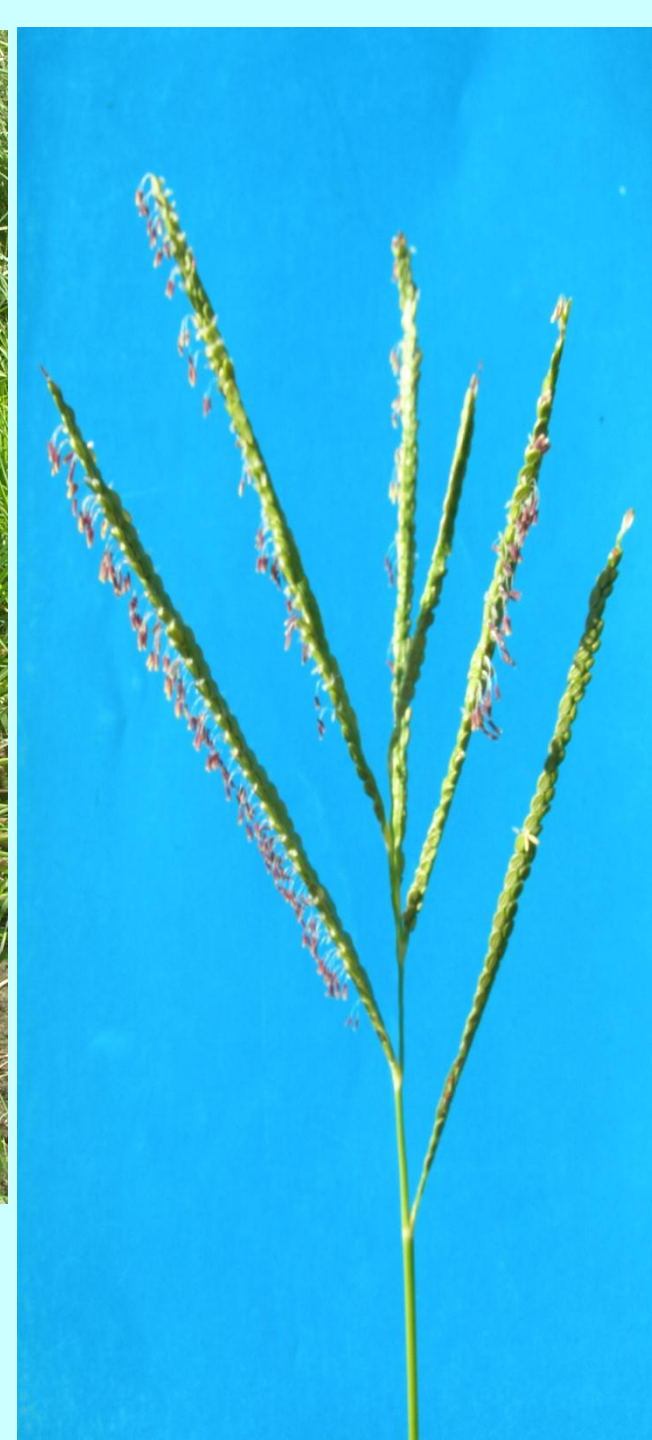
P. wrightii 4x apomictico (sin. *P. hydrophylum*)



***P. oteroi* 4x apomíctico**



***P. palustre* 4x apomíctico**



➤ Cruzamientos entre *P. plicatulum* (4PT, 7PT) 4xS × 22 genotipos 4xA

11 especies + *P. plicatulum*



Francisco Espinoza

Cruzamientos	Espiguillas polinizadas (nº)	F ₁ obtenidas (nº)	Cruzabilidad (%)
<i>P. plicatulum</i> 7PT			
x <i>P. lenticulare</i> V11893	131	4	3,0
<i>P. plicatulum</i> 4PT			
x <i>P. chaseanum</i> ST13894	254	27	10,6
x <i>P. guenoarum</i> Azulao	572	45	7,9
x <i>P. guenoarum</i> Baio	367	59	16,1
x <i>P. guenoarum</i> BO107	94	4	4,2
x <i>P. guenoarum</i> Q4108	647	2	0,3
x <i>P. guenoarum</i> R19 cv Rojas	1282	189	14,7
x <i>P. lenticulare</i> BO190	168	4	2,4
x <i>P. nicorae</i> CPI27707	992	3	0,3
x <i>P. nicorae</i> PI508821	147	15	10,2
x <i>P. oteroi</i> A&V1332	479	22	4,6

Continúa

Continuación

Cruzamientos		Espiguillas polinizadas (nº)	F ₁ obtenidas (nº)	Cruzabilidad (%)
<i>P. plicatum</i> 4PT				
x	<i>P. compressifolium</i> AK40811	877	2	0,2
x	<i>P. plicatum</i> Hojs388	235	20	8,5
x	<i>P. plicatum</i> ML5	360	13	3,6
x	<i>P. rojasii</i> AK40732	816	17	2,1
x	<i>P. wrightii</i> U90	382	1	0,3
x	<i>P. macedoi</i> TK2323	96	0	0,0
x	<i>P. modestum</i> Hojs395	569	0	0,0
x	<i>P. palustre</i> BOA110	115	0	0,0
x	<i>P. plicatum</i> Q4087	449	0	0,0
x	<i>P. wrightii</i> Q4158	271	0	0,0
x	<i>P. wrightii</i> U89	137	0	0,0
Total	22 cruzamientos	9244	427	

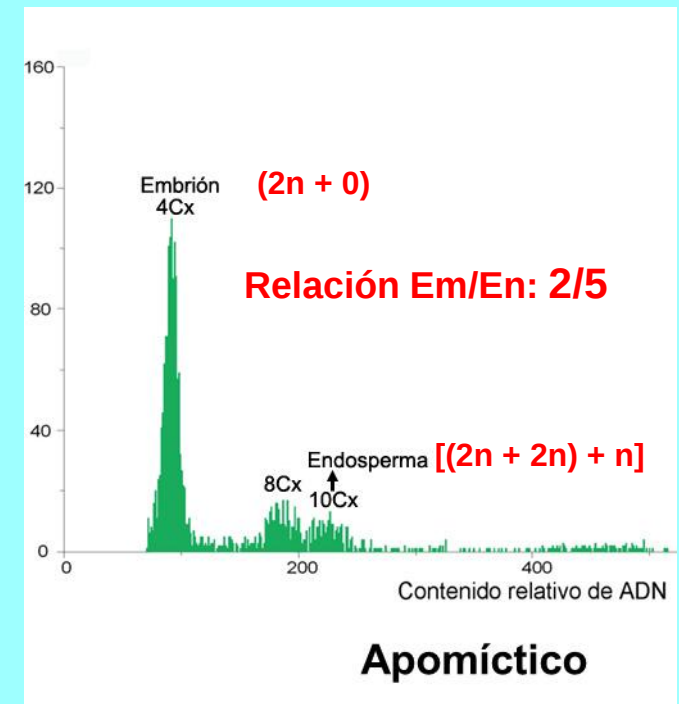
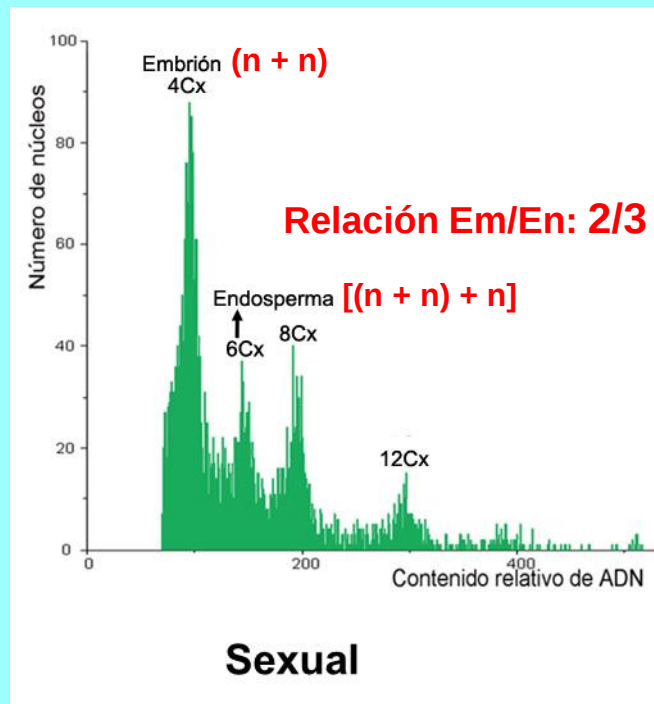
Entre 2009-2011, **22** cruzamientos, **16** fueron efectivos → **427** híbridos

- ❖ Clasificar por modo reproductivo a las F_1 : Sex o Apo
- ❖ Evaluar agronómicamente a las F_1 Apo y seleccionar Desde 2011/12
- ❖ Formar una población sexual sintética, a partir de policruzamientos entre F_1 sexuales de varias familias híbridas, que contenga genes propios de los padres apomícticos, excepto el/los genes que determinan apomixis.

Contenido ADN
en semillas con
Citómetro de flujo



Florencia Galdeano



Modo reproductivo de los híbridos F₁

Cruzamientos	F ₁ analizados	Híbridos sexuales	Híbridos apomícticos
<i>P. plicatulum</i> 4PT			
x <i>P. chaseanum</i> ST13894	19	13	6
x <i>P. compressifolium</i> 40811	1	1	0
x <i>P. guenoarum</i> Azulao	45	22	23
x <i>P. guenoarum</i> Baio	56	27	29
x <i>P. guenoarum</i> R19 cv Rojas	182	112	70
x <i>P. guenoarum</i> BO107	4	1	3
x <i>P. guenoarum</i> Q4108	2	1	1
x <i>P. lenticulare</i> BO190	4	2	2
x <i>P. nicorae</i> CPI27707	1	0	1
x <i>P. nicorae</i> PI508821	15	4	11
x <i>P. oteroi</i> A&V1332	11	9	2
x <i>P. plicatulum</i> Hojs388	18	7	11
x <i>P. plicatulum</i> ML5	6	0	6
x <i>P. rojasii</i> AK40732	7	5	2
<i>P. plicatulum</i> 7PT			
x <i>P. lenticulare</i> V11893	4	1	3



Patricia Aguilera

Crop Science
2011 y 2015

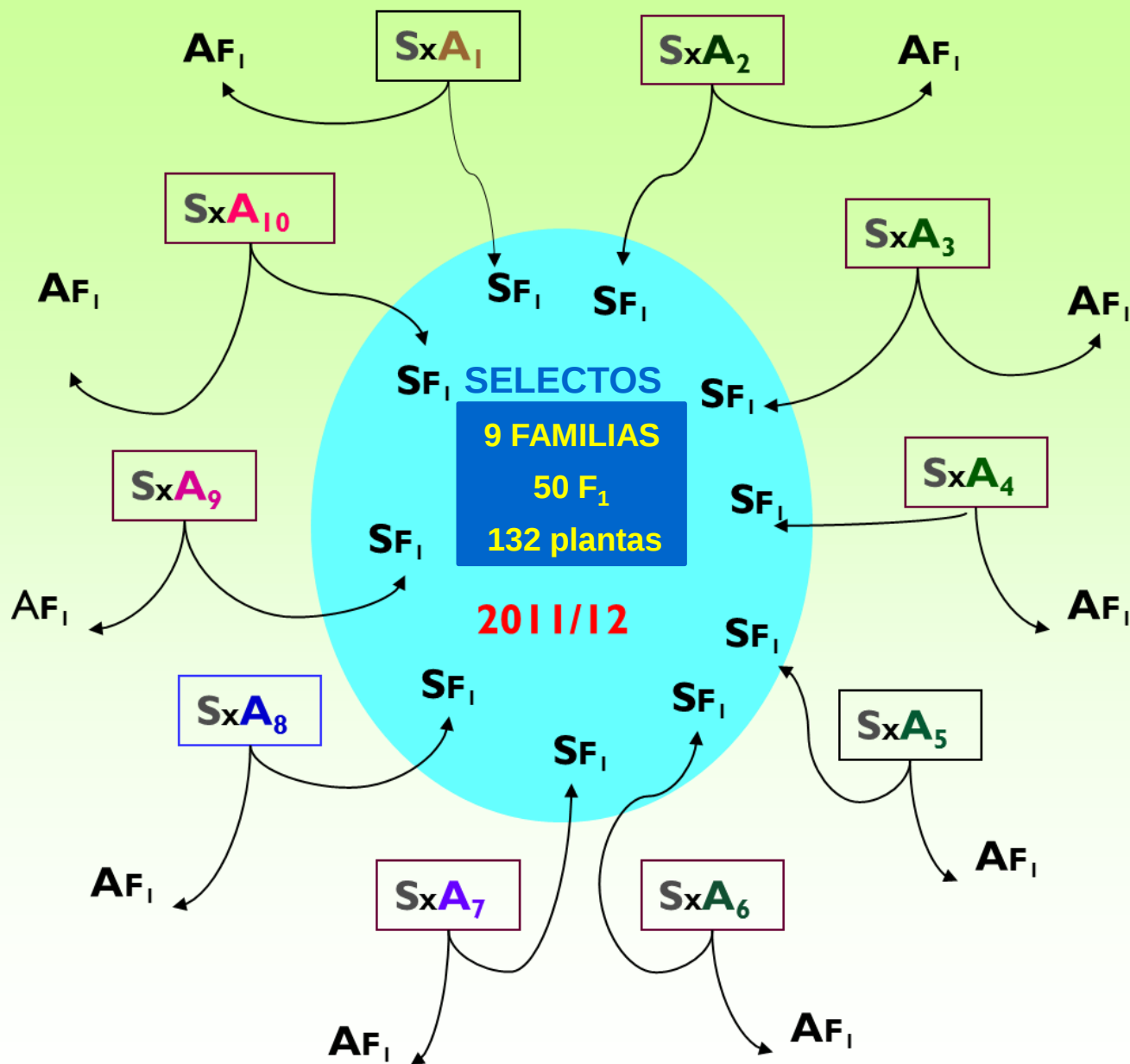
Para formar una POBLACIÓN 4X SEXUAL SINTÉTICA

- ✓ **Analizar meiosis de híbridos y progenitores**
- ✓ **Sabíamos que eran fértiles al cosechar semillas para FCSS**
- ✓ **Conocer si los distintos híbridos eran interfértiles**
- ✓ **Saber hasta qué grado cada híbrido era autógeno o alógeno**
- ✓ **Hacer una selección visual por vigor de planta**
- ✓ **Organizar una población de policruzamientos**

FERTILIDAD: % de espiguillas con cariopsis

<i>P. plicatulum</i> 4PT ♀	Híbridos analizados (nº)	Autopolinización (%)	Polinización Libre (%)
x <i>P. chaseanum</i> ST13894	9	1,0	6,8 +
x <i>P. compressifolium</i> AK40811	1	8,5	16,9 +
x <i>P. guenoarum</i> Azulao	7	9,3	20,7 +
x <i>P. guenoarum</i> Baio	6	8,3	17,0 +
x <i>P. guenoarum</i> BO107	3	29,8	15,0 - ←
x <i>P. guenoarum</i> Q4108	1	0,4	22,1 +
x <i>P. lenticulare</i> BO190	3	1,0	6,3 +
x <i>P. nicorae</i> CPI27707	1	7,4	21,2 +
x <i>P. nicorae</i> PI508821	11	28,5	31,5 ≈ ←
x <i>P. oteroi</i> A&V1332	6	1,7	22,2 +
x <i>P. plicatulum</i> Hojs388	7	5,6	12,7 +
x <i>P. plicatulum</i> ML5	3	6,9	40,1 +
x <i>P. rojasii</i> AK40732	2	2,0	10,4 +
<i>P. plicatulum</i> 7PT ♀			
x <i>P. lenticulare</i> V11893	1	0,0	1,6 +

BREEDING SCHEME



PARA EVALUACIÓN

**90 F₁ Apo
de 4 familias**



Acuña – Urbani - Díaz

Sx A_n = crosses

SF₁ = Sexual F₁

AF₁ = Apomictic F₁

Policruzamiento

Familias híbridas	Híbridos sexuales Seleccionados (nº)	Réplicas (nº)	Nº de Plantas
4PT x <i>P. chaseanum</i> ST13894	9	2	18
4PT x <i>P. guenoarum</i> Azulao	11	2	22
4PT x <i>P. guenoarum</i> Baio	11	2	22
4PT x <i>P. guenoarum</i> GR19	11	2	22
4PT x <i>P. guenoarum</i> Q4108	1	8	8
4PT x <i>P. nicorae</i> PI508821	1	6	6
4PT x <i>P. oteroi</i> A&V1332	1	10	10
4PT x <i>P. plicatulum</i> Hojs388	4	4	16
7PT x <i>P. lenticulare</i> V11893	1	8	8
Total	50		132

Participan 6 especies apomícticas que incluyen 9 genotipos diferentes

Diagrama de distribución en la Población de Policruzamiento

B 1	R 57	O 8	R 3	A 11	B 3	A 1	R 49	B 7	B 35	C 1	A 4
P 2	C 2	Q	P 3	N 10	C 3	O 8	Q	P 6	R 29	O 8	P 8
A 10	A 8	L	B 27	R 43	R 36	B 27	C 4	A 8	C 6	L	R 36
R 43	C 9	R 29	A 4	C 23	L	P 6	A 10	R 49	B 35	P 2	Q
B 7	B 42	O 8	P 8	B 44	Q	O 8	B 3	P 3	A 1	N 10	C 25
B 54	C 27	N 10	A 11	R 57	A 42	N 10	R 3	C 1	Q	A 21	R 60
P 2	A 41	L	Q	B 1	C 2	P 6	L	B 48	R 116	O 8	C 3
R 111	R 76	A 24	C 4	P 3	O 8	A 26	B 56	A 37	C 6	P 8	A 26
B 49	R 60	B 53	Q	R 81	B 50	C 9	P 3	O 8	B 54	R 81	L
P 8	C 23	N 10	L	A 24	R 76	R 111	N 10	L	Q	C 25	A 37
R 116	O 8	B 44	A 41	P 6	C 27	B 42	A 21	A 42	O 8	P 2	B 53

P. guenoarum A, B, Q, R

P. chaseanum C

P. lenticulare L

P. nicorae N

P. oteroi O

P. plicatulum P

Población de Policruzamiento







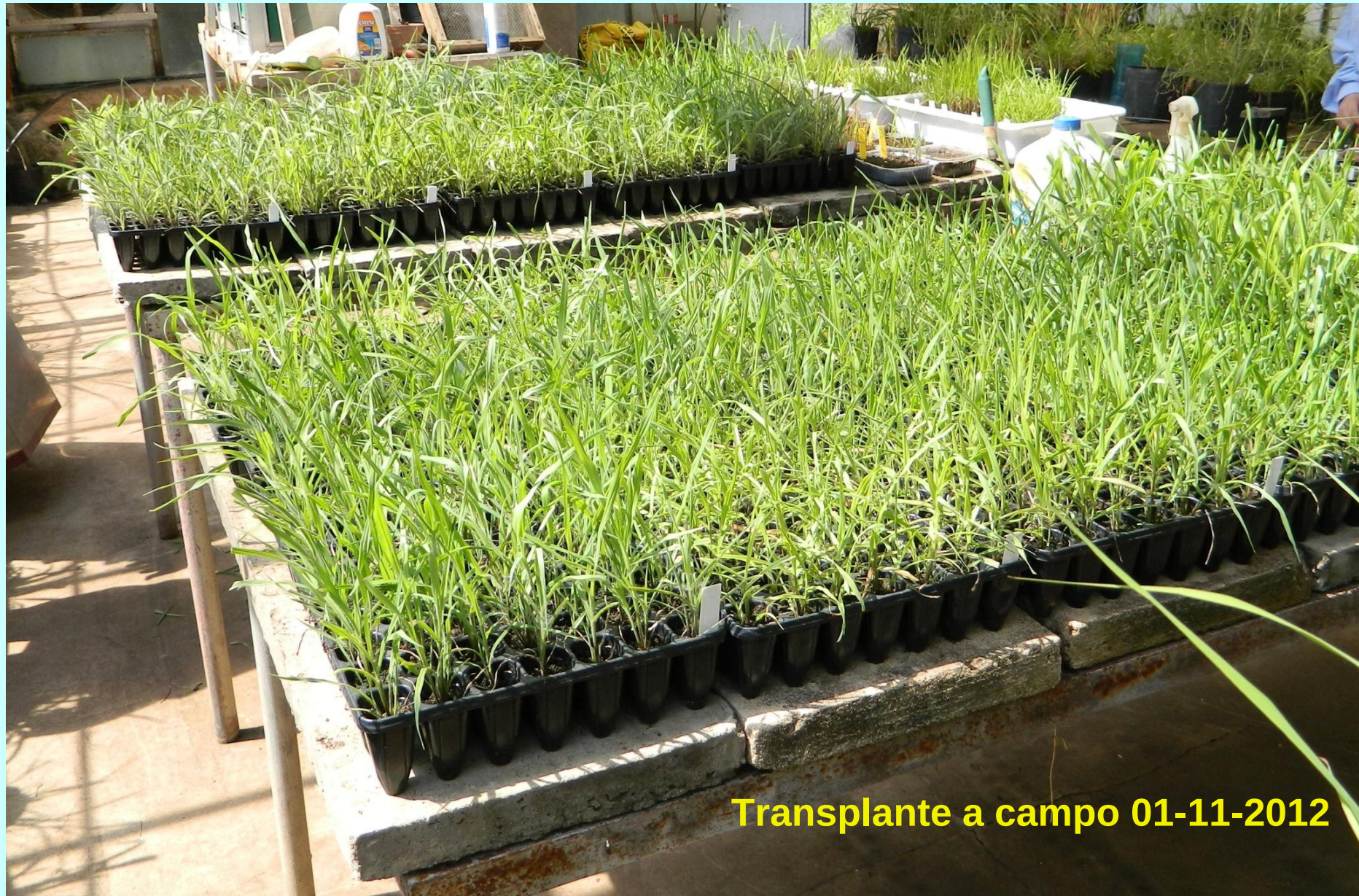
Población de Policruzamiento



Población Sintética Sexual Tetraploide (SSTP)

SSTP

≈ 600



Transplante a campo 01-11-2012

10% no sobrevivieron el transplante





SSTP
540 plantas
↓
Selección visual 30-01-2013
↓
30
plants

Entre la selección de 30 plantas en Enero 2013 y el final del invierno de 2014 se las evaluaron teniendo en cuenta:

- ✓ Vigor y tipo de planta
- ✓ Producción de espiguillas con cariopsis
- ✓ Tolerancia a *Claviceps paspali*
- ✓ Rebrote post floración



Re-growth, May the 29th, 2013

	Hybrid	Seed set (>10%)	% grains free of ergot (>9%)	Regrowth after flowering 16/04/13	Cold tolerant (4 y 5)	Selected by Ross Newman	♀
1	46	10.7	7.9	-	4		■
2	57	12.8	7.2	-	3		■
3	71	26.5	6.1	-	2		■
4	136	7.7	5.3	-	2		■
5	140	2.6	0.0	-	3		
6	154	2.3	0.0	-	1		
7	177	2.2	0.5	-	2		
8	192	14.0	14.0	+	5		■
9	199	9.0	2.0	-	3		
10	200	16.2	9.6	-	4		■
11	246	19.2	9.6	+	4		■
12	248	39.0	15.3	-	3		■
13	255	28.5	26.1	+	3		■
14	277	15.7	13.2	+	3		■
15	288	11.7	0.3	-	4		
16	305	23.0	22.4	+	2		■
17	358	14.2	5.6	-	2		■
18	387	7.2	5.0	-	2		
19	395	20.2	16.7	+	3		■
20	402	12.6	2.5	-	3		
21	415	12.6	4.6	-	3		
22	450	22.3	19.6	+	3		■
23	484	13.4	2.0	-	3		
24	516	14.2	7.3	-	4		■

■ ♀ preferential
(10)

■ ♀ alternative
(11)

~~25
86
118
189
387
534~~

♥
27 ■
103 ■
144 ■
222 ■
237 ■
407 ■

SITUACIÓN ACTUAL

30 SSTP selectas y mantenidas en macetas (600→ 540 → 30)

21 pasaron a un ciclo de selección por aptitud materna



**Primavera
2014**

❖ En el origen de la SSTP participaron 6 especies apomícticas (9 genotipos)

P. chaseanum

P. guenoarum

P. lenticulare

P. nicorae

P. oteroi

P. plicatulum

+ dos genotipos maternos sexuales de *P. lenticulare* (4PT y 7PT)

- ❖ Por su origen, las 21 selectas contienen genes de varias especies apomícticas, ya desbloqueados y pasibles de ser manipulados en programas de mejoramiento genético
- ❖ Hoy es posible intercambiar genes entre citotipos tetraploides apomícticos de varias especies del grupo Plicatula de *Paspalum*

Paralelamente

Desde temporada 2011/2012 empezamos la evaluación agronómica de
88 F₁ apomícticos
de 4 familias diferentes



 PGG Wrightson Seeds

F_1 apo selectas (11)

'Chané'

03/07/2013

'Chané'

Biotipos Plicatula

24/07/2013

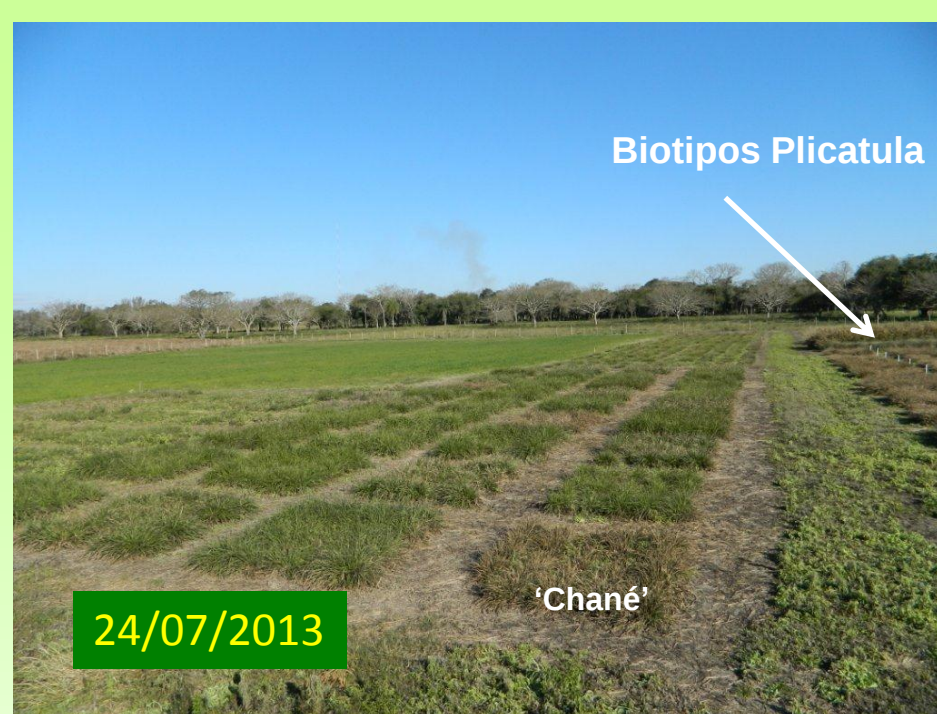
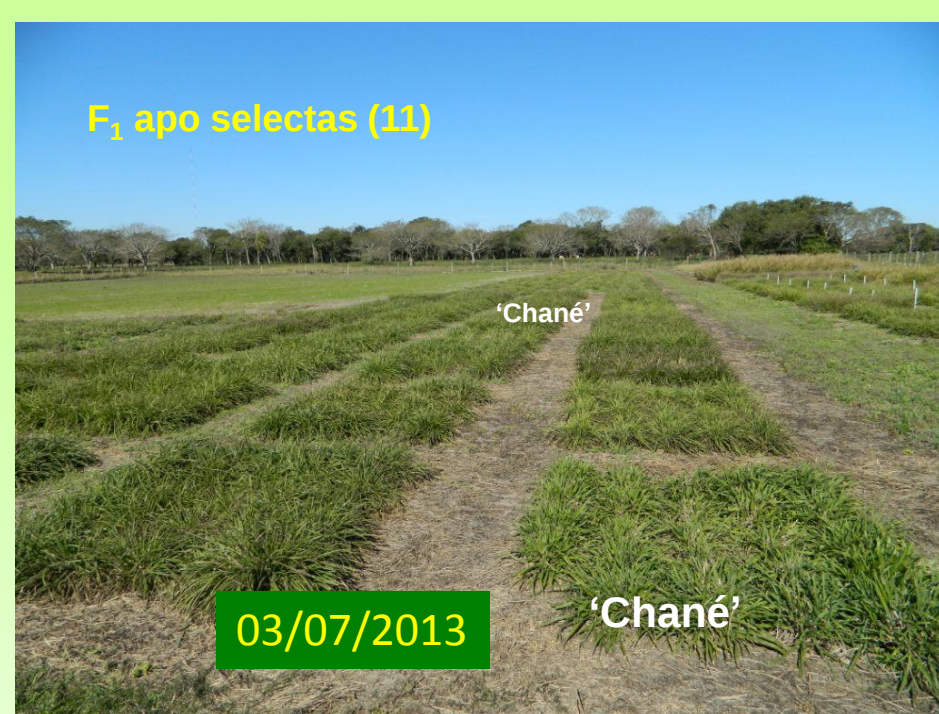
'Chané'

'Chané'

21/08/2013

17/09/2013

'Chané'





Colección de *P. plicatulum* 4x apomícticos

Apareamiento cromosómico en meiosis de progenitores e híbridos

Especies - Híbridos	Nº de células	Promedio y (rango por célula)			
		I	II	III	IV
<i>P. plicatulum</i> 4PT ♀	53	0,1 (1)	14,2 (8)	0,1 (1)	2,8 (7)
<i>P. chaseanum</i> ST13894 ♂	23	2,3 (7)	13,9 (18)	0,5 (3)	2,0 (5)
Híbridos (3)	60	1,8 (6)	13,6 (20)	0,2 (2)	2,4 (6)
<i>P. nicorae</i> PI508821 ♂	31	1,5 (6)	15,5 (20)	0,0 (0)	1,8 (5)
Híbridos (5)	70	1,6 (6)	18,0 (20)	0,2 (3)	0,5 (3)

Cruzamientos dialélicos recíprocos

TOTAL: 50 híbridos de 9 familias diferentes

MUESTREO: 8 combinaciones recíprocas (involucran 16 híbridos de 6 familias)

Porcentaje de formación de semillas en cruzamientos dialélicos recíprocos

A37 × A41	0.9	0.2
L1 × O8	2.2	0.0
B5 × A1	15.9	8.9
B44 × L1	2.0	2.9
B44 × H3	1.4	17.5
N10 × A41	37.2	20.5
N10 × O8	18.3	18.0
N10 × H3	29.6	32.9

A: × Azulao; **B:** × Baio **H:** × Hoj388, **L:** × lenticulare; **N:** × nicorae; **O:** × oteroi